

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

SKRIPSI

Oleh:
ISNA REZQIA
NIM. 14620015



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

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

SKRIPSI

Oleh:
ISNA REZQIA
NIM. 14620015

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

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

SKRIPSI

Oleh:
ISNA REZQIA
NIM. 14620015

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
tanggal: 2 November 2018

Pembimbing I



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

Pembimbing II



Umaiatus Svarifah, M.A
NIP. 19820925 200901 2 005



Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi


Romaidi, M.Si., D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

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

SKRIPSI

Oleh:
ISNA REZQIA
NIM. 14620015

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 15 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	: Umayyatus Syarifah, M.A NIP. 19820925 200901 2 005	(.....)



Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi

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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Isna Rczqia
NIM : 14620015
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 Kolesterol Total dan Trigliserida Serum Darah 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,



Isna Rezqia
NIM. 14620015

MOTTO

يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا إِن تَنْصُرُوا اللَّهَ يَنْصُرْكُمْ
وَيُثَبِّتْ أَقْدَامَكُمْ

*Hai orang-orang mukmin, jika kamu menolong (agama) Allah, niscaya Dia akan
menolongmu dan meneguhkan kedudukanmu*

(QS. Muhammad : 7)



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. Ayah Muhammad Bisri dan Ibuk Sayidah Rohmah (semoga Allah menyayangi keduanya) tercinta sebagai tanda bakti, hormat dan rasa terima kasih yang tak terhingga atas segala kasih sayang, doa, keridhoan, nasehat dan dukungan yang senantiasa diberikan.
2. Mbak Risha Alfiana, S.Pd.I dan Adek Nayla Khoirina, *uhibbukuma fillah*, yang senantiasa memberikan motivasi dan doa dalam pengerjaan skripsi ini.
3. Sahabat-sahabat tersayang selama menimba ilmu di Biologi UIN Malang (Kikik dan Arina, *uhibbukuma fillah*). 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'*.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin. Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas rahmat, nikmat, dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Sholawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Baginda Rasulullah Muhammad SAW yang telah menuntun umat manusia dari zaman *jahiliyyah* menuju kemuliaan *Din al-Islam*.

Penulisan skripsi ini dari awal hingga akhir tidak lepas dari bimbingan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak tersebut karena keterbatasan ilmu yang dimiliki oleh penulis. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis dengan penuh hormat dan ketulusan hati menyampaikan ucapan terima kasih dan *Jazakumullah ahsanul jaza'* kepada :

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag, selaku rector Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Romaidi, M.Si, D.Sc, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si, selaku dosen pembimbing skripsi yang dengan penuh kesabaran dan keikhlasan meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, doa dan motivasi untuk penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
5. Umaiyatus Syarifah, M.A, selaku dosen pembimbing agama yang penuh dengan kesabaran serta keikhlasan telah memberikan bimbingan dan mengarahkan skripsi ini pada kajian al-Quran dan as-sunnah.
6. Dr. Kiptiyah, M.Si dan Kholifah Holil, M.Si, selaku dosen penguji yang telah memberikan ilmu, kritik dan saran dalam penyelesaian skripsi ini.
7. Kedua orang tua tercinta, Muhammad Bisri dan Sayidah Rohmah yang dengan penuh kasih sayang dan kesabaran telah memberikan dukungan moral dan material serta motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

8. Kedua saudara perempuan tersayang, Risha Alfiana, S.Pd.I dan Nayla Khoirina yang senantiasa memberikan doa dan motivasi.
9. Fitriyah, M.Si dan Mochammad Ichsan, M.Sc, yang telah meluangkan waktu untuk memberikan ilmu, saran dan masukan di bidang Bioinformatika sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
10. Meike Tiya Kusuma, S.Si, selaku kakak angkatan yang dengan tulus membagikan pengalaman dan masukan yang sangat diperlukan bagi terselesainya skripsi ini.
11. Rekan-rekan tim penelitian Dislipidemia (Kiki, Erlin, Mun, Alya, Nila dan Sofir) yang telah bersama-sama berjuang menyelesaikan penelitian ini.
12. Sahabat-sahabat tersayang, Dwi Riski Kurniawati dan Arina Khusna yang selalu memberikan semangat dan doa.
13. Teman-teman Biologi “Telomer” angkatan 2014 yang telah kebersamai penulis dalam menyelesaikan studi S1 di jurusan Biologi UIN Malang.
15. Semua pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik moral maupun material.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat terutama bagi penulis dan bagi pembaca pada umumnya serta menambah khasanah ilmu pengetahuan. *Amiin Ya Rabbal Aalamiin.*

Wassalamu’alaikum Wr. Wb.

Malang, 4 November 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	ivi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
ملخص البحث.....	xvii
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Hipotesis Penelitian	8
1.5 Manfaat Penelitian	9
1.6 Batasan Masalah	9
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 12
2.1 Lipid.....	12
2.1.1 Lipoprotein.....	13
2.1.1.1 Kilomikron	13
2.1.1.2 VLDL (<i>Very Low Density Lipoprotein</i>)	13
2.1.1.3 IDL (<i>Intermediate Density Lipoproteins</i>).....	14
2.1.1.4 LDL (<i>Low Density Lipoproteins</i>)	14
2.1.1.5 HDL (<i>High Density Lipoproteins</i>).....	15
2.1.2 Kolesterol	16
2.1.2.1 Biosintesis Kolesterol.....	17
2.1.2.2 Pengaturan Pembentukan Kolesterol.....	18
2.1.2.3 Pengaturan Keseimbangan Kolesterol.....	18
2.1.3 Triglicerida	19
2.1.3.1 Metabolisme Triglicerida.....	19
2.1.4 Metabolisme Lipid	20
2.1.4.1 Jalur metabolisme eksogen	20
2.1.4.2 Jalur Metabolisme Endogen	21

2.1.4.3 Jalur <i>Reverse Cholesterol Transport</i>	22
2.2 Dislipidemia	23
2.2.1 Definisi	23
2.2.2 Hiperkolesterolemia	24
2.2.3 Hipertrigliseridemia	24
2.3 Induksi <i>High Fat Diet</i> (HFD)	25
2.4 Ekstraksi	26
2.4.1 Pengertian Ekstraksi	26
2.4.2 Pelarut Etanol	26
2.4.3 Maserasi	27
2.5 Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>)	27
2.5.1 Klasifikasi Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>)	27
2.5.2 Karakteristik dan Morfologi <i>Cinnamomum burmannii</i>	28
2.5.3 Manfaat Kulit Batang <i>Cinnamomum burmannii</i>	29
2.5.4 Senyawa Aktif dalam Kulit Batang <i>Cinnamomum burmannii</i>	30
2.6 Pepaya Gunung (<i>Carica pubescens</i>)	31
2.6.1 Klasifikasi Pepaya Gunung (<i>Carica pubescens</i>)	31
2.6.2 Morfologi dan Karakteristik <i>Carica pubescens</i>	32
2.6.3 Kandungan Kimia <i>Carica pubescens</i>	33
2.7 Atorvastatin	34
2.8 Analisis <i>In Silico</i> Melalui Pendekatan <i>Molecular Docking</i>	36
2.8.1 Definisi	36
2.8.2 Database dan Perangkat Lunak untuk <i>Molecular Docking</i>	38
2.8.2.1 Protein Data Bank	38
2.8.2.2 PubChem	38
2.8.2.3 PyMOL	39
2.8.2.4 AutoDock Vina	39
2.8.2.5 Discovery Studio Visualizer	40
2.8.2.6 Analisis Aktivitas Biologi PASS	40
2.8.2.7 Pre-ADMET Online	41
BAB III METODE PENELITIAN	42
3.1 Rancangan Penelitian	42
3.2 Waktu dan Tempat	42
3.3 Variabel Penelitian	43
3.3.1 Uji <i>in Silico</i>	43
3.3.2 Uji <i>in Vivo</i>	44
3.4 Populasi dan Sampel	45
3.5 Alat dan Bahan	45
3.5.1 Alat	45
3.5.2 Bahan	46
3.6 Prosedur Penelitian	47

3.6.1 Uji <i>in Silico</i>	47
3.6.1.1 Preparasi Ligan	47
3.6.1.2 Preparasi Protein Reseptor	47
3.6.1.3 Uji HIA (<i>Human Intestinal Absorption</i>)	47
3.6.1.4 Uji Prediksi PASS (<i>Prediction of Activity for Substances</i>)	48
3.6.1.5 <i>Molecular Docking</i> (Penambatan Molekuler).....	48
3.6.1.6 Visualisasi Hasil <i>Docking</i>	48
3.6.2 Uji <i>in Vivo</i>	48
3.6.2.1 Aklimatisasi Hewan Coba.....	48
3.6.2.2 Pembuatan dan Pemberian <i>High Fat Diet</i> (HFD).....	49
3.6.2.3 Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Kulit Batang Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>) dan Daun Pepaya Gunung (<i>Carica</i> <i>pubescens</i>).....	49
3.6.2.4 Penentuan Dosis dan Pemberian Atorvastatin	50
3.6.2.5 Pembuatan Larutan Na-CMC 0.1%	50
3.6.2.6 Pemberian Terapi Ekstrak Etanol 70% Kulit Batang Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>) dan Daun Pepaya Gunung (<i>Carica</i> <i>pubescens</i>).....	50
3.6.2.7 Euthanasia dan Pengambilan Serum Darah Mencit.....	51
3.6.2.8 Pengukuran Kadar Kolesterol dan Trigliserida.....	51
3.6.2.9 Analisis Data	52
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	53
4.1 Prediksi Absorpsi Senyawa dengan Parameter HIA (<i>Human Intestinal</i> <i>Absorption</i>)	53
4.2 Hasil Prediksi PASS (<i>Prediction of Activity for Substances</i>).....	56
4.3 <i>Molecular Docking</i>	58
4.4 Kadar Kolesterol Total.....	64
4.4 Kadar Trigliserida	69
BAB V PENUTUP	74
5.1 Kesimpulan	74
5.2 Saran	74
DAFTAR PUSTAKA.....	75
LAMPIRAN.....	81

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Klasifikasi Kolesterol Total, Kolesterol LDL, Kolesterol HDL, dan Triglicerida menurut NCEP ATP III 2001	23
Tabel 3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian	43
Tabel 3.2 Pebandingan Volume yang Digunakan dalam Pengukuran Kadar Kolesterol dan Triglicerida	52
Tabel 4.1 Hasil Prediksi HIA (<i>Human Intestinal Absorption</i>)	54
Tabel 4.2 Hasil Prediksi PASS (<i>Prediction of Activity for Substances</i>).....	58
Tabel 4.3 Tinjauan Hasil Uji <i>In Silico</i> Senyawa dengan ΔG Terendah.....	64
Tabel 4.4 Hasil Pengukuran Kadar Kolesterol Total dan Standar Deviasi.....	65
Tabel 4.5 Hasil Pengukuran Kadar Triglicerida dan Standar Deviasi	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Komponen lipid plasma	12
Gambar 2.2 Biosintesis kolesterol	18
Gambar 2.3 Jalur eksogen dan endogen pada metabolisme lipid	21
Gambar 2.4 Jalur <i>reverse cholesterol transport</i>	22
Gambar 2.5 Mekanisme penghambatan HMG-KoA reduktase oleh statin	35
Gambar 4.1 Nilai energi bebas (ΔG) hasil molecular docking ligan senyawa aktif kulit batang kayu manis dan daun papaya gunung dengan reseptor HMG-KoA reduktase	60
Gambar 4.2 Visualisasi interaksi antara ligan atorvastatin dengan reseptor HMG-KoA reduktase	61
Gambar 4.3 Grafik rata-rata kadar kolesterol	66
Gambar 4.4 Grafik rata-rata kadar trigliserida	71

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian <i>In Silico</i>	81
Lampiran 2. Struktur Ligan.....	82
Lampiran 3. Struktur Reseptor.....	86
Lampiran 4. Preparasi Ligan.....	87
Lampiran 5. Preparasi Reseptor	88
Lampiran 6. Uji HIA (<i>Human Intestinal Absorption</i>)	89
Lampiran 7. Uji PASS (<i>Prediction of Activity Spectra for Substances</i>)	91
Lampiran 8. Penambatan Molekul (<i>Molecular Docking</i>).....	93
Lampiran 9. Visualisasi 2D Hasil <i>Docking</i>	98
Lampiran 10. Data Nilai Energi Bebas (ΔG) Ligan – Reseptor	99
Lampiran 11. Visualisasi Hasil <i>Docking</i>	101
Lampiran 12. Residu Asam Amino Reseptor yang Berikatan dengan Ligan	107
Lampiran 13. Alur Penelitian <i>In Vivo</i>	108
Lampiran 14. Perhitungan Dosis	109
Lampiran 15. Hasil Uji Statistik Menggunakan SPSS.....	111
Lampiran 16. Dokumentasi Penelitian <i>In Vivo</i>	114

Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens*) Terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Serum Darah Mencit (*Mus musculus*) Secara In Vivo dan In Silico

Isna Rezqia, Retno Susilowati, Umaiatus Syarifah

ABSTRAK

Dislipidemia merupakan suatu kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan kenaikan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan penurunan HDL. Dislipidemia memiliki peranan penting dalam terbentuknya aterosklerosis yang merupakan penyebab penyakit jantung koroner. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) terhadap kadar kolesterol total dan trigliserida serum darah mencit (*Mus musculus*). Penelitian ini bersifat deskriptif eksploratif dan eksperimental. Uji secara *in silico* menggunakan metode *molecular docking* antara reseptor HMG-KoA reduktase dengan ligan senyawa aktif pada kulit batang kayu manis dan daun pepaya gunung. Parameter yang digunakan yaitu persentase HIA, nilai prediksi PASS dan nilai energi bebas (ΔG). Uji secara *in vivo* menggunakan RAL sebanyak 6 perlakuan dan 5 ulangan. Kelompok perlakuan yaitu N (normal), K- (HFD), K+ (HFD & atorvastatin), P1 (HFD & 300 mg/kgBB ekstrak kulit batang kayu manis), P2 (HFD & 150 mg/kgBB ekstrak kulit batang kayu manis & 150 mg/kgBB ekstrak daun pepaya gunung), dan P3 (HFD & 300 mg/kgBB ekstrak daun pepaya gunung). Induksi HFD dilakukan selama 56 hari dan pemberian dosis pengobatan dimulai pada hari ke-29 hingga hari ke-56 induksi HFD. Parameter yang digunakan yaitu kadar kolesterol total dan trigliserida pada serum darah. Analisis data menggunakan ANOVA dengan $\alpha=5\%$. Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa senyawa quercetin pada kulit batang kayu manis berpotensi dalam menghambat enzim HMG-KoA reduktase. Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan P1 (HFD & 300 mg/kgBB ekstrak kulit batang kayu manis) dapat menurunkan kadar kolesterol total. Selain itu P1, P2 dan P3 dapat menurunkan kadar trigliserida pada serum darah.

Kata kunci: Ekstrak *Cinnamomum burmannii* dan *Carica pubescens*, kolesterol total, trigliserida, *in silico*, *in vivo*

Effect of Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) Bark and Mountain Papaya (*Carica pubescens*) Leaves Extract on Total Cholesterol and Triglycerides Levels in Mice (*Mus musculus*) Blood Serum in *In Vivo* and *In Silico*

Isna Rezqia, Retno Susilowati, Umaiyatus Syarifah

ABSTRACT

Dyslipidemia is a lipid metabolism disorder which is characterized by increased levels of total cholesterol, triglycerides, LDL, and decreased HDL. Dyslipidemia has an important role in the formation of atherosclerosis which is the cause of coronary heart disease. This study aims to determine the effect of *Cinnamomum burmannii* bark and *Carica pubescens* leaves extract on total cholesterol and triglycerides levels of mice blood serum. This research is descriptive exploratory and experimental study. *In silico* test using molecular docking method between HMG-CoA reductase receptor and active compound ligands of *Cinnamomum burmannii* bark and *Carica pubescens* leaves. The parameters used are HIA, PASS, and binding affinity (ΔG) score. *In vivo* tests using Completely Randomized Design (CRD) with 6 treatments and 5 replications. Treatment groups were N (normal), K- (HFD), K + (HFD & atorvastatin), P1 (HFD & 300 mg/kg extract of *Cinnamomum burmannii*), P2 (HFD & 150 mg/kg extract of *Cinnamomum burmannii* & 150 mg/kg mountain papa *Carica pubescens* leaves extract), and P3 (HFD & 300 mg/kg *Carica pubescens* leaves extract). HFD (High Fat Diet) induction was carried out for 56 days and treatment dose was started on the 29th to 56th day of HFD induction. The parameters used were total cholesterol and triglyceride levels in blood serum. Data was analyzed using ANOVA with $\alpha = 5\%$. Molecular docking results show that quercetin, a compound of *Cinnamomum burmannii* bark has the good potential to inhibit the HMG-CoA reductase enzyme. The ANOVA analysis results showed that P1 treatment (HFD + 300 mg/kg extract of *Cinnamomum burmannii*) significantly reduced total cholesterol levels. Furthermore, P1, P2 and P3 can significantly reduce triglyceride levels in blood serum.

Keywords: Extract, *Cinnamomum burmannii*, *Carica pubescens*, total cholesterol, triglycerides, *in silico*, *in vivo*

تأثير إعطاء مستخلص لحاء قشور البوراماني و أوراق البابايا الجبلية (*Carica pubescens*) على مستويات الكوليسترول الكلي و ترايغليسريد المصل في الفئران (*Mus musculus*) في *In Vivo* و *In Silico*

إسنا رزقيا ، رتنو سوسيلواتي ، أمية الشريفة

ملخص البحث

دسليبيديا هو اضطراب في استقلاب الشحوم الذي يتميز بزيادة مستويات الكوليسترول الكلي ، الدهون الثلاثية ، LDL ، وانخفاض HDL. اضطراب دهون الدم له دور مهم في تكوين تصلب الشرايين وهو سبب مرض القلب التاجي. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد تأثير إعطاء مستخلص لحاء القرفة (*Cinnamomum burmannii*) وأوراق البابايا الجبلية (*Carica pubescens*) إلى مستويات الكوليسترول الكلي و ترايغليسريد المصل للفئران (*Mus musculus*). هذا البحث هو استكشافي وصفي وتجريبي. في اختبار *in silico* باستخدام طريقة الالتحام الجزيئي بين HMG-CoA receptor reductase و ligand المركب الفعال على لحاء القرفة وأوراق الجبل البابايا باستخدام Autodock Vina. في اختبارات الجسم الحي باستخدام RAL كانت 6 العلاجات و 5 مكررات. كانت مجموعات المعالجة N (طبيعية) ، K- (HFD ، K+ (atorvastatin) P1 & K+ (HFD ، P1 و 300 مجم / كجم من مستخلص لحاء القرفة ، HFD) P2 و 150 مجم / كجم من مستخلص قرفة القرفة & 150 مجم / كجم BB مستخرج أوراق البابايا ، و HFD) P3 و 300 مجم / كجم kgBB مستخلص أوراق البابايا). تم تنفيذ تحريض HFD لمدة 56 يوما وبدأت جرعة العلاج في يوم 29 إلى 56 يوم من تحريض HFD. المعلومات المستخدمة كانت الكوليسترول الكلي ومستويات الدهون الثلاثية في مصل الدم. تحليل البيانات باستخدام ANOVA مع $\alpha = 5\%$. استمرت نتائج هامة في اختبار دنكان. تظهر نتائج الالتحام المصهور أن المركبات الروتينية في لحاء القرفة لها القدرة على تثبيط إنزيم اختزال HMG-CoA. أظهرت نتائج تحليل ANOVA أن معالجة P1 (HFD و 300 مجم / كجم من مستخلص لحاء القرفة) قللت بشكل كبير مستويات الكوليسترول الكلية. إلى جانب P1 ، P2 و P3 يمكن أن تقلل إلى حد كبير من مستويات الدهون الثلاثية في مصل الدم.

كلمات البحث: مستخلصات القرفة والبابايا الجبلية ، والكوليسترول الكلي ، والدهون الثلاثية ، في *silico* ، في الجسم الحي

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit kardiovaskular merupakan salah satu penyakit degeneratif yang cenderung meningkat dari tahun ke tahun. *World Health Organization* (WHO) dalam laporannya menyebutkan bahwa penyakit kardiovaskular merupakan penyebab utama kematian di dunia. Diperkirakan sebanyak 17.7 juta jiwa meninggal karena penyakit kardiovaskular. Jumlah ini setara dengan 31% kematian di dunia pada tahun 2015. Dari data tersebut, diperkirakan 6.7 juta jiwa diantaranya meninggal karena penyakit jantung koroner (WHO, 2017).

Terjadinya penyakit jantung koroner tidak terlepas dari proses-proses yang membuat pembuluh darah koroner menyempit (aterosklerosis). Aterosklerosis sebenarnya normal terjadi pada semua orang seiring dengan bertambahnya usia, hanya saja bagaimana kecepatan penyempitan tersebut berbeda-beda. Kolesterol merupakan jenis lipid yang relatif mempunyai makna klinis penting sehubungan dengan aterogenesis (Brown, 2006).

Dislipidemia merupakan salah satu faktor resiko terpenting terjadinya aterosklerosis. Dislipidemia ditandai dengan ketidaknormalan fraksi lipid dalam plasma darah, yakni tingginya kadar kolesterol total, trigliserida, dan LDL (*Low Density Lipoprotein*), serta rendahnya kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) (Gupta, 2017). Berdasarkan data yang diperoleh oleh RISKESDAS (Riset Kesehatan Dasar Nasional) pada tahun 2013, dilaporkan bahwa 35 % dari penduduk Indonesia yang berusia ≥ 15 tahun memiliki kadar kolesterol abnormal (berdasarkan NCEP ATP III, dengan kadar kolesterol ≥ 200 mg/dl). Selain itu,

15.9 % populasi yang berusia ≥ 15 tahun mempunyai proporsi LDL yang sangat tinggi (≥ 190 mg/dl), 22.9 % memiliki kadar HDL ≤ 40 mg/dl, dan 11.9 % dengan kadar trigliserida yang sangat tinggi (≥ 500 mg/dl) (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2013).

Perkembangan sosial ekonomi dan perubahan gaya hidup berkaitan erat dengan peningkatan jumlah penderita dislipidemia pada beberapa dekade terakhir (Cai *et al.*, 2012). Pola makan yang tidak sehat seperti konsumsi makanan cepat saji yang tinggi lemak dan pola hidup *sedentary* dimana aktivitas fisik sangat minimal yang mengakibatkan rendahnya pengeluaran energi sehingga terjadi penimbunan lemak di dalam tubuh, dinilai sebagai faktor utama penyebab dislipidemia (Qi *et al.*, 2015). Al-Quran sebagai kitab suci yang berisi pedoman hidup bagi umat Islam mengatur segala hal, termasuk mengatur bagaimana pola makan yang baik. Dalam al-Quran surat al-Baqarah (2):168 Allah SWT berfirman:

يَا أَيُّهَا النَّاسُ كُلُوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا خُطُوَاتِ الشَّيْطَانِ إِنَّهُ لَكُمْ
عَدُوٌّ مُبِينٌ (١٦٨)

“Wahai manusia! Makanlah dari (makanan) yang halal dan baik yang terdapat di bumi dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah setan. Sungguh, setan itu musuh yang nyata bagimu.”

Kata حَلَالًا “halal” dan طَيِّبًا “baik”, menurut Hamka (1999), makanan halal ialah yang tidak dilarang oleh Allah SWT dalam syari’at-Nya seperti halnya memakan daging babi, memakan atau meminum darah, memakan bangkai dan memakan makanan yang disembelih bukan karena Allah SWT. Menurut Katsir (2004), makanan yang *thayyib* adalah makanan yang baik dan bermanfaat bagi dirinya, serta tidak membahayakan bagi jiwa raganya.

Makanan yang baik berarti makanan sehat (makanan yang memiliki zat gizi dan cukup seimbang), dan proporsional (sesuai dengan kebutuhan, tidak kurang dan tidak berlebihan). Apabila makanan yg dikonsumsi masuk ke dalam kriteria tersebut maka akan memberikan kesehatan bagi tubuh. Akan tetapi, pola makan yang baik tersebut seringkali dilalaikan oleh manusia di zaman modern saat ini. Kebiasaan memakan makanan yang tinggi kalori dan tinggi lemak bahkan saat ini sudah menjadi gaya hidup bagi sebagian besar manusia. Padahal memakan makanan yang tinggi kalori dan lemak dapat membahayakan tubuh karena dapat menjadi salah satu penyebab timbulnya penyakit seperti dislipidemia.

Pengobatan dislipidemia merupakan hal penting dalam upaya pencegahan penyakit kardiovaskular. Menurut Carreas dan Donna (2017), penggunaan obat golongan statin sampai saat ini masih menjadi standar dalam pengobatan dislipidemia dengan cara menurunkan kolesterol dalam darah. Ba *et al.* (2013) menjelaskan bahwa statin secara efektif dapat mengurangi tingkat kematian akibat jantung koroner. Selain itu, pengobatan menggunakan statin terbukti dapat menurunkan kolesterol sebanyak 20% - 50%. Salah satu jenis obat dari golongan statin yaitu atorvastatin. Berdasarkan penelitian yang ada, diketahui bahwa atorvastatin sangat efektif dalam mengontrol profil lipid pada darah dalam 12 minggu.

Obat golongan statin bekerja dalam menurunkan kolesterol dalam darah dengan cara menghambat enzim HMG-KoA (*3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A*) reduktase pada saat terjadi sintesis kolesterol di hepar (Palvai & Asna, 2014). Melalui penghambatan enzim HMG-KoA reduktase, terjadi penurunan kadar kolesterol total dan LDL. Selain itu statin juga menurunkan

kadar trigliserida, dan menaikkan kadar HDL (Filand & Paige, 2010). Akan tetapi, penelitian menunjukkan bahwa penggunaan obat golongan statin secara terus menerus dapat berefek negatif pada otot. Efek negatif yang ditimbulkan dari obat golongan statin yang sering dijumpai pada 5% pasien adalah miopati, yaitu dengan gejala nyeri pada otot dan persendian. (Bonfim *et al.*, 2015).

Efek samping dari penggunaan obat golongan statin tersebut mendorong ilmuwan untuk menemukan pengobatan alternatif dalam menangani dislipidemia. Dalam beberapa tahun terakhir, terdapat tren yang mendukung pengembangan suplemen makanan alami dan obat-obatan herbal karena adanya bukti ilmiah yang mengkonfirmasi manfaat kesehatan dari ekstrak dan senyawa bioaktif yang diisolasi dari tumbuhan (Sharma *et al.*, 2009).

Tanaman-tanaman yang berkhasiat sebagai obat banyak ditemukan di sekitar kita salah satunya adalah kayu manis (*Cinnamomum burmannii*). Bagian dari kayu manis yang biasa dimanfaatkan oleh masyarakat yaitu kulit batangnya sebagai rempah masakan (Ferry, 2013). Senyawa aktif yang terdapat pada kayu manis mengandung rutin, catechin, quercetin, kaempferol, dan isorhamnetin (Rao, 2014). Selain itu, Araar (2009) menyebutkan bahwa pada *Cinnamomum burmannii* ditemukan pula senyawa aktif lain, diantaranya yaitu cinnamaldehyde, cinnamic acid, dan cinnamate. Penelitian Ziaee *et al.* (2009) menunjukkan bahwa rutin, suatu senyawa flavonoid yang dimiliki kayu manis dapat menurunkan kolesterol dengan membatasi aktivitas HMG-KoA reduktase. Selain itu penelitian Bok (2002) juga menunjukkan bahwa quercetin, suatu senyawa flavonoid yang juga dimiliki kayu manis dapat menghambat aktivitas enzim HMG-KoA reduktase. Hal ini memungkinkan adanya potensi penggunaan ekstrak kulit batang

kayu manis sebagai pengobatan alternatif dalam upaya mengatur pesatnya pertumbuhan penderita dislipidemia.

Selain kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), terdapat pula tanaman lain yang dapat dimanfaatkan, salah satunya yaitu pepaya gunung (*Carica pubescens*). Menurut Simirgiotis *et al.* (2009), pepaya gunung (*Carica pubescens*) merupakan tumbuhan dataran tinggi. Daun pepaya gunung umumnya digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan malaria, beri-beri, sariawan, dan disentri. Penelitian yang dilakukan Indranila dan Ulfah (2015) menemukan kandungan senyawa aktif dari daun *Carica pubescens* diantaranya yaitu alkaloid, flavonoid dan fenol. Akan tetapi, penelitian yang menjelaskan senyawa turunan dari golongan senyawa aktif tersebut sangat terbatas. Oleh karena itu, dilakukan pendekatan dengan senyawa turunan yang dimiliki oleh daun dari genus *Carica*. Menurut Markham (1988), tumbuhan yang memiliki kekerabatan secara taksonomi memiliki kecenderungan untuk mengandung senyawa yang berkaitan satu sama lain. Yogiraj *et al.* (2015) dalam penelitiannya melaporkan bahwa senyawa turunan alkaloid yang terdapat pada daun genus *Carica* yaitu carpaine dan pseudocarpaine. Untuk senyawa turunan flavonoid yaitu myricetin, malvidin dan peonidin. Sedangkan untuk turunan fenol yaitu ferulic acid, caffeic acid, dan chlorogenic acid.

Selain dengan menurunkan kadar kolesterol dalam serum darah melalui penghambatan aktivitas HMG-KoA reduktase, upaya pengobatan dislipidemia dapat pula dilakukan dengan cara menaikkan kadar HDL dan menurunkan kadar LDL dalam serum darah melalui penghambatan aktivitas CETP. Penelitian Qin *et al.* (2009) menunjukkan bahwa senyawa malvidin dan peonidin berperan penting

dalam penghambatan aktivitas CETP. Senyawa inilah yang dimiliki *Carica pubescens* namun tidak dimiliki oleh kayu manis sehingga perlu dilakukan kombinasi. Dengan adanya kombinasi dua bahan tersebut, diharapkan upaya pengobatan dislipidemia melalui penghambatan aktivitas HMG-KoA reduktase oleh senyawa *rutin* yang dimiliki kulit batang kayu manis dapat dimaksimalkan melalui penghambatan aktivitas CETP oleh senyawa antosianin yang dimiliki daun pepaya gunung.

Uji secara *in silico* dilakukan pada penelitian ini untuk mengetahui potensi dari senyawa aktif yang dimiliki kulit batang kayu manis dan daun pepaya gunung dalam menghambat sintesis kolesterol melalui penghambatan enzim HMG-KoA reduktase. Metode yang digunakan yaitu *molecular docking* (penambatan molekuler), yang bertujuan untuk memodelkan interaksi antara suatu molekul ligan dengan reseptor (protein) yang menjadi target (Ahmed *et al.*, 2004). Senyawa aktif yang dimiliki kulit batang kayu manis dan daun pepaya gunung digunakan sebagai ligan sedangkan reseptornya adalah enzim HMG-KoA reduktase. Hasil *docking* kemudian dibandingkan dengan atorvastatin sebagai obat kontrol. Menurut Meng *et al.* (2011), *molecular docking* saat ini menjadi salah satu metode penting dalam penemuan obat, karena dapat digunakan untuk mengetahui mekanisme kerja suatu senyawa kimia atau makromolekul hingga skala molekuler sebelum dilakukan penelitian secara *in vitro* dan *in vivo*.

Selain itu, uji secara *in vivo* juga dilakukan pada penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dalam menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida dalam darah setelah diberikan

perlakuan. Hewan coba yang digunakan yaitu mencit (*Mus musculus*) strain *Balb/c* dengan jenis kelamin jantan yang diberikan *High Fat Diet* (HFD) agar terjadi peningkatan kolesterol total dan trigliserida dalam darah. Komposisi pembuatan HFD mengacu pada penelitian Wicaksono dan Idris (2013), yaitu kuning telur puyuh, lemak ayam yang dicairkan, dan propylthiourasil (PTU) yang secara signifikan dapat meningkatkan profil lipid pada tikus.

Pembuatan ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan pepaya gunung (*Carica pubescens*) menggunakan pelarut etanol 70%. Penggunaan etanol sebagai pelarut karena sifatnya yang polar sehingga dapat menarik senyawa aktif yang terkandung pada simplisia tumbuhan. Etanol 70% adalah pelarut yang aman karena memiliki toksisitas yang rendah bila dibandingkan dengan methanol. Selain itu, rendemen ekstrak dan konsentrasi tinggi dari senyawa flavonoid pada tanaman bisa terisolasi menggunakan pelarut etanol 70% tersebut (Bimakra *et al*, 2014). Dosis ekstrak yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada penelitian Firdaus (2014) yang menunjukkan bahwa dosis ekstrak kulit batang kayu manis sebanyak 300 mg/kgBB secara signifikan menurunkan kadar kolesterol pada tikus. Oleh karena itu dibuat modifikasi dosis perlakuan pada penelitian ini yaitu dosis 300 mg/kgBB kulit batang kayu manis, dosis 150 mg/kgBB kulit batang kayu manis & 150 mg/kgBB daun pepaya gunung, dan dosis 300 mg/kgBB daun pepaya gunung. Berdasarkan latar belakang tersebut, diharapkan kulit batang kayu manis (*Cinamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dapat digunakan sebagai kandidat obat terhadap penyakit dislipidemia.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian adalah:

1. Apa jenis senyawa aktif pada kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) yang berpotensi menghambat aktivitas HMG-KoA reduktase secara *in silico*?
2. Adakah pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) terhadap kadar kolesterol total dan trigliserida serum darah mencit strain Balb/C jantan (*Mus musculus*) secara *in vivo*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui:

1. Mengetahui jenis senyawa aktif pada kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) yang berpotensi menghambat aktivitas HMG-KoA reduktase secara *in silico*.
2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) terhadap kadar kolesterol total dan trigliserida serum darah mencit strain Balb/C jantan (*Mus musculus*) secara *in vivo*.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

1. H₀ = tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica*

pubescens) terhadap kadar kolesterol total dan trigliserida serum darah mencit strain *Balb/C* jantan (*Mus musculus*).

2. H1 = ada pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) terhadap kadar kolesterol total dan trigliserida serum darah mencit strain *Balb/C* jantan (*Mus musculus*).

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapat dari penelitian ini adalah:

1. Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi ilmiah mengenai jenis senyawa yang dimiliki kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) yang berpotensi sebagai penghambat enzim HMG-KoA reduktase dan pengaruhnya terhadap kadar kolesterol total dan trigliserida pada serum darah.

2. Manfaat aplikatif

Penelitian yang dilakukan diharapkan dapat menjadi rujukan dalam usaha pemanfaatan ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) sebagai alternatif pengobatan dislipidemia 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 pubescens*) diperoleh dari Kawasan Wisata Pemandian Air Panas Cangar.

2. Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) strain *Balb/C* jantan, umur 10-12 minggu dengan berat badan 20-25 gram yang diperoleh dari UPHP (Unit Pengembangan Hewan Percobaan) Jalan Soekarno Hatta Malang.
3. Perlakuan induksi *High Fat Diet* (HFD) dilakukan selama 56 hari dengan komposisi kuning telur puyuh, lemak ayam yang dicairkan, dan PTU.
4. Kontrol Positif menggunakan obat atorvastatin yang diproduksi oleh PT. KALBE FARMA Tbk. (Tiap tablet mengandung 20 mg atorvastatin).
5. Metode penelitian yang digunakan yaitu secara *in silico* dan *in vivo*.
6. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 70%.
7. Perlakuan pemberian ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dilakukan selama 28 hari yang dimulai pada hari ke-29 hingga hari ke-56 induksi HFD.
8. Parameter yang digunakan dalam uji *in vivo* yaitu jumlah kadar kolesterol total dan trigliserida serum darah mencit.
9. Metode yang digunakan untuk mengukur kadar kolesterol yaitu CHOD-PAP.
10. Parameter yang digunakan dalam uji *in silico* yaitu persentase HIA (*Human Intestinal Absorption*), nilai uji PASS (*Prediction of Activity Spectra for Substane*) tiap senyawa, nilai energi bebas (*binding affinity*) dan *binding pose* antara ligan senyawa aktif pada kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dengan reseptor HMG-KoA reduktase.

11. Senyawa yang digunakan untuk uji *in silico* yaitu senyawa rutin, catechin, quercetin, kaempferol, isorhamnetin, cinnamaldehyde, cinnamic acid, cinnamate, carpaine, pseudocarpaine, myricetin, malvidin, peonidin, ferulic acid, caffeic acid, dan chlorogenic acid.
12. Metode yang digunakan dalam uji *in silico* yaitu *molecular docking*.

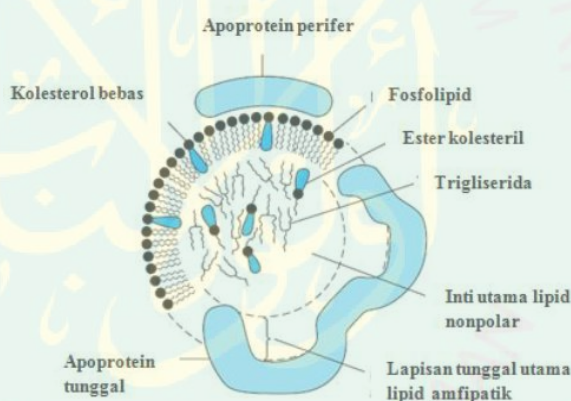


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lipid

Lipid dalam tubuh diperoleh dari lemak yang diserap dari makanan dan lipid yang disintesis di hepar dan jaringan adiposa. Lipid harus dierdarkan ke jaringan tubuh dan organ untuk digunakan atau disimpan. Karena lipid tidak larut air, maka untuk mengangkut lipid dalam plasma darah diperlukan penggabungan lipid nonpolar (trigliserida dan ester kolesterol) dengan lipid amfipatik (fosfolipid dan kolesterol) serta protein untuk menghasilkan lipoprotein yang dapat bercampur dengan air (Murray *et al.*, 2006).



Gambar 2.1 Komponen lipid plasma (Murray *et al.*, 2006)

Lipid dalam plasma darah diangkut dalam bentuk lipoprotein. Lipid plasma yang aktif secara metabolik terdiri dari ter trigliserida (16%), fosfolipid (30%) kolesterol (14%), dan ester kolesterol (36%), serta sedikit asam lemak bebas (4%) (Murray *et al.*, 2006).

2.1.1 Lipoprotein

Lipoprotein merupakan kompleks antara lipid dan protein. Lipoprotein mengangkut lipid dari usus sebagai kilomikron dan dari hepar sebagai lipoprotein dengan densitas yang sangat rendah atau VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) untuk dioksidasi di jaringan tubuh dan disimpan di jaringan adiposa. Lipoprotein tersusun atas inti nonpolar (trigliserida dan ester kolesterol) yang dikelilingi oleh kolesterol dan fosfolipid amfipatik yang membentuk suatu lapisan. Beberapa jenis lipoprotein plasma yang berperan penting secara fisiologis meliputi kilomikron, VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*), LDL (*Low Density Lipoprotein*), dan HDL (*High Density Lipoprotein*) (Murray *et al.*, 2006)

2.1.1.1 Kilomikron

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

2.1.1.2 VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*)

VLDL merupakan lipoprotein dengan berat molekul terbesar kedua setelah kilomikron. VLDL terdiri atas 60 % trigliserida endogen dan 10-15% kolesterol. Jumlah trigliserida menentukan ukuran VLDL. Reseptor VLDL berperan penting dalam penyaluran asam lemak dari trigliserida VLDL ke adiposit, yaitu dengan

mengikat VLDL dan membawanya untuk berinteraksi dengan lipoprotein lipase (Murray *et al.*, 2006).

Trigliserida yang terdapat dalam VLDL terhidrolisis oleh lipoprotein lipase sehingga berubah bentuk menjadi VLDL remnant. VLDL remnant terdiri dari VLDL yang terdegradasi dan kaya ester kolesterol. VLDL remnant 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 enzim lipase menjadi partikel IDL dan LDL (Gilman, 2012).

2.1.1.3 IDL (*Intermediate Density Lipoproteins*)

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).

2.1.1.4 LDL (*Low Density Lipoproteins*)

LDL mengandung 60-70 % kolesterol dan 10 % trigliserida. Fungsi utama LDL adalah membawa kolesterol menuju jaringan ekstra hepatic termasuk ke sel otot jantung, pembuluh darah, otak dan jaringan lain (untuk sintetik membran plasma dan hormon steroid). Kolesterol yang dibawa oleh LDL ke jaringan perifer berfungsi untuk dipecah menjadi energi atau disimpan. Reseptor LDL yang terdapat dihepar yaitu Apo-B 100. Reseptor ini mengeluarkan LDL dari sirkulasi sehingga reseptor tersebut memiliki peran penting dalam pengaturan kadar kolesterol yang terdapat di dalam darah. Sehingga dapat dikatakan proses

penyediaan kolesterol pada jaringan ekstra hepatic dinamakan jalur LDL reseptor sedangkan untuk proses pengembalian kolesterol ke hepar dari jaringan perifer disebut transport kolesterol balik (*reverse cholesterol transport*) (Murray *et al.*, 2006).

2.1.1.6 HDL (*High Density Lypoproteins*)

HDL terdiri dari 13% kolesterol, kurang dari 5% trigliserida dan 50% protein. Tingginya kandungan protein dibandingkan kolesterol yang dimiliki HDL menjadikannya jenis lipoprotein yang merupakan jenis lipoprotein terkecil dan memiliki densitas yang paling tinggi apabila dibandingkan dengan lipoprotein lain. HDL berperan dalam transport kolesterol bebas keluar jaringan yang dikenal sebagai transport kolesterol balik (*reverse cholesterol transport*) pada metabolisme VLDL dan kilomikron. HDL yang baru disintesis mengandung Apo A, C, dan E, serta miskin akan kolesterol, sehingga disebut HDL *nascent* yang menerima kolesterol bebas. Fungsi utama HDL yaitu sebagai tempat penyimpanan apo C dan apo E yang nantinya dibutuhkan dalam proses metabolisme kilomikron dan VLDL. HDL disintesis dari usus dan hepar, namun HDL yang baru terbentuk (*nascent*) dari usus tidak mengandung apoprotein C melainkan hanya apoprotein A (Murray *et al.*, 2006).

Terdapat dua jalur dalam proses pengangkutan kolesterol oleh HDL menuju hepar atau organ steroidogenik seperti adrenal, ovarium, dan testis, yaitu jalur langsung dan tidak langsung. Reseptor Scavenger Reseptor BI (SR-BI) merupakan reseptor HDL yang berfungsi untuk memediasi penyerapan selektif kolesterol dari HDL. Pada metabolisme 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 hepatic lipase sehingga partikel HDL kecil yang tersisa yang akan memulai kembali penyerapan kolesterol dari sel. Kolesterol yang ditranspor ke hepar akan disekresikan ke empedu baik secara langsung maupun tidak langsung setelah dikonversi menjadi asam empedu (Murray *et al.*, 2006).

2.1.2 Kolesterol

Kolesterol terdapat di jaringan dan plasma darah sebagai kolesterol bebas atau dalam bentuk simpanan yang berikatan dengan asam lemak rantai panjang sebagai ester kolestril. Kolesterol merupakan lipid amfipatik dan merupakan komponen struktural esensial pada membran sel dan lapisan luar lipoprotein plasma. Kolesterol disintesis di banyak jaringan dari asetil-KoA dan merupakan prekursor semua steroid lain di tubuh termasuk kortikosteroid, hormon seks, asam empedu, dan vitamin D. Kolesterol banyak ditemukan pada makanan hewani misalnya kuning telur, daging, hati, dan otak. Selain itu kolesterol juga disintesis sendiri oleh tubuh. Kolesterol dan ester kolestril diedarkan ke banyak jaringan dengan bantuan LDL. Sementara itu, untuk mengeluarkan kolesterol dari jaringan dibantu oleh HDL untuk diangkut ke hepar dan melakukan transport balik (Murray *et al.*, 2006).

2.1.2.1 Biosintesis Kolesterol

Biosintesis kolesterol dapat dibagi menjadi lima tahapan (Murray *et al.*, 2006):

1. Biosintesis Mevalonat

Asetil-KoA sebanyak dua molekul bersatu membentuk asetoasetil-KoA yang dikatalis oleh tiolase sitosol. Asetoasetil-KoA kemudian diubah menjadi HMG-KoA (3-hidroksi-3-metilglutaril-KoA) dengan dikatalis oleh HMG-KoA sintase. Kemudian HMG-KoA direduksi menjadi mevalonat oleh NADPH dan dikatalis oleh HMG-KoA reduktase. Tahapan ini dianggap sebagai tahapan regulatorik utama di jalur sintesis kolesterol dan merupakan tempat kerja golongan obat penurun kolesterol paling efektif, yaitu inhibitor HMG-KoA reduktase (golongan statin).

2. Pembentukan Unit Isoprenoid

Mevalonat digunakan untuk membentuk unit isoprenoid dengan menghilangkan CO₂ sehingga terbentuk isoprenoid difosfat.

3. Pembentukan Skualen

Enam unit isoprenoid mengadakan kondensasi sehingga terbentuk skualen.

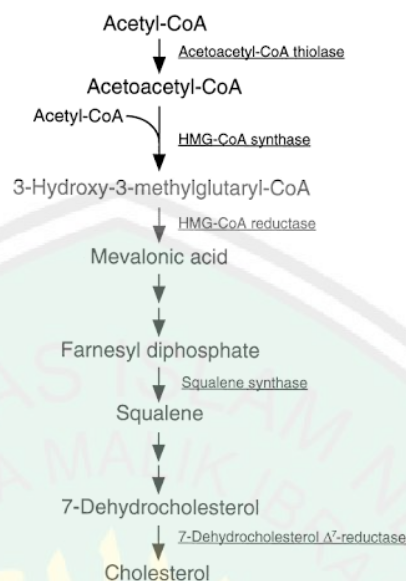
4. Pembentukan Lanosterol

Skualen mengalami siklisasi untuk menghasilkan senyawa steroid induk, yaitu lanosterol dengan dikatalis oleh oksidoskualen (lanosterol siklase).

5. Pembentukan Kolesterol

Pembentukan kolesterol dari lanosterol berlangsung di membran retikulum endoplasma. Lanosterol melewati beberapa tahapan lebih lanjut yang

melibatkan pertukaran-pertukaran di inti steroid dan rantai samping hingga terbentuklah kolesterol.



Gambar 2.2 Biosintesis kolesterol (Murray *et al.*, 2006)

2.1.2.2 Pengaturan Biosintesis Kolesterol

Sintesis kolesterol diatur pada saat menjelang awal jalur reaksi ketika tahap HMG-KoA redukase berperan. Selain itu, pembentukan kolesterol pada hewan berkurang seiring dengan berkurangnya asupan makanan. Kolesterol dan metabolitnya menekan transkripsi *sterol regulatory element binding protein* (SREBP). SREBP adalah suatu famili protein yang mengatur transkripsi berbagai gen yang berperan dalam penyerapan dan metabolisme kolesterol serta lipid lain oleh sel (Murray *et al.*, 2006).

2.1.2.3 Pengaturan Keseimbangan Kolesterol

Keseimbangan kolesterol di jaringan diatur oleh berbagai faktor. Peningkatan kolesterol pada jaringan terjadi karena penyerapan lipoprotein yang mengandung kolesterol oleh reseptor misalnya reseptor LDL atau SR-B1, sintesis kolesterol,

penyerapan kolesterol bebas dari lipoprotein yang kaya kolesterol ke membran sel, dan hidrolisis ester kolesterol oleh enzim ester kolestril hidrolase. Sedangkan penurunan kolesterol disebabkan oleh refluks kolesterol dari membran ke HDL melalui ABCA-1 atau SR-B1, esterifikasi kolesterol oleh ACAT (asil-KoA kolesterol asiltransferase) dan pemakaian kolesterol untuk membentuk steroid lain, misalnya hormon atau asam empedu di hepar (Murray *et al.*, 2006).

2.1.3 Triglicerida

Triglicerida merupakan ester alkohol gliserol dan tiga molekul asam lemak. Triglicerida terdiri dari tiga molekul asam lemak teresterifikasi menjadi gliserol, suatu lemak netral yang disintesi dari karbohidrat untuk disimpan dalam jaringan lemak (Dorland, 2002). Di dalam tubuh, triglicerida berperan untuk menyediakan energi bagi proses metabolik. Akan tetapi, beberapa lipid, terutama kolesterol, fosfolipid dan sejumlah kecil triglicerida, dipakai di seluruh tubuh untuk membentuk membran sel dan untuk melakukan fungsi-fungsi seluler yang lain (Guyton, 1997). Triglicerida ada dalam darah sebagai makromolekul yang membentuk kompleks dengan protein tertentu (apoprotein) sehingga membentuk lipoprotein. Lipoprotein itulah bentuk transportasi yang dipakai untuk mengenali dan mengukur triglicerida (Wildman, 1995).

2.1.3.1 Metabolisme Triglicerida

Biosintesis triglicerida berlangsung ketika dua molekul asil-KoA yang dibentuk melalui pengaktifan asam lemak oleh asil-KoA sintetase. Dua molekul asil-KoA ini lalu berikatan dengan gliserol 3-fosfat membentuk senyawa fosfatidat (1,2-disilgliserol fosfat). Proses ini berlangsung dalam dua tahap, yaitu

dikatalisis oleh gliserol-3-fosfat asiltransferase membentuk lisofosfatidat kemudian dikatalis oleh 1-asilgliserol-3-fosfat asiltransferase membentuk senyawa fosfatidat. Fosfatidat dikatalis oleh fosfatidat fosfohidrolase membentuk senyawa 1.2 diasilgliserol, kemudian oleh diasilgliserol asiltransferase (DGAT) membentuk senyawa triasilgliserol (Murray *et al.*, 2006).

2.1.4 Metabolisme Lipid

2.1.4.1 Jalur metabolisme eksogen

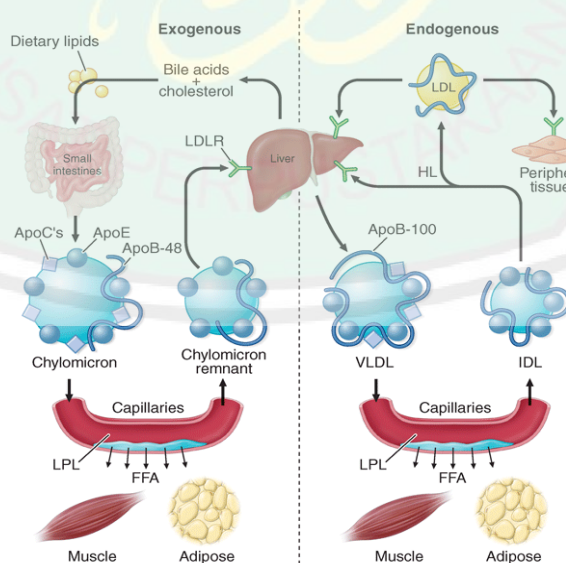
Trigliserida dan kolesterol merupakan partikel besar kilomikron dari lipoprotein yang bersumber dari makanan yang dikemas dalam usus. Kilomikron akan membawa trigliserida dan kolesterol dalam aliran darah kemudian trigliserida mengalami penguraian yang disebabkan oleh enzim lipoprotein lipase sehingga terbentuknya kilomikron remnan dan asam lemak bebas. Asam lemak bebas akan menembus jaringan lemak atau sel dalam otot dan diubah menjadi trigliserida kembali yang digunakan sebagai cadangan energi sedangkan kolesterol bebas yang dihasilkan dari kilomikron remnan dimetabolisme dalam hepar (Cakrawati, 2012).

Kolesterol yang sampai ke dalam organ hepar sebagaian akan diubah menjadi asam empedu kemudian dikeluarkan ke dalam usus yang fungsinya seperti detergen dan dapat membantu dalam proses penyerapan lemak dari makanan, sebagian lain dari kolesterol akan dikeluarkan melalui saluran empedu tanpa adanya metabolisme menjadi asam empedu dan organ hepar medistribusikan kolesterol melalui jalur endogen ke jaringan tubuh lainnya, kemudian sisanya (kilomikron yang lemaknya telah diambil) dibuang oleh hepar dari aliran darah (Cakrawati, 2012).

2.1.4.2 Jalur Metabolisme Endogen

Hepar mensintesis trigliserida dan kolesterol lalu diedarkan melalui aliran darah dalam bentuk VLDL. Enzim Lipoprotein lipase akan memetabolisme VLDL menjadi IDL dan menjadi LDL melalui proses hidrolisis yang banyak mengandung kolesterol. Kandungan LDL dalam plasma normal manusia kira-kira terdapat $\frac{3}{4}$ dari kolesterol total yang bertugas untuk menghantarkan kolesterol ke seluruh tubuh (Cakrawati, 2012).

Kolesterol yang tidak dibutuhkan kemudian akan dilepaskan kedalam darah dengan berikatan pada HDL, fungsi HDL untuk membuang kelebihan kolesterol dalam tubuh dan dinamakan kolesterol baik dan mengalami oksidasi kemudian ditangkap oleh reseptor scavenger-A (SR-A) dalam makrofag dan kemudian menjadi sel busa (*foam cell*). Kilomikron mengirim trigliserida ke sel-sel dalam tubuh dan membawa lemak lemak dari usus yang besar dari makanan. Sedangkan LDL pengirim kolesterol utama ke sel-sel tubuh yang berasal dari pemecahan IDL (bentuk sebelumnya VLDL) (Kusuma, 2010).



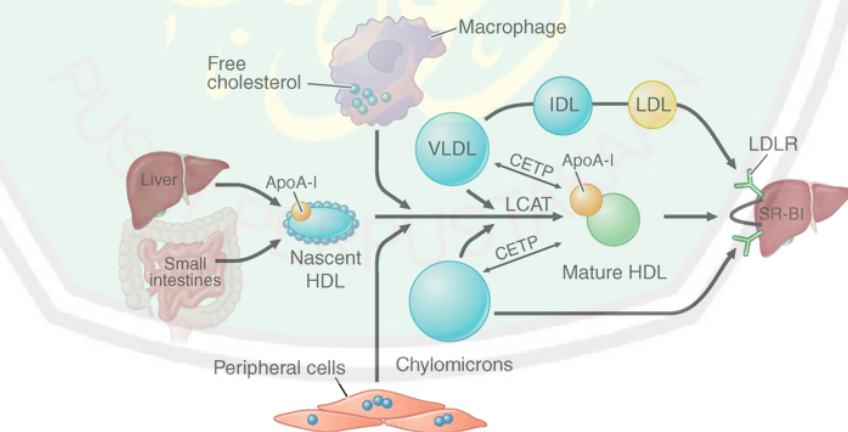
Source: Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J: Harrison's Principles of Internal Medicine, 18th Edition; www.accessmedicine.com
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Gambar 2.3 Jalur eksogen dan endogen pada metabolisme lipid (Dan, 2011)

2.1.4.3 Jalur Reverse Cholesterol Transport

HDL dilepaskan sebagai partikel kecil yang kekurangan kolesterol dan terdapat apolipoprotein (apo) A, C, dan E. HDL ini dinamakan HDL nascent yang berasal dari usus halus dan hepar kemudian mengambil kolesterol yang tersimpan di dalam makrofag dan merubahnya menjadi HDL dewasa (Kwiterovich, 2000).

Kolesterol HDL yang telah diambil dengan bantuan enzim *Lecithin cholesterol acyltransferase* (LCAT) akan diesterifikasikan menjadi kolesterol ester. Ada dua jalur dalam mentranspor kolesterol ester, Jalur yang pertama reseptor kolesterol-HDL akan menangkap jalur pada hepar dan jalur kedua dengan bantuan CETP (Cholesterol ester transfer protein) akan menukarkan kolesterol ester yang berada pada HDL dengan trigliserida dari VLDL dan IDL, dalam hal ini fungsi HDL adalah membersihkan kolesterol dari makrofag terdapat dua jalur yaitu langsung ke hepar dan tidak langsung dengan melalui VLDL dan IDL sehingga akan kembali ke hepar (Kwiterovich, 2000)



Source: Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J: *Harrison's Principles of Internal Medicine, 18th Edition*: www.accessmedicine.com
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Gambar 2.4 Jalur reverse cholesterol transport (Dan, 2011)

2.2 Dislipidemia

2.2.1 Definisi

Dislipidemia didefinisikan sebagai suatu kelainan metabolisme lipid dimana fraksi lipid dalam serum darah mengalami peningkatan atau penurunan dari kadar normal. Kelainan fraksi lipid ditandai dengan kenaikan kadar kolesterol total, Low Density Lipoprotein (LDL), dan trigliserida serta penurunan kadar High Density Lipoprotein (HDL) (Price, 2012). Dislipidemia memiliki peranan penting dalam terbentuknya aterosklerosis yang merupakan penyebab dari penyakit jantung koroner (Gupta, 2017). *National Cholesterol Education Program Adult Panel III* (NCEP ATP) mengklasifikasikan dislipidemia berdasarkan kondisi profil lipid (Grunday, 2002).

Tabel 2.1 Klasifikasi Kolesterol Total, Kolesterol LDL, Kolesterol HDL, dan Trigliserida menurut NCEP ATP III 2001 (mg/dl)

Kolesterol Total < 200 200-239 ≥ 240	Optimal Diinginkan Tinggi
Kolesterol LDL < 100 100-129 130-159 160-189 ≥ 190	Optimal Mendekati optimal Diinginkan Tinggi Sangat tinggi
Kolesterol HDL < 40 ≥ 60	Rendah Tinggi
Trigliserida < 150 150-199 200-499 ≥ 500	Optimal Diinginkan Tinggi Sangat tinggi

Dislipidemia disebabkan oleh kelainan metabolisme yang menyebabkan peningkatan kolesterol dan trigliserida secara terus-menerus. Terdapat tiga tipe dislipidemia diantaranya yaitu hiperkolesterolemia, hipertrigliseridemia, dan hiperlipidemia campuran (Moor, 2017).

2.2.2 Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia adalah suatu keadaan dimana kadar kolesterol di dalam darah melebihi batas normal yang ditandai dengan kenaikan kolesterol total, LDL, dan VLDL dalam darah. Hiperkolesterolemia merupakan suatu faktor resiko terjadinya penyakit kardiovaskuler yang banyak terjadi di masyarakat (Poertjoyo, 1997). Faktor penyebab hiperkolesterolemia antara lain faktor makanan yang rendah serat tetapi tinggi lemak ditambah dengan gaya hidup yang tidak sehat seperti kurang olah raga, merokok, dan lain-lain (Utaminingsih, 2009). Menurut NCEP ATP III 2001, seseorang dikatakan hiperkolesterolemia apabila kolesterol total mencapai ≥ 240 mg/dl

2.2.3 Hipertrigliseridemia

Hipertrigliseridemia merupakan tingginya kadar trigliserida dalam darah. Kadar trigliserida pada manusia dikatakan normal apabila sebesar < 150 mg/dl, dan dikatakan tinggi apabila mencapai >150 mg/dl (Rani, 2008). Tingginya kadar trigliserida dapat meningkatkan resiko terjadinya penyakit jantung dan pembuluh darah. Beberapa faktor yang mempengaruhi kadar trigliserida yaitu usia, jenis kelamin, aktivitas fisik dan asupan. Aktivitas fisik yang rendah dan pola makan yang salah beresiko menyebabkan penumpukan lemak serta trigliserida dalam tubuh (Kyun, 2009).

2.3 Induksi *High Fat Diet* (HFD)

Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) strain Balb/C. Mencit jantan dinilai dapat memberikan penelitian hasil yang stabil dikarenakan tidak dipengaruhi oleh siklus menstruasi dan kehamilan seperti yang terjadi pada mencit betina. Mencit memiliki siklus hidup yang relatif pendek sehingga sebanyak 40-80% penelitian menggunakannya sebagai hewan coba. Usia mencit yang tepat untuk digunakan dalam penelitian dislipidemia yaitu 10-12 minggu karena pada usia tersebut siklus hidup mencit setara dengan manusia pada usia dewasa awal sehingga belum mengalami penuaan (Harini, 2009).

Upaya peningkatan kadar kolesterol dan trigliserida mencit pada penelitian ini dilakukan dengan induksi pakan tinggi lemak atau high fat diet (HFD). Wicaksono dan Idris (2013) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa pemberian HFD selama 21 hari dengan komposisi kuning telur puyuh 1.5 ml, lemak ayam yang telah dicairkan, 0.375 ml dan propylthiouracil (PTU) pada tikus 200 gram dapat menaikkan profil lipid secara signifikan. Menurut Gupta (2000), pemberian telur puyuh dapat meningkatkan kadar kolesterol dan trigliserida. Sedangkan lemak ayam dapat meningkatkan LDL sebanyak 47-63%.

PTU (propylthiouracil) merupakan zat antitiroid golongan tionamida yang bekerja menghambat enzim peroksidase sehingga oksidasi ion iodide dan gugus iodotirosil terganggu. pemberian PTU yang berlebihan dapat menekan kadar hormon tiroid dalam darah sehingga terjadi hipotoroidisme. Manifestasi dari hipotiroidisme adalah lambatnya metabolisme sehingga lemak tidak terpecah. Pada induksi HFD, PTU diharapkan dapat membantu meningkatkan kadar profil lipid dalam darah (Suharti, 2007).

2.4 Ekstraksi

2.4.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi dapat dikatakan sebagai suatu proses pemisahan satu atau lebih komponen 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 (Risya dkk., 2016). Sumber lain menjelaskan bahwa ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan aktif yang terdapat di dalam sel atau jaringan tanaman yang memiliki sifat inaktif menggunakan pelarut yang sesuai dengan polaritasnya (Nugrahaningtyas *et al.*, 2005).

Kualitas dari ekstraksi 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 polaritas. Ekstraksi biasanya menggunakan bahan dengan ukuran kecil, hal tersebut dimaksudkan untuk dapat memperluas bidang permukaan bahan sehingga mempercepat masuknya pelarut ke dalam bahan dan mempercepat waktu ekstraksi (Tiwari dan Mandeep, 2011).

2.4.2 Pelarut Etanol

Etanol atau alkohol (C_2H_5OH) merupakan cairan tidak berwarna, mudah menguap, mudah terbakar dan larut dalam air. Etanol memiliki gugus hidroksil (OH) yang menyebabkannya bersifat polar. Senyawa polar adalah senyawa yang larut di dalam air (Dintith, 1994).

2.4.3 Maserasi

Maserasi merupakan metode yang paling umum digunakan untuk ekstraksi karena mudah dilakukan dan menggunakan alat yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan perendaman serbuk simpilisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat-zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Maserasi membutuhkan waktu yang cukup lama karena dalam pengerjaannya hanya dilakukan perendaman agar terjadi osmosis, sehingga perlu pergantian pelarut atau remaserasi agar zat-zat yang terkandung sebagian besar dapat ditarik oleh pelarut (Nugrahaningtyas *et al.*, 2005).

2.5 Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

2.5.1 Klasifikasi Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

Cinnamomum burmannii merupakan tumbuhan asli Asia Selatan, Asia Tenggara dan daratan Cina, dan Indonesia termasuk di dalamnya. Jenis kayu manis yang umum di pasar Indonesia yaitu *Cinnamomum burmannii*. *Cinnamomum burmannii* di Indonesia tumbuh banyak tumbuh 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	: <i>Cinnamomum burmannii</i> Nees & T. Nees

2.5.2 Karakteristik dan Morfologi Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

Cinnamomum burmannii adalah tanaman yang masuk kedalam 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 25°C dengan batas suhu minimum 18° C dan maksimum 27°C. 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, 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 terdapat tepung yang melingkupi permukaannya. Memiliki bentuk daun elips

dengan panjang 4 – 14 cm dan lebar 1,5 – 6 cm, berujung runcing, tepi daun rata (Thomas, 2001).

2.5.3 Manfaat Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

Allah SWT menciptakan berbagai macam tumbuhan di muka bumi ini sebagai salah satu bukti kebesaran dan kekuasaan-Nya. Berbagai macam tumbuhan yang Allah SWT ciptakan bertujuan agar manusia dapat memanfaatkannya, baik sebagai sumber makanan, sandang, papan, dan sebagai sumber obat hayati. Allah SWT berfirman dalam al-Quran surat Asy-Syu'araa (26):7-8.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۚ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً ۚ وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. Dan kebanyakan mereka tidak beriman”.

Kalimat زَوْجٍ كَرِيمٍ bermakna tumbuhan yang baik. Al-Jazairi (2008) menafsirkan bahwa yang dimaksud dengan tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang bermanfaat dan tidak membahayakan. Kebaikan atau manfaat yang dimiliki tumbuhan itulah yang Allah SWT peruntukkan bagi manusia untuk memenuhi kebutuhannya. Dengan memanfaatkan tumbuhan yang Allah ciptakan, manusia dapat merasakan tanda-tanda kekuasaan Allah sehingga dapat menambah keimanan kepada-Nya. Tumbuhan yang baik dan bermanfaat yang telah Allah SWT ciptakan salah satunya yaitu kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) yang telah banyak dilaporkan memiliki efek farmakologis dan manfaat bagi kesehatan.

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).

2.5.4 Senyawa Aktif dalam Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

Senyawa aktif yang terdapat pada kayu manis yaitu senyawa polifenol yang terkandung di dalam kulit batang kayu manis. Polifenol yang terdapat di dalam kulit batang kayu manis mengandung senyawa turunan yaitu rutin, quercetin, kaempferol, isorhamnetin, dan catechin (Rao, 2014). Komponen bioaktif lain yang terdapat pada kayu manis yaitu *cinnamaldehyde*, *cinnamic acid*, *cinnamate*, dan *essential oil* (Baker, 2008).

Beberapa senyawa turunan dari kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) yang diketahui memiliki fungsi menghambat aktivitas enzim HMG-KoA reduktase antara lain:

1. Rutin

Rutin merupakan turunan dari golongan flavonoid dari jenis flavonol. Ziaee *et al.* (2009) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa senyawa rutin yang diberikan pada tikus dislipidemia secara signifikan ($p < 0.05$) dapat

menurunkan kadar lipid dalam plasma dan jaringan, menurunkan kadar LDL dan VLDL, menurunkan aktivitas HMG-KoA reduktase, menaikkan aktivitas enzim LPL dan LCAT pada plasma, dan menaikkan kadar kolesterol-HDL.

2. Catechin

Catechin merupakan senyawa yang membawa warna cerah pada kebanyakan tanaman. Catechin termasuk dalam golongan flavonoid dari jenis flavonol. Catechin memiliki efek hipokolesterolemik dengan menghambat HMG-KoA reduktase dan meningkatkan aktivitas reseptor pengikat LDL di hepar. Dengan pemberian catechin menunjukkan peningkatan ekspresi gen reseptor LDL dan mempengaruhi metabolisme lipoprotein (Pal, 2003).

3. Quercetin

Quercetin merupakan turunan dari golongan flavonoid. Quercetin terbukti secara signifikan menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida, menaikkan kadar HDL, dan menurunkan aktivitas HMG-KoA reduktase. Hasil ini menunjukkan bahwa cinaminate dapat menghambat aktivitas HMG-KoA, sehingga menurunkan kadar kolesterol dalam plasma darah dan menekan peroksidasi lipid melalui peningkatan aktivitas enzim antioksidan di hepar (Bok *et al.*, 2002).

2.6 Pepaya Gunung (*Carica pubescens*)

2.6.1 Klasifikasi Pepaya Gunung (*Carica pubescens*)

Carica Pubescens atau di Indonesia lebih dikenal dengan Pepaya Gunung memiliki 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, 2013).

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

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dillenidae
OrdO	: Violales
Famili	: Caricaceae
Genus	: Carica
Spesies	: <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch

2.6.2 Morfologi dan Karakteristik Pepaya Gunung (*Carica pubescens*)

Apabila diperhatikan morfologinya secara umum *Carica pubescens* menyerupai *Carica papaya*, akan tetapi kedua tanaman tersebut memiliki perbedaan morfologi. *Carica pubescens* terdapat bulu pada beberapa organ tumbuhan tersebut. Hal tersebut sesuai dengan arti kata *pubescens* yang memiliki arti bulu/rambut. Penelitian Laily (2012) yang dilakukan di daerah dieng menjelaskan 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, 2012).

2.6.3 Senyawa Aktif Pepaya Gunung (*Carica pubescens*)

Pepaya gunung (*Carica pubescens*) merupakan tanaman yang belum banyak diteliti, sehingga berpeluang besar untuk dikaji mengenai potensinya, misalnya dalam pengobatan dislipidemia. Penelitian yang dilakukan Indranila dan Ulfah (2015) menemukan kandungan senyawa aktif dari daun *Carica pubescens* diantaranya yaitu alkaloid, flavonoid dan fenol. Akan tetapi, penelitian yang menjelaskan senyawa turunan dari golongan senyawa aktif tersebut sangat terbatas. Oleh karena itu, dilakukan pendekatan dengan senyawa turunan yang dimiliki oleh daun dari genus *Carica*. Menurut Markham (1988), tumbuhan yang memiliki kekerabatan secara taksonomi memiliki kecenderungan untuk mengandung senyawa yang berkaitan satu sama lain.

Penelitian Yogiraj (2015) menyatakan bahwa senyawa metabolit yang umum ditemukan pada daun genus *Carica* memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, dan fenol. Senyawa turunan alkaloid yang terdapat pada daun pepaya gunung yaitu carpaine dan pseudocarpaine. Senyawa turunan flavonoid yaitu myricetin, malvidin dan peonidin. Sedangkan untuk turunan fenol yaitu ferulic acid, caffeic acid, dan chlorogenic acid. Qin (2009) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa

senyawa myricetin dan malvidin yang merupakan turunan dari senyawa antosianin bersifat antidislipidemia dengan menghambat kerja CETP.

2.7 Atorvastatin

Pengobatan penyakit dislipidemia pada saat ini semakin berkembang seiring dengan perkembangan teknologi. Berbagai upaya dilakukan untuk mencari bahan alam yang berpotensi sebagai obat hiperkolesterolemia. Salah satu obat yang digunakan adalah obat golongan statin yang hingga saat ini secara luas digunakan oleh masyarakat untuk menyembuhkan hiperkolesterolemia. Hal ini berkaitan dengan hadits shohih yang diriwayatkan oleh Imam Muslim dari Jabir bin Abdillah, bahwa Rasulullah SAW bersabda:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

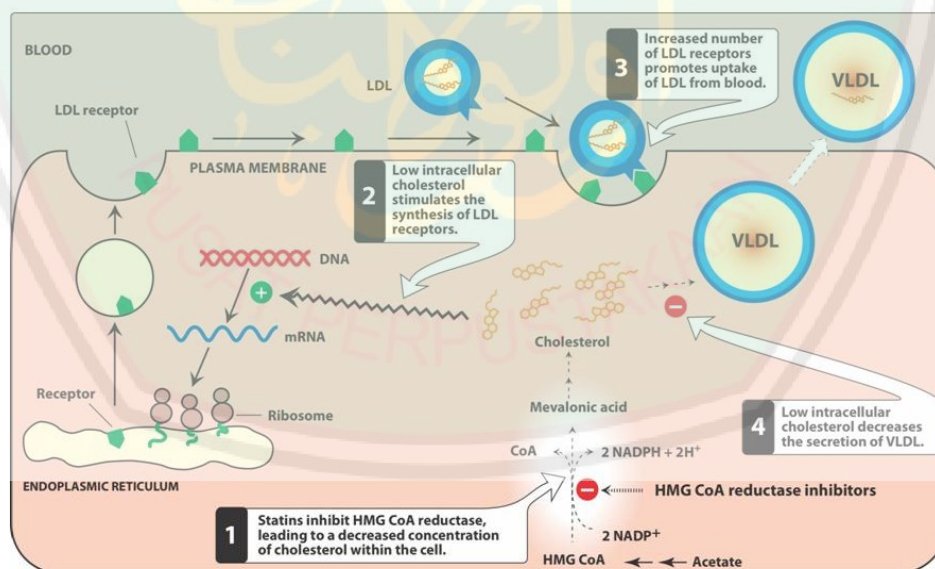
“Setiap penyakit ada obatnya, dan bila telah ditemukan dengan tepat obat suatu penyakit, niscaya akan sembuh dengan izin Allah Azza wa Jalla” (HR. Muslim no. 2204).

Rasulullah SAW melalui hadits tersebut menyampaikan informasi kepada kita bahwa لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ “setiap penyakit ada obatnya”. Dari kalimat tersebut dapat kita ketahui bahwa Allah SWT dengan segala kesempurnaan-Nya menciptakan berbagai jenis penyakit lengkap dengan penciptaan obatnya. Maka apabila manusia sakit dan mengkonsumsi obat yang sesuai dengan penyakit tersebut, Allah SWT akan menyembuhkannya jika Allah mengizinkan. Hal ini selayaknya dijadikan pengingat bagi manusia untuk senantiasa bersyukur atas nikmat kesehatan yang telah Allah SWT berikan.

Obat golongan statin hingga saat ini masih dijadikan obat utama dalam penyembuhan dislipidemia dan digunakan secara luas oleh masyarakat. 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, 2011).

Statin bekerja dengan menghambat enzim HMG-CoA reduktase sehingga tidak terbentuk mevalonate. Sehingga, kolesterol mengalami penurunan kadar karena tidak disintesis (Murray, 2009). Atorvastatin juga dapat menurunkan kadar trigliserida dan LDL. Atorvastatin menurunkan trigliserida dengan cara membatasi sekresi VLDL dari hepar. Efek lain dari atorvastatin yaitu meningkatkan pembersihan trigliserida yang kaya lipoprotein dengan induksi LDL reseptor yang berasal dari plasma. Penelitian Guerin (2000) juga membuktikan obat golongan statin dapat menghambat aktivitas reseptor CETP sebanyak 5-10% dan meningkatkan konsentrasi HDL sebesar 35%.



Harvey RA. *Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology*. 5th ed. Baltimore, MD: Lippincott, Williams & Wilkins; 2012.

Gambar 2.5 Mekanisme penghambatan HMG-KoA reduktase oleh statin (Harvey, 2012)

2.8 Analisis *In Silico* Melalui Pendekatan *Molecular Docking*

2.8.1 Definisi

In silico merupakan metode yang memanfaatkan bantuan perangkat komputer yang saat ini banyak dikembangkan dan diterapkan secara luas, salah satunya untuk membantu pengembangan dalam bidang farmakologi. *Molecular docking* (penambatan molekuler) merupakan salah satu metode *in silico* yang akan memperlihatkan ikatan terbaik antara dari ligan dan protein (reseptor). *Molecular docking* digunakan untuk mencari posisi optimal molekul ligan sehingga cocok secara geometris dan energi dengan sisi aktif pengikatan protein target (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, 2015).

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

Interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor akan menghasilkan nilai energi bebas Gibbs (ΔG) atau *binding affinity* serta aktivitas dari molekul tersebut (Onkara, 2013). Hasil proses docking yang menghasilkan ΔG dijadikan sebagai parameter utama yang digunakan untuk mengetahui kestabilan ikatan antara ligan dan protein. Interaksi ikatan antara ligan dan reseptor nantinya akan berada pada

kondisi energi yang paling rendah. Hasil energi yang paling rendah menunjukkan kestabilan posisi molekul, sehingga semakin rendah nilai energi ikatan maka interaksi antara ligan dan reseptor menjadi semakin stabil (Arwansyah dan Hasrianti, 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).

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

Jenis *molekuler docking* yang dilakukan pada penelitian ini yaitu menggunakan metode *docking* protein-ligan kecil. Protein yang digunakan pada uji *in silico* ini menggunakan reseptor HMG-KoA reduktase. Sedangkan ligan yang digunakan yaitu senyawa aktif yang berasal dari kulit batang kayu manis (*Cinamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica papaya*). Senyawa yang digunakan sebagai ligan yaitu rutin, catechin, quercetin, kaempferol, isorhamnetin, cinnamaldehyde, cinnamic acid, cinnamate, carpaine,

pseudocarpaine, myricetin, malvidin, peonidin, ferulic acid, caffeic acid, dan chlorogenic acid.

2.8.2 Database dan Perangkat Lunak untuk *Molecular Docking*

Ligan dan reseptor yang digunakan dalam proses *molecular docking* diperoleh dari database. Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>) merupakan database yang digunakan untuk mencari protein reseptor dan PubChem (<http://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) digunakan untuk mencari ligan. Sedangkan perangkat lunak yang digunakan dalam proses docking antara lain Autodock Vina, PyMOL, Discovery Studio Visualizer, PASS *Online*, dan Pre-ADMET *Online*.

2.8.2.1 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 dan asam nukleat yang berjumlah lebih dari 32.500 molekul. Molekul-molekul yang terdapat pada PDB merupakan molekul yang berasal dari organisme di bumi, antara lain manusia, hewan, 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 *molecular docking*.

2.8.2.2 PubChem

PubChem (<http://www.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 melakukan penelitian di ranah biologi molekuler di seluruh dunia (DeLano dan Bromberg, 2004). Database PubChem berisi struktur kimia suatu senyawa yang digunakan sebagai ligan dalam proses *molecular docking*.

2.8.2.3 PyMOL

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

2.8.2.4 AutoDock Vina

AutoDock Vina adalah software yang digunakan untuk *molecular docking* yang efektif, cepat, dan akurat. AutoDock Vina dapat memprediksi konformasi dan energi dari interaksi ikatan antara ligan dan target molekul. Selain dapat digunakan sebagai *molecular docking*, AutoDock Vina juga dapat digunakan untuk *virtual screening* (Sandeep et al., 2011).

Vina memiliki fungsi yang beragam, tingkat kinerjanya tinggi dan meningkatkan akurasi untuk mempermudah penggunaan. Aplikasi ini dapat memproses penambatan lebih dari satu molekul sekaligus serta meminimalkan ukurannya agar proses docking tidak terlalu lama. Penambatan melalui aplikasi ini akan menghasilkan score docking yang diperoleh dari interaksi suatu molekul ligan dengan reseptor (Trott dan Olson, 2009)

2.8.2.5 Discovery Studio Visualizer

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

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

Software *online* PASS umumnya dilakukan sebelum melakukan proses *molecular docking*. PASS merupakan software yang digunakan untuk memprediksi berbagai aktivitas biologi yang terdapat pada suatu senyawa (Jamkhande, 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 dikatakan 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, 2012).

Hasil yang didapat dari proses prediksi software PASS yaitu menunjukkan aktivitas biologi dengan kemungkinan aktif (P_a = *probable activity*) dan kemungkinan tidak aktif (P_i = *probable inactivity*). Nilai P_a dan P_i yang didapat bermacam-macam, nilai P_a dan P_i berawal dari 0,000 hingga 1,000 sehingga secara umum nilai $P_a + P_i \neq 1$. Penjelasan dari hasil prediksi PASS yaitu sebagai berikut, (i) Senyawa dengan nilai $P_a > P_i$ memiliki kemungkinan sebagai senyawa yang baik, (ii) jika nilai $P_a > 0,7$ 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, 2012).

2.8.2.7 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. Pre-ADMET dioperasikan agar mendapatkan informasi tentang kemampuan dalam absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi (ADME), serta tentang sifat toksis yang dihasilkan oleh suatu senyawa kimia (Kang, 2005). Pada software Pre-ADMET salah satu uji yang dilakukan yaitu uji HIA. Uji HIA (*Human Intestinal Absorption*) merupakan uji yang digunakan untuk melakukan 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 dan Jurs, 1998).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian secara *in silico* pada penelitian ini menggunakan metode deskriptif eksploratif untuk mengetahui potensi dari senyawa aktif kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dalam menghambat reseptor HMG-KoA reduktase. Penelitian jenis ini bertujuan untuk menemukan sebuah data yang dapat memberikan definisi atau penjelasan mengenai konsep atau pola yang digunakan dalam penelitian.

Penelitian secara *in vivo* yang dilakukan merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sebanyak 6 perlakuan dan 5 ulangan, bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) terhadap kadar kolesterol total dan trigliserida mencit jantan yang diinduksi *High Fat Diet* (HFD).

3.2 Waktu dan Tempat

Waktu melaksanakan penelitian ini yaitu bulan Juli hingga September 2017. Penelitian ini bertempat di Laboratorium Hewan Coba dan Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, serta Laboratorium Biomedik Universitas Muhammadiyah Malang dengan rincian sebagai berikut :

Tabel 3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Jenis Kegiatan	Waktu												Tempat
	Juli				Agust				Sept				
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3		
Pembuatan ekstrak etanol 70 % kulit batang kayu manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>), daun pepaya gunung (<i>Carica pubescens</i>)													Lab. Fisiologi Tumbuhan
Aklimatisasi													Lab. Hewan Coba
Pemberian HFD													Lab. Hewan Coba
Pemberian HFD + ekstrak etanol 70% kulit batang <i>Cinnamomum burmannii</i>) dan daun <i>Carica pubescens</i>)													Lab. Hewan Coba
Pembedahan dan pengambilan data													Lab. Fisiologi Hewan dan Lab. Biomedik

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Uji *In Silico*

1. Variabel bebas

Ligan, yakni senyawa aktif yang berasal dari kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*).

2. Variabel terikat

Persentase HIA (*Human Intestinal Absorption*), nilai uji PASS (*Prediction of Activity Spectra for Substane*) tiap senyawsa, nilai energi bebas (*binding affinity*) dan *binding pose* antara ligan senyawa aktif pada kulit batang kayu

manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dengan reseptor HMG-KoA reduktase.

3. Variabel kontrol

Metode *molecular docking*.

3.3.2 Uji *In Vivo*

1. Variabel bebas

Dosis kombinasi ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*).

2. Variabel terikat

Kadar kolesterol total dan trigliserida pada serum darah mencit (*Mus musculus*).

3. Variabel kontrol

- Hewan coba: mencit (*Mus musculus*) strain *Balb/c* jantan umur 12 minggu dengan berat badan 20-25 gram, gerak aktif serta bulu mengkilap dan tidak rontok.
- Cara pemeliharaan: mencit diaklimatisasi selama 1 minggu di Laboratorium Hewan Coba sebelum perlakuan. Selama aklimatisasi mencit diberi makan BR-1 dan minum air mineral.
- Induksi *High Fat Diet* (HFD) dilakukan secara oral
- Perlakuan: teknik pemberian kombinasi ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dilakukan secara oral

3.4 Populasi dan Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba 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 sebanyak 6 perlakuan dan 5 ulangan dengan rincian sebagai berikut:

1. N (Normal): tanpa induksi *High Fat Diet* HFD dan tanpa pemberian ekstrak selama 56 hari
2. K- (Kontrol negatif): diinduksi *High Fat Diet* (HFD) selama 56 hari
3. K+ (Kontrol positif): diinduksi HFD selama 56 hari, dan pada hari ke-29 hingga ke-56 diberikan atorvastatin dengan dosis adalah 0.065 mg/25 grBB
4. P1 (Perlakuan 1): diinduksi HFD selama 56 hari, dan pada hari ke-29 hingga ke-56 diberikan 300 mg/kg BB ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*)
5. P2 (Perlakuan 2): diinduksi HFD selama 56 hari, dan pada hari ke-29 hingga ke-56 diberikan 150 mg/kg BB ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan 150 mg/kg BB ekstrak etanol 70% daun pepaya gunung (*Carica pubescens*).
6. P3 (Perlakuan 3): diinduksi HFD selama 56 hari, dan pada hari ke-29 hingga ke-56 diberikan 300 mg/kg BB ekstrak etanol 70% daun pepaya gunung (*Carica pubescens*).

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam uji *in silico* antara lain laptop Asus X450C (Intel Pentium Inside, Windows 32 bit, RAM 4 GB) dan software untuk uji *in*

silico di antaranya PreADMET, PASS online, Autodock Vina di PyRx 0.8, PyMOL, dan BIOVIA 1 Discovery Studio 2016. Sedangkan pada uji *in vivo* digunakan kandang plastik, tempat makan dan minum mencit, sonde lambung volume 1 ml, alat pelindung diri (*handgloves*, masker, jas laboratorium), gelas ukur 100 cc, gelas beker 100 cc, pengaduk, timbangan analitik, jerigen (1000 ml), mikropipet, tip, kertas saring, seperangkat alat bedah, spuit 1 ml, sentrifuge, tube 2 ml, spektrofotometer, dan kuvet.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam uji *in silico* antara lain: struktur 3D ligan (quercetin, catechin, rutin, isorhamnetin, kaempferol, cinnamaldehyde, cinnamate, cinnamic acid, carpaine, pseudocarpaine, myricetin, malvidin, peonidin, ferulic acid, caffeic acid, dan chlorogenic acid) yang diunduh dari <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> dengan format .sdf, dan struktur 3D reseptor HMG-KoA reduktase (PDB ID : 1HWK) yang diunduh dari PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/home>).

Bahan-bahan yang digunakan dalam uji *in vivo* antara lain mencit (*Mus musculus*), pakan mencit BR-1, air mineral, plastik, kertas label, aluminium foil, etanol 70%, Na-CMC (*Sodium carboxymethylcellulose*), kuning telur puyuh, lemak ayam, *Propylthiourasil* (PTU), atorvastatin, kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), daun pepaya gunung (*Carica pubescens*), kolesterol standar (Glory Diagnostic), monoreagent kolesterol (Glory Diagnostic), trigliserida standar (Glory Diagnostic), dan monoreagent trigliserida (Glory Diagnostic).

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Uji *In Silico*

3.6.1.1 Preparasi Ligan

Ligan yang digunakan berupa senyawa quercetin, catechin, rutin, isorhamnetin, kaempferol, cinnamaldehyde, cinnamate, dan cinnamic acid, yang terdapat didalam kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan senyawa carpaine, pseudocarpaine, pelargonidin, myricetin, malvidin, peonidin, ferulic acid, caffeic acid, dan chlorogenic acid dari daun papaya gunung (*Carica pubescens*) diunduh dari pubchem dengan situs <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> dalam struktur 3D dengan format SDF (*.sdf) (Lihat Lampiran 4).

3.6.1.2 Preparasi Protein Reseptor

Struktur 3D protein reseptor HMG-KoA reduktase (PDB ID: 1HWK) diunduh dari Protein Data Bank (PDB) melalui <http://www.rcsb.org> dengan format PDB file. Pemisahan protein dari molekul yang tidak diperlukan dilakukan dengan menggunakan software PyMOL untuk digunakan dalam *molecular docking*. Hasil pemisahan disimpan dalam format PDB (*.pdb). (Lihat Lampiran 5).

3.6.1.3 Uji HIA (*Human Intestinal Absorption*)

Uji HIA dilakukan menggunakan software online PreADMET melalui <https://preadmet.bmdrc.kr/>. Struktur ligan dengan format Molfile (*.mol) diupload pada software online PreADMET untuk diprediksi kemampuan terabsorpsi senyawa-senyawa ligan dalam usus (Lihat Lampiran 6).

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

Uji PASS dilakukan dengan mencari SMILE dari senyawa ligan yang digunakan melalui PubChem. Kemudian, dibuka software PASS online melalui <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/> dan dimasukkan SMILE ligan untuk diprediksi aktivitas penghambatan sintesis kolesterolnya (Lihat Lampiran 7).

3.6.1.5 *Molecular Docking* (Penambatan Molekuler)

Reseptor HMG-KoA reduktase dimasukkan ke dalam software PyRx lalu diubah formatnya menjadi pdbqt. Setelah itu ligan dimasukkan untuk diminimasi melalui Open Babel dan diubah formatnya menjadi pdbqt. Proses *docking* dilakukan menggunakan Autodock Vina dengan mengatur grid box pada bagian sisi aktif reseptor HMG-KoA reduktase, kemudian proses *docking* dimulai. Hasil *docking* disimpan dalam format PDB (*.pdb) dan nilai energi bebas (*binding affinity*) disimpan dalam format CSV (*.csv) (Lihat Lampiran 8).

3.6.1.6 Visualisasi Hasil *Docking*

Hasil docking divisualisasikan dalam bentuk 3D menggunakan PyMOL dan dalam bentuk 2D dengan menggunakan Discovery Studio 2016 untuk mengetahui *binding pose* dan interaksi antara ligan dengan reseptor (Lihat Lampiran 8 dan 9).

3.6.2 Uji *in Vivo*

3.6.2.1 Aklimatisasi Hewan Coba

Hewan coba diaklimatisasi pada kandang selama 7 hari dengan diberi pakan BR-1 dan minum air mineral. Kandang mencit dilengkapi dengan sekam, tempat makan dan minum. Pemberian pakan dilakukan setiap hari dan sekam diganti setiap 2-3 hari sekali.

3.6.2.2 Pembuatan dan Pemberian *High Fat Diet* (HFD)

Pembuatan *High Fat Diet* (HFD) yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada penelitian Wicaksono dan Idris (2013), yaitu menggunakan kuning telur puyuh, lemak ayam, dan PTU. Adapun komposisi yang diberikan untuk setiap ekor mencit dengan berat 25 gram adalah lemak ayam yang telah dicairkan sebanyak 0.09 ml, kuning telur puyuh sebanyak 0.26 ml, dan PTU 1.095 mg. Komposisi tersebut kemudian dicampur hingga homogen. HFD diberikan secara oral kepada kelompok perlakuan K-, K+, P1, P2, dan P3 setelah aklimatisasi selama 56 hari setiap pukul 08.00 WIB.

3.6.2.3 Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens*)

Kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) diperoleh dari UPT Materia Medica, Batu, Jawa Timur. Sedangkan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) diperoleh dari Pemandian Air Panas Cangar, Batu, Jawa Timur. Kedua bahan tersebut masing-masing dicuci dengan air mengalir kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 50 °C sampai kering (kadar air hilang). Sampilisia yang sudah kering masing-masing dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk, dan diayak menggunakan ayakan berukuran 100 mesh.

Masing-masing serbuk sampilisia yang telah halus kemudian diekstraksi dengan metode maserasi. Dalam pembuatan ekstrak, masing-masing serbuk sampilisia ditimbang sebanyak 500 gram lalu dicampur dengan 1500 ml etanol 70% (perbandingan 1:3). Setiap 24 jam, pelarut etanol 70% hasil maserasi (filtrat) disaring dan ditampung, lalu diganti dengan etanol 70% yang baru dengan

perbandingan yang sama (1:3) selama 3 hari. Filtrat yang telah terkumpul kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C (Kusuma, 2016).

3.6.2.4 Penentuan Dosis dan Pemberian Atorvastatin

Obat golongan statin yang digunakan dalam penelitian ini yaitu atorvastatin. Dosis yang digunakan untuk mencit setelah dikonversi adalah 0.065 mg/25 grBB (Yosmar *et al.*, 2014). Atorvastatin diberikan secara oral sehingga dilakukan pelarutan atorvastatin pada akuades dengan jumlah 0.065 mg atorvastatin dalam 0.35 ml akuades untuk mencit dengan berat 25 gram. Atorvastatin diberikan pada kelompok perlakuan K+ pada hari ke-29 pemberian HFD hingga hari ke 56 pada pukul 10.00 WIB.

3.6.2.5 Pembuatan Larutan Na-CMC 0.1%

Pembuatan larutan Na-CMC 0.1% dilakukan dengan melarutkan 5 gram Na-CMC ke dalam 1 liter aquades, kemudian diaduk dengan spatula hingga larutan homogen.

3.6.2.6 Pemberian Terapi Ekstrak Etanol 70% Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens*)

Pemberian terapi ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) pada mencit dilakukan pada hari ke 29 pemberian HFD hingga hari ke 56 pada pukul 10.00 WIB. Perlakuan dilakukan secara oral menggunakan sonde sebanyak 0.35 ml.

Penentuan dosis yang digunakan mengacu pada penelitian Firdaus (2014) yang telah dimodifikasi. Dosis terapi yang digunakan yaitu ekstrak kulit batang

kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) 300 mg/kg BB (P1); 150 mg/kgBB ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan 150 mg/kgBB ekstrak daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) (P2); dan 300 mg/kgBB ekstrak daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) (P3) yang selanjutnya dikonversi sesuai dengan dosis mencit (Lampiran 13). Pelarut yang digunakan dalam pembuatan dosis ekstrak adalah Na-CMC 0.1% yang telah dibuat sebelumnya.

3.6.2.7 Euthanasia dan Pengambilan Serum Darah Mencit

Setelah 56 hari perlakuan, mencit dipuasakan selama 8 jam. Setelah itu, mencit didislokasi pada bagian leher, kemudian dilakukan pembedahan. Dihisap darah dari jantung menggunakan spuit dan dimasukkan kedalam tube. Sampel darah yang diambil disentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm untuk diambil serumnya. Serum yang didapat digunakan untuk pengukuran kadar kolesterol total dan trigliserida pada darah mencit.

3.6.2.8 Pengukuran Kadar Kolesterol dan Trigliserida

Pengukuran kadar kolesterol dan trigliserida pada penelitian menggunakan metode CHOD-PAP. Sampel yang akan diukur kadar kolesterol dan trigliseridanya adalah serum darah mencit yang telah diperoleh. Untuk pengecekan kadar kolesterol digunakan monoreagent kolesterol dan kolesterol standar. Sedangkan untuk pengecekan kadar trigliserida digunakan monoreagent trigliserida dan trigliserida standar. Disiapkan kuvet yang telah dilabeli sebagai blanko, standar, dan sampel untuk kemudian diisi dengan volume sebagai berikut

Tabel 3.2 Pebandingan Volume yang Digunakan dalam Pengukuran Kadar Kolesterol dan Trigliserida

Kuvet	Blanko	Sampel	Standart
Monoreagent	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL
Serum	-	10 µl	-
Standar	-	-	10 µl

Kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Lalu dibaca nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer. Perhitungan kadar kolesterol ataupun trigliserida yaitu sebagai berikut:

$$\frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{standar}}} \times \text{Konsetrasi standar} = \text{Konsentrasi sampel} \text{ (mg/dl)}$$

3.6.2.9 Analisis Data

Analisis data kadar kolesterol total dan trigliserida dilakukan dengan uji statistik *Analysis of Variance* (ANOVA) menggunakan jenis Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan taraf signifikansi 99%. Analisis diawali dengan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* dengan program *SPSS 16.0 for windows*. 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* melalui uji Duncan jika terdapat perbedaan yang signifikan. Sedangkan apabila data tidak normal, data ditransformasikan terlebih dahulu dan dilakukan uji statistik seperti sebelumnya. Apabila hasil transformasi tidak terdistribusi normal maka digunakan uji non parametrik menggunakan uji *Kruskall-Wallis* dan apabila hasilnya signifikan ($\text{sig} > 0.05$) dilanjutkan dengan uji *Mean-Whitney*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

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

Prediksi kemampuan absorpsi suatu senyawa obat pada dinding usus halus merupakan salah satu bagian yang penting dalam desain atau penemuan senyawa obat karena sangat berkaitan dengan bioavailabilitas suatu obat. Apabila obat diberikan secara oral, maka obat tersebut harus dapat terabsorpsi dengan baik pada dinding usus halus sehingga dapat masuk ke dalam pembuluh darah. (Radchenko *et al.*, 2016). Oleh karena itu, dilakukan prediksi kemampuan absorpsi senyawa aktif yang dimiliki kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) pada dinding usus halus menggunakan prediksi HIA (*Human Intestinal Absorption*).

Hasil prediksi HIA pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa Atorvastatin dan beberapa senyawa aktif yang terdapat pada kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) seperti cinnamaldehyde, cinnamate, cinnamic acid, pseudocarpaine, carpaine, ferulic acid, caffeic acid, pelargonidin, peonidin, malvidin, kaempferol dan isorhamnetin memiliki nilai terabsorpsi lebih dari 70%. Berdasarkan nilai tersebut diketahui bahwa senyawa-senyawa tersebut mampu terabsorpsi dengan baik pada dinding usus. Hal ini mengacu pada pernyataan Subramainian dan Kitchen (2006) bahwa kemampuan suatu senyawa untuk terabsorpsi masuk dalam kategori baik apabila memiliki nilai lebih dari 70%.

Tabel 4.1 Hasil Prediksi HIA (Human Intestinal Absorption)

No	Sumber	Senyawa	HIA (%)
1	Atorvastatin	Atorvastatin	94.65
2	Kayu Manis (Cinnamomum burmannii)	Cinnamaldehyde	100
3		Cinnamate	97.85
4		Cinnamic Acid	97.85
5		Isorhamnetin	78.35
6		Catechin	66.71
7		Quercetin	63.49
8		Rutin	2.86
9	Pepaya Gunung (Carica Pubescens)	Pseudocarpaine	94.63
10		Carpaine	94.63
11		Ferulic Acid	90.6
12		Caffeic Acid	82.3
13		Pelargonidin	81.59
14		Peonidin	81.24
15		Malvidin	80.91
16		Kaempferol	79.44
17		Myricetin	40.96
18		Chlorogenic Acid	20.43

Keterangan: HIA > 70% = terabsorpsi baik, HIA 20-70% = terabsorpsi sedang, HIA < 20% = terabsorpsi rendah

Senyawa aktif seperti catechin, quercetin, myricetin, chlorogenic acid memiliki nilai terabsorpsi yang berkisar di antara 20-70%, sehingga senyawa-senyawa tersebut memiliki kemampuan terabsorpsi sedang pada dinding usus. Sedangkan rutin memiliki kemampuan terabsorpsi rendah pada dinding usus karena memiliki nilai terabsorpsi kurang dari 20%. Hal ini merujuk pada pernyataan Subramainian dan Kitchen (2006) bahwa suatu senyawa memiliki kemampuan terabsorpsi sedang pada usus halus apabila nilai terabsorpsi antara 20-70%, dan memiliki kemampuan terabsorpsi rendah pada usus apabila nilai terabsorpsi antara 0-20%.

Senyawa obat dapat terabsorpsi oleh dinding usus melalui difusi pasif dan transport aktif. Senyawa dengan kemampuan terabsorbsi tinggi (Nilai HIA >70%)

seperti atorvastatin, cinnamaldehyde, cinnamate, cinnamic acid, pseudocarpaine, carpaine, ferulic acid, caffeic acid, pelargonidin, peonidin, malvidin, kaempferol dan isorhamnetin menunjukkan bahwa senyawa tersebut dapat terabsorpsi oleh usus melalui difusi pasif. Absorpsi suatu senyawa melalui difusi pasif tidak memerlukan energi (ATP) sehingga senyawa dapat dengan mudah dan cepat terabsorpsi oleh dinding usus. Sedangkan senyawa yang memiliki kemampuan sedang (HIA 20-70%) seperti catechin, quercetin, myricetin, chlorogenic acid juga memiliki kemampuan untuk terabsorpsi melalui difusi pasif namun tidak sebaik senyawa yang memiliki kemampuan terabsorpsi tinggi.

Faktor yang mempengaruhi tinggi rendahnya kemampuan absorpsi dan bioavailabilitas senyawa-senyawa tersebut salah satunya yaitu berat molekul. Semakin kecil berat molekul maka akan semakin mudah bagi suatu senyawa untuk berdifusi ke dinding usus dan masuk ke sirkulasi darah untuk dibawa menuju jaringan atau organ yang ditargetkan (Scalbert *et al.*, 2002). Senyawa dengan kemampuan terabsorpsi tinggi seperti cinnamaldehyde, cinnamate, cinnamic acid memiliki berat molekul yang kecil sehingga memiliki nilai HIA yang tinggi. Namun demikian, belum dapat dipastikan senyawa tersebut memiliki kemampuan yang diharapkan, yaitu penghambatan sintesis kolesterol melalui penghambatan aktivitas enzim HMG-KoA reduktase di organ hepar.

Senyawa yang memiliki kemampuan terabsorpsi rendah (HIA < 20%) yaitu rutin. Rutin merupakan salah satu senyawa flavonoid yang banyak dilaporkan berpotensi dalam menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Akan tetapi rutin memiliki kemampuan terabsorpsi sedang bahkan rendah dalam usus seperti yang ditunjukkan pada hasil uji HIA yang telah dilakukan. Faktor yang mempengaruhi

rendahnya absorpsi dan bioavailabilitas senyawa rutin adalah berat molekulnya yang cukup besar. Seperti yang diketahui, rutin memiliki berat molekul sebesar 610,52 g/mol.

Rendahnya kemampuan rutin untuk terabsorpsi di dalam usus menjadikannya tidak cukup jika hanya melalui jalur difusi pasif saja seperti senyawa lebih kecil lainnya, namun harus melalui transpor aktif. Transpor aktif memerlukan protein transport seperti P-gp dan MRP di usus halus agar dapat terabsorpsi (Zhang *et al.*, 2013). Selain itu, menurut Joganath *et al.* (2006), rutin yang tidak terabsorpsi di usus halus masih bisa diserap oleh organ lain yaitu kolon dan akan berinteraksi dengan mikroflora yang ada di organ tersebut. Mikroflora akan memecah rutin menjadi bentuk flavonoid yang lebih sederhana seperti quercetin dan isorhamnetin sehingga tetap dapat diserap oleh dinding usus dan masuk ke dalam sirkulasi darah untuk diantarkan ke organ yang ditargetkan.

4.2 Hasil Prediksi PASS (*Prediction of Activity for Substances*)

Prediksi PASS dilakukan untuk memprediksi aktivitas senyawa aktif yang dimiliki kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dalam menghambat sintesis kolesterol. Uji ini dilakukan menggunakan software PASS (*Prediction of Activity for Substances*). Melalui software PASS, suatu senyawa dapat diprediksikan aktivitas biologinya, salah satunya yaitu aktivitas untuk menghambat sintesis kolesterol. Menurut Filimonov *et al.* (2014), analisis PASS didasarkan pada SAR (*Structure-Activity Relationship*) atau keterkaitan antara struktur dan aktivitas suatu senyawa yang diperoleh dari sekumpulan percobaan yang telah menunjukkan berbagai macam aktivitas biologi.

Hasil prediksi PASS ditunjukkan dengan nilai P_a (*Probable activity*) dan P_i (*Probable inactivity*). Nilai P_a merupakan estimasi kemungkinan suatu senyawa untuk aktif melakukan aktivitas biologis (penghambatan sintesis kolesterol) dalam eksperimen laboratorium, sedangkan nilai P_i merupakan kebalikannya. Apabila suatu senyawa memiliki P_a lebih besar daripada P_i ($P_a > P_i$), maka dapat diperkirakan bahwa senyawa tersebut berpotensi memiliki aktivitas biologi yang diharapkan, yaitu menghambat sintesis kolesterol. Semakin besar nilai P_a dan selisih antara nilai $P_a - P_i$, maka semakin besar kemungkinan yang dimiliki senyawa tersebut untuk menghambat sintesis kolesterol dalam kepentingan eksperimen laboratorium (Ivanov *et al.*, 2018).

Berdasarkan prediksi PASS, atorvastatin dan sebagian besar senyawa aktif kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) memiliki aktivitas penghambatan sintesis kolesterol, karena memiliki nilai $P_a > P_i$ dan selisih nilai $P_a - P_i$ yang cukup besar (lihat Tabel 4.2). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki kemiripan dengan struktur senyawa yang selama ini telah teruji secara eksperimental dapat menghambat sintesis kolesterol. Akan tetapi, senyawa-senyawa tersebut memiliki nilai $P_a < 0.5$. Bahkan senyawa seperti pseudocarpaine dan carpaine tidak memiliki nilai P_a . Hal ini menurut Lagunin *et al.* (2000), menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut diperkirakan memiliki kemungkinan yang cukup rendah dalam menghambat sintesis kolesterol. Akan tetapi, hal ini bukan berarti bahwa senyawa tersebut secara pasti memiliki aktivitas biologis yang rendah dalam menghambat sintesis kolesterol, karena PASS hanya sekedar prediksi saja. Oleh karena itu, *molecular docking* perlu dilakukan untuk mengkonfirmasi hasil prediksi PASS.

Tabel 4.2 Hasil Prediksi PASS (*Prediction of Activity for Substances*)

No.	Sumber	Senyawa	Pa	Pi
1	Atorvastatin	Atorvastatin	0.467	0.002
2	Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>)	Catechin	0.443	0.006
3		Cinnamic Acid	0.396	0.010
4		Cinnamate	0.369	0.010
5		Quercetin	0.252	0.033
6		Cinnamaldehyde	0.249	0.034
7		Isorhamnetin	0.246	0.035
8		Rutin	0.131	0.081
9	Pepaya Gunung (<i>Carica Pubescens</i>)	Ferulic Acid	0.441	0.006
10		Caffeic Acid	0.443	0.006
11		Chlorogenic Acid	0.437	0.007
12		Peonidin	0.330	0.017
13		Pelargonidin	0.322	0.018
14		Malvidin	0.291	0.024
15		Kaempferol	0.236	0.037
16		Myricetin	0.231	0.039
17		Pseudocarpaine	-	-
18		Carpaine	-	-

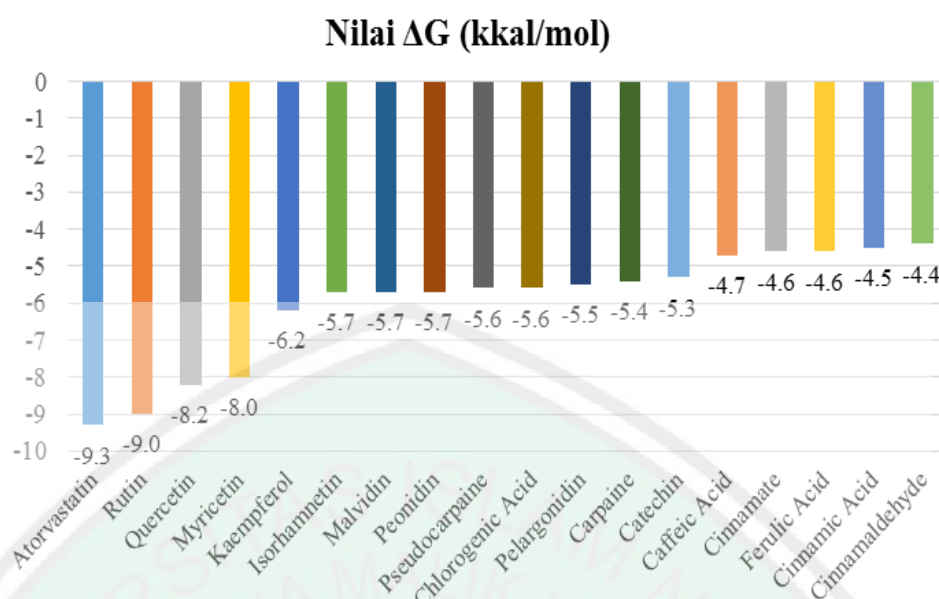
Keterangan: Pa (*Probable activity*), Pi (*Probable inactivity*)

4.3 Molecular Docking (Penambatan Molekuler)

Uji yang dilakukan selanjutnya yaitu *molecular docking*. *Molecular docking* merupakan salah satu metode *in silico* yang akan memperlihatkan ikatan terbaik antara dari ligan dan protein (reseptor). *Molecular docking* digunakan untuk mencari posisi optimal molekul ligan untuk berikatan dengan sisi aktif pengikatan protein target (reseptor) sehingga cocok secara geometris dan energi (Mukesh dan Rakesh, 2011). Melalui permodelan menggunakan *molecular docking*, dapat diprediksikan dan dianalisis kemampuan senyawa-senyawa (ligan) dalam menghambat sintesis kolesterol melalui penghambatan enzim HMG-KoA reduktase sebelum dilakukan eksperimen laboratorium secara *in vivo* ataupun *in vitro*.

Langkah dasar yang dilakukan dalam *molecular docking* yaitu penilaian nilai energi bebas (ΔG) dan prediksi posisi optimal molekul ligan untuk berikatan pada sisi aktif reseptor (*binding pose*) (Meng *et al.*, 2011). Senyawa aktif dari kedua tumbuhan dan atorvastatin sebagai obat kontrol pada penelitian ini digunakan sebagai ligan. Ligan-ligan tersebut kemudian dinteraksikan dengan enzim HMG-KoA reduktase (PDB: 1HWK) yang berperan sebagai reseptor. *Molecular docking* dilakukan menggunakan software Autodock Vina (Trott dan Olson, 2010) di PyRx untuk menilai ΔG , lalu divisualisasikan menggunakan PyMOL (3D) dan Discovery Studio (2D) untuk mengetahui *binding pose*.

Hal yang perlu diperhatikan sebelum melakukan *docking* agar prosesnya lebih efisien adalah dengan mengetahui lokasi sisi aktif dari reseptor (Meng *et al.*, 2011). Sisi aktif dari enzim HMG-KoA reduktase memiliki dua domain, yaitu L-domain dan S-domain. Kedua domain saling berkaitan membentuk *cis-loop*, suatu *binding pocket* HMG-KoA yang terbentuk dari residu asam amino 682-694 (Istvan dan Deisenhover, 2000). Secara lebih spesifik, residu asam amino dari sisi aktif enzim HMG-KoA reduktase yang dianggap bertanggung jawab untuk berikatan dengan HMG-KoA adalah Arg-590, Ser-684, Asp-690, Lys-691, dan Lys 692 (Istvan, 2003). Ketika HMG-KoA berikatan pada sisi aktif HMG-KoA reduktase maka akan terbentuk mevalonat, bahan baku sintesis kolesterol. Oleh karena itu, untuk menghambat sintesis kolesterol perlu dilakukan *blocking* pada sisi aktif enzim HMG-KoA reduktase agar tidak dapat berikatan dengan HMG-KoA. Diketuinya sisi aktif HMG-KoA reduktase memudahkan untuk penempatan *grid box*, yaitu area spesifik dimana ligan berikatan pada sisi aktif reseptor sehingga proses *docking* menjadi lebih efisien.

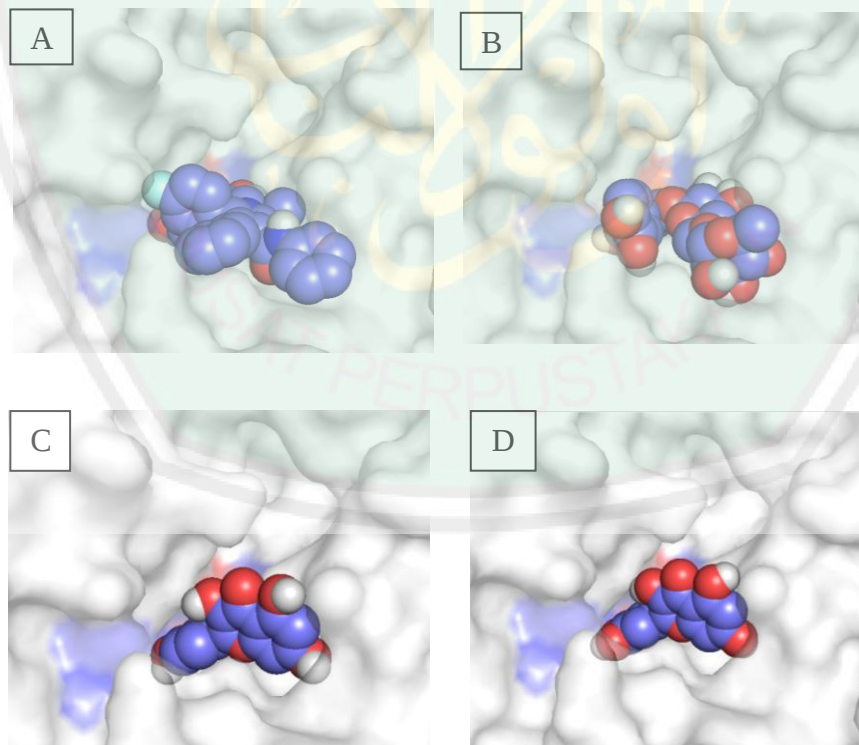


Gambar 4.1 Nilai energi bebas (ΔG) hasil *molecular docking* ligan senyawa aktif kulit batang kayu manis dan daun papaya gunung dengan reseptor HMG-KoA reduktase

Interaksi antara ligan dan protein merupakan suatu sistem yang berkaitan erat dengan prinsip termodinamika. Energi bebas (ΔG) yang dihasilkan dari proses docking merupakan suatu potensial termodinamika yang diminimalkan saat sistem mencapai kesetimbangan pada tekanan dan suhu konstan. Derivasinya berkaitan dengan koordinat reaksi sistem yang hilang pada titik kesetimbangan. Dengan demikian, nilai negatif dari ΔG merupakan kondisi yang diperlukan bagi ligan untuk berikatan (bereaksi) dengan protein secara spontan tanpa memerlukan energi atau bahkan melepaskan energi. Semakin spontan suatu ligan untuk berikatan dengan reseptor, semakin stabil ikatan yang dihasilkan. Oleh karena itu, semakin negatif (rendah) nilai ΔG maka semakin stabil dan kuat ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor. Senyawa yang berpotensi untuk berikatan dengan reseptor biasanya berada pada kisaran kurang dari -7 (Du *et al.*, 2016).

Apabila ditinjau berdasarkan nilai ΔG , maka rutin (-9.0 kkal/mol), quercetin (-8.2 kkal/mol) dan myricetin (-8.0 kkal/mol) menghasilkan nilai ΔG terendah jika dibandingkan dengan senyawa aktif lainnya dan hampir mendekati nilai ΔG yang dimiliki atorvastatin (-9.3 kkal/mol) sebagai obat kontrol. Berdasarkan hasil *molecular docking* tersebut, rutin, quercetin dan myricetin dapat dianggap sebagai senyawa yang paling efektif dalam menghambat aktivitas sintesis kolesterol oleh enzim HMG-KoA reduktase dengan cara berikatan kuat dengan sisi aktif enzim.

Selain nilai ΔG , interaksi yang terjadi antara ligan dengan residu asam amino pada sisi aktif reseptor juga perlu diperhatikan untuk memastikan bahwa ligan berikatan dengan *binding site* pada sisi aktif. Interaksi tersebut dapat divisualisasikan menggunakan software PyMOL (3D) dan Discovery Studio (2D). Visualisasi 3D dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Visualisasi interaksi antara ligan atorvastatin (A), rutin (B), quercetin (C) dan myricetin (D) dengan reseptor HMG-KoA reduktase menggunakan PyMOL

Interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor berupa ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan elektrostatik (Arwansyah dan Hasrianti., 2014). Hasil visualisasi 2D menggunakan software Discovery Studio menunjukkan adanya interaksi antara ligan dan reseptor dengan membentuk ikatan pada residu asam amino di sisi aktif enzim HMG-KoA reduktase (Lampiran 11 dan 12). Jenis ikatan yang terbentuk dari interaksi antara ligan dan reseptor enzim HMG yaitu ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik.

Berdasarkan hasil visualisasi interaksi antara atorvastatin dan reseptor HMG-KoA reduktase dengan nilai ΔG -9.3 kkal/mol, terlihat bahwa atorvastatin menempati *binding pocket* HMG-KoA pada enzim HMG-KoA reduktase (Gambar 4.2). Setelah dilakukan visualisasi secara 2D, terlihat atorvastatin membentuk ikatan hidrogen yang mengikat residu asam amino Arg-590, Ser-661, Ser-684, Asp-690, Lys-691, Ser-565 (Lampiran 12). Seperti yang telah disebutkan sebelumnya, residu asam amino kunci dari sisi aktif enzim HMG-KoA reduktase yang bertanggung jawab untuk berikatan dengan substrat adalah Arg-590, Ser-684, Asp-690, Lys-691, dan Lys 692 (Istvan, 2003). Oleh karena itu, atorvastatin sebagai obat kontrol terbukti dapat menghambat aktivitas enzim HMG-KoA reduktase dengan cara berikatan dengan asam amino kunci pada sisi aktif enzim.

Rutin dengan nilai ΔG terendah (-9.0 kkal/mol) setelah divisualisasikan terlihat menempati sisi aktif HMG-KoA pada enzim HMG-KoA reduktase (Gambar 4.2). Visualisasi secara 2D memperlihatkan bahwa rutin memiliki ikatan hidrogen pada asam amino yang sama dengan atorvastatin yaitu Ser-684 dan Ser-565 (Lampiran 12). Quercetin juga memiliki ikatan hidrogen pada asam amino yang sama dengan atorvastatin yaitu Asp-690. Selain itu, myricetin juga

memiliki memiliki ikatan hidrogen pada asam amino yang sama dengan atorvastatin yaitu Ser-686 dan Asp-690.

Ketika terdapat ikatan yang sama yang dibentuk suatu senyawa ligan dan obat kontrol, maka senyawa ligan tersebut dapat menempati posisi yang sama pada sisi aktif reseptor sebagaimana obat kontrol atorvastatin. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa cara kerja rutin, quercetin, dan myricetin menyerupai atorvastatin yang berperan sebagai obat kontrol karena dapat menempati sisi aktif reseptor (*binding pocket*) HMG-KoA reduktase. Apabila ligan atorvastatin atau rutin, quercetin dan myricetin menempati *binding pocket* HMG-KoA, maka ligan tersebut akan memblokir HMG-KoA untuk berikatan dengan sisi aktif enzim HMG-KoA reduktase. Ketika sisi aktif diblok oleh ligan maka tidak terjadi pembentukan mevalonat yang merupakan bahan baku sintesis kolesterol.

Untuk mengetahui senyawa yang paling berpotensi dalam menghambat sintesis kolesterol melalui penghambatan enzim HMG-KoA reduktase, hasil molecular docking dikaitkan dengan hasil-hasil uji *in silico* yang dilakukan sebelumnya, yaitu uji HIA, PASS (Tabel 4.3). Apabila ditinjau dari HIA, quercetin dan myricetin memiliki kemampuan terabsorpsi sedang di usus sedangkan rutin terabsorpsi rendah, sehingga quercetin dan myricetin lebih mudah terserap oleh usus jika dibandingkan rutin. Akan tetapi quercetin memiliki kemampuan terabsorpsi lebih besar dibandingkan myricetin. Ditinjau dari PASS, senyawa rutin, quercetin dan myricetin diprediksikan memiliki kemampuan untuk menghambat sintesis kolesterol. Akan tetapi, quercetin memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan rutin dan myricetin.

Berdasarkan hasil tersebut maka dapat dikatakan bahwa quercetin dengan ΔG sebesar -8.2 kkal/mol memiliki kemampuan terabsorpsi di usus dan kemampuan untuk menghambat sintesis kolesterol yang lebih baik dibandingkan dua senyawa lainnya yaitu rutin dan myricetin. Rutin meskipun memiliki nilai ΔG terbesar yaitu -9 kkal/mol, akan tetapi rutin sulit diserap oleh usus sehingga akan lebih lambat untuk masuk ke dalam sirkulasi darah dan dibawa menuju hepar sebagai organ target. Rutin juga diprediksikan memiliki kemampuan penghambatan sintesis kolesterol dengan nilai paling rendah. Sedangkan myricetin memiliki nilai ΔG terendah, yaitu -8 kkal/mol dan juga kemampuan terabsorpsi oleh usus dan prediksi kemampuan penghambatan sintesis kolesterol yang lebih rendah dibandingkan quercetin. Dengan demikian, dapat dikatakan quercetin yang dimiliki kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) merupakan senyawa yang paling berpotensi untuk menghambat enzim HMG-KoA reduktase dibandingkan senyawa lainnya.

Tabel 4.3 Tinjauan Hasil Uji *In Silico* Senyawa dengan ΔG Tertinggi

No	Ligan	HIA	PASS	ΔG (kkal/mol)	Ikatan pada sisi aktif reseptor
1	Atorvastatin (kontrol)	94.65% (Tinggi)	0.467 (Berpotensi)	-9.3	Ada
2	Rutin	2.86 % (Rendah)	0.131 (Berpotensi)	-9	Ada
3	Quercetin	63,49% (Sedang)	0.251 (Berpotensi)	-8.2	Ada
4	Myricetin	40.96% (Sedang)	0.231 (Berpotensi)	-8	Ada

4.4 Kadar Kolesterol Total

Pengukuran kadar kolesterol total dilakukan pada serum darah mencit yang diperoleh dari 6 perlakuan dan 5 ulangan setelah 56 hari pemberian perlakuan. Pengukuran kadar kolesterol total dilakukan dengan metode CHOD-PAP. Adapun kadar kolesterol total yang diperoleh dari setiap perlakuan dan ulangan dapat dilihat pada Tabel 4.4.

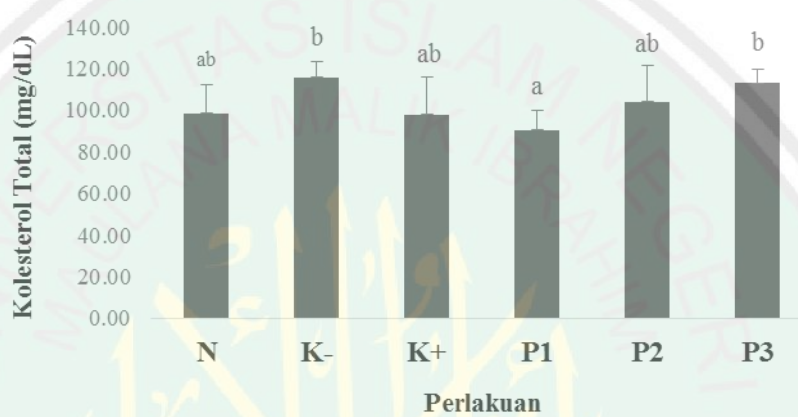
Tabel 4.4 Hasil Pengukuran Kadar Kolesterol Total dan Standar Deviasi

Perlakuan	N	Rata-rata $\pm$ Standar Deviasi
K- (HFD)	5	115.68 $\pm$ 7.84
P3 (HFD + ekstrak pepaya gunung 300 mg/kgBB)	5	113.05 $\pm$ 6.79
P2 (HFD + ekstrak kayu manis 150 mg/kgBB & pepaya gunung 150 mg/kgBB)	5	104.23 $\pm$ 17.50
N (Normal) (N)	5	98.59 $\pm$ 13.67
P1 (HFD + ekstrak kayu manis 300 mg/kgBB)	5	90.52 $\pm$ 9.33
K+ (HFD + atorvastatin)	5	98.03 $\pm$ 17.67

Data yang diperoleh kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan SPSS 16.0 (Lampiran 15). Data kadar kolesterol total dilakukan uji normalitas menggunakan Kolmogorov-Smirnov Test. Hasil uji normalitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.738 ($p > 0.05$), sehingga dapat dikatakan bahwa data terdistribusi normal. Adapun uji homogenitas pada Levene Test menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.336 ($p > 0.05$), sehingga dapat dikatakan bahwa data yang diperoleh bersifat homogen. Data yang telah normal dan homogen kemudian dilanjutkan dengan uji One-Way ANOVA dengan taraf signifikansi 5%.

Hasil uji One-Way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.043 ($p < 0.05$), sehingga dapat dikatakan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima. Hal ini

menunjukkan bahwa pemberian perlakuan ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) memberikan pengaruh yang signifikan pada kadar kolesterol total pada mencit yang diinduksi HFD. Setelah uji One-Way ANOVA dilanjutkan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang berpengaruh terhadap kadar kolesterol total.



Gambar 4.4 Grafik rata-rata kadar kolesterol (mg/dl). Keterangan: N : Normal, K- : HFD, K+ : HFD + atorvastatin, P1 : HFD + ekstrak kayu manis, P2 : HFD + ekstrak kayu manis & pepaya gunung, P3 : HFD + ekstrak pepaya gunung

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa pada perlakuan K- (pemberian HFD) belum terjadi kenaikan kadar kolesterol total secara signifikan dibandingkan perlakuan N (normal). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian HFD dengan komposisi lemak ayam yang dicairkan sebanyak 0.09 ml, kuning telur puyuh sebanyak 0.26 ml, dan PTU 1.095 mg untuk mencit dengan bobot 25 gram selama 56 hari belum cukup untuk menaikkan kadar kolesterol total secara signifikan. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kadar kolesterol dan lemak yang terkandung oleh HFD masih belum cukup untuk menaikkan kadar kolesterol mencit.

Perbedaan yang signifikan ditemukan pada perlakuan K- (pemberian HFD) dan P1 (pemberian HFD + 300 mg/kgBB ekstrak kulit batang kayu manis). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) sebanyak 300 mg/kgBB selama 28 hari dapat menurunkan kadar kolesterol total pada mencit yang diberi HFD. Selain itu, perlakuan P1 juga berbeda secara signifikan dibandingkan perlakuan P3 (HFD + 300 mg/kgBB ekstrak daun pepaya gunung), dimana pada perlakuan P3 tidak berbeda jika dibandingkan dengan K-. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol 70% daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) sebanyak 300 mg/kgBB selama 28 hari belum dapat menurunkan kadar kolesterol total pada mencit yang diberi HFD.

Penurunan kadar kolesterol total secara signifikan pada P1 oleh ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) diduga karena adanya aktivitas hipolipidemik oleh senyawa flavonoid, seperti rutin dan quercetin yang telah dilaporkan memiliki aktivitas penghambatan sintesis kolesterol di dalam hepar. Penelitian oleh Ziaee *et al.* (2009) menunjukkan bahwa pemberian rutin dengan dosis 100mg/kg BB dapat menurunkan kadar kolesterol total pada serum darah tikus. Selain itu, penelitian oleh Bok *et al.* (2002) menunjukkan bahwa quercetin juga dapat menurunkan kadar kolesterol total pada serum darah tikus yang diinduksi HFD.

Mekanisme kerja senyawa flavonoid dalam menurunkan kadar kolesterol menurut Hossain *et al.* (2011) adalah dengan menghambat terjadinya sintesis kolesterol oleh enzim HMG-KoA reduktase di hepar. Hal ini sesuai dengan hasil uji *in silico* yang telah dilakukan sebelumnya, yang menunjukkan bahwa rutin dan

quercetin pada kayu manis memiliki nilai energi bebas (ΔG) cukup rendah, masing-masing sebesar -9.0 dan -8.2 kkal/mol sehingga berpotensi dalam menghambat enzim HMG-KoA reduktase jika dibandingkan dengan obat kontrol (atorvastatin) yang memiliki ΔG sebesar -9.3 kkal/mol.

Terhambatnya aktivitas enzim HMG-KoA reduktase menyebabkan hepar kekurangan kolesterol, padahal kolesterol dibutuhkan untuk metabolisme sel. Hal ini menyebabkan sel-sel hepar memperbanyak reseptor LDL pada membran sel agar LDL yang terdapat di plasma darah dapat diserap oleh hepar dan dipecah menjadi kolesterol agar siap digunakan untuk metabolisme. Penyerapan LDL secara terus-menerus oleh hepar akan menurunkan kadar LDL dalam darah sehingga kadar kolesterol total dalam darah yang semula tinggi menjadi berangsur normal. Selain itu, reseptor LDL hanya spesifik menyerap LDL saja, sehingga kadar HDL yang berperan sebagai lipoprotein “baik” tidak ikut menurun dan turut berperan dalam menormalkan kadar kolesterol total dalam darah (Goldstein dan Brown, 2009).

Kemampuan reseptor LDL untuk menyerap LDL yang larut dalam darah menunjukkan bahwa reseptor LDL berkerja dengan sangat spesifik. Reseptor LDL hanya dapat menyerap LDL saja dan tidak akan bisa menyerap HDL karena reseptor LDL memiliki bagian spesifik yang hanya dapat berikatan dengan LDL sehingga dapat berpasangan. Hal ini secara tidak langsung menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu berpasang-pasangan. Sebagaimana firman Allah SWT dalam al-Quran surat Yasin (36):36.

سُبْحَانَ الَّذِي خَلَقَ الْأَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْأَرْضُ وَمِنْ أَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا
يَعْلَمُونَ

“Maha Suci (Allah) yang telah menciptakan semuanya berpasang-pasangan, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka sendiri, maupun dari apa yang tidak mereka ketahui”

Kata الْأَزْوَاجَ berarti berpasang-pasangan. Menurut Suyuthi (1990), salah satu tanda kekuasaan dan kesempurnaan Allah SWT adalah Ia menciptakan segala sesuatu seluruhnya serba berpasang-pasangan. Baik yang ditumbuhkan oleh bumi, dari diri manusia. Misalnya adalah Kata كُلَّهَا yang berarti *seluruhnya* dan وَمِمَّا لَا يَعْلَمُونَ, *dari apa-apa yang tidak mereka ketahui*, lebih memperluas cakupan makna pasangan-pasangan tersebut. Termasuk diantaranya Allah SWT menciptakan LDL dalam tubuh manusia lengkap dengan reseptor LDL sebagai pasangannya. Sehingga kesesuaian antaranya keduanya dapat mengontrol kadar LDL untuk menjaga profil lipid dalam tubuh.

4.4 Kadar Trigliserida

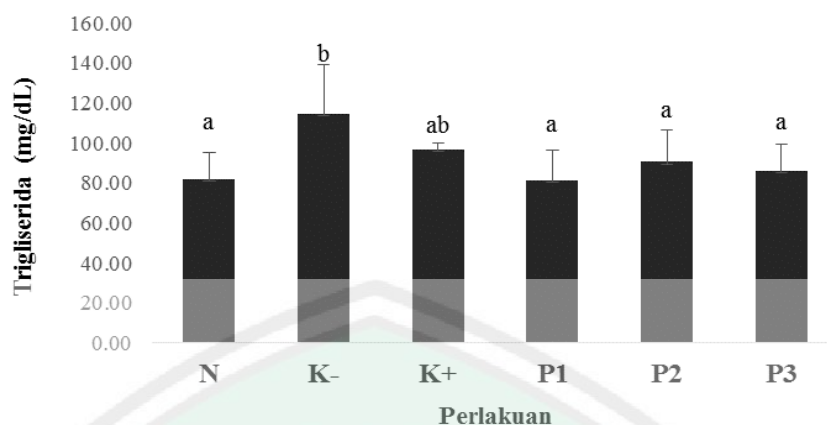
Seperti halnya pengukuran kadar kolesterol total, pengukuran kadar trigliserida juga dilakukan pada serum darah mencit yang diperoleh dari 6 perlakuan dan 5 ulangan setelah 56 hari pemberian perlakuan. Pengukuran kadar trigliserida dilakukan dengan metode CHOD-PAP. Adapun kadar trigliserida yang diperoleh dari setiap perlakuan dan ulangan dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil Pengukuran Kadar Trigliserida dan Standar Deviasi

Perlakuan	N	Rata-rata $\pm$ Standar Deviasi
K- (HFD)	5	104.60 $\pm$ 24.74
K+ (HFD + atorvastatin)	5	91.95 $\pm$ 3.35
P1 (HFD + ekstrak kayu manis 300 mg/kgBB)	5	86.21 $\pm$ 15.24
N (Normal)	5	82.76 $\pm$ 13.59
P3 (HFD + ekstrak pepaya gunung 300 mg/kgBB)	5	79.31 $\pm$ 13.51
P2 (HFD + ekstrak kayu manis 150 mg/kgBB & pepaya gunung 150 mg/kgBB)	5	75.86 $\pm$ 15.71

Data yang diperoleh kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan SPSS 16.0 (Lampiran 15). Data kadar trigliserida dilakukan uji normalitas menggunakan Kolmogorov-Smirnov Test. Hasil uji normalitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.449 ($p > 0.05$), sehingga dapat dikatakan bahwa data terdistribusi normal. Adapun uji homogenitas pada Levene Test menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.226 ($p > 0.05$), sehingga dapat dikatakan bahwa data yang diperoleh bersifat homogen. Data yang telah normal dan homogen kemudian dilanjutkan dengan uji One-Way ANOVA dengan taraf signifikansi 5%.

Hasil uji One-Way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.024 ($p < 0.05$), sehingga dapat dikatakan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian perlakuan ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) memberikan pengaruh yang signifikan pada kadar trigliserida pada mencit yang diinduksi HFD. Setelah uji One-Way ANOVA dilanjutkan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang berpengaruh terhadap kadar trigliserida.



Gambar 4.5 Grafik rata-rata kadar trigliserida (mg/dl). Keterangan: N : Normal, K- : HFD, K+ : HFD + atorvastatin, P1 : HFD + ekstrak kayu manis, P2 : HFD + ekstrak kayu manis & pepaya gunung, P3 : HFD + ekstrak pepaya gunung

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan N (normal) dengan K- (pemberian HFD). Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan bahwa pemberian HFD selama 56 hari dapat menaikkan kadar trigliserida mencit secara signifikan. HFD dengan komposisi kuning telur puyuh dan lemak ayam yang dicairkan mengandung kadar kolesterol dan lemak yang cukup tinggi. Akan tetapi, kolesterol dan lemak tersebut diserap oleh usus dalam bentuk kilomikron. Kilomikron yang berasal dari makanan dan VLDL yang diproduksi oleh hepar kemudian dipecah oleh enzim lipoprotein lipase (LPL) menjadi trigliserida dan lipoprotein yang lebih kecil (Harris, 2010). Sehingga konsumsi HFD akan meningkatkan kadar trigliserida dalam darah.

Terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan K- (pemberian HFD) dengan perlakuan P1 (HFD + 300 mg/kgBB ekstrak kulit batang kayu manis), P2 (HFD + 150 mg/kgBB ekstrak kulit batang kayu manis + 150 mg/kgBB ekstrak daun pepaya gunung), dan P3 (HFD + 300 mg/kgBB ekstrak daun pepaya gunung). Sedangkan antara perlakuan P1, P2, dan P3 tidak berbeda secara

signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak dapat menurunkan kadar trigliserida dalam darah mencit secara signifikan. Akan tetapi ketiga perlakuan ekstrak tersebut tidak terdapat perbedaan, atau dengan kata lain memiliki kemampuan yang sama dalam menurunkan kadar trigliserida.

Senyawa aktif yang terdapat pada kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) yang dianggap bertanggung jawab dalam penurunan kadar trigliserida adalah quercetin. Penelitian yang dilakukan oleh Kuipers *et al.* (2018) menunjukkan bahwa quercetin dapat menurunkan kadar trigliserida pada darah secara signifikan. Pada penelitian tersebut dijelaskan juga mekanisme penurunan kadar trigliserida dalam darah oleh quercetin, yaitu dengan aktivasi LPL pada jaringan endotel yang dapat menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas sehingga kadar trigliserida dalam darah menurun. Selain itu, quercetin juga menghambat lipolisis pada jaringan lemak sehingga pembentukan trigliserida ikut menurun.

Selain itu, papaya gunung (*Carica pubescens*) juga mempunyai senyawa aktif yang bertanggung jawab dalam penurunan kadar trigliserida dalam darah yaitu myricetin. Chang *et al.* (2012) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa pemberian myricetin dapat menurunkan kadar trigliserida. Myricetin secara transkripsional meningkatkan target enzim PPAR α pada hepar, sehingga oksidasi asam lemak juga turut meningkat. Akibatnya kadar asam lemak yang digunakan untuk sintesis trigliserida menurun sehingga kadar trigliserida juga ikut menurun. Dengan menurunnya kadar trigliserida dalam darah, maka tidak terjadi pertukaran antara trigliserida dan kolesterol ester pada HDL melalui CETP sehingga kadar

HDL sebagai kolesterol ‘baik’ dalam darah tidak mengalami penurunan (Rashid *et al.*, 2001).



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa quercetin yang terdapat kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) paling berpotensi menghambat aktivitas enzim HMG-KoA reduktase.
2. Pemberian ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dapat menurunkan kadar kolesterol total, sedangkan pemberian ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), daun pepaya gunung (*Carica pubescens*), dan kombinasi keduanya dapat menurunkan kadar trigliserida dalam darah dengan kemampuan yang sama.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, dapat dikemukakan saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menemukan reseptor-reseptor lain yang ikut berperan dalam penurunan profil lipid pada penderita dislipidemia secara *in silico*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai parameter-parameter lain yang berkaitan dengan dislipidemia, seperti histologi perlemakan hati.

DAFTAR PUSTAKA

- Accerlys, Enterprise Platform. 2005. *Introduction to the Discovery Studio Visualizer*. San Diego, California, U.S.A: Accelys Software Inc.
- Ahmed, A., Kazemi S. & Gohlke H. 2004. Protein flexibility and mobility in structure-based drug design. *Disertation*. Germany: JW-Goethe-University.
- Al-Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2008. *Tafsir Qur'an Al-Aisar Jilid 5*. Jakarta: Darus Sunnah
- Araar, H. 2009. Cinnamon plant extracts: a comprehensive physico-chemical and biological study for its potential use as a biopesticide. *Master Thesis*. Algeria: Istituto Agronomico Mediterraneo di Bari.
- Arwansyah, & Hasrianti. 2014. Simulasi molecular docking senyawa kurkumin dan analoginya sebagai selective androgen receptor modulator (SARMs) pada kanker prostat. *Jurnal Dinamika*. 5(2): 60-75.
- Ba, Pooja, Bhatted S., Chaturvedi N., Deekshit S., & Bhojani M.K. 2013. Role of atorvastatin in dyslipidemia: a clinical study. *Indian Journal of Clinical Practice*. 24(7).
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2013. *Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2013*. Jakarta: Departemen 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).
- 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 compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves. *Journal Food and Bioproducts Processing*. 89(1): 67-72.
- Bok, S.H., Park S.Y., Park., Y.B., Lee M.K., & Jeon S.M. 2002. Quercetin dihydrtre and gallate supplement lower plasma and hepatic lipid and change activities of heparic antioxidant enzymes in high cholesterol-fed-rats. *Int J. Vitam Nurt Res*. 72(3): 161-169.
- Bomfin, M.R., Oliveira A.S., do Amaral S.L., & Monteiro H.L. 2015. Treatment of dyslipidemia with statins and physical exercises: recent findings of skeletal muscle responses. *Arq Bras Cardiol*. 104(2): 324-31.
- Brown, C.T. 2006. *Penyakit Aterosklerotik Koroner*, dalam : Hartanto H, Susi N, Wulansari P, Mahanani DA, (eds), *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Edisi ke-6. Jakarta : EGC.
- Cai, L., Zhang L., Liu A., Li S., Wang P. 2012. Prevalence, awareness, treatment, and control of dyslipidemia adults in Beijing. *J. Atheroscler. Thromb*. 19(2): 159-68.
- Cakrawati, Dewi dan Mustika N.H. 2012. *Bahan Pangan, Gizi dan Kesehatan*. Alfabeta: Bandung.

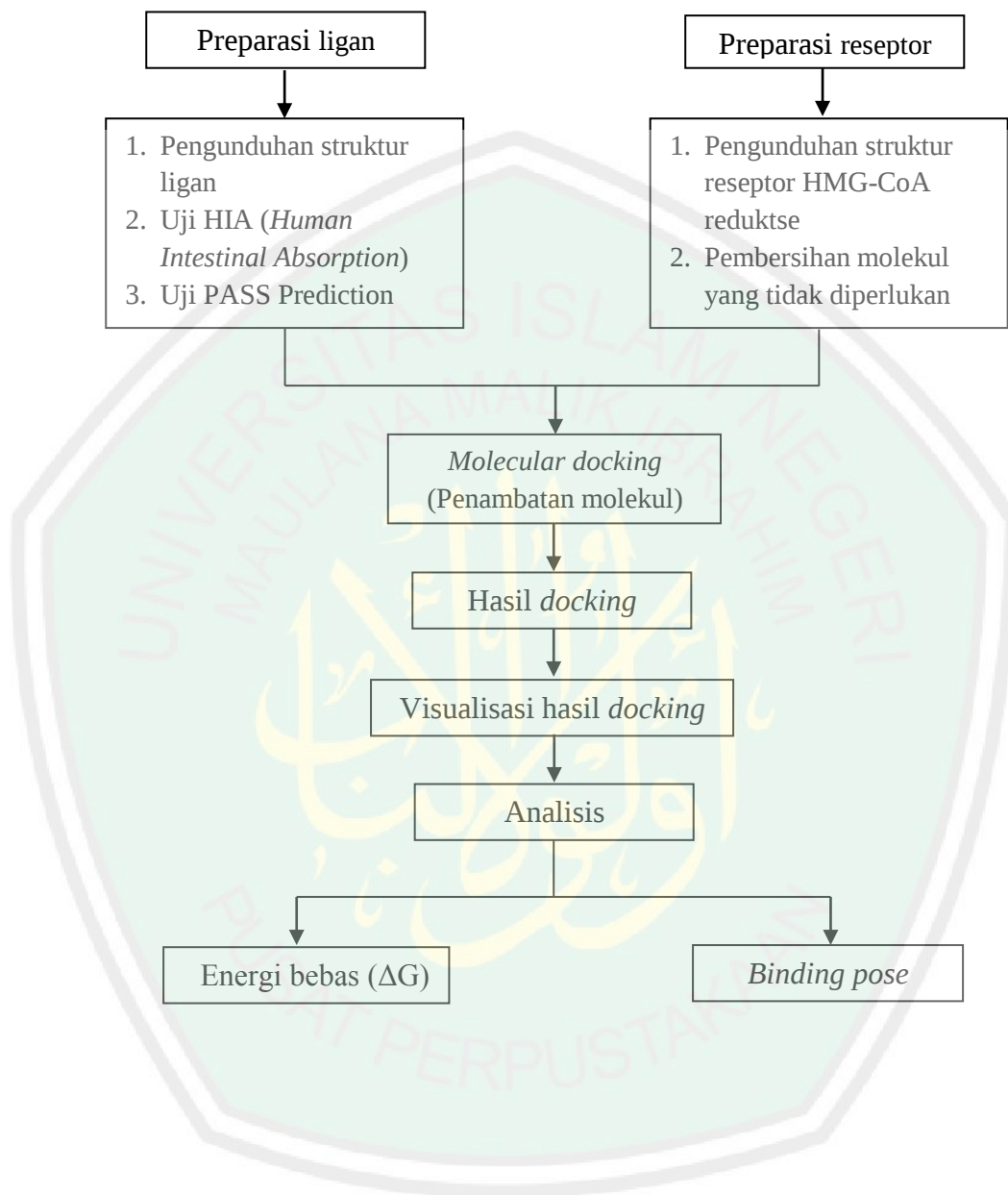
- Carreas, E.T., & Donna M.P. 2017. Dyslipidemia: current therapies and guidelines for treatment. *United States Cardiology*. 11(1).
- Chang, C.J., Tzeng T., Liou, S., Chang, Y. & Liu I. 2012. Myricetin increase hepatic peroxisome proliferator-activated receptor α protein expression and decrease plasma lipid and adiposity in rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012.
- Daintith, J. 1994. *Kamus Lengkap Kimia*. Jakarta: Erlangga.
- Dan, Longo. 2011. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 18th Edition. New York: The McGraw-Hill Publishing.
- Dasuki, U.A. 1991. *Sistematik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati Institut Teknologi Bandung.
- DeLano, W. L., & Bromberg S. 2004. *PyMol User's Guide*. USE: DeLano Scientific LLC.
- Dorland, W.A.N. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland*. Edisi ke-29. Alih Bahasa: Huriawati, dkk. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Du, X., Li Y., Xia Y., Ai S.M. Liang J., Sang P., *et al*. 2016. Insight into protein-ligand interaction: mechanism, models, and method. *Int J Mol Sci*. 17(2): 144
- Ferry, Y. 2013. Prospek pengembangan kayu manis (*Cinamomum burmannii* L.) di indonesia. *Jurnal SIRINOV*. 1(1).
- Filand, L.S. & Paige K.L. 2010. Use of statin for dyslipidemia in the pediatric population. *The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics*. 15(3).
- Filimonov, D.A., Lagunin A.A., Glorizova T.A., Rudik A.V., Druzhilovskii D.S., & Poroikov P.V. 2014. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using PASS online web resource. *Russian Original*. 50(3): 444-457.
- Firdaus, E.A. 2014. Efek kayu manis *Cinnamomum cassia* terhadap kadar glukosa darah, berat badan dan trigliserida pada tikus jantan strain sparague dawley yang diinduksi aloksan. *Skipisi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.
- Funkhouser, T. 2007. *Protein - Ligand Docking Methods*. Princeton, New Jersey, U.S.A: Princeton University.
- Gilman, 2012. *Goodman and Gilman: Dasar farmakologi terapi*. Edisi 10. Vol. 2. Jakarta: EGC.
- Goldstein, J.L. & Brown M.S. 2009. History of discovery: the LDL receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 29(4): 431-438.
- Grunday, S.M. 2002. Third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, nad treatment of high blood cholesterol in adults (adult tratment panel III). *Aha Journals*.
- Gupta, R., Ravinder S.R, Anoop M., & Samin K.S. 2017. Recent trends in epidemiology of dyslipidemia in India. *Indian Heart Journal*. 69(3): 382-392.
- Guyton, A.C. dan Hll, J.E. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi ke-9. Editor Bahasa Indonesia: Irawati Setiawan. Jakarta; Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Hamka. 1999. *Tafsir al-Azhar, Jilid IV*. Singapura: Pustaka Nasional PTE. LTD.
- Harini, M. 2009. Blood cholesterol level of hypercholesterolemia rat (*Rattus norvegicus*) after VCO treatment. *Journal Bioscience*. 1(2): 53-58.
- Harris, W.S. 2010. *Mechanism of Action of Triglyceride-lowering Drugs*. South Dakota: CME.
- Harvey, R.A. 2012. *Lippincott's Illustrated Review: Pharmacology 5th Edition*. Baltimore: Williams & Willkins.
- Heyne, K., 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia II*, Edisi 2. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Hossain, M.S., Alam M.B., Asadujjaman M., & Islam M.M. 2011. Antihyperglycemic and antilipidemic effect of different fraction of *Stevia rebaudiana* leaves in alloxan induced diabetic rat. *Int J Phar Sci Res*. 2(7): 1722-1729.
- Ihehioha, J.I.. 2011. Reference values for the serum lipid profile of albino rats (*Rattus norvegicus*) of varied ages and sexes. *Comparative Clinical Patology*.
- Indranilla, & Ulfah M. 2015. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun karika (*Carica pubescens*) dengan metode DPPH beserta identifikasi senyawa alkaloid, fenol dan flavonoid. *Prosiding Seminar Nasional Peluang Herbal Sebagai Alternatif Medicine*. Semarang: Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim.
- Istvan, E.S., & Deisenhofer J. 2000. The structure of the catalytic portion of human HMG-CoA reductase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. 1529(1-3): 9-18.
- Istvan, E.S. 2003. Statin inhibition of HMG-CoA reductase: a 3-dimensional view. *Atherosclerosis Supplements*. 4(1): 3-8.
- Ivanov, S.M., Lagunin A.A., Rudik A.V., Filimonov D.A., & Poroikov P.V. 2018. ADVERPred-web service for prediction of adverse effect of drugs. *J Chem Int Model*. 58: 8-11.
- Jamkhande, P.G. 2014. Antioxidant, antimicrobial activity and in silico pass prediction of *Annona reticulate* Linn. root extract. *Journal of Basic and Applied Sciences*. Vol. 3.
- Joganath, I.B., Mullen, W., Edwards C.A., & Crozier A. 2006. The relative contribution of the small and large intestine to the absorption and metabolism of rutin in man. *Free Radic Res*. 40: 1035-1046.
- Kabo, P. 2011. *Bagaimana Menggunakan Obat-obat Kardiovaskuler secara Rasional*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI
- Katsir Ad-Dimasyqi, Ibnu. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir*. Diterjemahkan oleh M. Abdul Ghoffar, Abdurrahman M., dan Abu Ihsan A. Bogor: Pustaka Imam Syafi'i.
- Kuipers, E.N., Dam A.D.V., Held N.M., Mol I.M., & Houtkooper R.H. 2018. Quercetin lowers plasma triglycerides accompanied by white adipose browning in diet-induced obese mice. *Int J Mol Sci*. 19(1786).
- Kusuma, I.M., Haffidudin M., & Anis P. 2015. Pola makan dengan peningkatan kadar kolesterol pada lansia di Jebres Surakarta. 2(2)

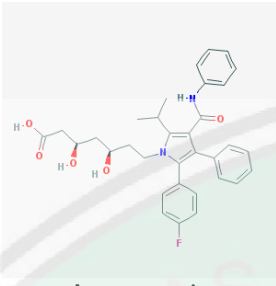
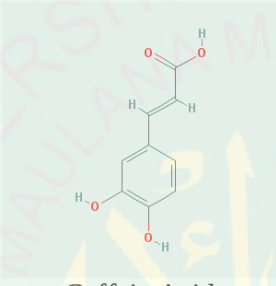
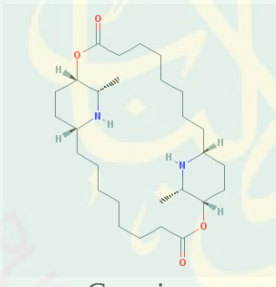
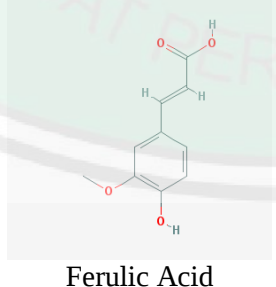
- Kwiterovich, P.O. 2000. The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein, and triglycerides: a current review. *Am J Cardiol.* 86(12): 5-10
- Kyun, P.S. 2009. Fruit, vegetable and fish consumption and heart rate variability: the veterans administration normative aging study. *Journal of Clinical Nutrition.* Vol. 89.
- Lagunin, A., Stepanchikova A., Filimonov D., & Poroikov V. 2000. PASS: prediction of activity spectra for biological active substances. *Bioinformatics.* 16(8): 747-748.
- Laily, A.N., 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.
- Markham, K.R. 1988. *Techniques of Flavonoids Identification*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Meng, X. Hong-Xing Z., Mihaly M., & Meng C. 2011. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Curr Comp Aided Drug Des.* 7(2): 146-157.
- Moor, Vicky J.. 2017. Dyslipidemia in Patient with a Cardiovascular Risk and Disease at the University Teaching Hospital of Yaounde, Cameroon. *Hindawi: International Journal of Medicine.* Vol. 2017.
- Moya-Leon, Maria A., & Raul Herrera. 2004. Ripening of Montain Papaya (*Vasconcellea pubescens*) and Ethylene Dependence of Some Ripening Events. *Postharvest Biology and Technology*, 34: 211-218.
- Mukesh, B., & Rakesh, K. 2011. Molecular docking: a review. *Int J Res Ayurv Pharm.* 2(6).
- Murray, R.K, Granner, dan Rodwell. 2009. *Biokimia Harper (Brahm U. Pandit, et all, penerjemah)*. Edisi ke-27. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- 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 D., Sabirin M., & Tutik D.W. 2005. Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dalam rimpang temu ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.). *Bioinformasi.* 3(1).
- Onkara. 2013. Molecular docking studies, aynthesis and antibacterial properties of new mannich bases. *International Journal of Pharma and Bio Sciences.* 4(2).
- Pal, S. 2003. Red wine polyphenolics increase LDL receptor expression and activity and suppress the secretion of ApoB100 from human HepG2 cells. *Nutr.* 133(4).
- Palvai, V.R., dan Asna U.. 2014. Inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (Ex Vivo) by *Morus indica* (Mulberry). *Chinese Journal of Biology.* 2014.
- Poertjoto, P. 1997. *Pendidikan Kedokteran Berkelanjutan ke-11 Ilmu Penyakit Dalam*. Semarang: Bahan Penerbit Universitas Diponegoro.

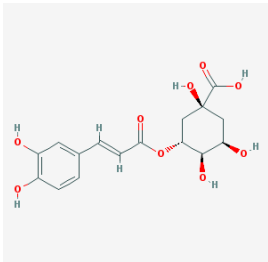
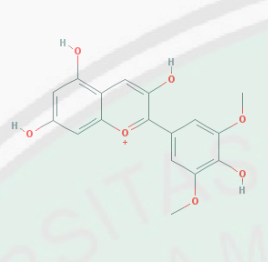
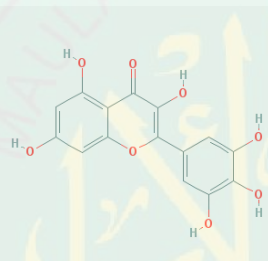
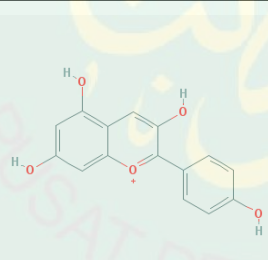
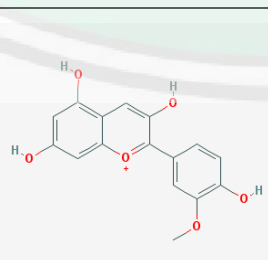
- Pramely, R. T., Leon, S, R. 2012. Prediction of biological activity spectra of a few phytoconstituens of azadirachta india. *Journal Biochem Tech.* 3(4): 375-379.
- Price, S.A dan Wilton L.M. 2012. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Edisi ke-6. Jakarta: EGC.
- Purseglove, J.W., Brown, E.G., Green, C.L & Robbins, S.R.J. 1981. *Spices*. London: Longman
- Puspaningtyas, Ayik Rosita. 2012. Molekular *Docking* dengan Metode Molegro Virtual Docker Turunan Kalkon Sebagai Antimikroba. *Stomatognatic* (J.K.G UNEJ). 9(1).
- Qi, L., Xianbin D., Wenge T., Qin L., Deqiang M., & Yulin W. 2015. Prevalance and risk factor associated with dyslipidemia in Chongqing, China. *Int. I. Environ. Res. Public Health*. 12: 13455-13465
- Qin, Y., Xia M., Ma J., Hao Y., Liu J., Mou H., *et al.* 2009. Anthocyanin supplementation improves serum LDL-and HDL-cholesterol concentrations associated with the inhibition of cholesteryl ester transfer protein in dyslipidemic subject. *Am J Clin Nutr.* 90(3): 485-492.
- Radchenko, E.V., Dyabina A.S., Palyulin V.A., & Zefirov N.S. 2016. Prediction of Human Intestinal Absorption of Drug Compounds. *Russ Chem Bull.* 65(2): 576-580.
- Rani, R., dan Durchame. 2008. *Hyperlipidemia in The Elderly*. St. Loius: Saint Louis University Medical Center.
- Rao, Pasupuleti Visweswara dan Slew Hua Gan. 2014. Cinnamon: A Multifaced Medicinal Plant. *Journal Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*. Kelantan, Malaysia.
- Rashid, S., Kristine D.U., & Gary F.L. 2001. The mechanism of HDL lowering hypertrygliceridemic insulin-resistant states. *Journal Diabetes and Its Complication*. 16(2002): 24-24.
- Ravindran, P.N. 2004. *Cinnamon and cassia The Genus Cinnamomum*. USA: CRC Press.
- Risyad, A., Resi L.P., & Siswarni M.Z. 2016. Ekstraksi minyak dari biji alpukat (*Parsea americana* Mill) menggunakan pelarut N-heptana. *Jurnal Teknik Kimia*. 5(1).
- Sandeep, G., Nagasree K.P. Hanisha M., & Kumar K. 2011. Audocker LE: A GUI for virtual screening with Autodock Vina. *BMC Research Note*.
- Sanggal, A. 2011. Role of Cinnamom as Beneficial Food Adjunct: *a Review Pelagia Research Library*. 2(4).
- Scalbert, A., Morand C., Monach C., & Remesy C. 2002. Absorption and metabolism of polyphenol in the gut and impact on health. *Biomed Prharmacother.* 56: 276-282.
- Sharma, N., Mogra R., & Upadhyay B. 2009. *Effect of Stevia Extract Intervention on Lipid Profile*. *Studies on Ethno-Medicine*, 3(2), 137-140.

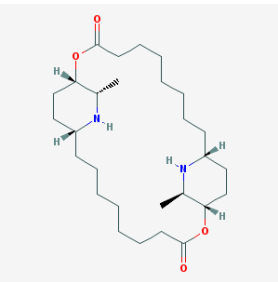
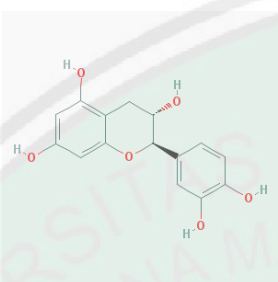
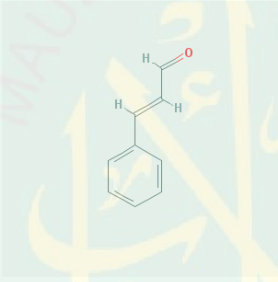
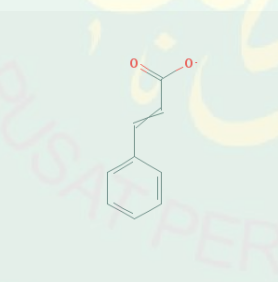
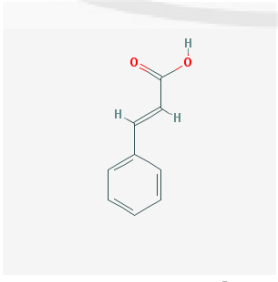
- Simirgiotis, M.J, Peter D.S.C., & Guillermo S. 2009. Identification of phenolic compounds from the fruits of the mountain papaya (*vasconcellea pubescens*) grown in chile by chromatography-uv detection-mass spectrometry. *Journal Food Chemistry*. 115(2): 775-784.
- Subramanian, G., & Kitchen D.B. 2006. Computational approaches of modeling human intestinal absorbtion and permeability. *J Mol Model*. 12(5): 577-589.
- Suharti, K.S. 2007. *Farmakologi dan Terapi: Hormon tiroid dan antitiroid 5th ed*. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI.
- Syahputra, G., Ambarsari T., & Sumaryada. 2014. Simulasi *docking* kurkumin, fenol, bisdemetoksikurkumin dan analoginya sebagai inhibitor enzim 12-lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*. 10(1).
- Syuyuti, Jalaludin dan Jalaludin Muhammad bin Ahmad al-Mahalliy. 1990. *Tafsir Jalalain*. Bandung: Sinar Baru Algensindo.
- Thomas, J. and Deuethi, P.p., 2001. *Cinnamon Handbook of Herbs and Spices*. New York: CRC Press.
- Tiwari, P.B.K. & Mandeep K. 2011. Phytochemical screening and extraction: a review. *International Pharmaceutica Scientia*. 1(1).
- Trott, O., & Olson A.J. 2010. Autodock vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J Comput Chem*. 31(2): 455-461.
- Utaminingsih, R. W. 2009. *Mengenai dan Mencegah Penyakit Diabetes, Hipertensi, Jantung dan Stroke untuk Hidup Lebih Berkualitas*. Yogyakarta: Media Ilmu.
- Wessel, M. D., & Jurs P. C. 1998. Geranyl flavonoids from the leaves of Artocarpus atilis. *Phytochemistry*. 68: 1300-1306.
- WHO. 2017. Cardiovascular Diseses (CVDs). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/>. (diakses pada 13 Januari 2018).
- Wicaksono, D., & Idris, R. 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.
- 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, R., Helmi A., & Risha M. 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.
- Ziaee, A., Farzaneh Z., Marjan, N., & Esmail A. 2009. Effect of Rutin on Lipid Profile in Hypercholesterolemia rats. *Basic & Pharmacology & Toxicology*. 104: 253-258.

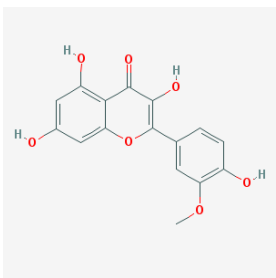
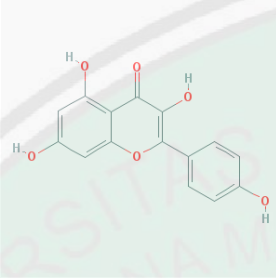
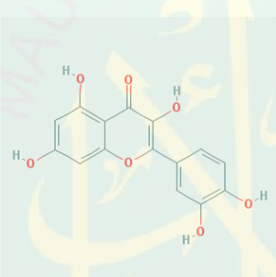
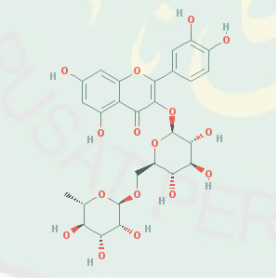
LAMPIRAN**LAMPIRAN 1.** Alur Penelitian *In Silico*

LAMPIRAN 2. Struktur Ligan

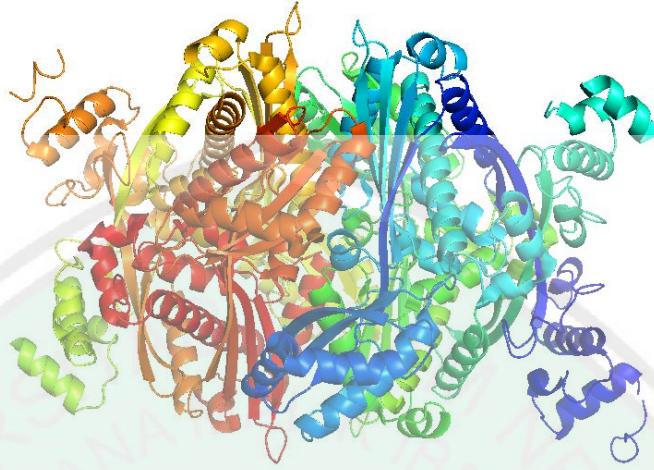
CID Senyawa	Struktur	SMILES
60823	 Atorvastatin	<chem>CC(C)C1=C(C(=C(N1CCC(CC(=O)O)O)O)C2=CC=C(C(=C2)F)C3=CC=CC=C3)C(=O)NC4=CC=CC=C4</chem>
689043	 Caffeic Acid	<chem>C1=CC(=C(C=C1C=CC(=O)O)O)O</chem>
442630	 Carpaine	<chem>CC1C2CCC(N1)CCCCCCCC(=O)OC3CCC(CCCCCCCC(=O)O2)NC3C</chem>
445858	 Ferulic Acid	<chem>COC1=C(C=CC(=C1)C=CC(=O)O)O</chem>

1794427	 Chlorogenic Acid	<chem>C1C(C(C(CC1(C(=O)O)O)OC(=O)C=CC2=C(C(=C(C=C2)O)O)O)O</chem>
159287	 Malvidin	<chem>COC1=CC(=CC(=C1O)OC)C2=C(C=C3C(=C(C=CC3=[O+](2)O)O)O</chem>
5281672	 Myricetin	<chem>C1=C(C(C=C(C(=C1O)O)O)O)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>
440832	 Pelargonidin	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=C(C=C3C(=CC(=CC3=[O+](2)O)O)O)O</chem>
441773	 Peonidin	<chem>COC1=C(C(C=CC(=C1)C2=C(C=C3C(=CC(=CC3=[O+](2)O)O)O)O)O</chem>

12305270	 Pseudocarpaine	<chem>CC1C2CCC(N1)CCCCCCCCC(=O)OC3CCC(CCCCCCCC(=O)O2)NC3C</chem>
9064	 Catechin	<chem>C1C(C(OC2=CC(=CC(=C21)O)O)C3=CC(=C(C=C3)O)O)O</chem>
637511	 Cinnamaldehyde	<chem>C1=CC=C(C=C1)C=CC=O</chem>
3920069	 Cinnamate	<chem>C1=CC=C(C=C1)C=CC(=O)[O-]</chem>
444539	 Cinnamic Acid	<chem>C1=CC=C(C=C1)C=CC(=O)O</chem>

5281654	 Isorhamnetin	<chem>COC1=C(C=CC(=C1)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>
5280863	 Kaempferol	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>
5280343	 Quercetin	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)O</chem>
5280805	 Rutin	<chem>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</chem>

LAMPIRAN 3. Struktur Reseptor



Struktur 3D Reseptor HMG-KoA Reduktase (PDB ID: 1HWK)

LAMPIRAN 4. Preparasi Ligan

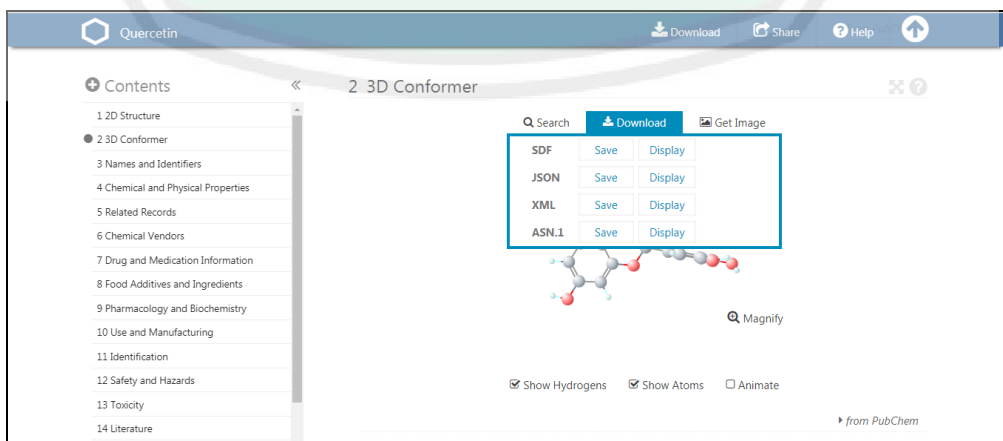
1. Pencarian ligan dalam database PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.gov>)



2. Hasil pencarian ligan di PubChem



3. Ligan dalam bentuk 3D disimpan dalam format .sdf



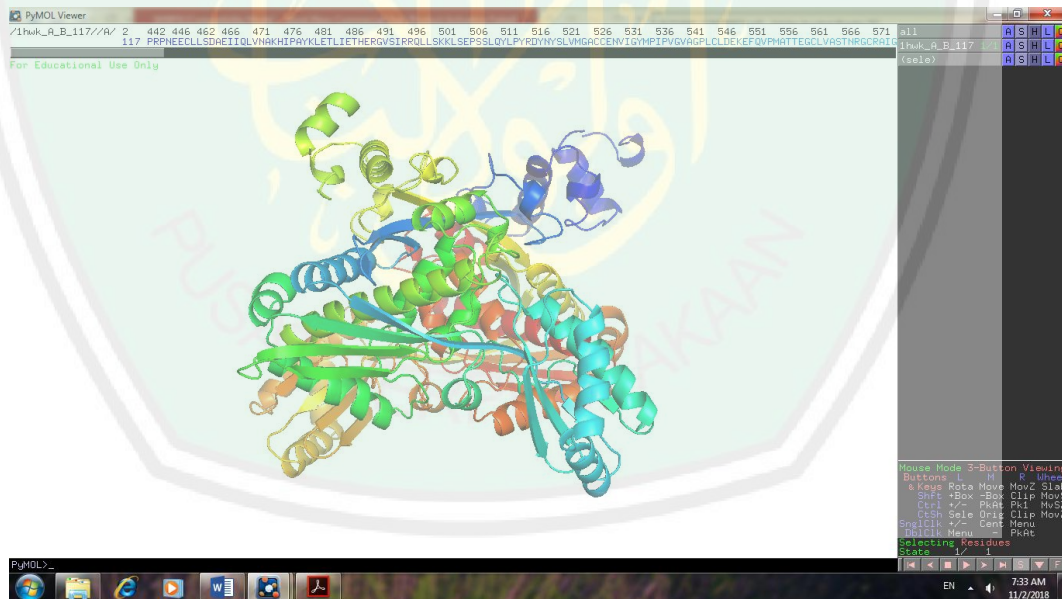
LAMPIRAN 5. Preparasi Reseptor

1. Reseptor HMG-KoA Reduktase diunduh dari RCSB PDB (Protein Data Bank) melalui (<http://www.rcsb.org>) dengan kode 1HWK



Hasil pencarian 1HWK – Klik Download File – Klik PDB format

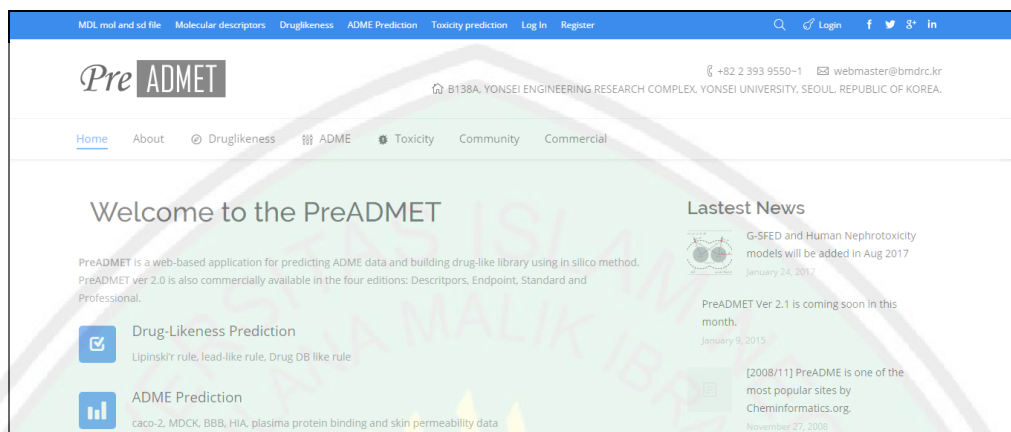
2. Molekul-molekul yang tidak diperlukan dibersihkan menggunakan PyMol. Reseptor yang telah bersih disimpan dalam format .pdb



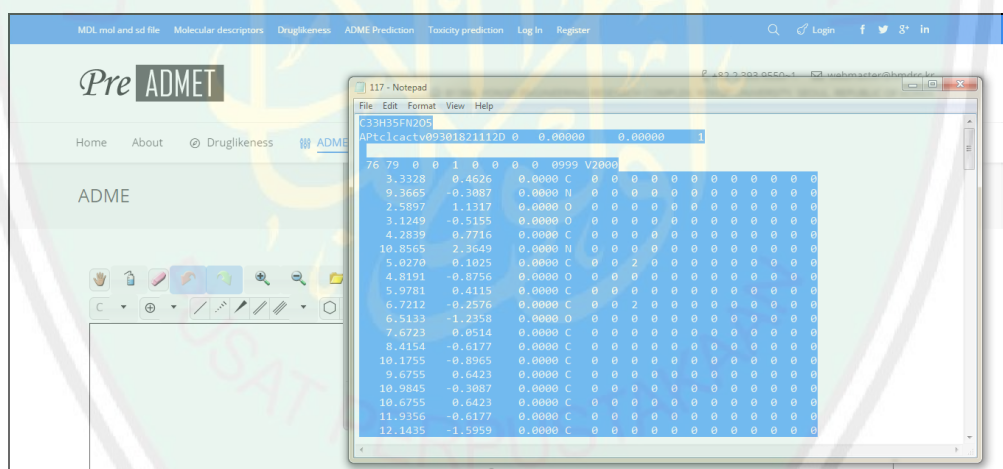
Klik “S” pada panel navigasi bawah – Blok sekuen dan ligan yang tidak diperlukan – Remove. Pilih File – Save molecule – OK

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

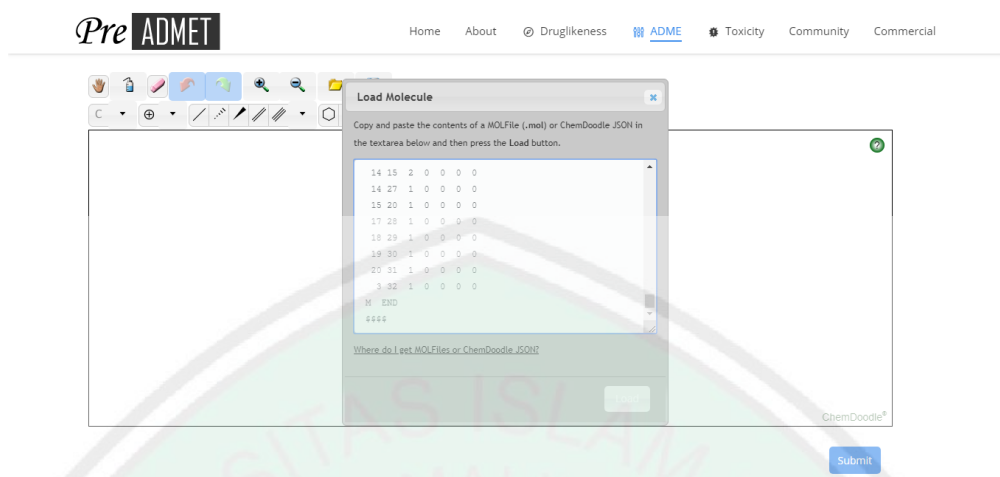
1. Dibuka software online Pre ADMET melalui (<https://preadmet.bmdrc.kr/>) lalu pilih ADME Prediction



2. Dickey MOL file ligan dari notepad



3. Dimasukkan MOL file yang telah dicopy ke Load Molecule pada software, lalu klik Submit



4. Hasil prediksi HIA menggunakan software online Pre ADMET

SSS

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

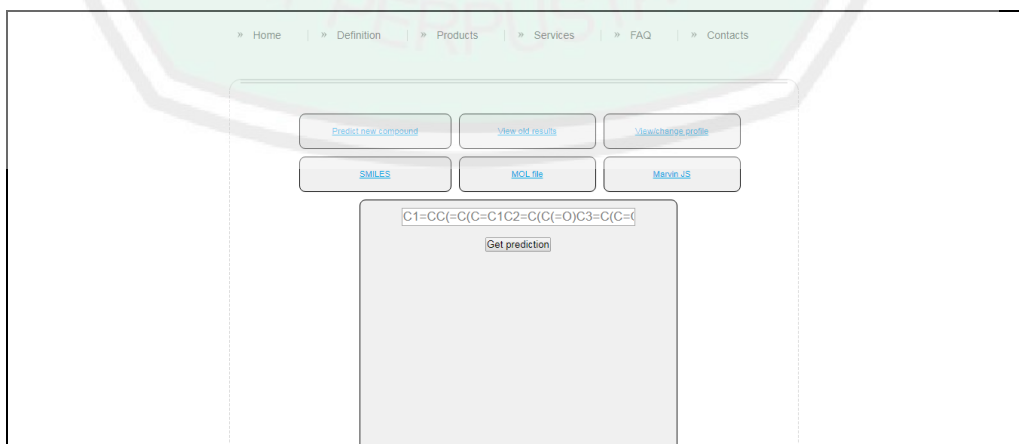
1. Dibuka software online PASS melalui (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline/>) lalu klik ‘Go for Prediction’



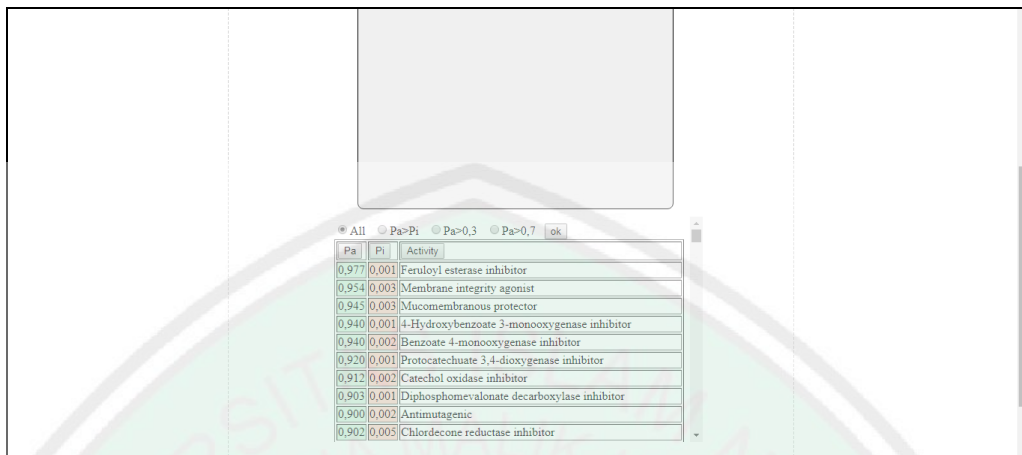
2. Setelah login, pilih ‘Predict new compound’ dan klik SMILES



3. Masukkan SMILE dari ligan yang dicopy dari PubChem



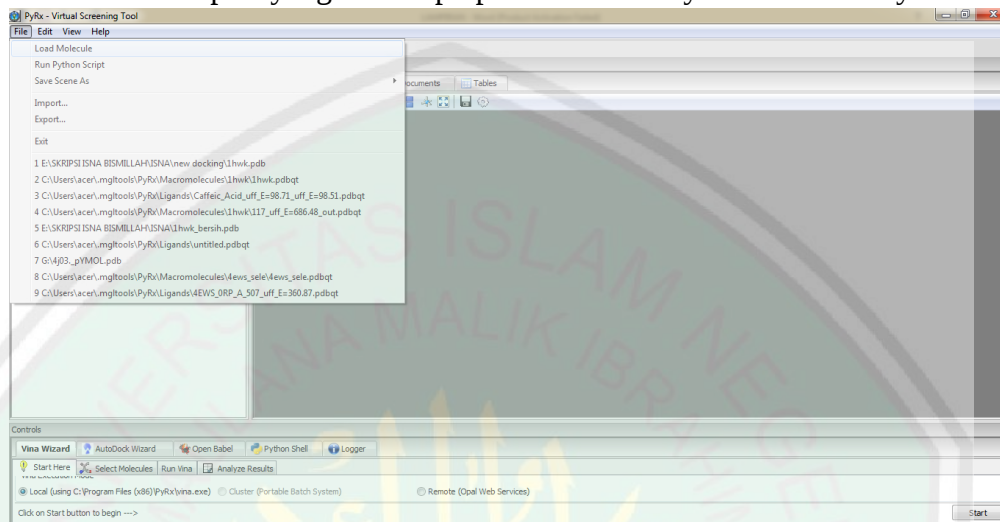
4. Hasil prediksi ligan menggunakan PASS online. Temukan aktivitas yang telah ditentukan



Pa	Pi	Activity
0,977	0,001	Feruloyl esterase inhibitor
0,954	0,003	Membrane integrity agonist
0,945	0,003	Mucomembranous protector
0,940	0,001	4-Hydroxybenzoate 3-monooxygenase inhibitor
0,940	0,002	Benzoate 4-monooxygenase inhibitor
0,920	0,001	Protocatechuate 3,4-dioxygenase inhibitor
0,912	0,002	Catechol oxidase inhibitor
0,903	0,001	Diphosphomevalonate decarboxylase inhibitor
0,900	0,002	Antimutagenic
0,902	0,005	Chlordecone reductase inhibitor

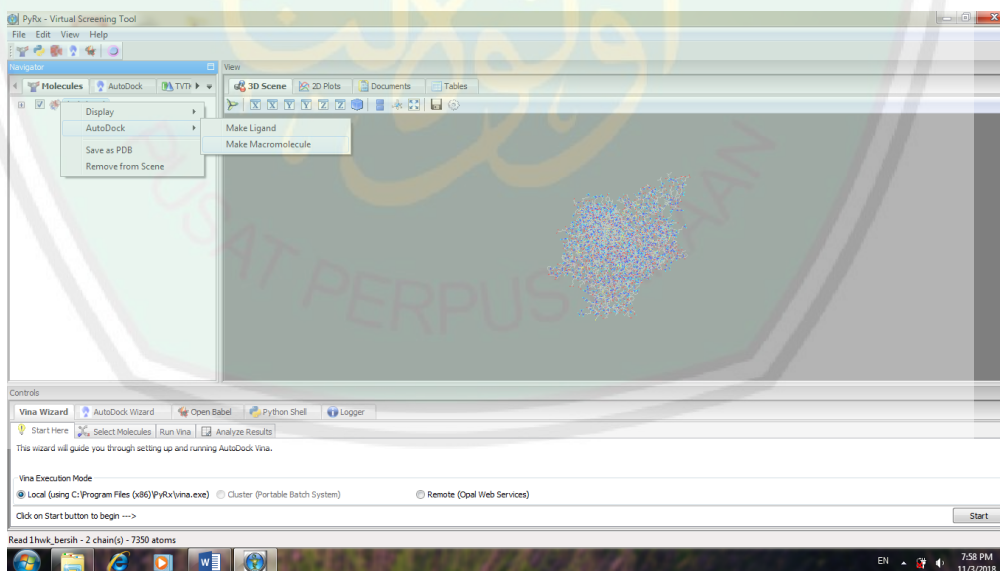
LAMPIRAN 8. Penambatan Molekul (*Molecular Docking*)

1. Masukkan reseptor yang telah dipreparasi sebelumnya ke software PyRx



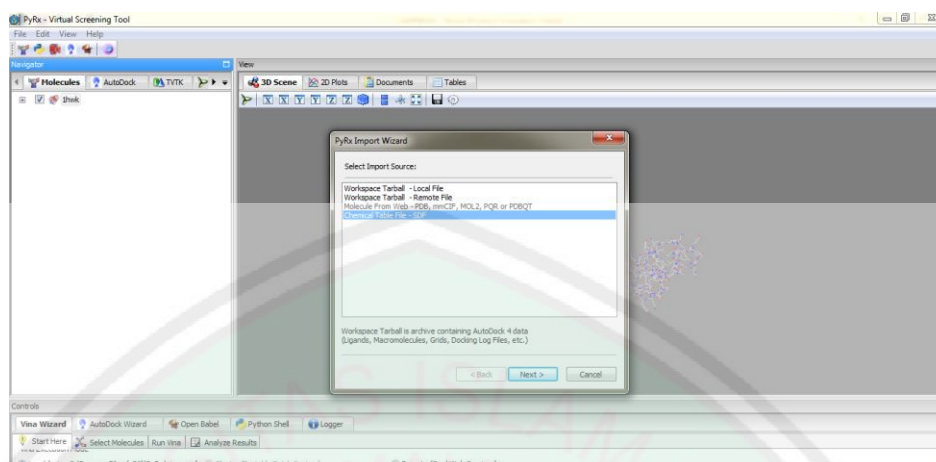
Buka software – PyRx – File – Load Molecule

2. Preparasi molekul menjadi format .pdbqt



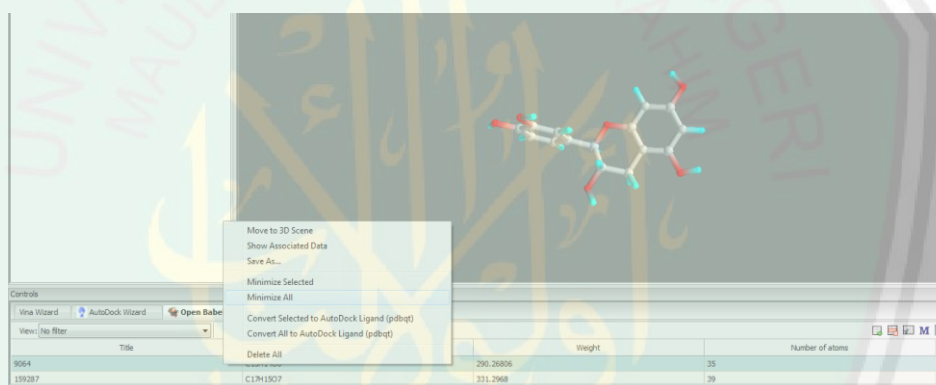
Klik kanan reseptor – Autodock – Make macromolecule

3. Memasukkan ligan



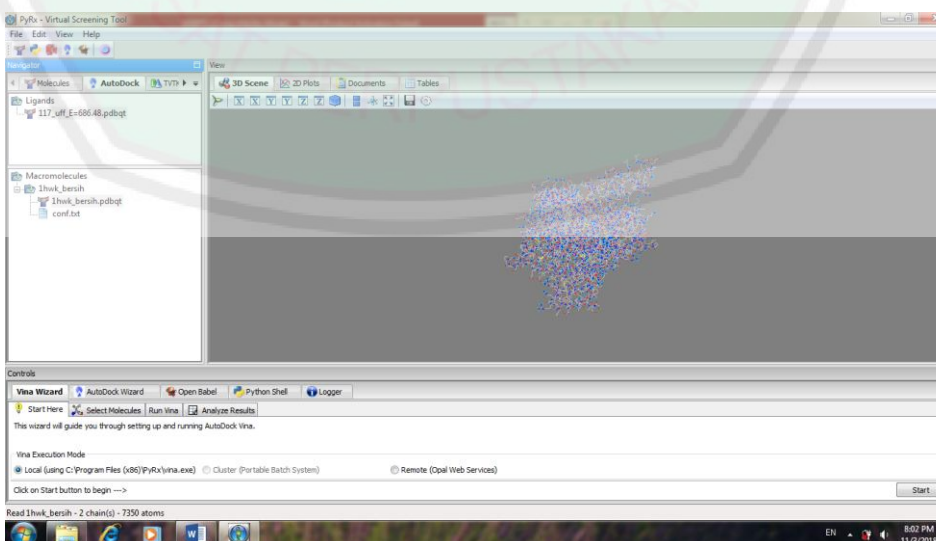
File – Import – Chemical table SDF – Open

3. Preparasi ligan menjadi format .pdbqt



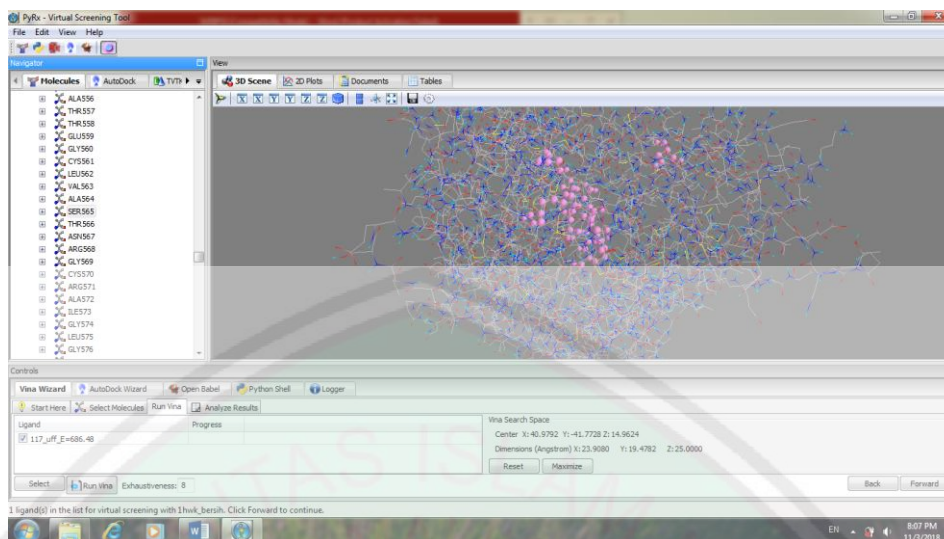
Klik kanan ligan pada Open Bable – Minimize all – Convert all to pdbqt

4. Docking menggunakan Autodock Vina

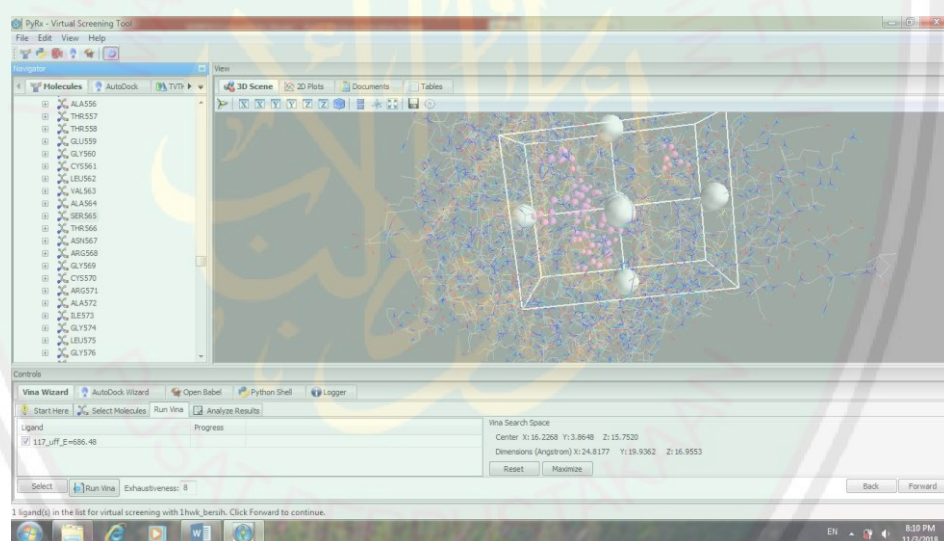


Vina Wizard – Start – pilih molekul dan ligan yang akan didocking – Forward

6. Mengatur Grid Box pada sisi aktif reseptor

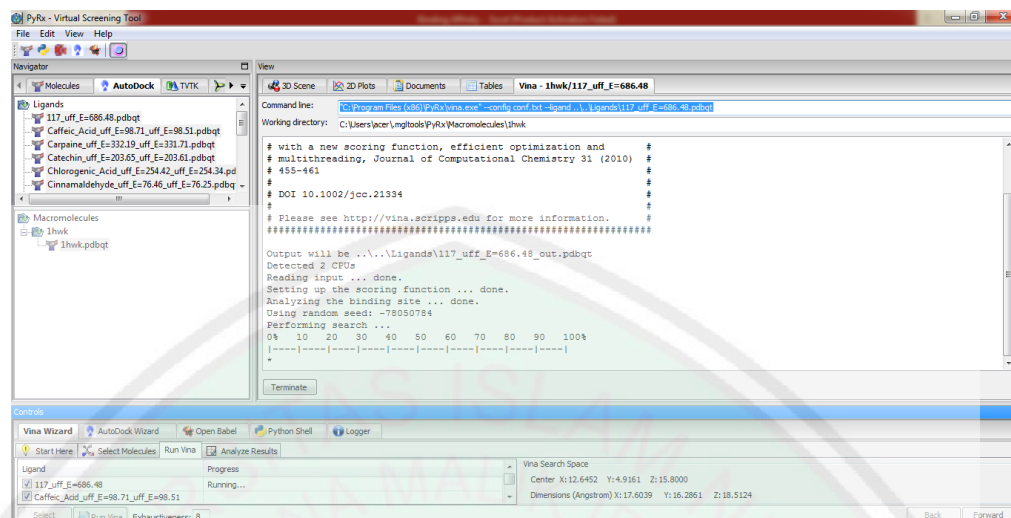


Pilih asam amino dari sisi aktif ligan – tandai dengan Toggle Selection Spheres – pada Select Molecules klik Forward

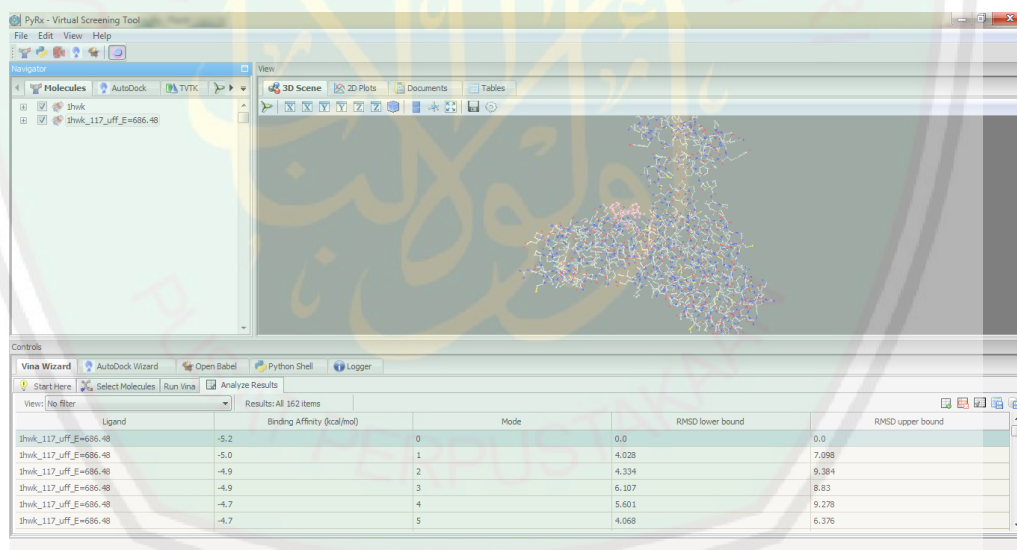


Letakkan dan atur ukuran Grid Box tepat pada sisi aktif molekul yang telah ditandai – Forward

8. Proses docking berjalan



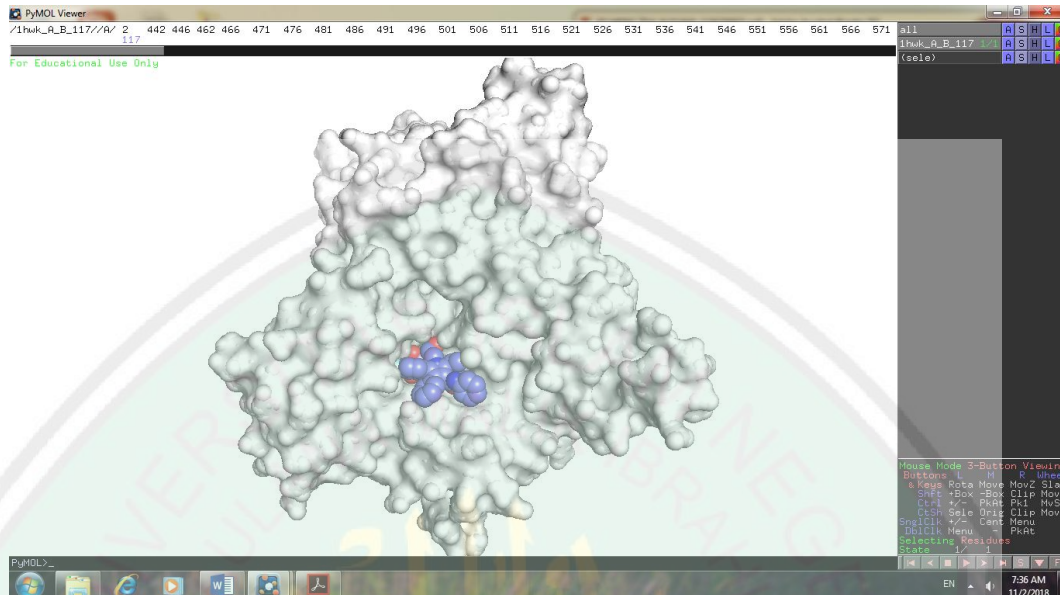
9. Hasil docking disimpan dalam format .pdbqt dan .csv



Klik kanan salah satu ligan (pilih yang paling rendah) – Save as PDB

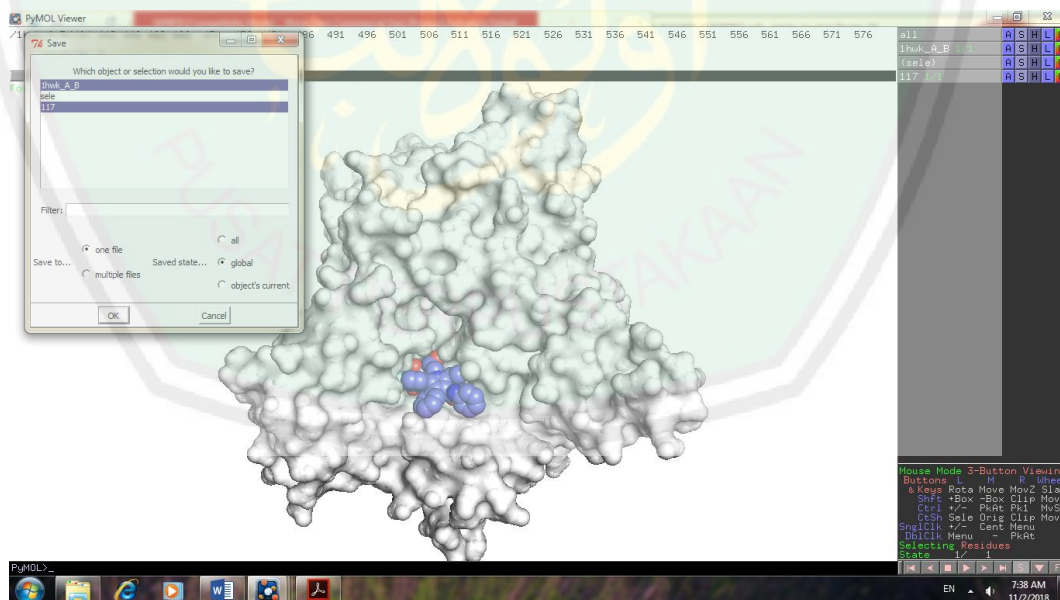
Simpan skor Binding Affinity dalam format .csv

10. Membuat kompleks ligan-reseptor dengan aplikasi PyMol



Buka file reseptor – buka file ligand hasil docking

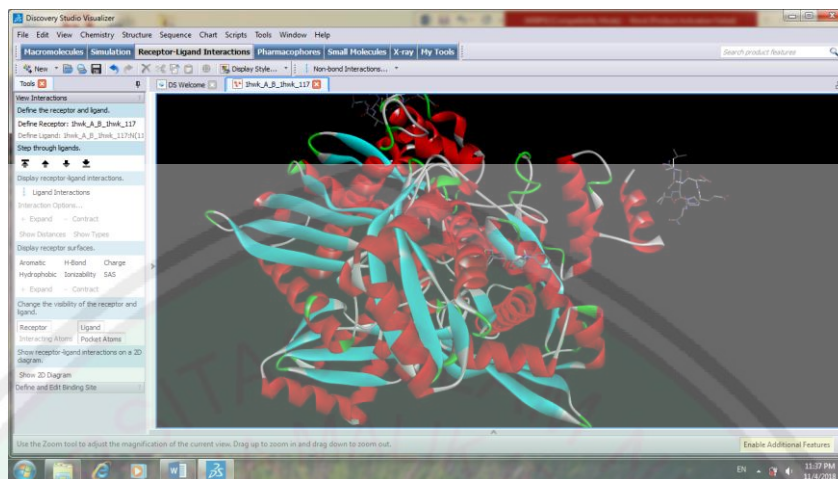
11. Simpan molekul dalam satu file dengan format .pdb



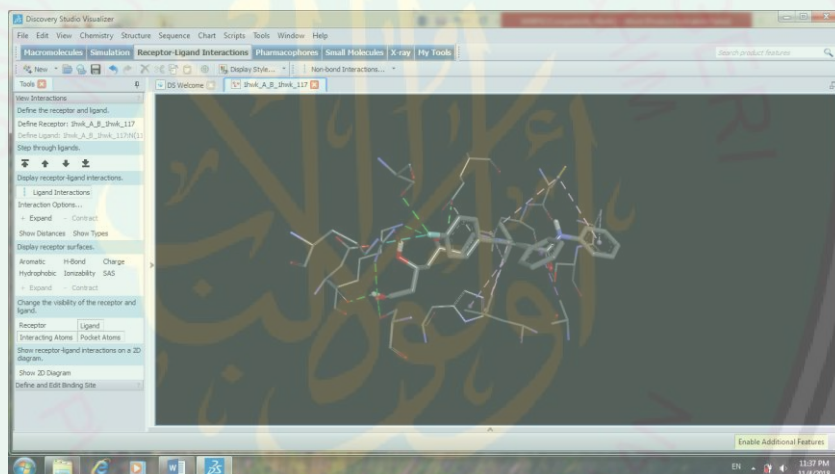
File – Save Molecule – blok nama reseptor dan ligan – Save to one file – OK

LAMPIRAN 9. Visualisasi 2D hasil *docking*

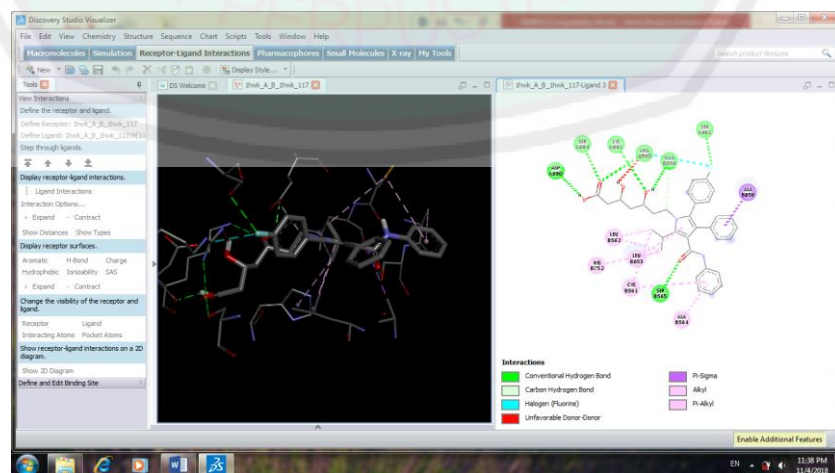
1. Dibuka Discovery Studio dan dimasukkan kompleks reseptor dan ligan yang akan divisualisasikan



2. Dianalisis interaksi ligand dengan klik 'Ligand Interaction'



3. Ditampilkan digram 2D dengan klik 'Show 2D Diagram'

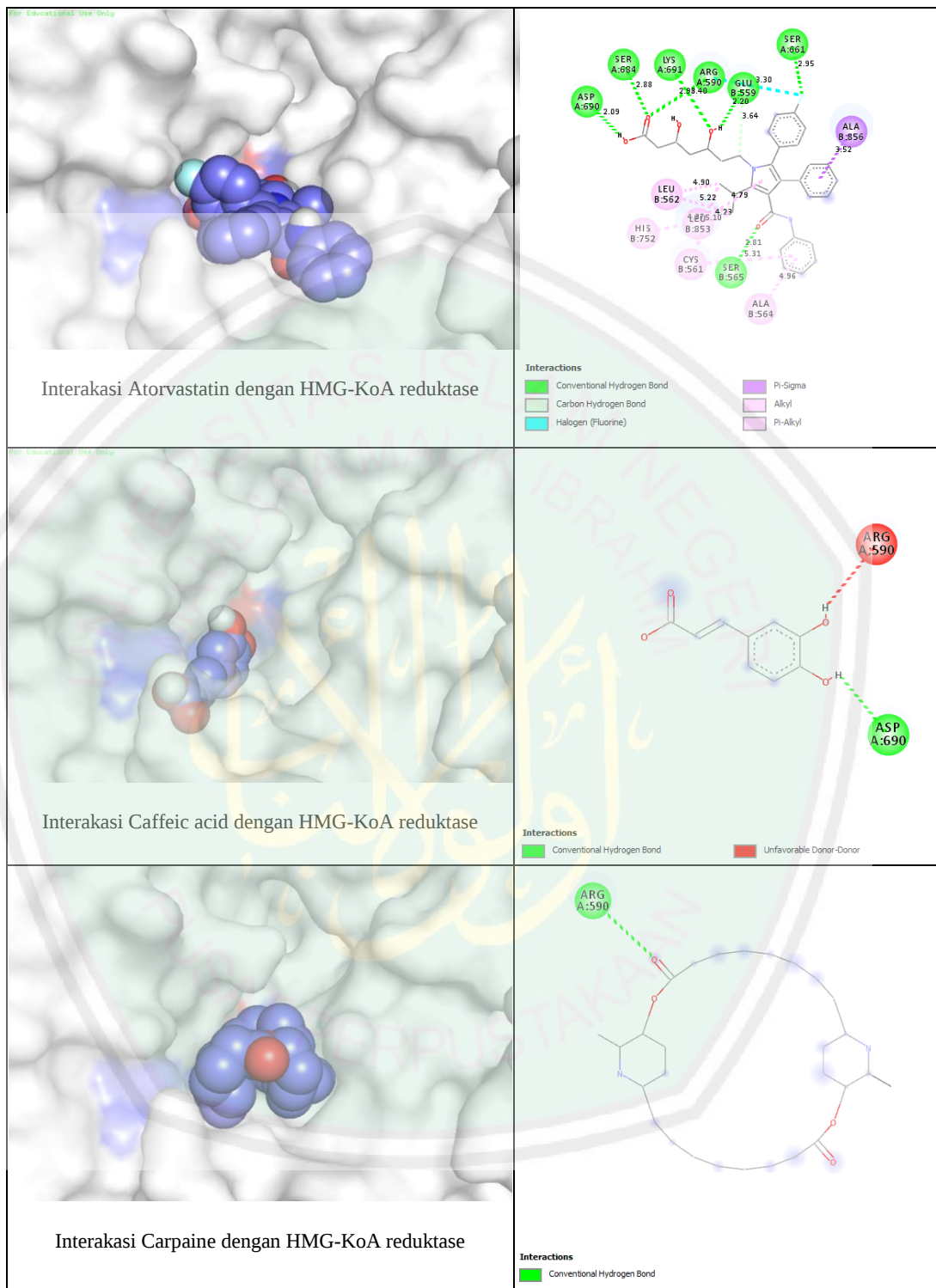


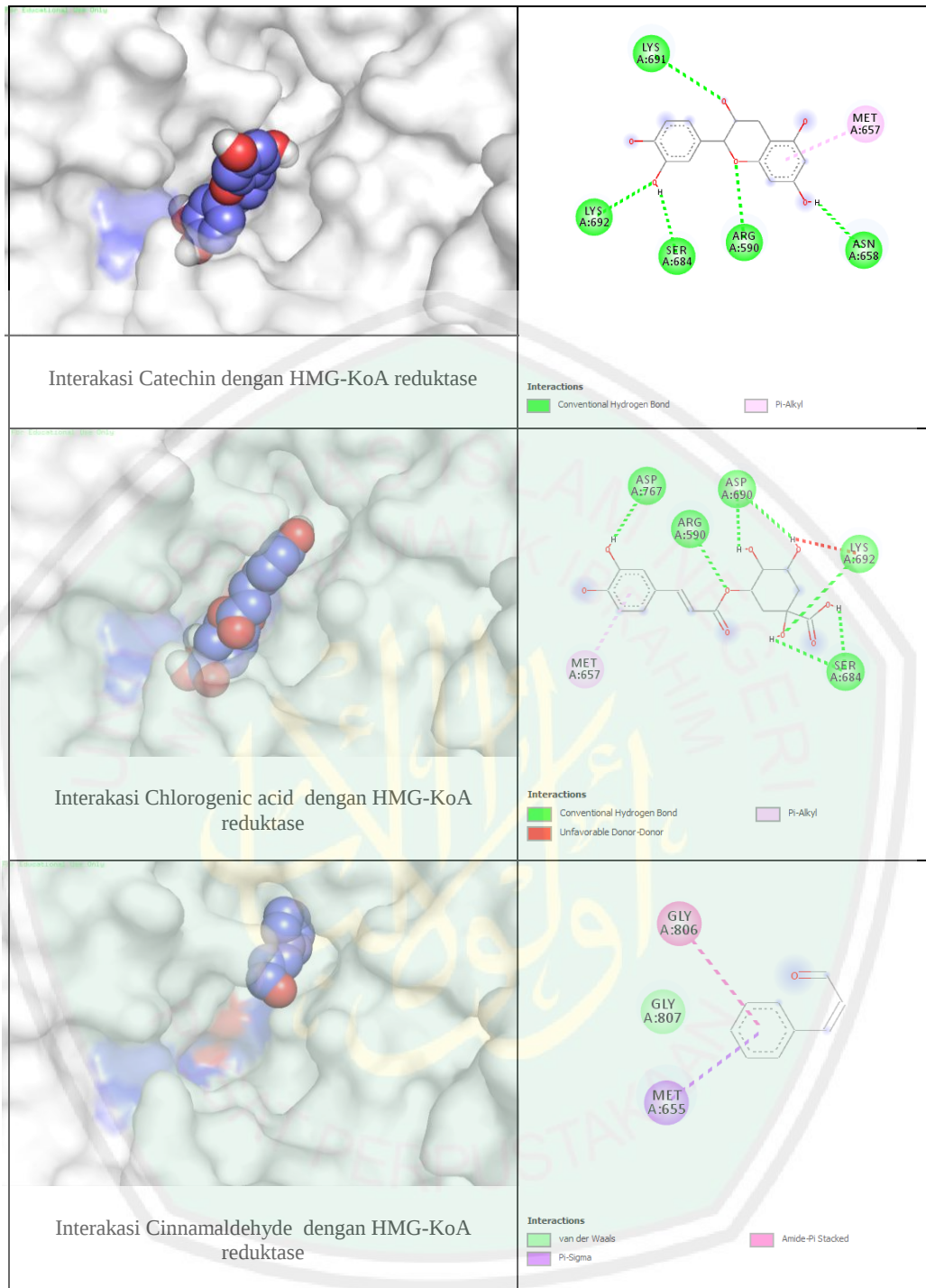
LAMPIRAN 10. Data Nilai Energi Bebas (ΔG) Ligan – Reseptor

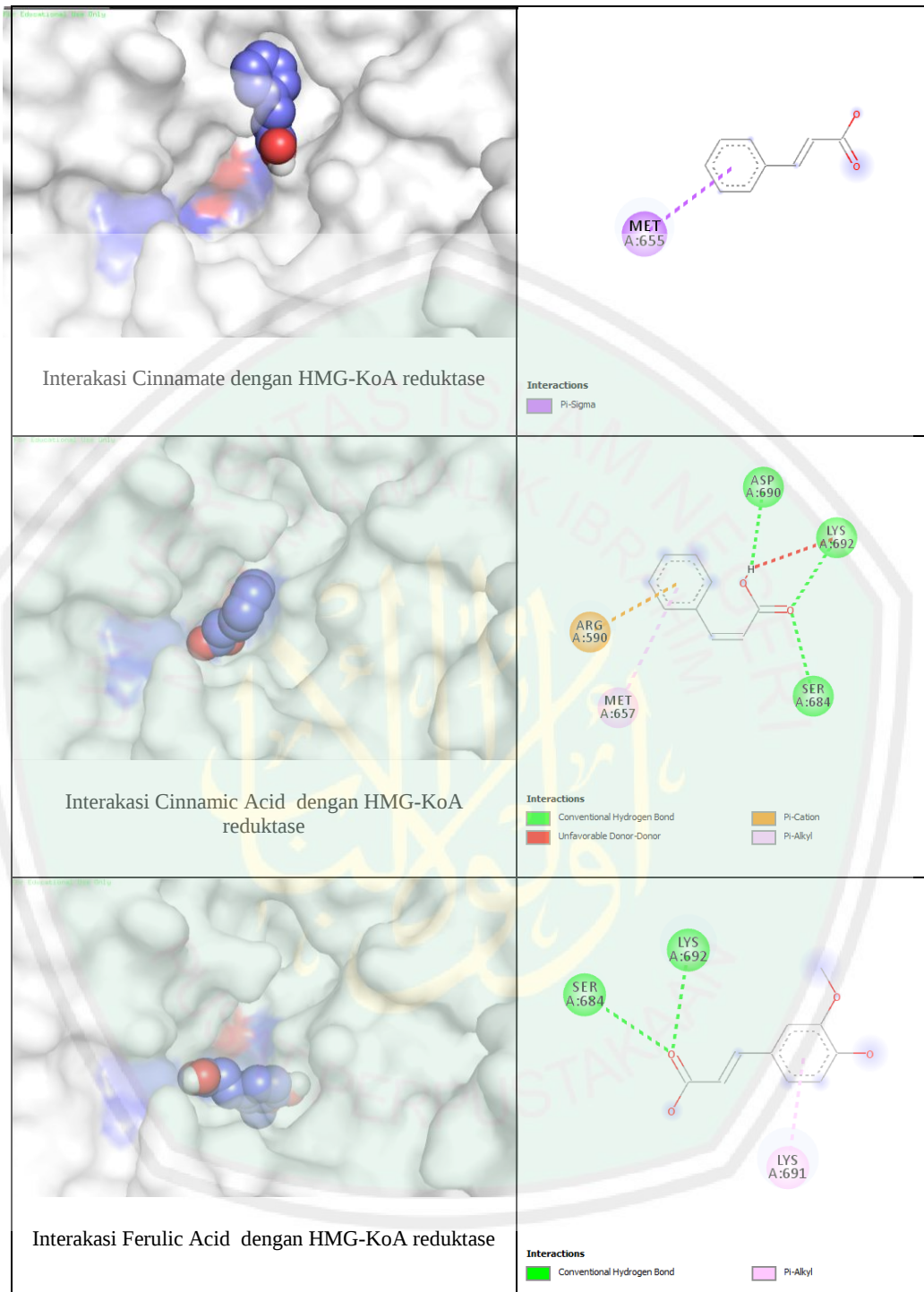
No	Senyawa	Model	Energi Bebas (ΔG) (kkal/mol)	rmsd/ub	rmsd/lb
1	Atorvastatin	Model 1	-9.3	0	0
		Model 2	-7.9	2.916	1.696
		Model 3	-7.9	6.814	3.825
		Model 4	-7.4	9.326	3.228
		Model 5	-7.4	1.994	1.615
2	Caffeic Acid	Model 1	-4.7	0	0
		Model 2	-4.7	3.345	2.526
		Model 3	-4.6	2.121	1.477
		Model 4	-4.3	3.252	2.293
		Model 5	-4.3	2.507	1.616
3	Carpaine	Model 1	-5.4	0	0
		Model 2	-5.2	7.848	1.351
		Model 3	-5	7.342	3.054
		Model 4	-4.8	6.78	3.128
		Model 5	-4.8	5.892	2.926
4	Catechin	Model 1	-5.3	0	0
		Model 2	-5.2	3.627	2.336
		Model 3	-5.2	6.84	1.451
		Model 4	-4.9	8.221	5.142
		Model 5	-4.9	6.805	1.656
5	Chlorogenic Acid	Model 1	-5.6	0	0
		Model 2	-5.5	7.31	5.895
		Model 3	-5.4	6.621	5.42
		Model 4	-5.3	8.416	6.69
		Model 5	-5.2	8.818	2.186
6	Cinnamaldehyde	Model 1	-4.4	0	0
		Model 2	-3.9	1.154	0.968
		Model 3	-3.8	2.473	1.931
		Model 4	-3.6	2.514	2.131
		Model 5	-3.5	5.181	2.722
7	Cinnamate	Model 1	-4.6	0	0
		Model 2	-4.5	2.697	2.003
		Model 3	-4	5.55	3.776
		Model 4	-3.8	5.124	3.586
		Model 5	-3.8	13.284	12.447
8	Cinnamic Acid	Model 1	-4.5	0	0
		Model 2	-3.8	12.946	12.01
		Model 3	-3.7	1.923	1.738
		Model 4	-3.7	12.975	12.006
		Model 5	-3.4	2.696	2.075
9	Ferulic Acid	Model 1	-4.6	0	0
		Model 2	-4.5	2.155	1.843
		Model 3	-4.3	5.59	1.915

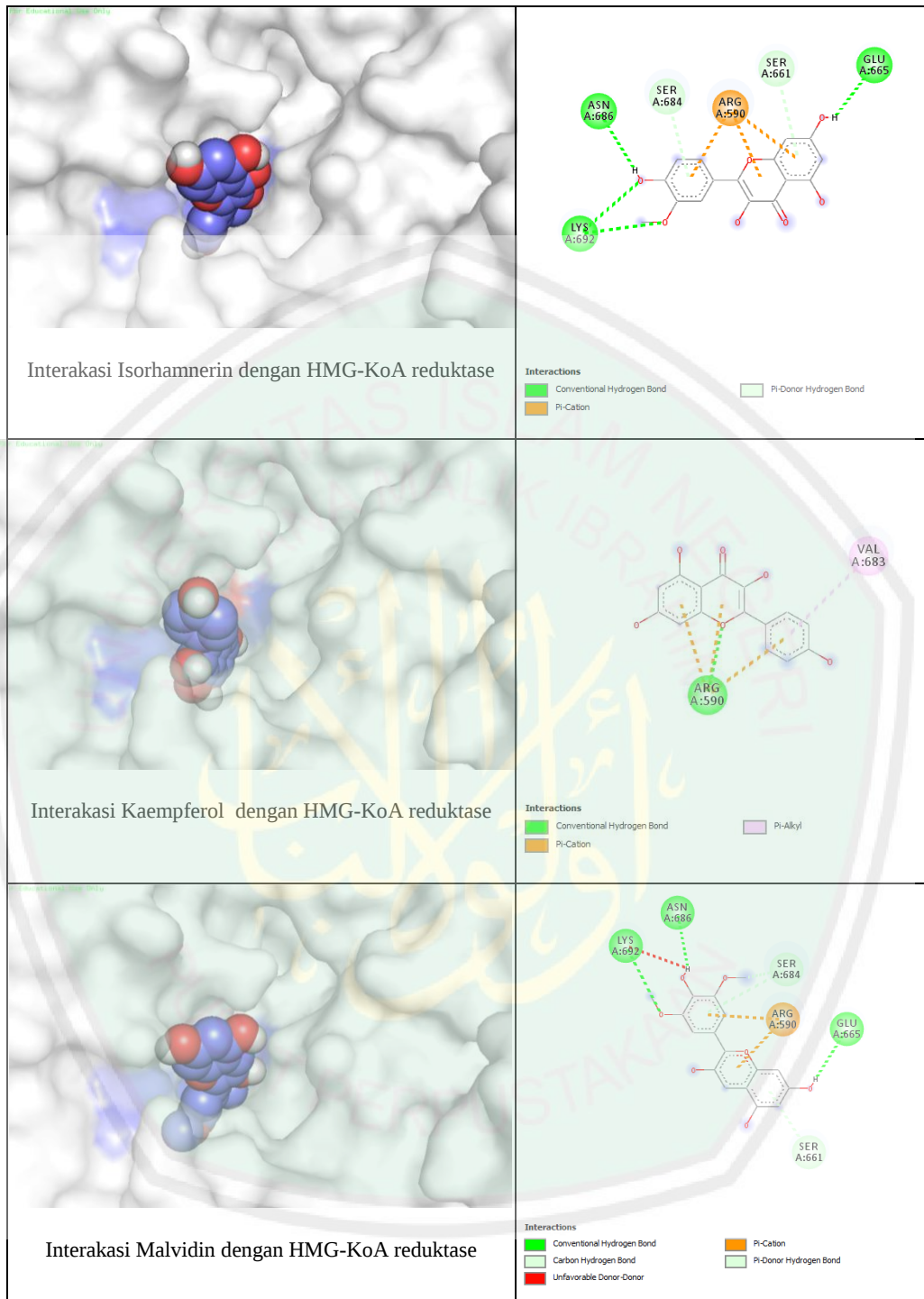
		Model 4	-4	2.952	1.671
		Model 5	-3.9	6.021	1.9
10	Isorhamnetin	Model 1	-5.7	0	0
		Model 2	-5.6	2.018	1.736
		Model 3	-5.3	1.897	0.89
		Model 4	-5.2	7.269	1.71
		Model 5	-4.8	12.489	7.234
11	Kaempferol	Model 1	-6.2	0	0
		Model 2	-5.6	3.164	1.499
		Model 3	-5.5	6.888	1.887
		Model 4	-4.8	6.943	2.059
		Model 5	-4.7	13.494	9.551
12	Malvidin	Model 1	-5.7	0	0
		Model 2	-5.7	2.616	0.207
		Model 3	-5.6	2.71	1.62
		Model 4	-5.5	3.743	1.828
		Model 5	-5.1	7.285	2.618
13	Myricetin	Model 1	-8	0	0
		Model 2	-7.9	10.206	7.489
		Model 3	-7.6	10.112	7.253
		Model 4	-7.6	9.493	6.572
		Model 5	-7.5	9.53	7.295
14	Pelargonidin	Model 1	-5.5	0	0
		Model 2	-5.4	6.807	2.108
		Model 3	-5.2	3.262	2.147
		Model 4	-5.1	2.608	1.076
		Model 5	-4.7	6.987	3.244
15	Peonidin	Model 1	-5.7	0	0
		Model 2	-5.7	2.524	1.18
		Model 3	-5.6	2.496	1.466
		Model 4	-5.3	2.884	1.485
		Model 5	-5.2	3.251	1.349
16	Pseudocarpaine	Model 1	-5.6	0	0
		Model 2	-5.5	6.109	3.296
		Model 3	-5.4	9.051	1.762
		Model 4	-5.2	8.299	2.03
		Model 5	-4.9	5.628	2.605
17	Quercetin	Model 1	-8.2	0	0
		Model 2	-7.5	9.762	7.27
		Model 3	-7.3	6.611	3.637
		Model 4	-7.2	2.178	1.953
		Model 5	-7.2	3.161	1.469
18	Rutin	Model 1	-9.0	0	0
		Model 2	-8.6	9.241	1.64
		Model 3	-8.4	2.127	1.089
		Model 4	-8.2	8.479	2.398
		Model 5	-8.2	2.748	1.798

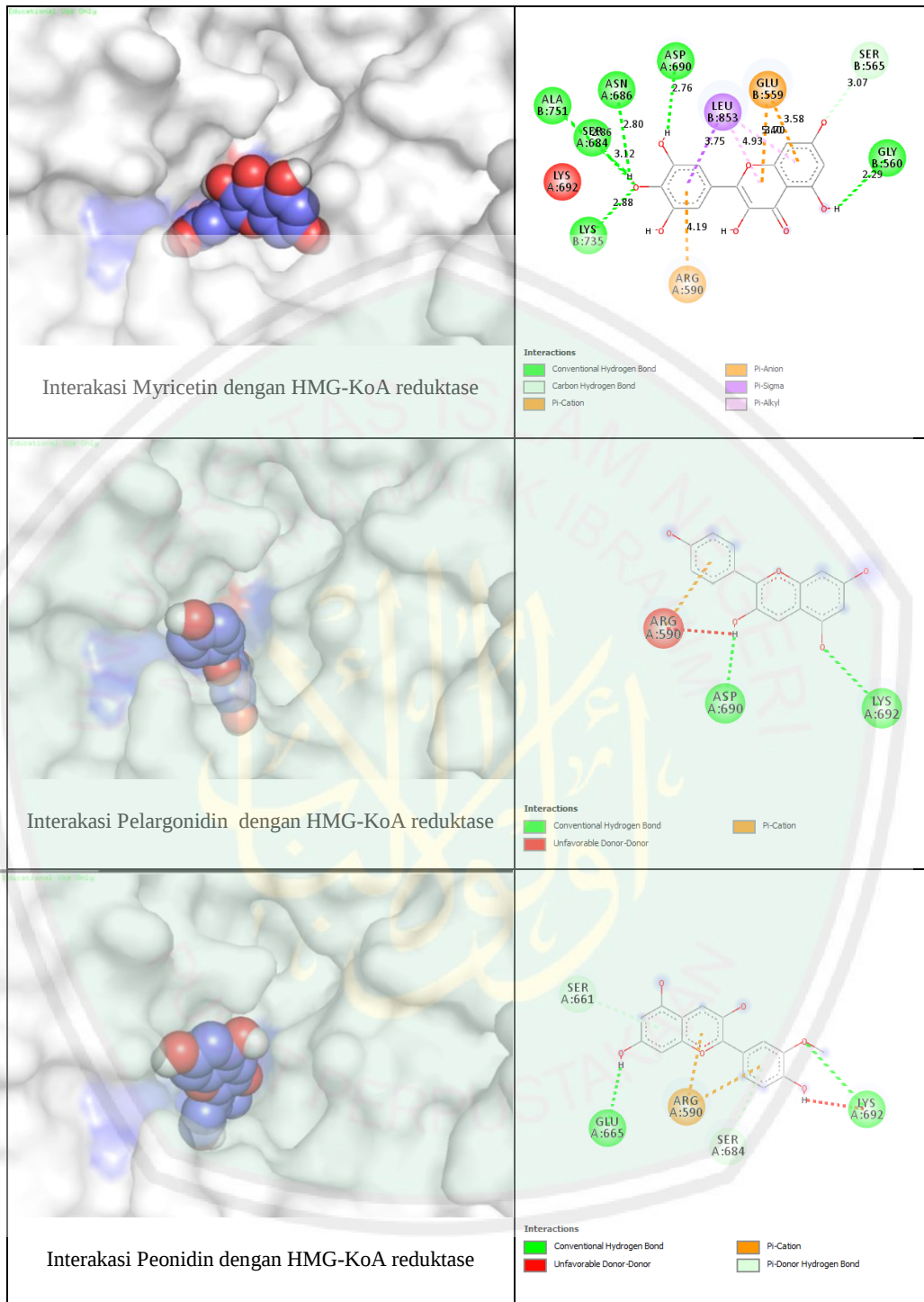
LAMPIRAN 11. Visualisasi Hasil Docking

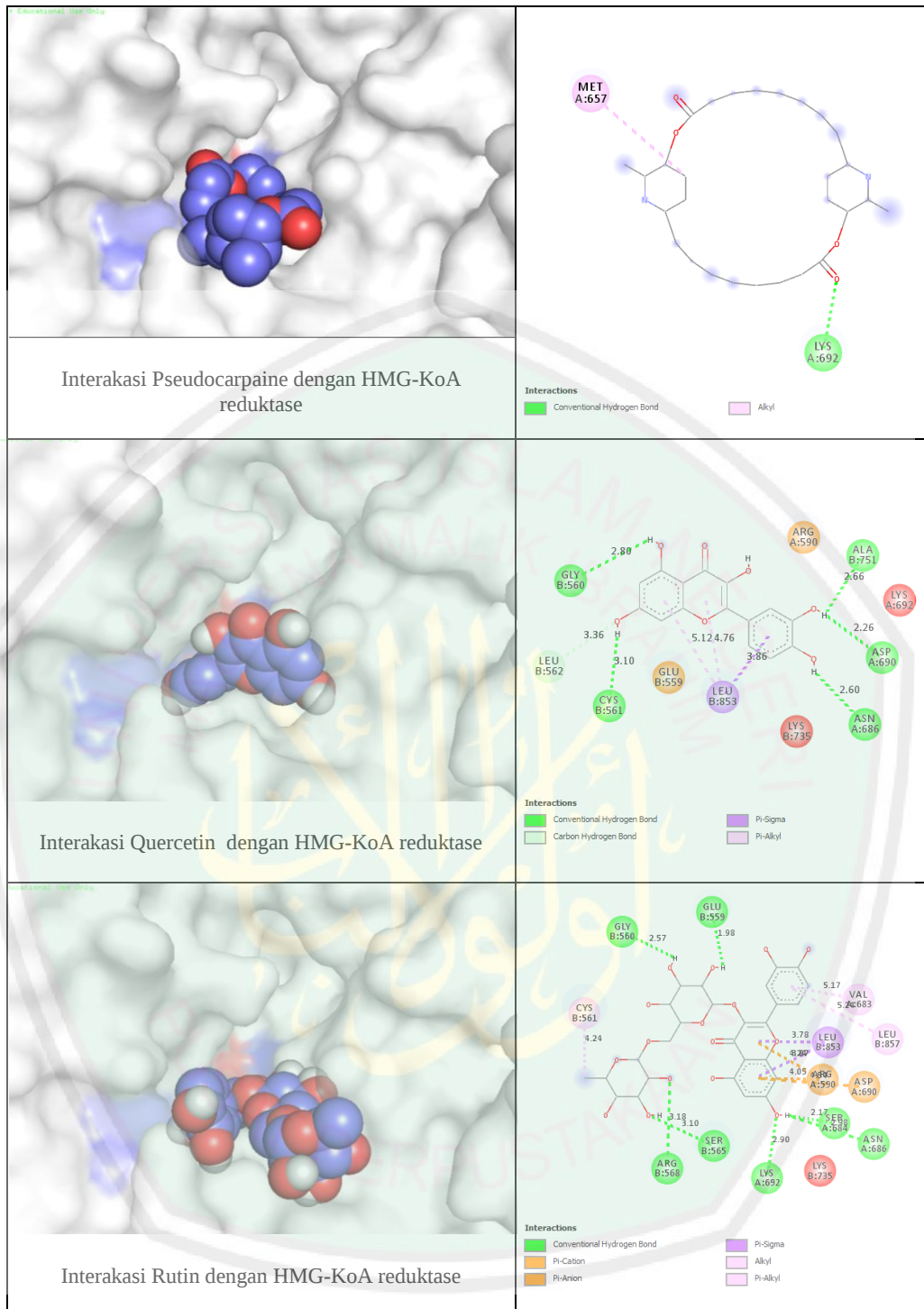








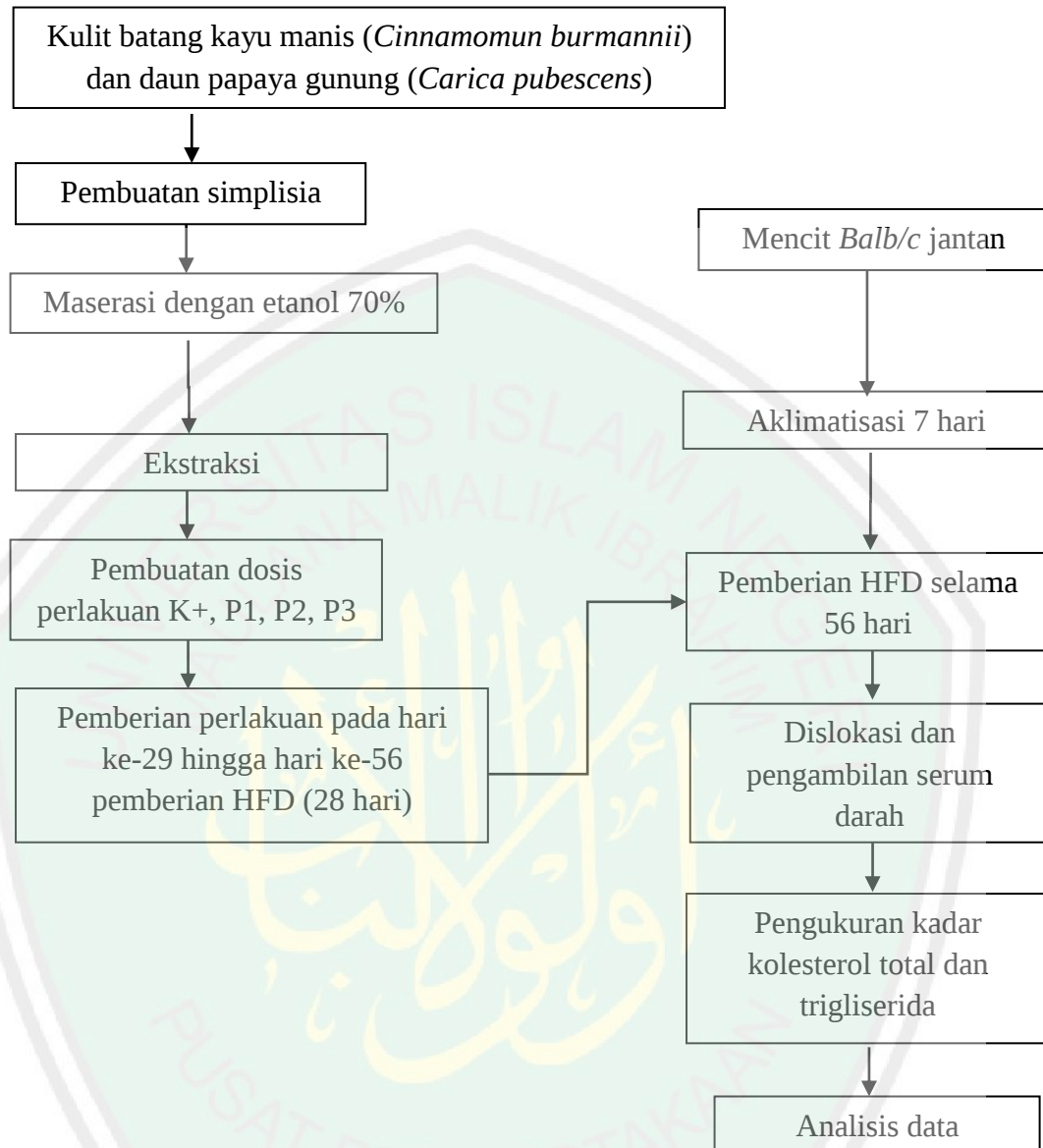




LAMPIRAN 12. Residu Asam Amino Reseptor yang Berikatan dengan Ligan

No	Sumber	Ligan	Ikatan hidrogen	Ikatan Hidrofobik	ΔG (kkal/mol)
1	Atovastatin	Atorvastatin	Arg-590, Ser-661, Ser-684, Asp-690, Lys-691, Ser-565	His-752, Leu-562, Leu-853, Cys-561, Ala-564, Ala-865	-9.3
2	Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>)	Rutin	Ser-684, Lys-692, Ser-565, Asn-686, Glu-559, Gly-560, Arg-568	Val-683, Cys-561, Leu-857	-9.0
3		Quercetin	Asp-690, Asn-686, Gly-560, Cys-561, Ala-751	Leu-562	-8.2
4		Kaempferol	Arg-590	Val-683	-6.2
5		Isorhamnetin	Glu-665, Asn-686, Lys-692	Arg-590, Ser-661, Ser-684	-5.7
6		Catechin	Arg-590, Asn-658, Ser-684, Lys-692, Lys-691	Met-657	-5.3
7		Cinnamate		Met-655, Gly-806, Gly-807	-4.6
8		Cinnamic Acid	Ser-684, Asp-690, Lys-692	Arg-590, Met-657	-4.5
9		Cinnamaldehyde		Met-655, Gly-806, Gly-807	-4.4
10		Myricetin	Ser-684, Asn-686, Asp-690, Ala-751, Gly-560, Lys-735	Ser-565	-8.0
11	Pepaya Gunung (<i>Carica Pubescens</i>)	Malvidin	Glu-665, Asn-686, Lys-692	Arg-590, Ser-661, Ser-684	-5.7
12		Peonidin	Glu-665, Lys-692	Arg-590, Ser-661, Ser-684	-5.7
13		Chlorogenic Acid	Arg-590, Ser-684, Asp-690, Lys-692, Asp-767	Met-657	-5.6
14		Pseudocarpaine	Lys-692	Met-657	-5.6
15		Pelargonidin	Asp-690, Lys-692	Arg-590	-5.5
16		Carpaine	Arg590		-5.4
17		Caffeic Acid	Asp-690	Arg-590	-4.7
18		Ferulic Acid	Ser-684, Lys-692	Lys-691	-4.6

LAMPIRAN 13. Alur Penelitian *In Vivo*



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

$$\begin{aligned} 1,5 \times 0,14 &= 0,21 \text{ ml / 20 gram BB mencit} \\ &= \frac{25}{20} \times 0,21 \\ &= 0,26 \text{ ml / 25 ekor mencit} \end{aligned}$$

b) Lemak ayam

$$\begin{aligned} 0,375 \times 0,14 &= 0,05 \text{ ml / 20 gram BB mencit} \\ &= \frac{25}{20} \times 0,05 \\ &= 0,06 \text{ ml} \\ &= 0,09 \text{ ml / 25 ekor mencit} \end{aligned}$$

c) PTU

$$\begin{aligned} 12,5 \times 0,14 &= 1,75 \text{ ml / 20 gram BB mencit} \\ &= \frac{25}{20} \times 1,75 \\ &= 2,19 \text{ ml / 25 gram mencit (dosis terlalu besar, maka dibagi 2)} \\ &= 1,095 \text{ ml / 25 ekor mencit} \end{aligned}$$

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 burmannii*) dan daun Pepaya Gunung (*Carica pubesens*)

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

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

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk mencit (20 g)} &= 60 \text{ mg} \times \text{faktor konversi} \\ &= 60 \text{ mg} \times 0,14 \\ &= 8,4 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk mencit (25 g)} &= \frac{\text{Berat rata-rata}}{\text{berat normal}} \times \text{dosis normal} \\ &= \frac{25}{20} \times 8,4 \text{ mg} \\ &= 10,5 \text{ mg / 25 ekor mencit} \end{aligned}$$

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

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

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

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk mencit (20 g)} &= 60 \text{ mg} \times \text{faktor konversi} \\ &= 60 \text{ mg} \times 0,14 \\ &= 8,4 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk mencit (25 g)} &= \frac{\text{Berat rata-rata}}{\text{berat normal}} \times \text{dosis normal} \\ &= \frac{25}{20} \times 8,4 \text{ mg} \\ &= 10,5 \text{ mg / 25 ekor mencit} \end{aligned}$$

Sehingga diperoleh dosis 10,5 mg untuk satu ekor mencit dengan dosis 300 mg/kgBB. Karena dilakukan kombinasi dengan dosis masing-masing 150 mg/kgBB 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 Na-CMC.

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

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

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk mencit (20 g)} &= 60 \text{ mg} \times \text{faktor konversi} \\ &= 60 \text{ mg} \times 0,14 \\ &= 8,4 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk mencit (25 g)} &= \frac{\text{Berat rata-rata}}{\text{berat normal}} \times \text{dosis normal} \\ &= \frac{25}{20} \times 8,4 \text{ mg} \\ &= 10,5 \text{ mg / 25 ekor mencit} \end{aligned}$$

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 Na-CMC. Pemberian perlakuan dilaksanakan pada hari ke-29 hingga hari ke-56 pemberian HFD

- 3) Dosis obat kontrol Atorvastatin (PT KALBE FARMA Tbk.)

$$\text{Dosis untuk mencit berat 25 gram} = 0,065 \text{ mg / 25 g BB}$$

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.

LAMPIRAN 15. Hasil Uji Statistik Menggunakan SPSS

1. Kolesterol Total

	U1	U2	U3	U4	U5	Rata-rata	Stdev
N	83.57	100.47	119.25	89.20	100.47	98.59	13.67
K-	107.98	118.31	109.86	127.70	114.55	115.68	7.84
K+	102.35	90.14	124.88	95.77	77.00	98.03	17.67
P1	84.51	107.04	86.38	86.38	88.26	90.52	9.33
P2	96.71	131.46	111.74	90.14	91.08	104.23	17.50
P3	103.29	116.43	121.13	109.86	114.55	113.05	6.79

a. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kolesterol
N		30
Normal Parameters ^a	Mean	102.9000
	Std. Deviation	14.65253
Most Extreme Differences	Absolute	.125
	Positive	.125
	Negative	-.077
Kolmogorov-Smirnov Z		.684
Asymp. Sig. (2-tailed)		.738

a. Test distribution is Normal.

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Kolesterol

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.202	5	24	.338

c. Uji Duncan (One Way Anova)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2263.900	5	452.780	2.737	.043
Within Groups	3970.800	24	165.450		
Total	6234.700	29			

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
P1	5	90.2000	
K+	5	97.6000	97.6000
N	5	98.2000	98.2000
P2	5	103.8000	103.8000
P3	5		112.6000
K-	5		115.0000
Sig.		.138	.065

2. Trigliserida

	U1	U2	U3	U4	U5	Rata-rata	Stdev
N	82.76	78.16	104.60	70.11	73.56	82.76	13.59
K-	104.60	105.75	102.30	101.15	158.62	104.60	24.74
K+	91.95	98.85	94.25	97.70	100.00	91.95	3.35
P1	86.21	64.37	70.11	82.76	103.45	86.21	15.24
P2	75.86	88.51	101.15	75.86	111.49	75.86	15.71
P3	79.31	85.06	95.40	67.82	102.30	79.31	13.51

a. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Trigliserida
N		30
Normal Parameters ^a	Mean	91.8008
	Std. Deviation	18.36287
Most Extreme Differences	Absolute	.157
	Positive	.157
	Negative	-.068
Kolmogorov-Smirnov Z		.861
Asymp. Sig. (2-tailed)		.449

a. Test distribution is Normal.

b. Uji Homogenitas

Trigliserida

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.504	5	24	.226

c. Uji Duncan (One Way Anova)

Trigliserida

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3901.528	5	780.306	3.186	.024
Within Groups	5877.130	24	244.880		
Total	9778.659	29			

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
P1	5	81.3793	
N	5	81.8391	
P3	5	85.9770	
P2	5	90.5747	
K+	5	96.5517	96.5517
K-	5		114.4828
Sig.		.182	.083

LAMPIRAN 16. Dokumentasi Penelitian *In Vivo*





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 : Isna Rezqia
NIM : 14620015
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 Kolesterol Total dan Trigliserida Serum Darah Mencit (*Mus musculus*) Secara *In Vivo* dan *In Silico*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	27 September 2017	Konsultasi Judul	1.
2.	6 Oktober 2017	Konsultasi Kerangka Konsep	2.
3.	7 Oktober 2017	Konsultasi Bab I	3.
4.	13 November 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.

Pembimbing Skripsi,

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

Malang, 2 November 2018

Ketua Jurusan,



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



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 : Isna Rezqia
NIM : 14620015
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA. 2018/2019
Pembimbing : Umaiyyatus Syarifah, M.A
Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens*) Terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Serum Darah Mencit (*Mus musculus*) Secara *In Vivo* dan *In Silico*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	10 April 2018	Konsultasi Bab I	1.
2.	13 April 2018	Konsultasi Bab II	2.
3.	18 Oktober 2018	Konsultasi Bab I dan II	3.
4.	26 Oktober 2018	Konsultasi Bab I, II & IV	4.
5.	1 November 2018	Konsultasi Bab I, II & IV + ACC	5.

Pembimbing Skripsi,

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

Malang, 2 November 2018

Ketua Jurusan,



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