

PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG *Cinnamomum burmanii* DAN DAUN *Carica pubescens* TERHADAP KADAR MDA PEMBULUH KORONER *Mus musculus* SECARA IN VIVO DAN IN SILICO

SKRIPSI

**Oleh:
RAHMADANIA FEBRI HERLINA
NIM. 14620001**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG *Cinnamomum burmanii* DAN DAUN *Carica pubescens* TERHADAP KADAR
MDAPEMBULUH KORONER *Mus musculus* SECARAIN VIVO DAN
IN SILICO**

SKRIPSI

**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)**

**Oleh:
RAHMADANIA FEBRI HERLINA
NIM. 14620001**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG *Cinnamomum burmanii* DAN DAUN *Carica pubescens* TERHADAP KADAR MDA PEMBULUH KORONER *Mus musculus* SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO*

SKRIPSI

Oleh:

RAHMADANIA FEBRI HERLINA

NIM. 14620001

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji

Pada Tanggal : 28 Desember 2018

Dosen Pembimbing I



Dr. Retno Susilowati, M.Si

NIP.1971113 199402 2 001

Dosen Pembimbing II



Umaiatus Syarifah, M.A

NIP. 19820925 200901 2 005



**Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi**

Romaidi, M.Si, D.Sc

NIP. 19810201 200901 019

PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG *Cinnamomum burmanii* DAN DAUN *Carica pubescens* TERHADAP KADAR MDA PEMBULUH KORONER *Mus musculus* SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO*

SKRIPSI

Oleh:

RAHMADANIA FEBRI HERLINA

NIM. 14620001

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal**

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

()
()
()
()

Mengetahui dan Mengesahkan,

Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si, D.Sc

NIP. 19810201 200901 019

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rahmadania Febri Herlina
 NIM : 14620001
 Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
 Judul Penelitian : Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Batang *Cinnamomum Burmanii* dan Daun *Carica pubescens* terhadap Kadar MDA Pembuluh Koroner *Mus musculus* secara *In Vivo* Dan *In Silico*

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tugas akhir/skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia bertanggung jawab dan menerima sanksi sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 11 Januari 2019

Yang Membuat Pernyataan



Rahmadania Febri Herlina

NIM. 14620001

MOTTO

“Raihlah mimpimu setinggi bintang suroya”
Ali bin Abi Thallib



HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil 'Alamin

Karya sederhana ini kupersembahkan untuk:

Ayah Akhmad Kholil, Ibu Zuhani Naini, karena doa beliau berdua Erlin dapat menyelesaikan pendidikan jenjang S1 ini dengan tanpa kendala yang berarti.

Terimakasih atas semua dukungan, doa, dan kepercayaan yang diberikan.

Teruntuk adik-adikku Levi Lenita dan Rifaya Femida terimakasih atas setiap doa dan semangat yang selalu diberikan kepada Erlin.

Terimakasih kepada dosen pembimbing Ibu Dr. Retno Susilowati, M.Si dan Umaiatus

Syarifah, M.A. berkat bimbingan dari beliau berdua saya dapat menyelesaikan skripsi ini tanpa kendala yang berarti. Terimakasih kepada dosen penguji Dr.

Kiptiyah, M.Si dan Kholifah Holil, M.Si yang telah membantu dalam penyempurnaan skripsi saya.

Terimakasih tim dislipidemia (Kiki, Munaroh, Isna, Alya, Nila, dan Sofir) yang telah berjuang bersama dari awal tahun 2017 dan banyak membantu dalam pengerjaan skripsi saya.

Terimakasih pada keluarga besar Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang atas semua dukungan, doa, dan semangat yang tiada henti, terutama teman-teman TELOMER (Biologi 2014).

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb

Alhamdulillahirabbil 'Alamin, segala puji hanya bagi Allah SWT Tuhan semesta alam karena atas segala berkat, rahmat, taufik dan hidayah-Nyalah, penulis dapat menyelesaikan penulisan tugas akhir ini dengan judul “Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Batang *Cinnamomum burmannii* dan Daun *Carica pubescens* terhadap Kadar MDA Pembuluh Koroner *Mus musculus* secara *In Vivo* Dan *In Silico*”. Shalawat serta salam senantiasa terlantunkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang lurus dan jalan yang di ridhoi-Nya yakni agama Islam.

Berkat bantuan, bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak, maka penulis mengucapkan banyak terima kasih dan hanya ungkapan serta doa yang penulis berikan, khususnya kepada:

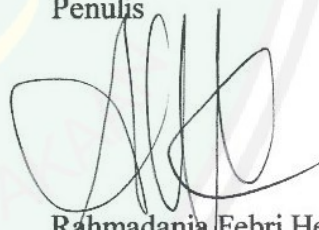
1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
3. Romaidi, M.Si, D.Sc, selaku ketua jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
4. Dr. Retno Susilowati, M.Si, selaku dosen pembimbing utama, yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasannya meluangkan waktu memberikan bimbingan dan pengarahan sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
5. Umaiyatus Syarifah, M.A, selaku dosen pembimbing agama, karena atas bimbingan, pengarahan, keikhlasan dan kesabaran beliau penulisan tugas akhir dapat terselesaikan.
6. Dr. Kiptiyah, M.Si dan Kholifah Holil, M.Si, sebagai dosen penguji yang telah memberikan saran terbaiknya.
7. Fitriyah M.Si, selaku dosen bioinformatika yang telah banyak membantu dalam pengerjaan skripsi *in silico*.
8. Segenap Dosen dan karyawan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Ayah Akhmad Kholil, Ibu Zuhani Naini, Adik Levi, Adik Faya, dan keluarga besar yang telah memberikan do'a, dukungan serta motivasi kepada penulis.
10. Kakak kelas (Zaidatul, Meike, Subriyah, Aida, Alfi, dan Jannah) yang banyak membantu dalam pengerjaan skripsi baik dalam penulisan maupun praktek penelitian di laboratorium.
11. Teman-teman seperjuangan Jurusan Biologi angkatan 2014 terutama teman seperjuangan satu tim skripsi (Kiki, Munaroh, Isna, Alya, Nila, dan Sofir).

12. Anak bundo di keluarga Erlin (Lisnay, Sendy, Ghina, dan Viza) dan teman-teman kamar kesayangan (Dika dan Nata) yang telah menghibur saat penat dalam mengerjakan skripsi.
13. Uda' Galih yang selalu sabar menunggu selesainya pengerjaan skripsi ini.
14. Semua pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa moril maupun materil.

Semoga hasil yang minimal ini dapat memberikan manfaat yang maksimal bagi kita semua, Amin. Apabila ada sesuatu yang kurang berkenan sehubungan dengan penyelesaian skripsi ini, penulis mohon maaf yang sebesar-besarnya. Akhirul kalam semoga Allah berkenan membalas kebaikan kita semua. Amin.

Malang, 11 Januari 2019

Penulis



Rahmadania Febri Herlina

NIM. 14620001

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
ملخص	xviii
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Hipotesis	8
1.5 Manfaat Penelitian	8
1.6 Batasan Masalah	8
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 11
2.1 Dislipidemia dan Stres Oksidasi sebagai Faktor Resiko Aterosklerosis..	11
2.1.1 Aterosklerosis	11
2.1.2 Dislipidemia	13
2.2 Radikal Bebas.....	15
2.3 Peroksidasi Lipid.....	16
2.4 Malondialdehida (MDA) dan Enzim Siklooksigenase (COX)	19
2.4.1 Malondialdehida (MDA).....	19
2.4.2 Enzim Siklooksigenase (COX)	21
2.5 Antioksidan	22
2.5.1 Pengertian Antioksidan	22
2.5.2 Penggolongan Antioksidan	22
2.6 Bahan Induksi Pemicu Dislipidemia	25
2.7 Atorvastatin sebagai Agen Antidislipidemia	27
2.8 Pemanfaatan Tumbuhan.....	29
2.8.1 Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmanii</i> Ness & T.Ness)	30
2.8.1.1 Klasifikasi <i>Cinnamomum burmanii</i>	30
2.8.1.2 Karakterisasi dan Morfologi <i>Cinnamomum burmanii</i>	30
2.8.1.3 Kandungan Kimia dan Manfaat Kulit Batang <i>Cinnamomum burmanii</i>	31

2.8.2 Pepaya Gunung (<i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch)	32
2.8.2.1 Klasifikasi <i>Carica pubescens</i>	32
2.8.2.2 Karakterisasi dan Morfologi <i>Carica pubescens</i>	32
2.8.2.3 Kandungan Kimia dan Manfaat Daun <i>Carica pubescens</i>	33
2.9 Ekstraksi	34
2.10 Mencit (<i>Mus musculus</i>)	35
2.10.1 Definisi Mencit (<i>Mus musculus</i>)	35
2.10.2 Klasifikasi Mencit (<i>Mus musculus</i>)	36
2.11 Penambatan Molekuler	37
2.11.1 Pengertian	37
2.11.2 Database Perangkat Lunak untuk Docking	39
2.11.3 Analisis Aktivitas Biologi PASS (<i>Prediction of Activity Spectra for Substances</i>)	40
2.11.4 Molecular Docking Enzim Siklooksigenase dengan Senyawa Aktif Kulit Batang Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmanii</i>) dan Daun Pepaya Gunung (<i>Carica pubescens</i>)	42
2.12 Kerangka Konsep Penelitian	43
2.13 Deskripsi Kerangka Konsep Penelitian	44
BAB III METODE PENELITIAN	46
3.1 Rancangan Penelitian	46
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	46
3.3 Variabel Penelitian	47
3.4 Populasi dan Sampel	48
3.5 Alat dan Bahan	50
3.5.1 Alat	50
3.5.2 Bahan	51
3.6 Prosedur Kerja	52
3.6.1 <i>In Silico</i>	52
3.6.1.1 Prediksi Aktivitas Ligan	52
3.6.1.2 Persiapan Protein Target	53
3.6.1.3 Persiapan Struktur Ligan	53
3.6.1.4 Docking Reseptor Ligan	54
3.6.1.5 Visualisasi Hasil Docking	55
3.6.2 <i>In Vivo</i>	55
3.6.2.1 Tahap Persiapan	55
3.6.2.2 Pelaksanaan Penelitian	57
3.6.2.3 Tahap Pengambilan Data	58
3.7 Analisis Data	59
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	60
4.1 Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Siklooksigenase dari Senyawa Aktif Kulit Batang Kayu manis (<i>Cinnamomum burmanii</i>) dan Daun Pepaya Gunung (<i>Carica pubescens</i>) secara <i>In Silico</i>	60

4.1.1 Prediksi Absorpsi Senyawa dengan Parameter HIA (<i>Human Intestinal Absorption</i>)	60
4.1.2 Hasil Uji PASS (<i>Prediction of Activity Spectra for Substances</i>)	62
4.1.3 Hasil Nilai Binding Affinity Ligan-Reseptor	66
4.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Batang Kayu manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>) dan Daun Pepaya Gunung (<i>Carica pubescens</i>) terhadap Kadar MDA (Malondialdehida).....	77
BAB V PENUTUP	83
5.1 Kesimpulan	83
5.2 Saran	83
DAFTAR PUSTAKA	84
LAMPIRAN	92

DAFTAR TABEL

- Tabel 2.1 Klasifikasi kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan trigliserida
- Tabel 2.2 Target kerusakan oleh radikal bebas
- Tabel 4.1 Hasil Prediksi HIA (*Human Intestinal Absorption*)
- Tabel 4.2 Residu Asam Amino Reseptor yang Berinteraksi dengan Ligan
- Tabel 4.3 Hasil Pengukuran Kadar MDA dan Standar Deviasi



DAFTAR GAMBAR

- Gambar 2.1 Patogenesis aterosklerosis
- Gambar 2.2 Mekanisme pembentukan MDA secara enzimatis dan non-enzimatis
- Gambar 2.3 Struktur molekul atorvastatin
- Gambar 2.4 Mencit (*Mus musculus*)
- Gambar 3.1 Kerangka Prosedur Penelitian
- Gambar 4.1 Nilai prediksi aktivitas inhibitor lipid peroksidasedari kulit batang kayu manis
- Gambar 4.2 Nilai prediksi aktivitas inhibitor lipid peroksidase dari daun pepaya gunung
- Gambar 4.3 Nilai energi bebas (ΔG) hasil *molecular docking* ligan senyawa aktif kulit batang kayu manis dan daun papaya gunung dengan reseptor enzim siklooksigenase
- Gambar 4.4 Visualisasi interaksi antara ligan Asam Mefenamat dengan reseptor enzim siklooksigenase
- Gambar 4.5 Visualisasi interaksi antara ligan Atorvastatin dengan reseptor enzim siklooksigenase
- Gambar 4.6 Visualisasi interaksi antara ligan *Cinnamate* dengan reseptor enzim siklooksigenase
- Gambar 4.7 Grafik rata-rata kadar kolesterol (mg/dl)

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Alur Penelitian *In Vivo*
- Lampiran 2 Penentuan dan Perhitungan Dosis
- Lampiran 3 Data Nilai Absorbansi Pembuluh Koroner dan Perhitungan kadar MDA dari kurva standar TEP
- Lampiran 4 Perhitungan Statistik Hasil Penelitian Kadar MDA dengan SPSS *One Way Anova* dan Uji Lanjut *Duncan*
- Lampiran 5 Alur Penelitian *In Silico*
- Lampiran 6 Gambar Reseptor dan Ligan
- Lampiran 7 Langkah *In Silico*
- Lampiran 8 Hasil Visualisasi
- Lampiran 9 Dokumentasi Penelitian
- Lampiran 10 Bukti konsultasi
- Lampiran 11 Informasi persentase plagiasi (Turnitin)

Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Batang *Cinnamomum burmanii* dan Daun *Carica pubescens* terhadap Kadar MDA Pembuluh Koroner *Mus musculus* secara *In Vivo* Dan *In Silico*

Rahmadania Febri Herlina, Retno Susilowati, Umaiatus Syarifah

ABSTRAK

Faktor penyebab utama penyakit jantung koroner adalah aterosklerosis yang ditandai dengan kadar malondialdehyde (MDA). MDA terbentuk dari peroksidasi lipid yang melibatkan aktivitas enzim siklooksigenase. Tujuan penelitian ini adalah 1) mengetahui pengaruh ekstrak kulit batang *Cinnamomum burmanii* dan daun *Carica pubescens* terhadap kadar MDA pembuluh koroner mencit secara *in vivo*; 2) mengetahui senyawa aktif yang berpotensi dalam menghambat enzim siklooksigenase secara *in silico* pada kulit batang *Cinnamomum burmanii* dan daun *Carica pubescens*. Penelitian ini bersifat deskriptif eksploratif (*in silico*) dan eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (*in vivo*). Pengamatan secara *in silico* dilakukan dengan *molecular docking* sedangkan penelitian secara *in vivo* menggunakan spektrofotometri dengan 6 perlakuan dan 5 ulangan. Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan yang diinduksi HFD. Parameter yang diamati adalah kadar MDA pembuluh koroner. Data yang telah didapat kemudian dianalisis menggunakan *One Way ANOVA*. Hasil yang didapat dari uji *in silico* adalah tiga senyawa aktif yaitu *cinnamate*, *cinnamaldehyde*, dan *ferulic acid* dilihat dari nilai *binding affinity* yang rendah, HIA dan Pa yang tinggi serta memiliki asam amino residu yang sama dengan asam mefenamat. Hasil uji *in vivo* menunjukkan adanya pengaruh perlakuan P1, P2, dan P3 terhadap kadar MDA pembuluh koroner mencit. Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat senyawa aktif yang berpotensi dalam mengurangi kadar MDA (*in silico*) dan ada pengaruh pemberian kombinasi ekstrak kulit batang kayu manis dan daun pepaya gunung terhadap kadar MDA pembuluh koroner mencit dislipidemia (*in vivo*).

Kata kunci: Kayu manis, Pepaya gunung, Dislipidemia, Malondialdehid, Pembuluh koroner, Enzim siklooksigenase

The Influence of Ethanol Extract of the Stem Bark of *Cinnamomum burmanii* and *Carica pubescens* Leaves against MDA Levels of *Mus musculus* Coronary Vessels through In Vivo and In Silico

Rahmadania Febri Herlina, Retno Susilowati, Umaiatus Syarifah

ABSTRACT

The main cause of coronary heart disease is atherosclerosis which is characterized by levels of malondialdehyde (MDA). MDA is formed from lipid peroxidation which involves the activity of the cyclooxygenase enzyme. The purposes of the research are 1) to determine the influence of Extract on the Stem Bark of *Cinnamomum burmanii* and *Carica pubescens* leaves against MDA levels of mice coronary vessels through *in vivo*; 2) determine the active compounds to inhibit the cyclooxygenase enzyme through *in silico* on the steam bark of *Cinnamomum burmanii* and leaves of *Carica pubescens*. The research is descriptive exploratory (*in silico*) and experimental with Completely Randomized Design (*in vivo*). *In silico* observation was carried out by molecular docking, *in vivo* studies used spectrophotometry with 6 treatments and 5 replications. The experimental animals used male mice induced by HFD. The parameters were MDA levels of coronary vessels. The data were analyzed using One Way ANOVA. The results of *in silico* test were three active compounds, namely cinnamate, cinnamaldehyde, and ferulic acid that had been seen from low affinity binding values, high HIA and Pa and have the same residual amino acid withmefenamic acid. The results of *in vivo* test showed the effect of treatment of P1, P2, and P3 against MDA levels in the coronary vessels of mice. The conclusion of the research that there were active compounds that had the potential to reduce MDA (*in silico*) levels and there was an influence of the cinnamon bark extract gift and mountain (gunung) papaya leaves against MDA levels of dyslipidemia mice coronary vessels (*in vivo*).

Keywords: Cinnamon, mountainpapaya, dyslipidemia, malondialdehyde, coronary vessels, cyclooxygenase enzyme

تأثير إستخراج الايثانول لقشر القضييب *Cinnamomum burmanii* وأوراق *Carica pubescens* على مستوياتMDA للأوعية التاجية *Mus musculus* بواسطة في المختبر *In vivo* و *In silico*

رحمدنيا فيبري هرلينا، ريتنو سوسيلواتي، أمية الشريفة

ملخص البحث

السبب الرئيسي لأمراض القلب التاجية هو تصلب الشرايين الذي يتميز بمستويات مالونديل ديهيد (MDA) . يتكونMDA من بيروكسيد الدهون الذي ينطوي على نشاط انزيم انزيمات الأكسدة الحلقية (siklooksigenase). الأهداف البحث فهي 1) لتحديد تأثير إستخراج الايثانول لقشر القضييب *Cinnamomum burmanii* وأوراق *Caricapubescens* على مستوياتMDA للأوعية التاجية من الفئران في الجسم الحي (*In silico*). 2) ومعرفة المركبات النشطة في تثبيط انزيمات الأكسدة الحلقية بواسطة في الجسم الحيلقشر القضييب *Cinnamomum burmanii* وأوراق *Carica pubescens*. هذا البحث هو وصفي استكشافي (*in silico*) والتجريبية مع تصميم العشوائي الكامل (*in vivo*). في ملاحظة *in silico* تم تنفيذها من خلال الالتحام الجزيئي (molecular docking) والبحث بواسطة *in vivo* هو باستخدام القياس الطيفي مع 6 العلاجات و 5 مكررات. الحيوانات التجريبية هي الفئران الذكور الناجمة عنHFD. المعلومات هي مستوياتMDA من الأوعية التاجية. حللت البيانات باستخدام طريقة OneWayANOVA. النتائج التي تم الحصول عليها من اختبار *in silico* هي ثلاثة مركبات نشطة، وهي سيناميت (*cinnamate*)، سينامالديهيد (*cinnamaldehyde*)، وحامض فيروليك (*ferulicacid*) نظرت إليها من قيم الارتباط المتقاربة المنخفضة ، Pa وHIA العالية ولها سواء الحمض الأميني المتبقي مع حمض الميفيناميك. وأظهرت نتائج الاختبار *in vivo* يؤثر العلاج P1، P2، وP3 على مستوياتMDA للأوعية التاجية من الفئران. الخاتمة البحث هي أن هناك مركبات نشطة لديها القدرة على الحد من مستوياتMDA (*in silico*) وهناك تأثير لمزيج استخراج لقشر القضييبالقرفة وأوراق البابايا الجبلية على مستوياتMDA للأوعية التاجية الفئران دسليفيديا (اضطراب شحوم الدم) (*in vivo*)

الكلمات الرئيسية: القرفة ، البابايا الجبلية، دسليبيديا ، مالونديلديهيد (MDA)، الأوعية التاجية ، انزيمات الأكسدة الحلقية (siklooksigenase)

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kebiasaan makan adalah tingkah laku, sikap, kepercayaan, dan pemilihan makanan untuk memenuhi kebutuhan makan. Allah SWT telah mengingatkan manusia terkait kebiasaan makan dalam surat at-Thaha (26): 81 yang berbunyi:

كُلُوا مِنْ طَيِّبَاتِ مَا رَزَقْنَاكُمْ وَلَا تَطْغَوْا فِيهِ فَيَحِلَّ عَلَيْكُمْ غَضَبِي وَمَن يَحْلِلْ عَلَيْهِ غَضَبِي فَقَدْ هَوَىٰ (٨١)

“Makanlah di antara rezeki yang baik yang telah Kami berikan kepadamu, dan janganlah melampaui batas padanya, yang menyebabkan kemurkaan-Ku menimpamu. Dan barangsiapa ditimpa oleh kemurkaan-Ku, maka sesungguhnya binasalah ia” (Qs. At-Thaha (26): 81).

Ayat di atas menjelaskan tentang kebiasaan makan yang selain harus dengan makan makanan “طَيِّبَاتٍ” yang bermakna “baik” juga harus “لَا تَطْغَوْا فِيهِ” yang bermakna “janganlah melampaui batas”. Makanan yang thoyyib (baik) dalam Lukita (2016) adalah makanan yang tidak berbahaya bagi tubuh dan tidak menyebabkan yang mengkonsumsinya terserang penyakit. Dalam tafsir al-Qarni (2008) ayat ini menjelaskan bahwa rezeki yang telah Allah SWT berikan pada manusia merupakan anugerah yang konsumsinya tidak boleh berlebihan hingga di luar batas kebutuhan. Jika berlebihan akan menimbulkan murka Allah SWT. Kebiasaan makan yang melampaui batas selain tidak diperbolehkan juga merupakan kebiasaan yang tidak sehat. Kebiasaan makan yang tidak sesuai dengan kaidah sehat dapat menimbulkan gangguan kesehatan diantaranya penyakit jantung koroner (PJK) (Kandou, 2009).

Penyakit jantung koroner penting untuk ditangani melihat dari data WHO yang dipublikasikan September 2016 yang menyatakan bahwa PJK adalah penyebab kematian nomor satu di dunia dengan kasus kematian 31% yaitu 17,7 juta orang setiap tahunnya (WHO, 2016). Di Indonesia terdapat 1,5% atau sama dengan 2.650.340 orang yang didiagnosa mengalami PJK. Dari data tersebut diketahui bahwa provinsi dengan estimasi jumlah penderita PJK terbanyak ada di Jawa Timur dimana terdapat 375.127 orang yang didiagnosa mengalami PJK (1,3%).

PJK merupakan salah satu penyakit degeneratif. Penyakit yang ada pada penderita PJK adalah gangguan fungsi jantung yang penyebabnya karena otot jantung kekurangan darah akibat dari adanya manifestasi aterosklerosis di pembuluh arteri koroner (RISKESDAS, 2013). Aterosklerosis yang menjadi penyebab PJK ini merupakan penyakit vaskuler yang ditandai dengan adanya pembentukan ateroma. Pembentukan ateroma ini akan mempersempit lumen arteri sehingga dapat menyebabkan obstruksi lumen (Sargowo, 2015). Pembentukan ateroma sesungguhnya bermula dari adanya peran besar dari salah satu lipoprotein yaitu LDL (Low Density Lipoprotein) dan adanya stres oksidatif. Stres oksidatif yang terjadi dalam tubuh mengkondisikan berkurangnya kadar nitrat oksida (NO) dalam darah. Salah satu peran NO adalah sebagai penurun permeabilitas endotel (Alladin, 2012). Adanya peningkatan permeabilitas endothel dapat memicu LDL yang mulanya beredar dalam darah akan masuk dan terakumulasi di dalam lapisan sub-endotel dari pembuluh darah. (Wihastuti, Sri, dan Teuku, 2016). Selain menurunnya kadar NO, peningkatan permeabilitas endotel dapat diakibatkan juga

oleh peningkatan jumlah lipoprotein dalam plasma darah (Rastini, Aris, dan Saifur, 2010).

Peningkatan jumlah lipoprotein dalam darah merupakan peningkatan jumlah lemak dalam darah yang dapat dipicu oleh diet tinggi lemak. Diet tinggi lemak bisa didapatkan dari konsumsi makanan dengan kandungan kolesterol tinggi dan lemak jenuh (Polii, Djon, dan Sunny, 2016). Salah satu makanan dengan kandungan kolesterol tinggi adalah kuning telur puyuh dimana menurut Dwiloka (2003) kuning telur puyuh memiliki kandungan kolesterol yang tinggi dibanding dengan kuning telur lainnya yaitu sebanyak 2139,17/100 gr. Adapun lemak jenuh yang digunakan adalah lemak ayam yang diketahui dalam Gupta (2000) merupakan bahan tinggi lemak yang dapat meningkatkan kadar lemak darah khususnya LDL sebanyak 47-63%.

Peningkatan jumlah lemak dalam plasma darah merupakan salah satu keadaan dari dislipidemia. Dislipidemia menurut Musunuru (2010) merupakan kelainan metabolisme lipid dalam tubuh yang dapat terlihat dari adanya peningkatan dan penurunan fraksi lipid dalam plasma. Dislipidemia dapat terjadi dalam tubuh akibat dari berbagai faktor penyebab yang diantaranya adalah 80% faktor gaya hidup dan 20% kondisi genetik. Konsumsi makanan dengan kandungan kolesterol tinggi dan lemak jenuh dapat mendorong adanya gangguan kadar lipid dalam darah (Polii, 2016). Selain dengan diet tinggi lemak, peningkatan lemak dalam darah dapat didukung dengan adanya penurunan metabolisme lemak akibat dari pemberian bahan obat hipertiroid yang berlebihan. Obat terserbut adalah PTU (propiltiurasil).

Adanya gangguan metabolisme lemak dan kadar lipid dalam darah terutama konsentrasi kadar LDL yang meningkat, kandungan asam lemak tak jenuh ganda dalam ester lipid, serta kolesterol yang tinggi dapat menyebabkan LDL mudah teroksidasi (peroksidasi lipid). Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi oksidasi senyawa oksigen reaktif (SOR) dengan asam lemak tak jenuh ganda membentuk hidroperoksida (Sunarjo, 2012). Peroksidasi lipid yang meningkat ini dapat menghasilkan malondialdehyde (MDA) (Ayala *et al.*, 2014).

MDA merupakan senyawa indikator adanya stres oksidatif dalam tubuh. MDA dapat bersifat toksik terhadap suatu molekul non radikal bebas seperti protein dan *Deoxyribosa nucleic acid* (DNA). Sifat toksik ini akibat dari sifat MDA yang sangat reaktif terhadap molekul non radikal tersebut sehingga mampu mengoksidasi elektron dari molekul lain (Suarsana dan Suprayogi, 2013).

Obat sintetis yang biasanya digunakan untuk penanganan dislipidemia diantaranya adalah obat golongan fibrat, resin, statin, penghambat HMG-KoA reduktase dan asam nikotinat. Namun obat yang sering digunakan adalah atorvastatin. Atorvastatin sering dipertimbangkan penggunaannya dalam penelitian karena selain bersifat menurunkan kadar lipid juga memiliki kandungan antioksidan (Sunaryo *et al.*, 2015). Akan tetapi jika digunakan dalam jangka panjang atorvastatin seperti halnya dengan obat statin lainnya akan menimbulkan beberapa efek samping diantaranya rhabdomyolisis (Suyatna, 2007 *dalam* Fauzi, 2009).

Efek samping yang ditimbulkan ini memberikan gambaran bahwa perlu adanya obat alternatif yang alami untuk antidislipidemia. Tumbuhan yang telah diketahui beberapa manfaatnya adalah *Cinamomum burmanii* dan *Carica pusbescens*. Menurut Sunarno (2010), kayu manis (*Cinamomum burmanii*) diketahui dari beberapa penelitian dapat memperbaiki kondisi stres oksidatif penderita hiperkolesterolemia sedangkan *Carica pusbescens* menurut Efendi (2017) dapat menurunkan aktifitas peroksidasi lipid.

Cinamomum burmanii pada penelitian ini menggunakan bagian kulit batangnya. Bagian ini dipilih karena biasa dikonsumsi masyarakat serta menurut Baker (2008) diketahui memiliki senyawa *cinnamaldehyde*, *cinnamic acid*, *cinnamate*, *essential oil*, *catechin*, *quercetin*, *rutin*, *kaempferol*, dan *isorhamnetin*. Sedangkan pada *Carica pusbescens* bagian yang digunakan adalah daunnya karena daun mudah didapatkan dan diketahui dalam Yogiraj (2015) memiliki kandungan senyawa *carpaine*, *pseudocarpaine*, *dehydrocarpaine* I dan II, *peonidin*, *pelargonidine*, *malvidine*, *myricetin*, *ferulic acid*, *caffeic acid*, *kaempferol*, dan *chlorogenic acid*.

Senyawa aktif flavonoid seperti *myricetin*; polifenol seperti *catechin*, *quercetin*, *rutin*, *kaempferol*, dan *isorhamnetin*; serta alkaloid seperti *carpaine*, *pseudocarpaine*, *dehydrocarpaine* I dan II telah diketahui berperan sebagai antioksidan (Simanjuntak, 2012; Ridwan, Raden, dan Anggraini, 2012; Wedhasari, 2014). Menurut Suarsana dan Suprayogi (2013) senyawa antioksidan dapat menurunkan stres oksidatif. Adanya senyawa aktif dalam *Cinamomum burmanii* dan *Carica pusbescens* yang berperan dalam penurunan stres oksidatif,

menjadikan dua tumbuhan ini sebagai tumbuhan yang diharapkan dapat menjadi obat alternatif untuk memperbaiki kondisi lemak dalam darah apabila dikombinasikan.

Pengujian *Cinamomum burmanii* dan *Carica pusbescens* terhadap kadar MDA pembuluh koroner mencit pada penelitian ini dilakukan secara *in silico* dan *in vivo*. Pengujian *in silico* ini dilakukan dengan menggunakan metode *molecular docking*. Metode *molecular docking* dipilih karena dapat memberikan pemodelan struktur dan memprediksi suatu aktivitas dalam tubuh, selain itu juga dapat meniru peristiwa interaksi suatu molekul ligan dengan protein yang menjadi target aksinya pada uji secara *in vivo* (Pratamaet *al.*, 2016). Hasil yang diharapkan dari proses docking ini adalah informasi tentang seberapa besar potensi senyawa yang terdapat pada *Cinamomum burmanii* dan *Carica pusbescens* dalam menghambat pembentukan MDA pada penderita dislipidemia.

Penghambatan pembentukan MDA yang akan diamati secara *in silico* pada penelitian ini dilakukan melalui jalur peroksidasi enzimatis dimana enzim yang diamati sebagai reseptor adalah enzim siklooksigenase. Enzim siklooksigenase dipilih untuk diamati secara *in silico* pada penelitian ini karena diketahui dalam Ayalaet *al.* (2014) enzim siklooksigenase mendorong dihasilkannya MDA pada proses peroksidasi enzimatis dengan cara mengkatalis reaksi oksigen dengan berbagai jenis asam lemak tak jenuh menghasilkan biomolekul aktif yang dinamakan endoperoksida (PGG, PGH). Endoperoksida yang dihasilkan ini selanjutnya akan diubah secara enzimatis hingga terbentuk MDA. Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian yang berjudul

“Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Batang *Cinnamomum burmanii* dan Daun *Carica pubescens* terhadap Kadar MDA Pembuluh Koroner *Mus musculus* secara *In Vivo* dan *In Silico*”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang maka dapat dirumuskan beberapa masalah di bawah ini.

1. Adakah senyawa turunan kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmani*) dan daun pepaya gunung (*Carica pusbescens*) yang berpotensi menghambat enzim siklooksigenase secara *in silico*?
2. Apakah ada pengaruh kombinasi ekstrak etanol kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmani*) dan daun pepaya gunung (*Carica pusbescens*) terhadap kadar MDA pembuluh koroner mencit (*Mus musculus*) dislipidemia secara *in vivo*?

1.3 Tujuan

Tujuan dilaksanakan penelitian tugas akhir ini adalah sebagai berikut.

1. Mengetahui ada tidaknya senyawa turunan kulit batang kayu manis (*Cinnamon burmani*) dan daun pepaya gunung (*Carica pusbescens*) yang berpotensi menghambat enzim siklooksigenase secara *in silico*.
2. Mengetahui ada tidaknya pengaruh kombinasi ekstrak etanol kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmani*) dan daun pepaya gunung (*Carica pusbescens*) terhadap kadar MDA pembuluh koroner mencit (*Mus musculus*) secara *in vivo*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian tugas akhir ini adalah sebagai berikut.

1. Ada senyawa turunan kulit batang kayu manis (*Cinnamon burmani*) dan daun pepaya gunung (*Carica pusbescens*) yang berpotensi menghambat enzim siklooksigenase secara *in silico*.
2. Ada pengaruh kombinasi ekstrak etanol kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmani*) dan daun pepaya gunung (*Carica pusbescens*) terhadap kadar MDA pembuluh koroner mencit (*Mus musculus*) dislipidemia secara *in vivo*.

1.5 Manfaat

Manfaat pada penelitian tugas akhir ini adalah sebagai berikut.

1. Dapat digunakan sebagai landasan ilmiah untuk penelitian selanjutnya
2. Memberikan informasi untuk pengembangan obat dari kombinasi kulit batang kayu manis (*Cinnamon burmani*) dan daun pepaya gunung (*Carica pusbescens*) terhadap dislipidemia dan penyakit turunannya.
3. Dapat digunakan masyarakat sebagai referensi pengobatan alternatif dari kombinasi kulit batang kayu manis (*Cinnamon burmani*) dan daun pepaya gunung (*Carica pusbescens*) terhadap dislipidemia dan penyakit turunannya.

1.6 Batasan Masalah

Batasan Masalah pada penelitian tugas akhir ini adalah sebagai berikut.

1. Mencit (*Mus musculus*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan yang berumur 10-12 minggu, berat badan 20-25 gram sebanyak 30

ekor. Hewan coba yang digunakan diperoleh dari UPHP (Unit Pengembangan Hewan Percobaan) Jl. Soekarno Hatta Malang.

2. Kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) yang digunakan diperoleh dari UPT. Materia Medica Batu. Daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) yang digunakan adalah daun yang berwarna hijau tua yang diperoleh dari Kawasan Wisata Pemandian Air Panas Cangar.
3. Obat kontrol positif yang digunakan adalah Atorvastatin yang diproduksi oleh PT. Kalbe Farma Bekasi No. Reg. GKL 1408517817B1 (Kandungan tiap tablet salut selaput setara dengan Atorvastatin 20 mg).
4. Metode pada penelitian ini menggunakan uji secara *in vivo* dan *in silico*.
5. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi dengan etanol 70% menggunakan alat rotary evaporator.
6. Perlakuan pemberian seduhan kombinasi kulit batang kayu manis (*Cinnamon burmani*) dan daun pepaya gunung (*Carica pusdescens*) yang diberikan dilakukan secara oral setiap hari pukul 10.00 WIB selama 28 hari.
7. Mencit yang digunakan diberi bahan induksi pemicu dislipidemia.
8. Bahan induksi pemicu dislipidemia diberikan secara oral setiap hari pukul 08.00 WIB selama 56 hari.
9. Pengukuran kadar MDA menggunakan metode *Spektrofotometri*.
10. Pengujian secara *in silico* dilakukan menggunakan docking pada reseptor enzim siklooksigenase.

11. Parameter yang digunakan dalam *in vivo* adalah kadar MDA pembuluh koroner. Parameter dalam uji *in silico* adalah nilai energi ikatan (*binding affinity*) dan daerah ikatan (*binding site*) antara ligan dan reseptor.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

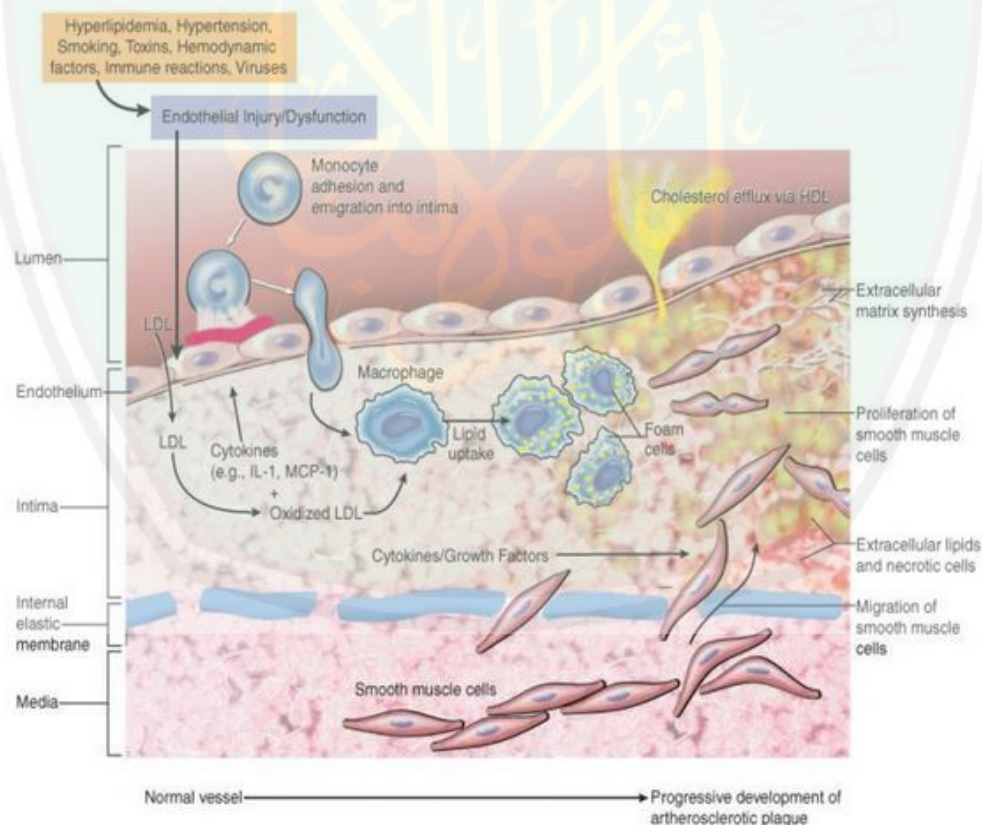
2.1 Dislipidemia dan Stres Oksidasi sebagai Faktor Resiko Aterosklerosis

2.1.1 Aterosklerosis

Aterosklerosis merupakan penyakit vaskuler yang ditandai dengan adanya pembentukan ateroma. Pembentukan ateroma ini akan mempersempit lumen arteri sehingga dapat menyebabkan obstruksi lumen (Sargowo, 2015). Perkembangan awal aterosklerosis adalah endotel mengalami disfungsi dan adanya lipoprotein yang membawa Apolipoprotein B di subendotelial kemudian untuk menjadi aterosklerosis perlu ada oksidasi LDL (Wihastuti, Sri, dan Teuku, 2016). Disfungsi endotel sesungguhnya didukung karena terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif yang terjadi dalam tubuh mengkondisikan berkurangnya kadar nitrat oksida (NO) dalam darah. Salah satu peran NO adalah sebagai penurun permeabilitas endotel (Alladin, Harrison, dan Melinda, 2012). Selain karena menurunnya kadar NO, peningkatan permeabilitas endotel dapat diakibatkan juga oleh peningkatan jumlah lipoprotein dalam plasma darah dimana keadaan tersebut merupakan ciri dari dislipidemia (Rastini, Aris, dan Saifur, 2010).

Permeabilitas endotel yang meningkat akan memudahkan LDL yang mulanya beredar dalam darah akan masuk dan terakumulasi di dalam lapisan sub-endotel dari pembuluh darah (Wihastuti, Sri, dan Teuku, 2016). Adanya gangguan kadar lipid dalam darah terutama konsentrasi kadar LDL yang meningkat, kandungan asam lemak tidak jenuh ganda atau *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) dalam ester lipid, kolesterol, serta jumlah radikal bebas yang tinggi

dapat menyebabkan LDL mudah teroksidasi (peroksidasi lipid). LDL yang teroksidasi akan memicu adanya sirkulasi monosit menempel pada endotel (Sargowo, 2015). Monosit kemudian mengalami diferensiasi menjadi makrofag untuk melakukan fagositosis lipoprotein termodifikasi (LDL yang teroksidasi) dan berkembang menjadi sel busa. Selanjutnya sel T bertugas mengenali antigen lokal kemudian mengundang respon sel *Helper-1* yang akan menyebabkan peradangan lokal dan lesi aterosklerosis. Aktivasi peradangan secara intensif dapat menyebabkan adanya komplikasi diantaranya proteolisis lokal, kerusakan plak, formasi trombus, iskhemia, dan infark (Hansson, 2009).



Gambar 2.1 Patogenesis aterosklerosis (Wihastuti, Sri, dan Teuku, 2016)

2.1.2 Dislipidemia

Dislipidemia merupakan kelainan metabolisme lipid dalam tubuh yang dapat terlihat dari adanya peningkatan dan penurunan fraksi lipid dalam plasma (Musunuru, 2010). Peningkatan yang dimaksud terjadi pada kadar kolesterol total, kolesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*), dan trigliserida sedangkan penurunan terjadi pada kadar kolesterol HDL (*High Density Lipoprotein*) dalam darah (Fodor, 2011).

Peningkatan pada salah satu maupun lebih fraksi lipid dalam plasma ini disebut hiperlipidemia. Hiperlipidemia adalah manifestasi kelainan metabolisme atau transportasi lipid. Hiperlipidemia dapat terjadi dengan adanya hiperkolesterolemia, hipertrigliseridemia, atau kombinasi keduanya (Putri, Diah, dan Fathiyah, 2017). Hiperkolesterolemia adalah suatu kondisi jumlah kolesterol darah yang melebihi batas normal (WHO, 2016) dan hipertrigliseridemia adalah suatu kondisi jumlah trigliserida darah yang melebihi batas normal (Wardani *et al.*, 2015).

Profil lipid manusia yang menderita dislipidemia maupun tidak diklasifikasikan berdasarkan kadar tiap profil lipidnya yang dapat terlihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Klasifikasi kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan trigliserida menurut NCEP ATP III 2001 (mg/dl)

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

Sumber: Grundy, 2002

Dislipidemia menurut Tesseur dan Bart (2013) bersifat reversible. Adanya dislipidemia dapat menimbulkan penyakit lainnya seperti jantung koroner dan diabetes mellitus (Ma'rufi dan Linda, 2014). Namun tidak semua kasus dislipidemia menimbulkan penyakit tersebut karena dislipidemia hanya salah satu faktor dari beberapa faktor lainnya. Dislipidemia yang ada pada penyakit-penyakit tersebut disebut sebagai dislipidemia sekunder. Penanganan dan penyembuhan dislipidemia sekunder dilakukan dengan cara menyelesaikan penyakit primernya. Berdasarkan hal ini maka dapat diketahui bahwa kasus dislipidemia ini pengobatan yang diutamakan adalah pada penyakit primernya (Adam, 2009). Misalnya pada kasus aterosklerosis, penyebab terjadinya selain dislipidemia adalah stres oksidatif, yaitu terjadinya peroksidasi lipid (Sargowo, 2015).

Peroksidasi lipid yang terjadi memerlukan bahan yang salah satunya banyak didapatkan dari keadaan tubuh yang dislipidemia. Bahan tersebut adalah asam arakidonat (AA). Asam arakidonat merupakan salah satu contoh dari asam lemak (Sumardjo, 2009). Asam lemak menurut Sumbono (2013) adalah turunan dari trigliserida yang terbentuk melalui proses hidrolisis.

2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul yang ada dari hasil pemecahan homolitik suatu ikatan kovalen. Molekul ini kehilangan salah satu elektron dari pasangan bebasnya sehingga dapat membentuk radikal bebas yang bersifat reaktif terhadap molekul lain yang tujuannya untuk menstabilkan muatan. Proses ini akan memicu reaksi terus-menerus dalam membentuk senyawa radikal bebas baru (Fitria *et al.*, 2013).

Radikal bebas dapat terbentuk dengan beberapa cara diantaranya melalui reaksi redoks menggunakan reaksi fisis ikatan homolitik, pemindahan elektron, atau absorpsi radiasi (panas, ultraviolet, sinar panas, dan ionisasi) (Utami, 2010). Radikal bebas terbagi menjadi dua macam berdasarkan sumbernya yaitu eksogen dan endogen. Radikal bebas endogen terbentuk dengan adanya reaksi enzimatik fisiologis pada proses metabolisme sel sedangkan radikal bebas eksogen ada karena faktor lingkungan yang masuk ke dalam tubuh dengan jalan inhalasi, digesti, injeksi, maupun penyerapan kulit (Utami 2010).

Radikal bebas Secara normal dalam tubuh dapat diatasi dengan antioksidan primer yang salah satunya adalah SOD. Akan tetapi, apabila jumlah radikal bebas dalam tubuh berlebihan dapat memunculkan stres oksidatif. Stres

oksidatif dalam tubuh ini akan menimbulkan kerusakan oksidatif yang dimulai dari tingkat sel, jaringan hingga ke organ tubuh dan nantinya akan menyebabkan berbagai penyakit (Megasari, 2010). Kerusakan oleh radikal bebas ini memiliki beberapa target yang dapat dilihat pada tabel 2.2. Terjadinya stres oksidatif dapat diketahui salah satunya dengan memeriksa indikatornya yaitu kadar MDA.

Tabel 2.2. Target kerusakan oleh radikal bebas

Target	Kerusakan	Konsekuensi
DNA/RNA	Kerusakan basa, pemotongan rantai deoksiribosa, untaian pecah	Penghambatan sintesis protein, mutasi, kesalahan translasi
Protein	Agregasi dan <i>crosslinking</i> , modifikasi grup thiol, fragmentasi dan <i>break down</i>	Memodifikasi enzim dan transport ion, meningkatkan pemasukan kalsium
Asam lemak tidak jenuh	Kehilangan ketidakjenuhan, formasi dari reaktif metabolit (MDA, 4-HNE)	Mengubah permeabilitas membran, mengubah fluiditas lipid, mempengaruhi enzim yang terikat pada membran

Sumber: Megasari, 2010

2.3 Peroksidasi Lipid

Peroksidasi lipid merupakan suatu reaksi asam lemak tak jenuh terhadap senyawa oksigen reaktif (SOR) membentuk hidroperoksida yang terjadi secara berulang-ulang. SOR merupakan radikal bebas oksigen yang lebih reaktif dibanding dengan radikal bebas lainnya. SOR diketahui bukan hanya memiliki molekul oksigen diantaranya radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$), radikal superoksida ($\bullet\text{O}_2^-$), dan nitrit oksida ($\text{NO}\bullet$), namun juga memiliki molekul reaktif yang mempunyai elektron berpasangan. Molekul oksigen berpasangan yang dimaksud contohnya

adalah asam hipoklorus (HOCl), hidrogen peroksida (H₂O₂), dan anion peroksinitrit (ONOO⁻) (Sunarjo, 2012).

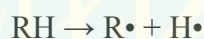
SOR dapat mengoksidasi asam lemak tak jenuh yang berada pada atom H dimana atom tersebut memiliki sifat labil, terutama bagian yang terikat oleh atom C dekat dengan ikatan rangkap, sehingga terbentuk radikal bebas baru yang benar-benar sensitif terhadap oksigen (radikal bebas peroksi) (Utami, 2010). Radikal bebas yang memiliki peran pada proses ini adalah ROO•, RO•, dan OH• yang diproduksi selama pembentukan peroksida asam lemak tak jenuh. Target utama terjadinya peroksidasi lipid adalah beberapa molekul seperti fosfolipid, glikolipid, dan kolesterol, selain itu radikal lipid juga dapat mengoksidasi beberapa enzim seperti sitokrom P450, lipoksigenase, dan siklooksigenase (Ayala *et al.*, 2014).

Kerusakan sel akibat radikal bebas reaktif terjadi dengan mekanisme dimana berawal dari rusaknya membran sel yang kemudian melalui rangkaian proses sebagai berikut (Utami, 2010):

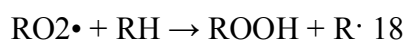
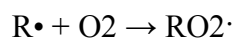
1. Terbentuknya ikatan kovalen antara komponen-komponen membran (enzim-enzim membran, komponen karbohidrat membran plasma) dengan radikal bebas. Hal ini menyebabkan terjadinya perubahan struktur dari fungsi reseptor.
2. Terjadinya proses oksidasi gugus tiol pada komponen membran oleh radikal bebas yang menyebabkan proses transport lintas membran terganggu .
3. Terjadinya reaksi peroksidasi lipid dan kolesterol membran yang mengandung asam lemak tak jenuh.

Sedangkan mekanisme terjadinya peroksidasi lipid melalui tiga tahapan yaitu (Sunarjo, 2012):

1. Tahap inisiasi, yaitu tahap awal yang merupakan tahap permulaan terjadinya peroksidasi lipid. Tahap ini berawal ketika adanya tahap memisahkan sebuah atom hidrogen oleh radikal bebas dari satu grup metilen (-CH₂-) pada asam lemak tak jenuh. Radikal karbon ini dapat distabilkan melalui suatu pengaturan ulang ikatan rangkap yang menghasilkan diena terkonjugasi. Bila diena terkonjugasi bereaksi dengan O₂, maka akan terbentuk radikal peroksida lipid (ROO•). Reaksi tersebut adalah:

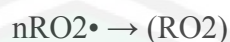


2. Tahap propagasi, pada tahap ini terjadinya oksidasi antara radikal peroksil dengan molekul lipid non radikal lain (H) yang berdekatan. Radikal peroksil dapat berkombinasi dengan gugus H dimana gugus ini membentuk lipid peroksid dan peroksid *cyclic*. Proses ini menghasilkan produk primer berupa lipid hidroperoksida. Struktur lipid hidroksiperoksida bersifat tidak stabil dan mudah melemah, sehingga lipid hidroksiperoksida mudah memecah menjadi beberapa produk sekunder satu diantaranya Malondialdehida (MDA) (Utami, 2010), reaksi tersebut adalah sebagai berikut:



3. Tahap Terminasi, pada tahap ini radikal bebas dapat bergabung satu sama lain, atau kemungkinannya bergabung dengan molekul-molekul protein pada membran yang nantinya akan menyebabkan kerusakan membran sel,

diantaranya melalui pengubahan fluiditas, *cross-linking*, struktur dan fungsi membran. Reaksi tersebut digambarkan sebagai berikut (Utami, 2010):



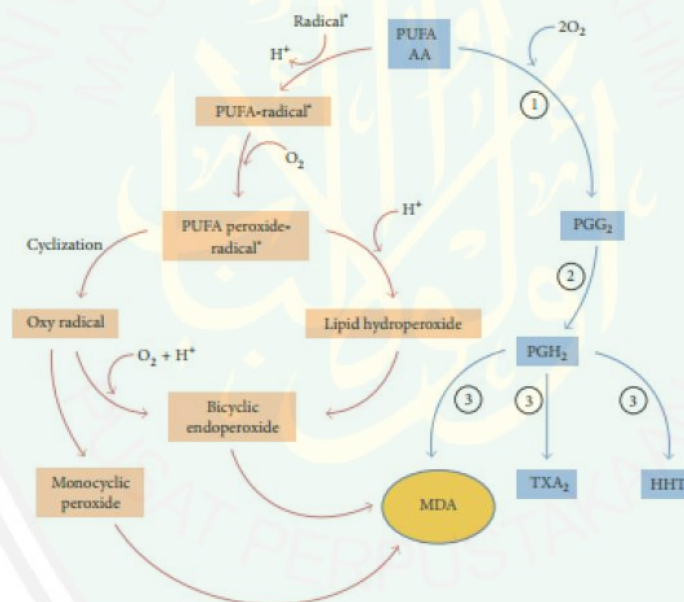
2.4 Malondialdehida (MDA) dan Enzim Siklooksigenase (COX)

2.4.1 Malondialdehida (MDA)

Malondialdehida (MDA) merupakan senyawa yang berperan sebagai indikator adanya stres oksidatif dalam tubuh. MDA merupakan produk sekunder yang dihasilkan dari proses peroksidasi lipid membran sel. MDA dapat bersifat toksik terhadap suatu molekul non radikal bebas seperti protein dan *Deoxyribosa nucleic acid* (DNA). Sifat toksik ini akibat dari sifat MDA yang sangat reaktif terhadap molekul non radikal tersebut sehingga mampu mengoksidasi elektron dari molekul lain (Suarsana dan Suprayogi, 2013).

MDA yang dapat bersifat toksik ini terbentuk melalui dua proses (Gambar 2.1), yaitu secara non enzimatis dan enzimatis. MDA yang dihasilkan secara enzimatis merupakan produk sekunder. Adapun produk utamanya adalah tromboksan A₂ (TXA₂) dan 12-*l*-hydroxy-5,8,10-heptadecatrienoic acid (HHT) (jalur biru). Tromboksan A₂ adalah metabolit arakhidonat yang aktif secara biologis (Ayala *et al.*, 2014). Tromboksan A₂ dalam aterosklerosis menyebabkan agregasi platelet terus menerus dimana agregasi ini dapat menyebabkan infark miokardial (Sargowo, 2015).

Prosesnya adalah diawali dari asam arakhidonat atau asam lemak tak jenuh berukuran besar menghasilkan prostaglandin G₂ akibat dikatalis oleh enzim siklooksigenase, selanjutnya terbentuk prostaglandin H₂ akibat prostasiklin hidroperoksidase dan terjadi TXA₂ secara biologis akibat TXA₂ sintase sehingga membentuk TXA₂ dan 12-l-hydroxy-5,8,10-heptadecatrienoic acid (HHT), serta produk sampingannya adalah malondialdehida. Sedangkan pembentukan MDA non enzimatis karena adanya peroksidasi lipid dan *bicyclic* endoperoksida (jalur merah) (Ayala *et al.*, 2014).



Gambar 2.2 Mekanisme pembentukan MDA secara enzimatis dan non enzimatis, keterangan: (1) siklooksigenase, (2) prostasiklin hidroperoksidase, dan (3) tromboksan A₂ sintase (Ayala *et al.*, 2014).

Tingkat peroksidasi lipid dapat diperkirakan dengan jumlah malondialdehida dalam jaringan. Selain itu, kadar MDA plasma juga membuktikan kerentanan membran sel terhadap reaksi oksidasi, akibatnya sel terutama membran sel akan mengalami kerusakan dan berakibat pada timbulnya

penyakit-penyakit degeneratif, satu diantaranya penyakit jantung koroner (Sunarjo, 2012).

2.4.2 Enzim Siklooksigenase (COX)

Enzim siklooksigenase (COX) adalah enzim yang dikenal melalui penelitian dari tahun 90-an yang memiliki peran dalam proses inflamasi. Enzim ini diekspresikan oleh platelet (Wong, 2010). Enzim ini memiliki dua bentuk (isoform). Dua isoform tersebut adalah siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2). COX-1 dan COX-2 memiliki distribusi jaringan dan fungsi regulasi yang berbeda. COX-1 merupakan enzim konstitutif yang mengkatalisis pembentukan prostanoide regulatoris pada berbagai jaringan, terutama pada selaput lendir traktus gastrointestinal, ginjal, platelet dan epitel pembuluh darah. Bertolak belakang dengan COX-1, COX-2 tidak konstitutif tetapi dapat diinduksi, antara lain bila ada stimuli radang, mitogenesis atau onkogenesis. Kedua isoform COX hampir identik dalam struktur, tetapi memiliki perbedaan penting dalam substrat dan selektif inhibitor dan lokasi-lokasi intraseluler. Setelah stimulasi tersebut kemudian terbentuk prostanoide yang merupakan mediator nyeri dan radang. Penemuan ini mengarah kepada hipotesis, bahwa COX-1 mengkatalisis pembentukan prostaglandin “baik” yang bertanggung jawab menjalankan fungsi-fungsi regulasi fisiologis, sedangkan COX-2 mengkatalisis pembentukan prostaglandin jahat yang menyebabkan reaksi inflamasi (Fraconet *al.*, 2008).

COX-2 dibentuk mula-mula dengan cara siklooksigenase (PGH sintase) mendonorkan dua molekul oksigen kepada asam arakhidonat untuk mensintesis Prostaglandin G (PGG) melalui proses peroksidase yang akan berubah menjadi Prostaglandin H₂ (PGH₂). Perubahan ini akan menyebabkan terbentuk prostaglandin terutama Prostaglandin E₂ (PGE₂). Prostaglandin E₂ ini berperan dalam proses inflamasi seperti vasodilatasi pembuluh darah, edema dan nyeri (Ayala *et al.*, 2014). COX-2 ternyata tidak hanya inducibel melainkan juga konstitutif dan terdapat pada berbagai jaringan. Pada kondisi fisiologis ekspresi konstitutif COX-2 ditemukan dalam jumlah yang sedikit pada ginjal pembuluh darah, paru-paru, tulang, pankreas, sumsum tulang belakang dan selaput lendir mukosa permukaan lambung (Prasetya, 2015).

2.5 Antioksidan

2.5.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan adalah suatu zat yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi, dan berfungsi untuk menghentikan kerusakan sel akibat radikal bebas (Winarsi, 2008). Antioksidan diperlukan untuk mencegah terjadinya stres oksidatif. Antioksidan bersifat mudah dioksidasi, sehingga radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan dan melindungi molekul lain dalam sel dari kerusakan akibat oksidasi oleh radikal bebas atau oksigen reaktif (Wedhasari, 2014).

2.5.2. Penggolongan Antioksidan

Penggolongan antioksidan terbagi berdasarkan jenis dan fungsinya. Berdasarkan fungsinya penggolongan antioksidan terbagi menjadi tiga macam yaitu (Winarsi, 2008):

1. Antioksidan primer

Antioksidan ini berfungsi dalam mencegah terbentuknya radikal bebas baru sebelum terjadi reaksi. Satu diantara antioksidan primer dalam tubuh adalah superoksida dismutase. Contoh dari antioksidan primer antara lain:

a. Superoksida dismutase (SOD)

SOD merupakan enzim intraseluler yang perannya penting untuk pertahanan tubuh, khususnya pada aktivitas senyawa oksigen reaktif yang dapat menimbulkan stres oksidatif. SOD memiliki tiga bentuk, yaitu: (1) Cu-Zn SOD terdapat di dalam sitoplasma, (2) Mn-SOD terdapat di mitokondria, (3) Cu-SOD terdapat di ekstraseluler (Kabel, 2014).

Kerja enzim SOD dalam melindungi kerusakan sel memiliki mekanisme yang caranya dengan mengkonversi anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dimana hidrogen peroksida merupakan komponen kurang berbahaya. Hidrogen peroksida kemudian di dalam mitokondria akan didetoksifikasi oleh enzim katalase menjadi senyawa H_2O dan O_2 , sedangkan H_2O_2 yang berdifusi ke sitosol akan didetoksifikasi oleh enzim glutathion peroksidase (Lee, Koo, dan Min., 2004).

b. Glutathion peroksidase (GPx)

GPx merupakan enzim dalam tubuh yang terdispersi di dalam sitoplasma, dimana dapat ditemukan aktivitasnya juga di mitokondria. Kerja enzim GPx mampu menjadikan lipid peroksida dan hidrogen peroksida berubah menjadi air (Winarsi, 2008).

c. Katalase (CAT)

Enzim katalase selain berfungsi dalam mendukung aktivitas enzim SOD dapat juga berfungsi dalam mengkatalis perubahan radikal bebas dan berbagai macam peroksida menjadi air dan oksigen (Winarsi, 2008).

2. Antioksidan sekunder

Antioksidan ini memiliki fungsi dalam mengikat radikal bebas, mencegah adanya reaksi berantai sehingga tidak akan ada kerusakan yang lebih besar dan juga berperan dalam pro-oksidan. (Winarsi, 2008). Antioksidan ini disebut juga sebagai antioksidan pelindung yang berperan dalam mereduksi kecepatan rantai inisiasi melalui berbagai mekanisme. Mekanisme antioksidannya dapat terjadi melalui pengikatan ion-ion logam, scavenger oksigen, dekomposisi hidroperoksida menjadi bentuk-bentuk non radikal, menyerap radiasi sinar ultra violet atau deaktivasi singlet oksigen (Gordon, 1990).

Nabet (1996) menyatakan bahwa pada sistem pertahanan preventif, pembentukan senyawa ROS dan radikal bebas dihambat dengan mengikat logam atau merusak pembentukannya. Sistem pengikatan logam tersebut terjadi dalam cairan ekstraseluler. Sebaliknya di dalam cairan intraseluler, senyawa ROS dan radikal bebas dirusak oleh sistem enzim.

Contoh dari antioksidan sekunder menurut Winarsi (2008) adalah vitamin C, vitamin E, dan karoten yang bisa ditemukan di buah dan sayur. Selain itu beberapa senyawa-senyawa metabolit sekunder yang dapat ditemukan dalam tumbuhan juga masuk ke dalam antioksidan sekunder.

Menurut Arora *et al.* (1998) salah satu metabolit sekunder yang memiliki peran sebagai antioksidan adalah flavonoid.

Flavonoid dapat beraksi sebagai scavenger radikal peroksil (ROO^*) yang akan diregenerasi menjadi ROOH , dan bertindak sebagai *scavenger* radikal hidroksil (OH^*) yang akan diregenerasi menjadi H_2O . Senyawa hasil regenerasi radikal peroksil dan radikal hidroksil bersifat lebih stabil, sedangkan radikal fenoksil yang terbentuk (flavonoid-O^*) menjadi bersifat kurang reaktif untuk melakukan reaksi propagasi (Arora *et al.*, 1998).

3. Antioksidan tersier

Antioksidan ini memiliki fungsi untuk memperbaharui sel-sel serta jaringan yang dapat rusak karena pengaruh dari radikal bebas. Antioksidan dalam kelompok ini adalah enzim metionin sulfoksidan reduktase misalnya yang berperan dalam memperbaiki DNA. Selain itu juga memperbaiki kerusakan biomolekul lainnya yang disebabkan oleh radikal bebas (Winarsi, 2008).

2.6 Bahan Induksi Pemicu Dislipidemia

Bahan induksi pemicu dislipidemia atau yang biasa disebut dengan *High Fat Diet* (HFD) di penelitian ini menggunakan lemak ayam, kuning telur puyuh, dan PTU (propiltiurasil). Penggunaan lemak ayam dan kuning telur puyuh merupakan pertimbangan dari adanya pernyataan Putri, Diah, dan Fathiyah (2017) yang mengatakan bahwa pemberian pakan tinggi lemak dapat meningkatkan kadar kolesterol dan lemak dalam darah. Lemak ayam merupakan bahan tinggi lemak yang dapat meningkatkan kadar lemak darah khususnya LDL sebanyak 47-63% (Gupta, 2000) sedangkan kuning telur puyuh memiliki

kandungan kolesterol tinggi dibanding dengan kuning telur lainnya yaitu sebanyak 2139,17/100 gr (Dwiloka, 2003). Selain pemberian pakan tinggi lemak, diperlukan juga pemberian (PTU).

PTU merupakan obat anti hipertiroid golongan tiamida yang memiliki kerja berupa penghambatan enzim peroksidase. PTU yang diberikan secara berlebihan akan menekan kadar tiroid dalam darah sehingga terjadi hipotiroidisme (Suharti, 2007). Pada keadaan normal, hormon tiroid yang dihasilkan oleh kelenjar tiroid mempunyai efek spesifik terhadap berbagai metabolisme sel, termasuk metabolisme lipid (Guyton, 2008). Hormon ini meningkatkan katabolisme intravaskular trigliserida VLDL dan memodulasi aktivitas reseptor LDL, baik secara in vitro maupun in vivo, sehingga menurunkan kadar kolesterol plasma. Selain itu, terjadi peningkatan *plasma cholesterol clearance* dan peningkatan perubahan kolesterol ke asam empedu di hati. Hormon tiroid juga menstimulasi LDL dan trigliserida *clearance* dari plasma (Mittal, 2010). Pada keadaan hipotiroidisme, metabolisme lipid dihambat sehingga kadar kolesterol total dalam darah akan meningkat (Schteingert, 2006). Selain itu dapat menyebabkan menurunnya jumlah perubahan kolesterol ke asam empedu di hati (Mittal, 2010).

2.7 Atorvastatin sebagai Agen Antidislipidemia

Upaya manusia dalam mencari solusi pada kasus penyakit selama ini sesungguhnya didukung juga oleh adanya sabda rasulullah SAW, yakni:

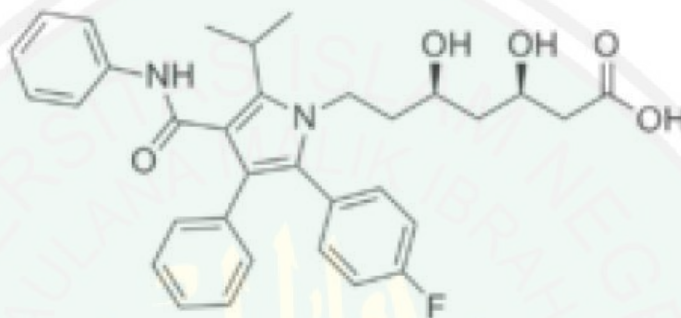
مَا أُنْزِلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

“Tidaklah Allah menurunkan suatu penyakit, melainkan akan menurunkan pula obat untuk penyakit tersebut.” (H.R. Bukhari: 5678).

Hadits tersebut memerintahkan manusia untuk melakukan upaya yang tidak bertentangan dengan kodratnya, yaitu dengan mencari obat sesuai penyakit yang dideritanya (al-Jauziyah, 2008). Meskipun kesembuhan penyakit merupakan jaminan dari Allah SWT, tetapi sebagai hamba-Nya kita dianjurkan untuk mencegah ataupun mengusahakan kesembuhan dari penyakit tersebut. Ash-Shiddieqy (2000) menyatakan bahwa alam ini sesungguhnya adalah laboratorium besar yang diciptakan Allah SWT untuk bertafakkur mengenal *sunnatullah*. Manusia dapat memanfaatkan hasilciptaan-Nya untuk memenuhi kebutuhan hidup termasuk dalam pengobatan penyakit.

Atorvastatin merupakan obat golongan statin. Obat-obatan statin mempunyai fungsi untuk menurunkan produksi kolesterol dengan cara menghambat enzim yang mensintesis kolesterol yaitu enzim HMG-KoA reduktase. Contoh dari obat golongan statin selain atorvastatin diantaranya adalah simvastatin, cerivastatin, fluvastatin, dan luvastatin (Kabo, 2008). Dari banyaknya obat statin yang memiliki fungsi sama dalam penghambatan kolesterol, atorvastatin memiliki kelebihan lain yaitu adanya kandungan antioksidan (Sunaryoet al., 2015). Atorvastatin telah diuji secara klinis juga untuk membandingkan hasil dari pasien PJK ringan yang diberikan obat atorvastatin dan

yang dilakukan angiospati (balonisasi dan stenting). Ternyata hasil menunjukkan bahwa pemberian atorvastatin menurunkan LDL kolesterol lebih besar dibanding pasien yang dilakukan angioplasti (Kabo, 2008). Sekilas profil tentang atorvastatin dijabarkan di bawah ini:



Gambar 2.3 Struktur molekul atorvastatin (USP, 2012)

Rumus struktur: $C_{66}H_{68}CaF_2N_4O_{10} \cdot 3H_2O$

Bobot molekul (BM) atorvastatin: 557,6319 .

Nama kimia / IUPAC atorvastatin:

7-[2-(4-fluorophenyl)-3-phenyl-4-(phenylcarbamoyl)-5-(propan-2-yl)-1h-pyrrol-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoate.

Titik lebur atorvastatin : 159,2-160,7 °C (USP, 2012).

Efek samping artovastatin mulai sekitar kurang lebih enam minggu. Efek samping yang muncul antara lain berupa myopathy /myalgia, hepatoksisitas dengan adanya peningkatan enzim alanin aminotransferase, adanya gangguan renal yang mengakibatkan proteinuria dan hematuria, disfungsi ereksi, artritis, gangguan saraf seperti penurunan daya ingat dan fungsi kognitif, serta gangguan tidur (Sinzinger dan Peskar, 2009).

2.8 Pemanfaatan Tumbuhan

Tumbuhan merupakan salah satu makhluk ciptaan Allah SWT yang ada di bumi dengan manfaat-manfaat tertentu dari tiap-tiap jenisnya. Tumbuhan yang diciptakan berbeda ini tentunya dapat memberikan manfaat berbeda-beda yang dapat digunakan oleh manusia untuk kehidupannya. Allah SWT berfirman melalui kitab suci al-Quran dalam surat asy-Syu'araa ayat 7 yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (٧)

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami Tumbuhkan di bumi ini pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (Qs. Asy-Syu'araa: 7).

Lafadz كَرِيم yang merupakan bentuk kata dari الكرام yang memiliki makna baik dan mulia dimana asal katanya adalah bahasa arab الفضل yang berarti keutamaan (al-Qurthubi, 2009). Allah SWT menciptakan tumbuh-tumbuhan yang memiliki kemuliaan yang datangnya dari kemuliaan Allah SWT sehingga dalam tafsir al-Qurthubi (2009) dikatakan bahwa hal ini merupakan salah satu tanda yang Allah SWT berikan sebagai petunjuk bahwa Allah SWT maha agung dan berkuasa. Jika manusia memperhatikan dengan mata dan hati maka akan diketahui dengan jelas bahwa Allah SWT adalah satu-satunya yang patut disembah. Allah SWT mempunyai segala kuasa atas segala sesuatu salah satunya adalah menumbuhkan berbagai tumbuhan yang baik dan mulia. Diantara tumbuhan-tumbuhan yang dimuliakan Allah SWT, terdapat dua tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan pepaya gunung (*Carica pubescens*).

2.8.1 Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii* Ness & T. Ness)

2.8.1.1 Klasifikasi *Cinnamomum burmanii*

Kayu manis yang digunakan pada penelitian ini adalah kayu manis dengan nama latin *Cinnamomum burmanii* Ness & T. Ness yang diklasifikasikan berdasarkan Cronquist tahun 1981 (Dasuki, 1991) adalah sebagai berikut.

Kingdom: Plantae

Divisi: Spermatophyta

Subdivisi: Magliophyta

Kelas: Magnoliidae

Ordo: Laurales

Famili: Lauraceae

Genus: *Cinnamomum*

Spesies: *Cinnamomum burmanii* Ness & T. Ness

2.8.1.2 Karakterisasi dan Morfologi *Cinnamomum burmanii*

Kayu manis merupakan tumbuhan yang dapat tumbuh di dataran yang memiliki ketinggian 500-1.500 meter di atas permukaan laut. Kayu manis akan dapat tumbuh dengan baik jika lingkungannya memiliki curah hujan sekitar 2.000-2.500 mm per tahun dan suhu rata-rata 25°C dimana batas toleran minimalnya adalah 18°C dan maksimal 27°C. Kelembapan yang tepat untuk kehidupan kayu manis adalah 70-90% dimana semakin tinggi kelembabannya maka semakin baik. Kayu manis membutuhkan sinar matahari 40-70% dan pH tanah 5,0-6,5 (Purseglove, 1981).

Morfologi kayu manis diketahui dalam memiliki tinggi tumbuhan antara 5-15 meter. Kulit pohon kayu manis memiliki warna abu-abu tua dengan wangi yang khas. Kayunya berwarna coklat muda. Daun kayu manis termasuk dalam kelompok tumbuhan daun tunggal yang teksturnya kaku seperti kulit, letaknya berseling, dengan tiga buah tulang daun yang melengkung. Warna daun kayu manis pada permukaan atasnya adalah hijau dengan tekstur licin, sedangkan permukaan bawah berwarna keabu-abuan dan terdapat tepung yang melingkupi permukaannya. Bentuk daun kayu manis adalah elips dengan panjang 4-14 cm dan lebar 1,5-6 cm, berujung runcing, dan tepi daun rata (Wahyuni, 2016).

2.8.1.3 Kandungan Kimia dan Manfaat Kulit Batang *Cinnamomum burmanii*

Komponen bioaktif yang diketahui pada kayu manis yaitu alkaloid, tanin, dan flavonoid. Alkaloid dan tanin yang terdapat pada kayu manis jumlahnya tinggi sedangkan flavonoidnya sedang. Pada tumbuhan flavonoid adalah substansi terbanyak dan terpenting pada kelompok polifenol (lukacinova, 2008). Polifenol yang ada dalam kayu manis mengandung senyawa *catechin*, *quercetin*, *rutin*, *kaempferol*, dan *isorhamnetin*. Selain itu kayu manis memiliki komponen khas yaitu *cinnamaldehyde*, *cinnamic acid*, *cinnamate*, dan *essential oil* (Baker, 2008).

Kayu manis telah diketahui dalam Sunarno (2010), dapat memperbaiki kondisi stres oksidatif penderita hiperkolesterolemia. Selain itu dalam penelitian Vanessa (2014) juga diketahui kayu manis dapat menurunkan kadar LDL dalam darah. Turunnya kadar LDL dalam darah tentu akan mengurangi kemungkinan terjadinya peroksidasi lipid.

2.8.2 Pepaya Gunung (*Carica pubescens* Lenne & K. Koch)

2.8.2.1 Klasifikasi *Carica pubescens*

Pepaya gunung yang digunakan pada penelitian ini adalah Pepaya gunung dengan nama latin *Carica pubescens* Lenne & K. Koch yang diklasifikasikan berdasarkan Cronquist tahun 1981 (Dasuki, 1991) adalah sebagai berikut.

Kingdom: Plantae

Divisi: Spermatophyta

Subdivisi: Magliophyta

Kelas: Magnoliopsida

Ordo: Violales

Famili: Caricaceae

Genus: *Carica*

Spesies: *Carica pubescens* Lenne & K.

2.8.2.2 Karakterisasi dan Morfologi *Carica pubescens*

Pepaya gunung merupakan tumbuhan genus carica yang tidak seperti tumbuhan carica lainnya dimana pepaya gunung pada beberapa bagian organnya memiliki lebih banyak bulu. Hal ini sesuai dengan arti pubescens yaitu bulu. Pepaya gunung memiliki bulu yang dapat ditemukan pada bagian permukaan bawah daun, tangkai daun, serta permukaan luar bunga jantan maupun betina (Laily, 2012). Daun pepaya gunung memiliki warna semakin tua dan tekstur semakin tebal apabila hidup di ketinggian yang semakin tinggi. Selain warna dan tekstur, lebar daun juga semakin besar. Semakin lebar daun ini maka semakin banyak mengandung klorofil didalamnya (Laily, 2012).

Pepaya gunung maupun tumbuhan yang tumbuh di bumi merupakan ciptaan Allah yang memiliki karakter masing-masing. Hal ini dijelaskan dalam al-Qur'an surat al-An'am ayat 99 yang berbunyi:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرُجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مَنِطْلَعِيهَا قِنَاطٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالزُّمَانُ مُمَشَّتُهُنَّ وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَُمْ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ (٩٩)

"Dan Dialah yang menurunkan air dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau, Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma, mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya pada waktu berbuah, dan menjadi masak. Sungguh, pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman." (QS. Al-An'am 6: 99)

Pada ayat ini terdapat kata yang perlu diperhatikan yaitu “نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ” yang memiliki arti “segala macam tumbuh-tumbuhan”. Segala macam tumbuh-tumbuhan ini merujuk pada tumbuhan yang salah satunya tumbuhan yang digunakan pada penelitian ini. Pada tafsir al Maraghi (1992) diketahui bahwa dengan memperhatikan secara mendalam maka akan ditemukan rahasia-rahasia alam tumbuh-tumbuhan seperti kandungan dan manfaat dari tanaman tersebut. Hal ini dapat diketahui dengan melakukan penelitian.

2.8.2.3 Kandungan Kimia dan Manfaat daun *Carica pubescens*

Kandungan kimia pepaya gunung dalam Khotimah (2016) adalah senyawa flavanoid, alkaloid, saponin, polifenol, tanin dan triterpenoid seperti halnya dengan senyawa yang ada di daun Carica. Menurut Yogiraj (2015) pada tumbuhan Carica senyawa turunan alkaloid yang ada didalamnya adalah *carpaine*,

pseudocarpene, *dehydrocarpain* I dan II; senyawa turunan flavonoidnya adalah kaempferol, antosianin, dan *myricetin*; serta senyawa turunan fenolnya adalah *ferulic acid*, *caffeic acid*, dan *chlorogenic acid*.

Pepaya gunung diketahui dalam penelitian Efendi (2017) dapat menurunkan aktifitas peroksidasi lipid. Kemampuan tumbuhan ini dalam menurunkan aktifitas peroksidasi lipid tentunya akan memperbaiki kondisi tubuh.

2.9 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu upaya dalam suatu proses untuk memisahkan suatu komponen dari suatu campuran homogen menggunakan pelarut cair (*solvent*). pelarut cair (*solvent*) yang digunakan disebut sebagai *separating agent*. Pemisahan yang terjadi menggunakan prinsip pemisahan fisika dengan adanya beda konsentrasi dan beda kelarutan (Risjad, Resi, dan Siswarni, 2016). Ekstraksi memiliki definisi lain yang dijelaskan dalam Tiwari dan Mandeep (2011) yaitu ekstraksi adalah upaya memisahkan bahan aktif dalam sel atau jaringan tumbuhan yang memiliki sifat inaktif atau inert dengan memanfaatkan pelarut yang sesuai dengan polaritasnya.

Kualitas ekstraksi dapat diketahui melalui beberapa parameter diantaranya prosedur ekstraksi, jenis pelarut, dan jenis bahan yang digunakan. Hasil ekstraksi yang berupa bahan aktif dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya polaritas, konsentrasi pelarut, jenis pelarut, waktu ekstraksi, tipe ekstraksi, pH, suhu, dan ukuran bahan. Ukuran bahan yang akan diekstraksi dapat diperkecil untuk mempercepat masuknya pelarut ke dalam bahan yang akan diekstrak akibat dari luasnya bidang permukaan bahan sehingga akan mempercepat waktu yang

digunakan untuk proses ekstraksi. Akan tetapi, ukuran bahan yang terlalu kecil dapat menyebabkan banyak minyak volatile yang menguap selama penghancuran (Tiwari dan Mandeep, 2011).

Pada penelitian ini bahan yang digunakan sebagai pelarut adalah 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 (Chang, 2006).

Ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi. Maserasi merupakan metode yang paling umum digunakan untuk ekstraksi karena mudah dilakukan dan menggunakan alat yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan perendaman serbuk simplisia 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, Sabirin, dan Tutik, 2005).

2.10 Mencit (*Mus musculus*)

2.10.1 Definisi Mencit (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus*) termasuk hewan mamalia pengerat. Hewan pengerat ini memiliki sifat yang tepat untuk digunakan sebagai hewan coba yaitu mudah dipelihara, cepat berkembangbiak, harga ekonomis, lebih jinak, dan lebih

tahan terhadap penyakit. Berbeda dari hewan-hewan lainnya, mencit tidak mempunyai kelenjar keringat. Pada umur empat minggu berat badan mencit dapat mencapai 18-20 gram (Kusumawati, 2004). Mencit dalam keadaan normal menurut Diah (2004) memiliki kadar kolesterol antara 26,0 sampai 82,4 mg/dl.



Gambar 2.6. Mencit (*Mus musculus*) (Tetebano, 2011)

2.10.2 Klasifikasi Mencit (*Mus musculus*)

Mencit yang merupakan hewan coba dengan nama latin *Mus musculus* memiliki klasifikasi taksonomi yang menurut Boolootion (1991) sebagai berikut:

Kingdom	:	Animalia
Filum	:	Chordata
Sub Filum	:	Vertebrata
Kelas	:	Mamalia
Ordo	:	Rodentia
Famili	:	Muridae
Genus	:	Mus
Spesies	:	<i>Mus musculus</i>

2.11 *Molecular Docking* (Penambatan Molekul)

2.11.1 Pengertian

Molecular docking jika dideskripsikan dapat dijelaskan yaitu metode secara komputasional untuk mencari ligan yang cocok baik secara geometris dan energi ke situs pengikatan protein (reseptor). *Molecular docking* ini nantinya akan menggambarkan orientasi ikatan terbaik dari ligan yang mengikat protein (reseptor) tertentu (Mukesh dan Rakesh, 2011). Ligan adalah molekul kecil yang berinteraksi dengan daerah ikatan (*binding site*) pada protein. Ada beberapa kemungkinan konformasi dalam ikatan antara ligan dan protein yang terjadi, disebut dengan mode ikatan (Onkara dkk., 2013). Tujuan dari *molecular docking* adalah untuk mencapai konformasi yang optimal (Mukesh dan Rakesh, 2011).

Molecular docking merupakan alat utama dalam biologi molekular struktural dengan bantuan komputer untuk desain suatu obat (Puspaningtyas, 2012). *Molecular docking* membantu dalam mempelajari interaksi obat (ligan) dan protein (reseptor) dengan mengidentifikasi situs aktif yang cocok pada protein, mendapatkan geometri terbaik dari kompleks ligan-reseptor dan menghitung energi interaksi dari ligan yang berbeda untuk merancang ligan yang lebih efektif (Mukesh dan Rakesh, 2011). Interaksi ini akan menghasilkan energi ikatan (*binding affinity*) dan aktivitas dari molekul obat tersebut (Onkara dkk., 2013).

Energi ikatan hasil *docking* merupakan parameter utama untuk mengetahui kestabilan antara ligan dan reseptor. Interaksi antara ligan dan reseptor yang stabil ditunjukkan dengan nilai *binding affinity* yang rendah karena ligan dan reseptor

cenderung berinteraksi pada kondisi energi yang paling rendah (Arwansyah dkk., 2014). Nilai energi bebas Gibbs yang kecil menunjukkan konformasi yang terbentuk adalah stabil, sedangkan nilai energi bebas Gibbs yang besar menunjukkan tidak stabilnya kompleks yang terbentuk (Funkhouser, 2007).

Hubungan antara molekul biologis yang relevan seperti protein, asam nukleat, karbohidrat dan lipid memainkan peran sentral dalam transduksi sinyal. Orientasi relatif dari dua pasangan yang berinteraksi dapat mempengaruhi jenis sinyal yang dihasilkan. Oleh karena itu *docking* berguna untuk memprediksi orientasi ikatan kekuatan dan jenis sinyal yang dihasilkan. *Docking* sering digunakan untuk memprediksi orientasi ikatan kandidat obat bermolekul kecil terhadap target proteinnya (Mukesh dan Rakesh, 2011).

Syarat pertama dalam *docking* adalah struktur protein yang dikehendakistrukturnya telah ditentukan dengan teknik biofisik seperti kristalogafi sinar-x atau spektroskopi NMR. Struktur protein dan basis data ligan ini berfungsi sebagai input dalam program *docking*. Keberhasilan *docking* tergantung pada dua komponen yaitu pencarian algoritma dan fungsi *scoring*. Fungsi *scoring* berfungsi untuk memprediksi afinitas ikatan makromolekul dengan ligan. Identifikasi ini didasarkan pada teori energi bebas Gibbs (energi ikatan). Penggunaan algoritma berperan dalam penentuan konformasi (*docking pose*) yang komponen yaitu pencarian algoritma dan fungsi *scoring*. Fungsi *scoring* berfungsi untuk memprediksi afinitas ikatan makromolekul dengan ligan. Identifikasi ini didasarkan pada teori energi bebas Gibbs (energi ikatan). Penggunaan algoritma

berperan dalam penentuan konformasi (*docking pose*) yang paling stabil dari pembentukan kompleks(Mukesh dan Rakesh, 2011).

Berdasarkan interaksi yang terjadi terdapat empat jenis *molecular docking* yaitu *docking* protein-ligan kecil, *docking* protein-peptida *docking* protein-protein, dan *docking* protein-nukleotida. Keuntungan *molecular docking* antara lain waktu penelitian yang singkat dan biaya yang lebih murah. Sintesis senyawa obat baru secara tradisional menggunakan kombinasi kimiawi dan *screening* dalam skala besar merupakan proses yang membutuhkan biaya besar dan waktu yang lama, sedangkan *screening* database molekul dari senyawa model dapat dijadikan proses alternatif dalam desain obat(Mukesh dan Rakesh, 2011).

2.11.2 Database Perangkat Lunak untuk *Docking*

Database yang dapat digunakan untuk membantu proses preparasi dalam *docking* antara lain GeneBank (ncbi.nlm.nih.gov/genbank/), Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), PubChem (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov). Perangkat lunak yang dapat digunakan untuk proses *docking* yaitu Autodock Vina, Arguslab, Cluspro, Parddock, MGL Tools dan lain-lain (Yanuar, 2012).

PyMOL merupakan salah satu program visualisasi yang digunakan untuk memahami suatu struktur biologi dan dapat menampilkan gambar 3 dimensi yang berkualitas dan mampu menyajikan tampilan struktur dalam beberapa warna dari suatu molekul kecil maupun makromolekul seperti protein (DeLano dan Bromberg, 2004).

Autodock merupakan program penambatan molekuler yang efektif secara cepat dan akurat dapat memprediksi konformasi dan energi dari suatu ikatan antara ligan dan target makromolekul. *Autodock* terdiri dari dua program utama, yaitu *Autodock* dan *Autogrid*. *Autodock* untuk melakukan penambatan molekuler ligan dan protein target dengan *set grid* yang telah terdeskripsi. Pendeskripsian ini dilakukan sebelumnya dengan *Autogrid*. Untuk memungkinkan pencarian konformasi, *Autodock* membutuhkan ruang pencarian dalam sistem koordinat dimana posisi ligan dianggap akan terikat (Morris, 2009).

Autogrid yang membantu perhitungan grid tersebut. Hal ini dapat digunakan sebagai pedoman dalam perancangan struktur kimia agar diperoleh ikatan yang lebih baik lagi. Bahan yang telah siap dipreparasi dengan parameter *Autogrid*, kemudian dilakukan validasi menggunakan kontrol agonis dan antagonis. Kemudian proses *docking* dan dilakukan analisis visual dengan beberapa piranti lunak lainnya seperti Ligplot ++1.4.5 dan PyMol 1.3 (Syahputra dkk., 2014).

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

Sebelum melakukan *docking* biasanya dilakukan prediksi aktivitas biologi dari senyawa-senyawa yang akan digunakan sebagai ligan. Salah satu software yang dapat digunakan untuk analisis tersebut adalah PASS (*Prediction of Activity Spectra for Substances*). Program ini merupakan suatu program komputer yang digunakan untuk memprediksi berbagai aktivitas biologi dari suatu senyawa

(Jamkhande dkk., 2014). Prediksi PASS bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa dan aktivitas biologinya (Chelliah, 2008).

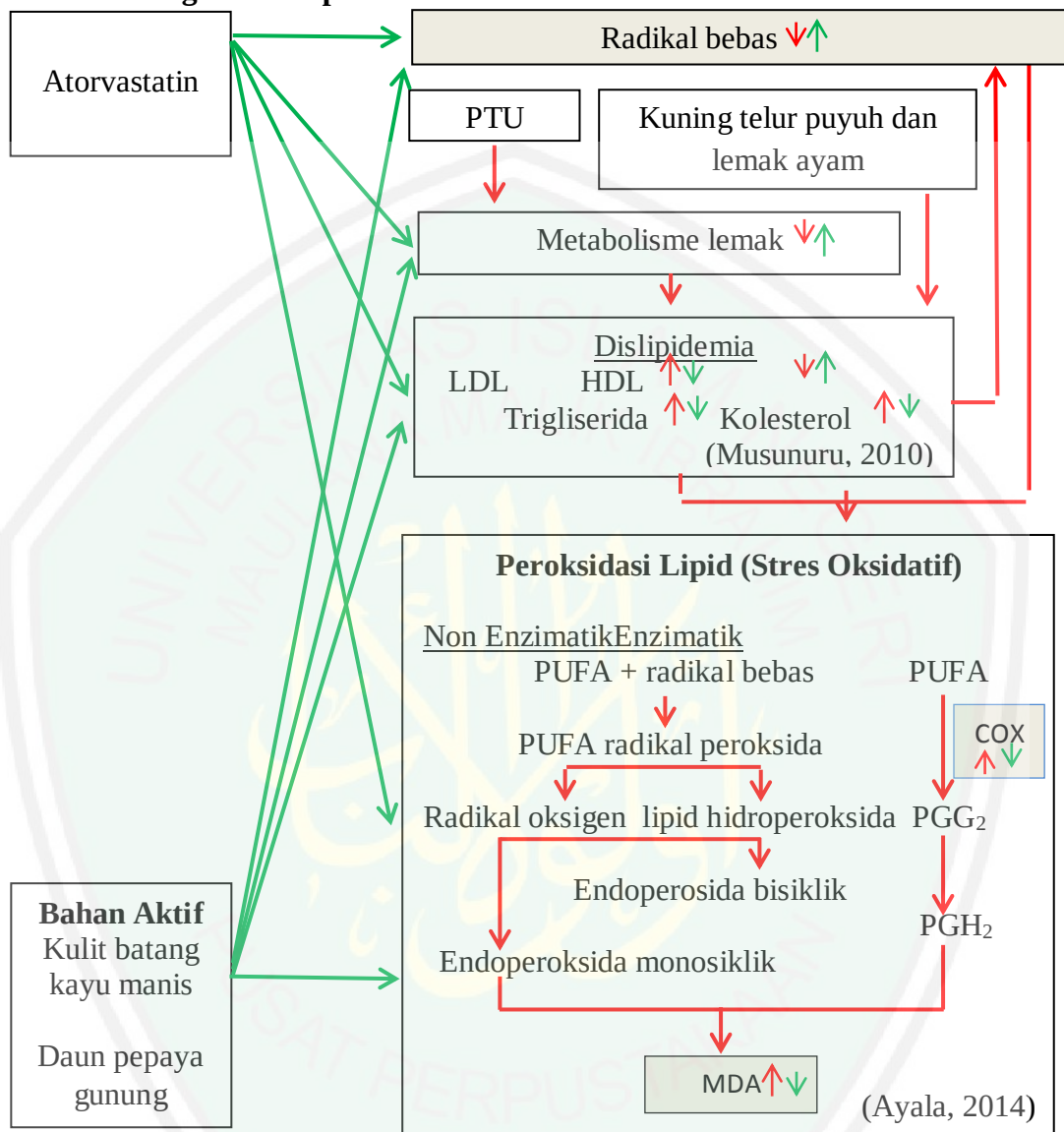
Program PASS secara luas digunakan dalam teknik *in silico* dan telah digunakan sebagai software yang potensial untuk memprediksi spektrum aktivitas biologi dari senyawa sintesis untuk pencarian obat baru. Analisis PASS didasarkan pada SAR (*Structure Activity Relationship*) atau hubungan struktur aktivitas dari sekumpulan percobaan yang terdiri lebih dari 270.000 senyawa yang menunjukkan lebih berbagai macam aktivitas biologi seperti efek farmakologi, mekanismenya, toksisitas maupun interaksi dengan sistem metabolik (Filimonov dkk., 2014).

Hasil prediksi dari PASS akan menunjukkan sejumlah aktivitas biologi sebagai kemungkinan aktif ($P_a = \text{probable activity}$) dan kemungkinan tidak aktif ($P_i = \text{probable inactivity}$). Nilai P_a dan P_i bermacam-macam dari 0,000 hingga 1,000 dan secara umum $P_a + P_i \neq 1$. Interpretasi dari hasil prediksi PASS adalah, (i) hanya senyawa dengan nilai $P_a > P_i$ yang memiliki kemungkinan sebagai senyawa yang baik, (ii) jika nilai $P_a > 0,7$ maka kemungkinan senyawa akan aktif pada eksperimen tinggi, (iii) jika nilai $0,5 < P_a < 0,7$ maka kemungkinan senyawa akan aktif pada eksperimen rendah, tapi senyawa mungkin tidak sama dengan obat yang telah dikenal, dan (iv) jika $P_a < 0,5$ maka menunjukkan aktivitas secara eksperimental rendah (Chelliah, 2008).

2.11.4 *Molecular Docking* Enzim Siklooksigenase dengan Senyawa Aktif Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens*)

Penelitian ini menggunakan *molecular docking* dimana interaksinya terjadi antarareseptor dan ligan. Reseptor yang digunakan adalah enzim siklooksigenase yang diketahui dalam Ayala *et al.* (2014) merupakan enzim yang berperan pertama kali dalam metabolisme asam arakidonat hingga terbentuknya MDA. Ligan yang digunakan adalah senyawa aktif kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) yaitu *cinnamaldehyde*, *cinnamic acid*, *cinnamate*, *catechin*, *quercetin*, *rutin*, *isorhamnetin*, *carpaine*, *pseudocarpaine*, *dehydrocarpaine* I dan II, *myricetin*, *ferulic acid*, *caffeic acid*, *kaempferol*, *peonidin*, *pelargonidine*, *malvidine*, dan *chlorogenic acid* (Baker, 2008; Lukacinova, 2008; Yogiraj, 2015).

2.12 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan:

 = reseptor uji *in silico*

→ = pengaruh negatif

→ = pengaruh positif

↑↓ = simbol peningkatan dan penurunan akibat dari pengaruh negatif

↑↓ = simbol peningkatan dan penurunan akibat dari pengaruh positif

2.13 Deskripsi Kerangka Konsep Penelitian

PTU merupakan bahan pemicu terjadinya hipotiroidisme apabila pemberiannya secara berlebihan. Menurut Schteingert (2006) keadaan hipotiroidisme dapat merangsang hati sehingga metabolisme lipid dihambat dan kadar kolesterol total dalam darah akan meningkat.

Peningkatan kolesterol selain dengan menurunkan metabolisme lipid, juga diinduksi menggunakan diet tinggi lemak. Diet tinggi lemak bisa didapatkan dari pemberian lemak ayam dan kuning telur puyuh karena menurut Gupta (2000) lemak ayam dapat meningkatkan kadar lemak darah khususnya LDL sebanyak 47-63% dan menurut Dwiloka (2003) kuning telur puyuh dapat berperan dalam meningkatkan kolesterol karena memiliki kandungan kolesterol tinggi dibanding dengan kuning telur lainnya yaitu sebanyak 2139,17/100 gr.

Tingginya kadar LDL maupun kolesterol merupakan ciri-ciri dari terjadinya dislipidemia. Keadaan dislipidemia dengan tingginya LDL dapat menyebabkan terjadinya oksidasi LDL apabila terdapat stres oksidasi yang tinggi dalam tubuh. Oksidasi LDL (peroksidasi lipid) terbentuk dengan dua cara yaitu secara enzimatis dan non enzimatis. Secara non enzimatis, terjadi dengan adanya reaksi asam lemak terhadap senyawa oksigen reaktif (SOR) membentuk hidroperoksida yang selanjutnya akan terbentuk MDA (Sunarjo, 2012). Sedangkan secara enzimatis terjadi dengan adanya katalisis asam lemak tak jenuh dengan enzim siklooksigenase menghasilkan biomolekul aktif yang dinamakan endoperoksida (PGG, PGH) yang selanjutnya akan diubah secara enzimatis hingga terbentuk MDA (Ayala *et al.*, 2014).

Atorvastatin diketahui dapat menjadi obat untuk menangani dislipidemia. Atorvastatin bersifat menurunkan kadar lipid selain itu juga memiliki kandungan antioksidan. Kadar lipid yang diturunkan dilakukan dengan cara menghambat kerja dari enzim HMG-KoA reduktase sehingga tidak menghasilkan kolesterol (Sunaryo *et al.*, 2015). Antioksidan yang ada dalam atorvastatin dapat menurunkan terjadinya oksidasi LDL karena menurut Wedhasari (2014) antioksidan dapat menangkal maupun meredam dampak negatif radikal bebas. Penggunaan atorvastatin ini cukup sering digunakan akan tetapi pada Suyatna (2007) dalam Fauzi (2009) diketahui bahwa atorvastatin memiliki efek samping yaitu menyebabkan terjadinya Rhabdomyolisis.

Adanya efek samping dari atorvastatin ini mendukung penelitian bahan alam yang hampir tidak memiliki efek samping. Bahan alam yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang kayu manis (*Cinnamon burmani*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*). Menurut Baker (2008) diketahui bahwa kulit batang kayu manis memiliki senyawa *cinnamaldehyde*, *cinnamic acid*, *cinnamate*, *catechin*, *quercetin*, *rutin*, *kaempferol*, dan *isorhamnetin* sedangkan padadaun *Carica pubescens* menurut Yogiraj (2015) memiliki kandungan senyawa *carpaine*, *pseudocarpaine*, *dehydrocarpain* I dan II, *myricetin*, *ferulic acid*, *caffeic acid*, *kaempferol*, *peonidin*, *pelargonidine*, *malvidine*, dan *chlorogenic acid*. Senyawa aktif flavonoid seperti *myricetin* (Simanjuntak, 2012), polifenol seperti *catechin*, *quercetin*, *rutin*, *kaempferol*, dan *isorhamnetin* (Ridwan, Raden, dan Anggraini 2012), serta alkaloid seperti *carpaine*, *pseudocarpaine*, *dehydrocarpain* I dan II (Wedhasari, 2014) telah diketahui berperan sebagai

antioksidan sehingga dapat menurunkan stres oksidatif dan menurunkan kemungkinan terjadinya peroksidasi lipid sehingga kadar MDA dapat menurun.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian skripsi ini merupakan penelitian yang diuji secara *in silico* dan *in vivo*. Uji *in silico* yang dilakukan menggunakan metode deskriptif eksploratif. Penelitian jenis ini bertujuan untuk menemukan sebuah data yang dapat memberikan definisi atau penjelasan mengenai konsep atau pola yang digunakan dalam penelitian.

Uji *in vivo* yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dalam enam kelompok dan lima ulangan. Hewan coba pada penelitian ini adalah Mencit (*Mus musculus* strain *Balb/c*) untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan buah pepaya gunung (*Carica pubescens*) terhadap MDA pembuluh koroner mencit (*Mus musculus*) dislipidemia.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli sampai September 2018 di Laboratorium Fisiologi Hewan dan Laboratorium Genetika Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang dan UPT. Materia Medica, Batu. Berikut adalah uraian singkat waktu penelitian:

Kegiatan	Juli				Agustus				September			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Uji <i>in silico</i>												
Aklimatisasi												
Induksi bahan pemicu dislipidemia												
Induksi obat dan ekstrak												
Pembedahan dan pengambilan data												

3.3 Variabel Penelitian

Berbagai macam variabel penelitian ini dijelaskan sebagai berikut.

a. Variabel bebas

1. Uji *In silico*: ligan (senyawa aktif pada kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*).
2. Uji *In vivo*: dosis ekstrak kombinasi kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*).

b. Variabel tergantung

1. Uji *In silico*: persentase HIA (*Human Intestinal Absorption*), nilai uji *Lipinski Rule of Five*, dan nilai uji PASS (*Prediction of Activity Spectra for Substance*) tiap senyawa, serta nilai *binding affinity* dan *binding posedari* hasil docking molekuler senyawa aktif dalam kulit batang

kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dengan enzim siklooksidade.

2. Uji *In vivo*: kadar MDA pembuluh koroner mencit.

c. Variabel kendali

1. Uji *In silico*: metode *molecular docking*.

2. Uji *In vivo* :

- a) Hewan coba: mencit (*Mus musculus*) strain *Balb/c* jantan dengan umur 12 minggu dan berat badan 20-25 gram, gerak aktif serta bulu tidak rontok.
- b) Cara pemeliharaan: mencit diaklimatisasi selama 1 minggu di Laboratorium Kandang Hewan Coba sebelum perlakuan hingga berat badan mencit mencapai 20-25 gram. Selama aklimatisasi mencit diberi makan BR IA serta minum air mineral.
- c) Perlakuan: teknik pemberian ekstrak kombinasi kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) secara oral.
- d) Induksi dislipidemia: teknik pemberian kuning telur, lemak ayam, dan PTU (propiltiourasil) secara oral.

3.4 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus* strain *Balb/c*) jenis kelamin jantan, umur 12 minggu dengan berat badan rata-rata 25 gram yang didapat dari UPHP (Unit Pengembangan Hewan Percobaan) Jl. Soekarno Hatta, Malang. Sampel diambil secara acak dari populasi mencit (*Mus musculus* strain

Balb/c) jantan untuk menjadi hewan coba. Sampel dikelompokkan secara acak dalam enam kelompok, yaitu:

1. Kelompok Kontrol standar, mencit tanpa induksi kuning telur, lemak, dan PTU.
2. Kelompok Kontrol negatif, mencit diinduksi kuning telur, lemak, dan PTU.
3. Kelompok Kontrol positif (Perlakuan 0), mencit diinduksi kuning telur puyuh, lemak ayam, PTU, dan atorvastatin.
4. Kelompok Perlakuan I, mencit diinduksi kuning telur puyuh, lemak ayam, PTU, dan kombinasi ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dosis 10,5 mg/ 25 gr BB mencit dengan ekstrak daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dosis 0 mg/ 25 gr BB.
5. Kelompok Perlakuan II, mencit diinduksi kuning telur puyuh, lemak ayam, PTU, dan kombinasi ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dosis 5,25 mg/ 25 gr BB dengan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dosis 5,25 mg/ 25 gr BB.
6. Kelompok Perlakuan III, mencit diinduksi kuning telur puyuh, lemak ayam, PTU, dan kombinasi ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) 0 mg/ 25 gr BB dengan ekstrak daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dosis 10,5 mg/ 25 gr BB.

Estimasi besarnya sampel yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan dengan rumus Federer :

$$(t-1)(r-1) > 15$$

$$(5-1)(r-1) > 15$$

$$4r-4 > 15$$

$$4r > 20$$

$$r > 5$$

Keterangan :

r = replikasi (ulangan)

t = treatment (perlakuan)

Sehingga jumlah sampel keseluruhan dalam penelitian ini menggunakan 30 ekor mencit.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

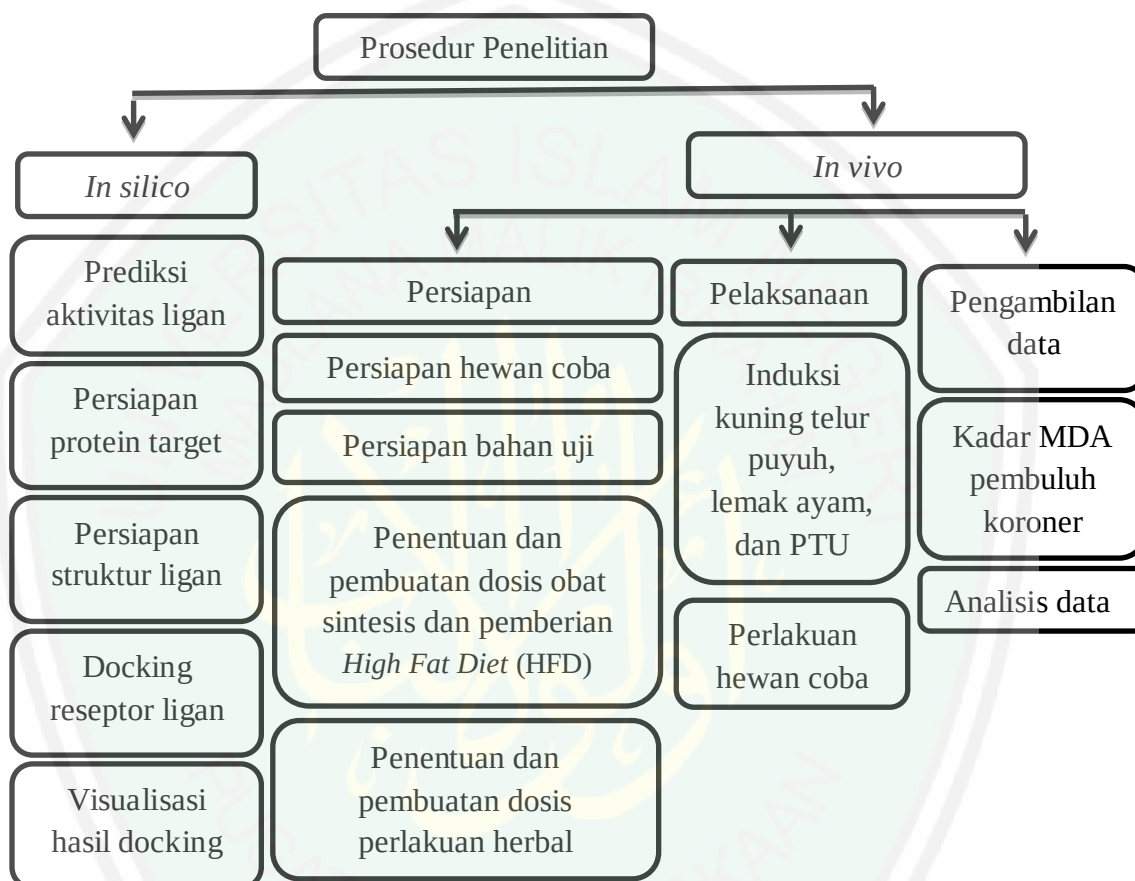
Alat yang terdaftar untuk digunakan dalam penelitian ini adalah kandang hewan coba, tempat minum, timbangan analitik, blender, alat pencekok styringe, *rotary vacuum evaporator*, saringan 100 mesh, spuit 1 ml, gelas ukur 10 ml, spektrofotometer, alat bedah, gelas beker 500 ml, tabung 2 ml, *safety tool*, komputer DELL Intel Core i5 Inside64 bit, software PyMOL, Discovery studio 2016, dan PyRx.

3.5.2 Bahan

Bahan yang terdaftar untuk digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus* strain *Balb/c*) jenis kelamin jantan umur 12 minggu bulan dengan berat badan rata-rata 25 gram, kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*), daun pepaya gunung (*Carica pubescens*), serbuk kayu, air mineral, pakan BR IA, akuades, NaCl Fisiologis, CMC-Na (Natrium Carboxymethylcelulose), pereaksi TCA 20%, larutan TBA 0,67%, larutan TEP (Sigma–Aldrich), struktur 3D ligan (*cinnamaldehyde* CID: 637511, *cinnamic acid* CID: 444539, *cinnamate* CID: 637520, *catechin* CID: 9064, *quercetin* CID: 5280804, *rutin* CID: 5280805, *isorhamnetin* CID: 5487766, *carpaine* CID: 442630, *pseudocarpaine* CID: 12305270, *dehydrocarpaine I* CID: 131750991, *dehydrocarpaine II* CID: 131750991, *myricetin* CID: 5281672, *ferulic acid* CID: 445858, *caffeic acid* CID: 689043, *kaempferol* CID: 5280863, *peonidin* CID: 441773, *pelargonidine* CID: 440832, *malvidine* CID: 443652, dan *chlorogenic acid* CID: 1794427) yang didapat dari <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> dengan format “.sdf”, struktur 3D reseptor enzim siklooksigenase CID: 5IKQ yang didapat dari PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/home>).

3.6 Prosedur Penelitian

Penelitian skripsi ini dilakukan dalam tiga tahap yang digambarkan pada kerangka dibawah ini.



Gambar 3.1 Kerangka Prosedur Penelitian

3.6.1 *In Silico*

3.6.1.1 Prediksi Aktivitas Ligan

Ligan didapatkan informasinya dari laman NCBI yaitu <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> dan disimpan dalam format “.mol”. Selanjutnya disiapkan juga ligan dalam format “.pdb” dengan cara dibuka ligan format “.mol” terlebih dahulu di PyMol kemudian disimpan dalam format “.pdb”. Ligan selanjutnya dilakukan pengujian, diantaranya:

1. Uji HIA (*Human Intestinal Absorption*)

Pengujian dilakukan dengan menggunakan software PreADMET online. Software ini bisa diakses melalui <http://preadmet.bmdrc.org/>. Pengujian dapat dilakukan dengan mula-mula software PreADMET dibuka. Senyawa ligan yang telah disiapkan kemudian diunggah. Selanjutnya dilakukan prediksi absorpsi senyawa ligan (Lee, 2003).

2. Uji PASS (*Prediction of Activity Spectra for Substances*)

Pengujian dilakukan dengan menggunakan PASS Online pada laman <http://www.pharmaexpert.ru/passonline>. Pengujian yang dilakukan adalah pengujian aktivitas inhibitor peroksidasi lipid dari tiap senyawa.

3.6.1.2 Persiapan Protein Target

Reseptor enzim siklooksigenase diunduh dari laman PDB (<https://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>). Selanjutnya reseptor protein tersebut di bersihkan dari molekul lain menggunakan software PyMol dengan cara dihilangkan molekul yang tidak diinginkan dari reseptor tersebut.

3.6.1.3 Persiapan Struktur Ligan

Struktur ligan yang digunakan berbentuk 3D dengan format “.sdf”. File ini dapat diunduh dari laman NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) pada bagian pubchem compound.

3.6.1.4 Docking Reseptor Ligan

Reseptor enzim siklooksigenase dengan ligan (senyawa-senyawa dari kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan daun Pepaya Gunung (*Carica pubescence*) dimasukkan dalam software PyRx untuk *docking* menggunakan Autodock Vina. Langkah-langkah *docking* yang dilakukan adalah:

- a. Reseptor hasil pemisahan diinput dengan memilih menu 'file' kemudian dipilih 'load molecule'. Klik kanan pada 'enzim siklooksigenase' di bawah molekul panel dan pilih 'AutoDoc' lalu pilih 'make macromolecule'.
- b. Ligan yang telah diunduh diinput dengan memilih menu 'file', pilih 'import', pilih 'Chemical table SDF'.
- c. Setelah semua ligan siap, klik kanan pada salah satu dalam tabel 'open Babel', kemudian pilih 'Minimize All'.
- d. Klik kanan kembali pada salah satu ligan dalam tabel 'open babel', kemudian 'Convert All to AutoDock Ligan' (pdbqt).
- e. Pilih tab Vina Wizard di bawah kontrol panel dan klik pada tombol Start.
- f. Pilih ligan-ligan yang akan *didocking*kan di bawah folder ligan (tombol Shift untuk memilih beberapa ligan).
- g. Pilih reseptor (enzim siklooksigenase) di bawah folder makromolekul dan klik tombol 'Forward' pada Vina Wizard.
- h. Klik tombol 'Maximize' di bawah 'Vina Search Space' dan kemudian klik tombol 'Forward'. Docking ligan dengan AutoDock Vina dimulai.
- i. Setelah proses *docking* selesai, PyRx akan menampilkan 9 konformasi terbaik.

3.6.1.5 Visualisasi Hasil Docking

Hasil *docking* dari konformasi ligan dipilih yang mempunyai nilai paling negatif energi ikatannya. Hasil interaksi berupa ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik serta asam-asam amino yang terikat pada ligan divisualisasikan menggunakan software Discovery Studio dan PyMOL.

3.6.2 *In Vivo*

3.6.2.1 Tahap Persiapan

a. Persiapan Hewan Coba

Sebelum mencit diberikan perlakuan yang perlu dilakukan adalah mempersiapkan tempat pemeliharaan kandang seperti kandang, sekam kayu, tempat pakan dan tempat minum untuk mencit. Kemudian mencit yang akan digunakan dalam penelitian diaklimatisasi selama satu minggu. Selama diaklimatisasi mencit diberi pakan BR IA dan diberi minum air mineral.

b. Persiapan Bahan Uji dan Ekstraksi

Kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) didapat dari UPT. Materia Medica, Batu. Kulit kayu manis kemudian dikeringkan pada oven suhu 50 °C, diblender, dan disaring dengan penyaring berukuran 100 mesh.

Pepaya gunung (*Carica pubescens*) didapat dari Kawasan Wisata Pemandian Air Panas Cagar, Batu. Pepaya gunung (*Carica pubescens*) kemudian diambil bagian daunnya yang sudah matang. Daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) selanjutnya dikeringkan pada oven suhu 50°C, diblender, dan disaring dengan penyaring berukuran 100 mesh.

Tiap serbuk tumbuhan yang telah dibuat kemudian diekstraksi. Cara pembuatan ekstraknya adalah mula-mula dilakukan maserasi dengan merendam 1000 gram serbuk daun pepaya gunung dan etanol 70% dengan perbandingan 1:3. Setiap hari sekali dilakukan pergantian etanol 70% dengan cara disaring dan diambil terlebih dahulu etanol 70% yang sebelumnya (filtrat) kemudian dimasukkan etanol 70% yang baru dengan perbandingan yang sama seperti hari sebelumnya. Filtrat yang telah terkumpul selama 3 hari kemudian dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 60°C (Kusuma, 2016).

c. Penentuan dan Pembuatan Dosis Obat Sintesis

Obat sintesis yang digunakan sebagai pembanding adalah atorvastatin 20 mg. Dosis yang digunakan untuk tikus setelah dikonversi adalah 0,052 mg/20 g BB (faktor konversi 0.0026) (Yosmar, Arifin, & Mustika, 2014). Atorvastatin diinduksi secara per-oral sehingga dilakukan pelarutan atorvastatin pada akuades dengan jumlah 0,065 mg atorvastatin dalam 0,35 ml akuades untuk mencit dengan berat badan 25 gram.

d. Penentuan dan Pembuatan *High Fat Diet* (HFD)

Pembuatan *High Fat Diet* (HFD) dilakukan dengan mengambil referensi dari Wicaksono dan Idris (2013) menggunakan kuning telur puyuh, lemak ayam, dan PTU. Adapun komposisi bahan tersebut untuk tiap ekor mencit dengan berat 25 gram adalah lemak ayam yang telah dicairkan sejumlah 0,06 ml, kuning telur puyuh 0,26 ml, dan PTU 43,8 mg.

e. Penentuan dan Pembuatan Dosis Perlakuan Herbal

Perlakuan herbal yang digunakan adalah kombinasi ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*). Dosis ditentukan dari rujukan penelitian Firdaus (2015). Dosis yang telah ditentukan kemudian dikonversi menjadi dosis untuk mencit.

Persiapan yang dilakukan dalam membuat ekstrak herbal ini mula-mula adalah membuat larutan stok CMC-Na 0,1%. CMC-Na serbuk ditimbang sebanyak 0,3 gr kemudian dilarutkan dalam 3000 ml akuades.

Selanjutnya membuat larutan stok ekstrak perlakuan 1 sampai 3. Untuk perlakuan 1, larutan stok dibuat dengan menghomogenkan 10,5 gram ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dalam 350 ml CMC-Na 0,1%. Untuk perlakuan 2, larutan stok dibuat dengan menghomogenkan 5,25 gram ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan 5,25 gram ekstrak daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dalam 350 ml CMC-Na 0,1%. Untuk perlakuan 3, larutan stok dibuat dengan menghomogenkan 10,5 gram ekstrak daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dalam 350 ml CMC-Na 0,1%.

3.6.2.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Induksi Bahan Pemicu Dislipidemia

Seluruh kelompok mencit kecuali kontrol standar diinduksi bahan pemicu dislipidemia. Pemberian dilakukan secara sonde lambung sejumlah 0,35 ml setiap hari pukul 08.00 WIB selama 56 hari.

b. Perlakuan Hewan Coba

Pemberian perlakuan pada hewan coba mulai dilakukan pada hari ke-29 hingga hari ke-56 setiap pukul 10.00 WIB, 2 jam setelah induksi bahan pemicu dislipidemia. Larutan yang diberikan adalah larutan atorvastatin, ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) maupun kombinasinya sesuai dengan kelompok perlakuan. Pelaksanaan tiap perlakuan hewan coba ini dilakukan dengan cara sonde lambung dengan volume sejumlah 0,35 ml tiap mencitnya.

3.6.2.3 Tahap Pengambilan Data

a. Pengambilan Sampel

Setelah 56 hari, mencit dipuasakan selama 8 jam yang setelahnya langsung dibedah untuk diambil pembuluh koronernya. Pembuluh koroner ini diambil untuk keperluan pengukuran kadar MDA.

c. Pengukuran kadar MDA Pembuluh Koroner

Pembuluh koroner dari tiap perlakuan ditimbang, diambil sebanyak $\pm$ 50 mg, dan digerus. Sebanyak $\pm$ 0,5 mg tadi kemudian ditambahkan 0,5 ml pereaksi TCA 20% dan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang terbentuk kemudian diambil sebanyak 0,5 ml dan dicampur 0,5 ml larutan TBA 0,67%. Homogenat tersebut selanjutnya dipanaskan dalam pemanas air dengan suhu 100°C selama 10 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruang (26-27°C). Selanjutnya diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 500-600 nm menggunakan spektrofotometer. Data nilai absorbansi yang telah didapat kemudian digunakan untuk menghitung kadar

MDA menggunakan kurva standar yang dibuat dengan mereaksikan TEP (Tetraetoksipropan) dalam berbagai konsentrasi dengan TBA 0,67%.

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengukuran kadar MDA diuji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas *Levene*, setelah diuji data yang memenuhi syarat parametrik dianalisis menggunakan *One Way Anova*, sedangkan data yang tidak memenuhi syarat parametrik dianalisis secara nonparametrik menggunakan *Kruskal-Wallis*. Jika $F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$ maka H_0 ditolak. Apabila terjadi perbedaan yang signifikan pada data parametrik, maka dilanjutkan dengan uji lanjut *Pos Hoc Duncan*, sedangkan data untuk nonparametrik dilanjutkan uji *Post Hoc Mann-Whitney* dengan taraf signifikan 5%.

Analisis hasil docking dilakukan dengan melihat nilai energi ikatan (*binding affinity*) dan interaksi daerah ikatan (*binding site*) antara senyawa *cinnamaldehyde*, *cinnamic acid*, *cinnamate*, *catechin*, *quercetin*, *rutin*, *isorhamnetin*, *carpaine*, *pseudocarpane*, *dehydrocarpain I dan II*, *myricetin*, *ferulic acid*, *caffeic acid*, *kaempferol*, *peonidin*, *pelargonidine*, *malvidine*, dan *chlorogenic acid* terhadap enzim siklooksigenase. Nilai energi ikatan (*binding affinity*) yang paling rendah merupakan nilai terbaik dan menunjukkan interaksi yang paling stabil.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Siklooksigenase dari Senyawa Aktif Kulit Batang Kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens*) secara *In Silico*

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

Penelitian yang dilakukan selain uji *in silico* adalah uji *in vivo*. Pengujian *in vivo* penelitian ini dilakukan secara per-oral. Pemberian ekstrak secara per-oral mengantarkan ekstrak masuk ke dalam tubuh melalui penyerapan di usus halus. Ekstrak yang diantar ke dalam tubuh dengan mula-mula diserap ke dalam usus menurut Wilson (2011) menunjukkan pentingnya prediksi absorpsi usus halus tiap-tiap senyawa pada ekstrak sehingga dalam melakukan uji *in silico* hal pertama yang perlu diuji adalah HIA.

Senyawa-senyawa aktif dalam kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) yang diujikan pada penelitian ini sebagian besar memiliki hasil yang baik nilai HIA-nya. Nilai yang baik ini diketahui berdasarkan Nerkaret *al.* (2012) adalah nilai HIA dengan nilai lebih dari 70% menunjukkan absorpsi usus yang tinggi terhadap suatu senyawa. Jika diamati dari tabel 4.1 dapat terlihat bahwa terdapat 13 senyawa yang dapat diabsorpsi usus dengan penilaian yang tinggi selain atorvastatin, yaitu *cinnamaldehyde*, *cinnamate*, *cinnamic acid*, *pseudocarpaine*, *carpaine*, *ferulic acid*, *caffeic acid*, *pelargonidin*, *peonidin*, *malvidin*, *kaemferol* dan *isorhamnetin*. Apabila dilihat dari tingginya kemampuan usus dalam absorpsi 13 senyawa tersebut, maka dapat menunjukkan bahwa senyawa tersebut dapat masuk dengan baik untuk berperan dalam tubuh.

Tabel 4.1 Hasil Prediksi HIA (*Human Intestinal Absorption*)

No	Sumber	Senyawa	HIA (%)
1	Atorvastatin	Atorvastatin	94,65
2	Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>)	<i>Cinnamaldehyde</i>	100
3		<i>Cinnamate</i>	97,85
4		<i>Cinnamic Acid</i>	97,85
5		Isorhamnetin	78,35
6		<i>Catechin</i>	66,71
7		<i>Quercetin</i>	63,49
8		Rutin	2,86
9	Pepaya Gunung (<i>Carica Pubescens</i>)	<i>Pseudocarpaine</i>	94,63
10		<i>Carpaine</i>	94,63
11		<i>Ferulic Acid</i>	90,6
12		<i>Caffeic Acid</i>	82,3
13		Pelargonidin	81,59
14		Peonidin	81,24
15		Malvidin	80,91
16		Kaemferol	79,44
17		<i>Myricetin</i>	40,96
18		Chlorogenic Acid	20,43

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

Pada hasil senyawa lainnya menunjukkan nilai HIA yang lebih rendah dari 70%. Menurut Nerkaret *al.* (2012) nilai HIA 70% maupun bawahnya dapat terbagi menjadi dua kelompok yaitu nilai HIA 20%-70% dan nilai HIA <20%. Senyawa HIA dengan nilai 20%-70% termasuk dalam senyawa yang memiliki kemampuan terabsorpsi sedang pada usus halus. Senyawa-senyawa tersebut adalah *catechin*, *quercetin*, *myricetin*, dan *chlorogenic acid*. Senyawa HIA dengan nilai <20% termasuk dalam senyawa yang memiliki kemampuan terabsorpsi rendah pada usus halus. Senyawa yang rendah dalam terabsorpsi usus ini adalah rutin. Rendahnya nilai HIA rutin dapat diakibatkan dari berat molekulnya yang menurut Scalbert *et al.* (2002) besar yaitu 610,52 g/mol.

Senyawa terabsorpsi dalam usus tidak semuanya dapat hanya terabsorpsi menggunakan jalur difusi pasif. Menurut Ziberna *et al.* (2014), senyawa dengan nilai absorpsi sedang dan rendah untuk dapat terabsorpsi maka diperlukan protein transport agar senyawa tersebut mampu terbawa masuk ke dalam usus. Pada senyawa rutin yang merupakan senyawa dengan nilai absorpsi rendah, untuk dapat terabsorpsi dalam usus diperlukan protein transport berupa *P-glycoprotein* (P-gp) dan *multidrug-resistant proteins*(MRPs) (Zhang *et al.*, 2013).

4.1.2 Hasil Uji PASS (*Prediction of Activity Spectra for Substances*)

Nilai HIA yang telah dilakukan telah menginformasikan senyawa-senyawa yang dapat dengan baik masuk ke dalam tubuh. Masuknya senyawa-senyawa tersebut kemudian perlu diuji dengan uji PASS. Uji PASS yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji aktivitas penghambatan peroksidasi lipid dari senyawa kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*). Nilai software PASS yang tertera merupakan nilai yang didasarkan pada SAR (*Structure Activity Relationship*) (Filinmov *et al.*, 2014) SAR menurut Benigni (2003) adalah teknologi yang ditujukan untuk memberikan perkiraan banyaknya hasil uji laboratorium yang telah ada sebelum pengujian dilakukan

Uji PASS didapatkan dengan memasukkan file ‘.mol’ dalam software PASS setiap senyawa turunan kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*). Data yang didapatkan setelah memasukkan file “.mol” tersebut adalah berupa nilai Pa (*Probable activity*) dan Pi (*Probable inactivity*). Menurut Chelliah (2008) nilai Pa adalah nilai yang

menunjukkan kemampuan suatu senyawa untuk aktif dalam eksperimen laboratorium, sedangkan nilai P_i adalah kebalikannya. Nilai P_a dan P_i dapat ditafsirkan dengan beberapa hal menurut Marwaha et al. (2007) yaitu (1) nilai $P_a > P_i$ menunjukkan bahwa suatu senyawa dapat dipertimbangkan aktivitasnya, (2) jika $P_a > 0,7$ kesempatan dalam menemukan aktivitas eksperimental tinggi, (3) jika $0,5 < P_a < 0,7$ kesempatan dalam menemukan aktivitas eksperimental kurang namun ada kemungkinan senyawa memang tidak mirip dengan agen farmasi yang dikenal, dan (4) jika $P_a < 0,5$ kemungkinan menemukan aktivitas eksperimental rendah, sehingga membuka peluang untuk menemukan senyawa yang belum diuji aktivitas eksperimentalnya.

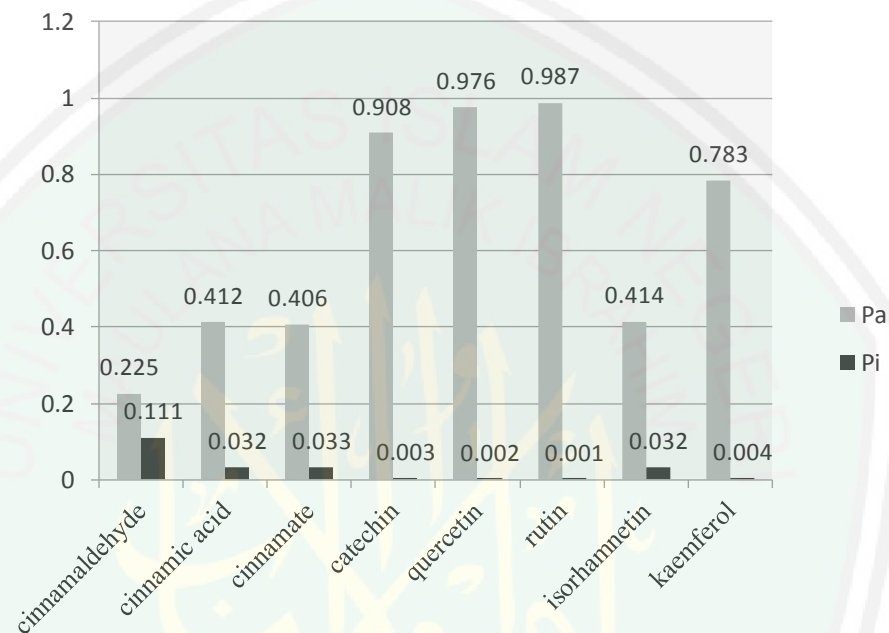
Hasil prediksi software PASS menunjukkan bahwa semua senyawa aktif dalam kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) memiliki nilai $P_a > P_i$ yang artinya senyawa tersebut dapat dipertimbangkan aktivitasnya dalam menghambat terjadinya peroksidasi lipid. Hasil prediksi software PASS senyawa aktif dalam kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan 4.2.

Pada hasil prediksi software PASS senyawa aktif dalam kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) terdapat empat senyawa aktif yang memiliki nilai $P_a > 0,7$ yaitu *cathecin*, *quercetin*, rutin, dan kaempferol serta empat senyawa aktif yang memiliki nilai $P_a < 0,5$ yaitu *cinnamaldehyde*, *cinnamic acid*, *cinnamate*, dan isorhamnetin (Gambar 4.1). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa *cathecin*, *quercetin*, rutin, dan kaempferol memiliki aktivitas eksperimental yang tinggi

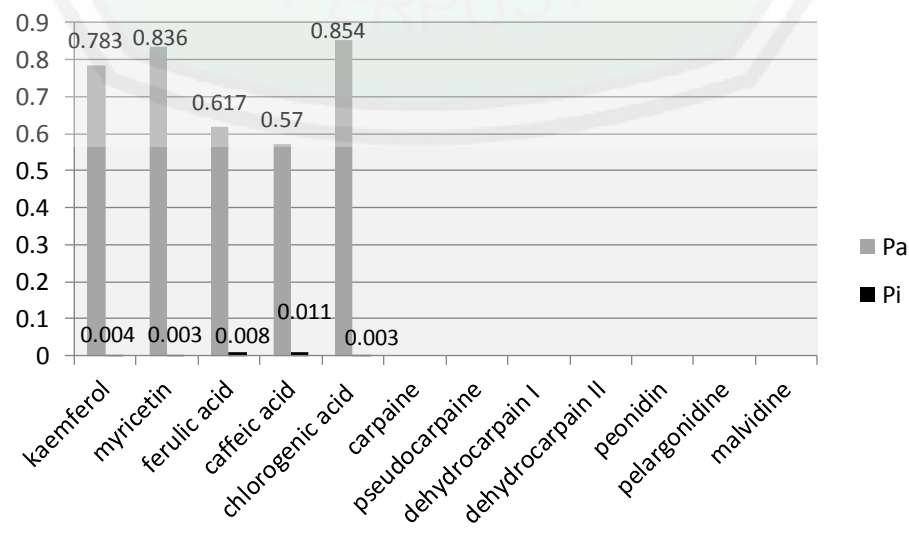
dalam menghambat peroksidasi lipid. Sedangkan senyawa *cinnamaldehyde*, *cinnamic acid*, *cinnamate*, dan isorhamnetin memiliki aktivitas eksperimental yang rendah dalam menghambat peroksidasi lipid. Rendahnya aktivitas eksperimental yang diketahui sesungguhnya menjadi petunjuk bahwa senyawa-senyawa ini merupakan senyawa yang bisa menjadi peluang untuk diteliti aktivitasnya dalam menghambat peroksidasi lipid.

Pada hasil prediksi software PASS senyawa aktif dalam daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) terdapat tiga senyawa aktif yang memiliki nilai $Pa > 0,7$ yaitu kaempferol, myricetin, dan chlorogenic acid; satu senyawa aktif yang memiliki nilai $0,5 < Pa < 0,7$ yaitu ferulic acid; satu senyawa aktif yang memiliki nilai $Pa < 0,5$ yaitu caffeic acid, dan tujuh senyawa aktif yang tidak ada informasi nilai Pa dan Pi -nya dalam aktivitas penghambatan peroksidasi lipid yaitu peonidin, pelargonidine, malvidine, carpaine, pseudocarpaine, dehydrocarpain I, dan dehydrocarpain II (Gambar 4.2). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa kaempferol, myricetin, dan chlorogenic acid memiliki aktivitas eksperimental yang tinggi dalam menghambat peroksidasi lipid, senyawa ferulic acid memiliki aktivitas penghambatan peroksidasi lipid yang kurang karena ada kemungkinan senyawa memang tidak mirip dengan agen farmasi yang dikenal, dan senyawa caffeic acid memiliki aktivitas menghambat peroksidasi lipid yang rendah. Sedangkan senyawa peonidin, pelargonidine, malvidine, carpaine, pseudocarpaine, dehydrocarpain I, dan dehydrocarpain II yang tidak ada informasinya sesungguhnya dapat menjadi petunjuk bahwa senyawa-senyawa ini bisa menjadi peluang untuk diteliti aktivitasnya dalam menghambat peroksidasi

lipid begitu pula dengan *caffeic acid* yang memiliki aktivitas eksperimental yang rendah.



Gambar 4.1. Nilai prediksi aktivitas inhibitor lipid peroksidase dari kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) menggunakan software PASS (Pa = Probable activity; Pi = Probable inactivity)



Gambar 4.2. Nilai prediksi aktivitas inhibitor lipid peroksidase dari daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) menggunakan software PASS (Pa = *Probable acivity*; Pi = *Probable inactivity*)

4.1.3 Hasil Nilai Binding Affinity Ligan-Reseptor

Prediksi PASS yang sebelumnya telah dilakukan sesungguhnya dapat memberikan informasi tentang keberadaan senyawa aktif dan aktivitasnya secara algoritma. Akan tetapi, kebenarannya harus diuji kembali secara eksperimental baik melalui studi *in vivo*, *in vitro*, maupun *in silico* dengan metode *molecular docking* (Chelliah, 2008). Berdasarkan hal tersebut maka langkah selanjutnya yang dilakukan pada penelitian *in silico* dalam penelitian ini adalah *molecular docking*.

Molecular docking merupakan metode secara komputasional untuk mencari ligan yang cocok baik secara geometris dan energi ke situs pengikatan protein (reseptor) (Mukesh dan Rakesh, 2011). Pada penelitian ini yang disebut sebagai ligan adalah bahan tanaman yaitu senyawa aktif dalam kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*), bahan obat kontrol positif yaitu Atorvastatin, serta bahan obat kontrol yang ada pada protein acuan yaitu asam mefenamat sedangkan yang digunakan sebagai reseptor adalah enzim siklooksigenase (COX).

Enzim siklooksigenase merupakan enzim yang berperan dalam pembentukan MDA. Pembentukan MDA terjadi melalui dua jalur yaitu jalur enzimatik dan jalur non-enzimatik. Jalur non-enzimatik terjadi dengan adanya reaksi PUFA dengan radikal bebas yang ada dalam tubuh sedangkan jalur

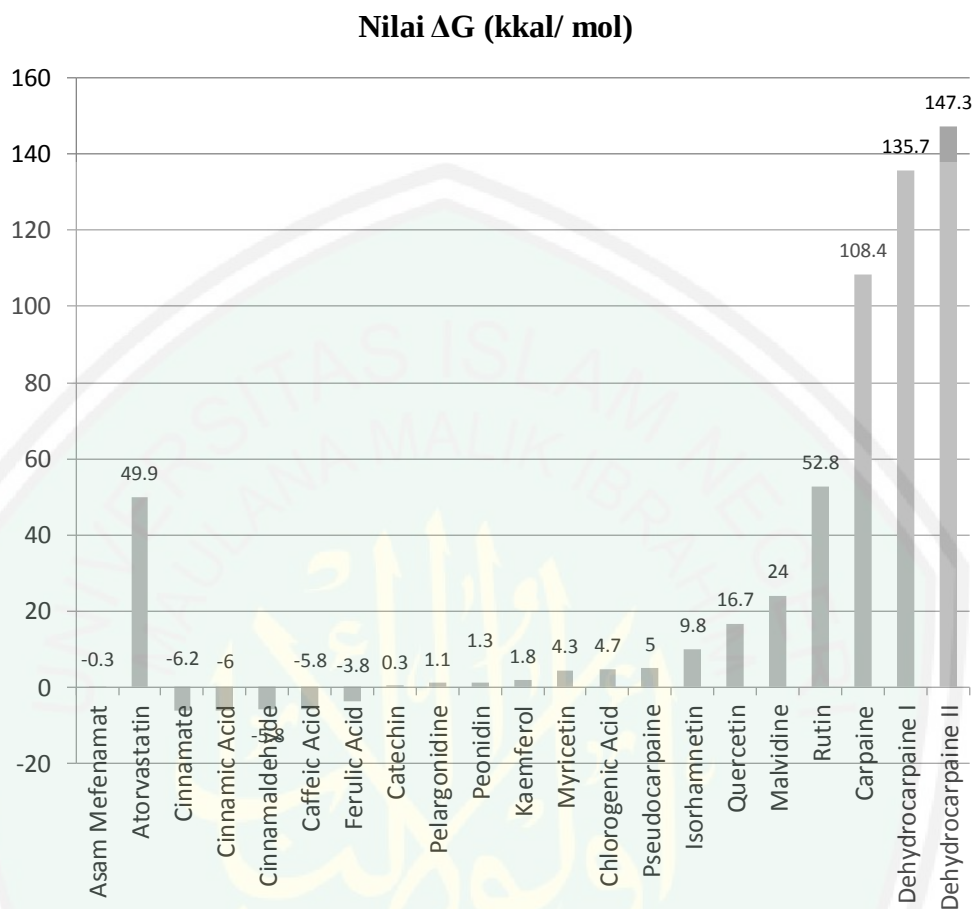
enzimatis terjadi dengan adanya aktivitas enzim siklooksigenase dalam merubah PUFA menjadi bentuk lain yang nantinya akan membentuk MDA (Ayala, 2014).

Enzim siklooksigenase merupakan reseptor yang didapat dari protein acuan. Protein acuan adalah struktur protein (reseptor) yang telah berikatan dengan ligan dimana dalam penelitian ini digunakan reseptor enzim COX yang berikatan dengan asam mefenamat (Araujo *et al.*, 2016). Sebelum melakukan *docking* menurut Meng *et al.* (2011) perlu mengetahui lokasi sisi aktif dari reseptor terlebih dahulu agar lebih efisien. Pada enzim siklooksigenase menurut Rowlinson *et al.* (2003) terdapat dua sisi aktif yaitu Tyr-385 dan Ser-530. Informasi sisi aktif ini menjadi rujukan untuk menempatkan grid box ketika *docking*.

Hasil dari proses *docking* berupa *grid score*, yaitu energi yang digunakan ligan untuk berikatan dengan protein biasa disebut dengan energi Gibbs/energi ikatan (ΔG) (Fitriasari dkk., 2008). Energi ikatan hasil *docking* ini merupakan parameter utama untuk mengetahui kestabilan antara ligan dan protein (Arwansyah dkk., 2014). Analisis metode *docking* adalah skoring yaitu menghitung kekuatan ikatan ligan dan reseptor yang dinyatakan oleh besar energi ikatan (ΔG) (Fitriasari dkk., 2008). 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. Karena interaksi ligan dan reseptor ditentukan oleh nilai negatif dari ΔG , maka dapat dikatakan bahwa ΔG menentukan kestabilan dari interaksi antara ligan dan reseptor. Semakin negatif (rendah) nilai ΔG yang dihasilkan maka semakin stabil dan kuat ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor (Du *et al.*, 2016).

Hasil proses *docking* antara ligan (senyawa aktif kedua tumbuhan) dengan reseptor (enzim COX) dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 4.3. Berdasarkan gambar tersebut, diketahui bahwa obat kontrol yang ada di protein acuan memiliki nilai ΔG sebesar 0,3 kkal/mol dan obat kontrol atorvastatin sebesar 49,9 kkal/mol. Kemudian disusul oleh hasil *docking* dari nilai terkecil yaitu *cinnamate* (-6,2 kkal/mol), *cinnamic acid* (-6 kkal/mol), *cinnamaldehyde* dan *caffeic acid* (-5,8 kkal/mol), *ferulic acid* (-3,8 kkal/mol), *catechin* (0,3 kkal/mol), *pelargonidin* (1,1 kkal/mol), *peonidin* (1,3 kkal/mol), *kaempferol* (1,8 kkal/mol), *myricetin* (4,3 kkal/mol), *chlorogenic acid* (4,7 kkal/mol), *pseudocarpaine* (5 kkal/mol), *isorhamnetin* (9,8 kkal/mol), *quercetin* (16,7 kkal/mol), *malvidin* (24 kkal/mol), *rutin* (52,8 kkal/mol), *carpaine* (108,4 kkal/mol), *dehydrocarpaine I* (135,7 kkal/mol), dan *dehydrocarpaine II* (147,8 kkal/mol).

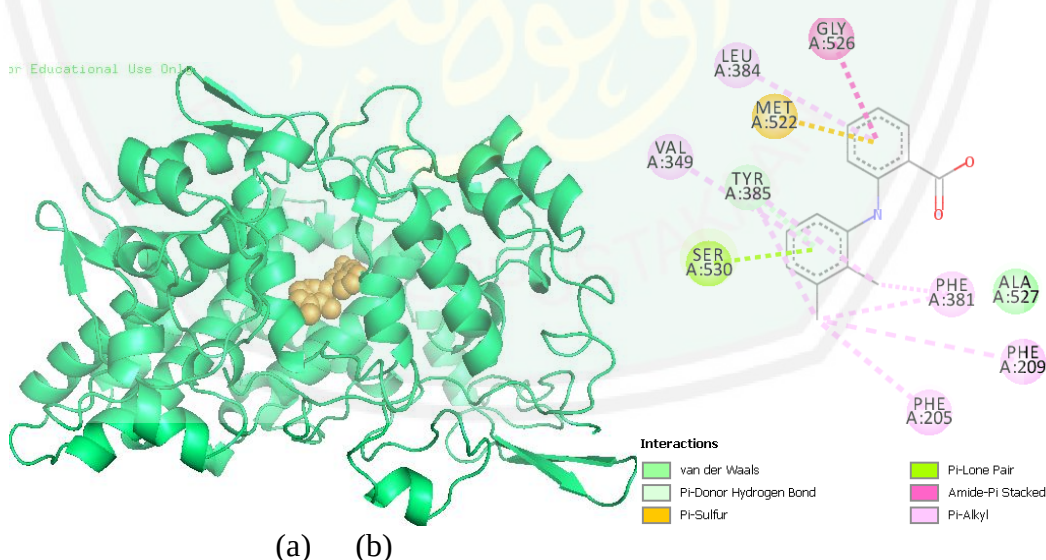


Gambar 4.3 Nilai energi bebas (ΔG) hasil *molecular docking* ligan senyawa aktif kulit batang kayu manis dan daun papaya gunung dengan reseptor enzim siklooksigenase. Semakin rendah nilai ΔG maka semakin kuat ikatan antara reseptor dan ligan.

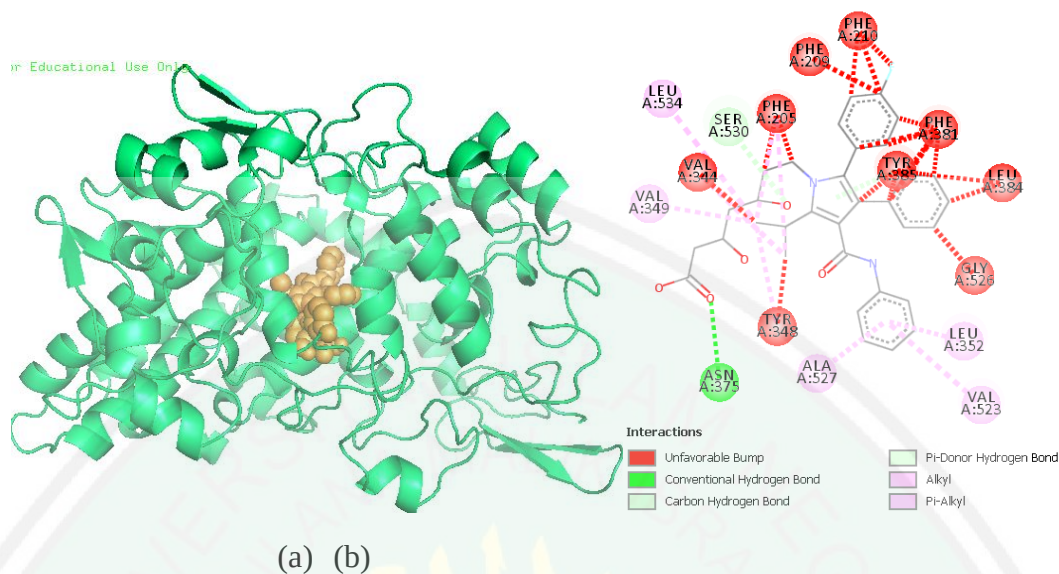
Gambar 4.3 menunjukkan bahwa senyawa *Cinnamate* merupakan senyawa yang paling efektif untuk dijadikan sebagai inhibitor peroksidasi lipid karena memiliki nilai ΔG paling kecil dibandingkan senyawa lain. Semakin kecilnya nilai ΔG menurut Syahputra et al. (2014) menunjukkan tingkat kestabilan ikatan antara ligan dan reseptor tersebut semakin baik (stabil) sehingga ikatan yang terbentuk makin kuat. Kuatnya ikatan senyawa *cinnamate* bahkan lebih kuat dibandingkan dengan obat kontrol pada protein acuan (asam mefenamat) yang memiliki nilai ΔG lebih besar. Selain *cinnamate*, terdapat senyawa lain yang memiliki nilai ΔG

lebih kecil dari asam mefenamat. Senyawa-senyawa tersebut adalah *cinnamic acid*, *cinnamaldehyde*, *caffeic acid*, dan *ferulic acid*. Pada lima senyawa tersebut, tiga diantaranya adalah senyawa yang diketahui menurut Baker (2008) ada dalam kulit batang kayu manis yaitu *cinnamate*, *cinnamic acid*, dan *cinnamaldehyde* sedangkan dua lainnya menurut Yogiraj (2015) adalah senyawa yang ada dalam daun pepaya gunung.

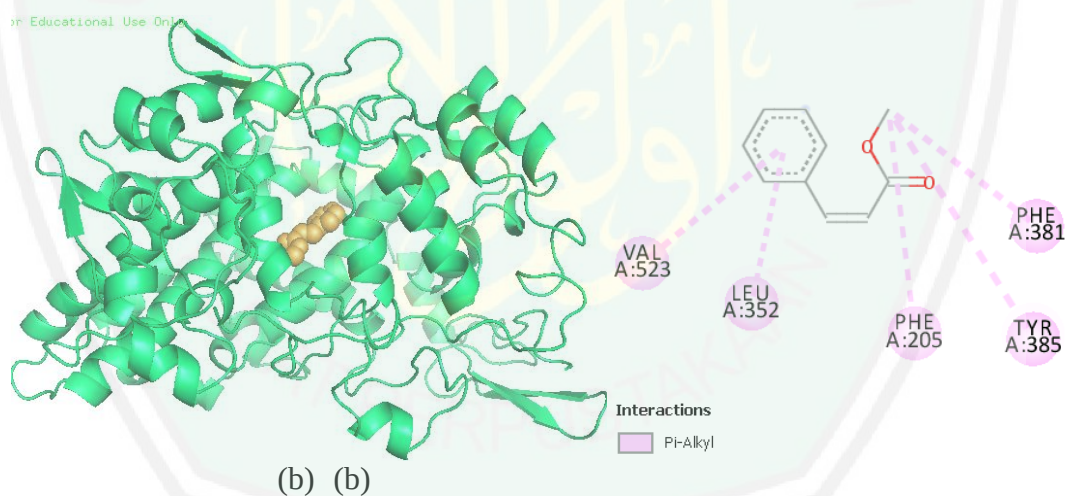
Selain nilai ΔG , terdapat hal lain yang perlu diperhatikan yaitu interaksi yang terjadi antara ligan dengan residu asam amino pada sisi aktif reseptor. Interaksi tersebut dilakukan untuk memastikan ligan berikatan dengan binding site. Interaksi tersebut dapat divisualisasikan menggunakan software PyMOL (3D) dan Discovery Studio (2D). Visualisasi tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.4, 4.5, dan 4.6.



Gambar 4.4 Visualisasi interaksi antara ligan Asam Mefenamat dengan reseptor enzim siklooksigenase secara 3D (a), dan 2D (b)



Gambar 4.5 Visualisasi interaksi antara ligan Atorvastatin dengan reseptor enzim siklooksigenase secara 3D (A), dan 2D (B)



Gambar 4.6 Visualisasi interaksi antara ligan *Cinnamate* dengan reseptor enzim siklooksigenase secara 3D (A), dan 2D (B)

Berdasarkan hasil visualisasi 2D pada Gambar 4.4 (b), 4.5 (b), dan 4.6 (b) terlihat residu asam amino yang memiliki interaksi antara ligan dengan reseptor memiliki ikatan berupa ikatan hidrogen dan hidrofobik. Pada hasil visualisasi interaksi antara Asam Mefenamat dan reseptor enzim COX dengan nilai ΔG -0,3 kkal/mol, terlihat bahwa Asam Mefenamat menempati *binding pocket* enzim COX

pada tampilanenzim COX (Gambar 4.4 (A)). Setelah dilakukan visualisasi secara 2D, terlihat atorvastatin membentuk 10 ikatan, yaitu Leu-384, Gly-526, Met-522, Val-349, Tyr-385, Ser-530, Phe-381, Ala-527, Phe-209, Phe-205 (Gambar 4.2 (B)). Menurut Rowlinson *et al.* (2003) residu asam amino kunci dari sisi aktif enzim siklooksigenase yang bertanggung jawab untuk berikatan dengan substrat adalah Tyr-385 dan Ser-530. Oleh karena itu, asam mefenamat sebagai obat kontrol pada protein acuan terbukti dapat menghambat aktivitas enzim siklooksigenase dengan cara berikatan dengan asam amino kunci pada sisi aktif enzim.

Berdasarkan hasil visualisasi interaksi antara atorvastatin dan reseptor enzim COX dengan nilai ΔG 49,9 kkal/mol, terlihat bahwa atorvastatin menempati *binding pocket*enzim COX pada tampilanenzim COX (Gambar 4.5 (A)). Setelah dilakukan visualisasi secara 2D, terlihat atorvastatin membentuk 15 ikatan yang dapat dilihat pada Gambar 4.5 (B). Dari 16 ikatan tersebut2 diantaranya merupakan ikatan Tyr-385 dan Ser-530. Oleh karena itu, atorvastatin sebagai obat kontrol terbukti dapat menghambat aktivitas enzim siklooksigenase dengan cara berikatan dengan asam amino kunci pada sisi aktif enzim meskipun memiliki nilai ΔG yang lebih besar dari asam mefenamat.

Atorvastatin meskipun memiliki nilai ΔG yang jauh lebih besar dari asam mefenamat, tetapi dapat berperan besar juga dalam mencegah pembentukan MDA. Seperti yang telah disebutkan sebelumnya, atorvastatin memiliki kandungan antioksidan (Sunaryoet *al.*, 2015). Adanya kandungan antioksidan pada atorvastatin dapat membantu mengurangi kadar MDA pada proses

peroksidasi lipid non-enzimatis. Adapun mekanismenya adalah dengan mengurangi radikal bebas yang ada dalam tubuh sehingga MDA nantinya tidak akan terbentuk. Menurut Gordon (1990) antioksidan dapat mengurangi radikal bebas dengan dua fungsi. Fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen antioksidan (AH). Senyawa ini memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibandingkan radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil.

Pada hasil *binding affinity*, *cinnamate* merupakan senyawa aktif yang memiliki nilai ΔG terendah (-6,2 kkal/mol) dibandingkan senyawa aktif lainnya. *Cinnamate* pada hasil visualisasi terlihat menempati *binding pocket* enzim COX pada tampilan enzim COX (Gambar 4.6 (A)). Visualisasi secara 2D memperlihatkan bahwa rutin memiliki hanya 1 ikatan pada asam amino yang merupakan sisi aktif enzim siklooksigenase yaitu Tyr-385 (Gambar 4.6 (B)). Hal ini menunjukkan bahwa *cinnamate* belum dapat dikatakan memiliki cara kerja yang menyerupai atorvastatin maupun asam mefenamat tetapi telah dapat berperan besar dalam menghambat peroksidasi lipid. Hal ini dapat dilihat residu asam amino yang salah satunya merupakan sisi aktif, nilai HIA yang besar (97,85%) (Tabel 4.1), serta adanya informasi aktivitas eksperimental

penghambatan peroksidasi lipid meskipun rendah dari nilai P_a yang $<0,5$ (0,406) (Gambar 4.1).

Senyawa aktif yang memiliki cara kerja menyerupai atorvastatin maupun asam mefenamat adalah *ferulic acid* yang dilihat dari nilai ΔG , hasil visualisasi 2D dan 3D, nilai HIA, serta hasil uji PASS-nya. *Ferulic acid* memiliki nilai ΔG lebih rendah dari asam mefenamat (-3,8 kkal/mol). Hal ini menunjukkan ikatan *ferulic acid* dengan enzim COX dibandingkan dengan ikatan asam mefenamat dengan enzim COX lebih stabil. Pada hasil visualisasi 3D (lampiran 8), *ferulic acid* terlihat menempati *binding pocket* enzim COX pada tampilan enzim COX. Secara tampilan visualisasi 2D (tabel 4.2), terlihat terdapat beberapa residu asam amino yang berikatan dimana terdapat 2 ikatan hidrogen pada asam amino yang sama dengan asam mefenamat dan atorvastatin yaitu Tyr-385 dan Ser-530. Adapun nilai HIA yang dimiliki *ferulic acid* termasuk dalam nilai HIA yang baik atau lebih dari 70% (90,6%) sehingga senyawa ini dapat terabsorpsi dengan baik (Tabel 4.1). Berdasarkan uji PASS, *ferulic acid* memiliki informasi aktivitas eksperimental penghambatan peroksidasi lipid yang kurang karena nilai P_a $0,5 < P_a < 0,7$ (0,617) sehingga senyawa ini masih bisa diketahui memiliki aktivitas penghambatan peroksidasi lipid meskipun belum banyak dilakukan (Gambar 4.2).

Pada hasil penelitian ini diketahui bahwa tiap senyawa aktif memiliki nilai masing-masing pada tiap uji yang telah dilakukannya. Hal ini menjelaskan bahwa setiap senyawa aktif yang ada memiliki porsi masing-masing dalam memberikan peran di reseptor. Allah SWT berfirman dalam al-Qur'an surat al-Qomar ayat 49 yang berbunyi:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ (٤٩)

“Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran.” (QS. Al-Qomar 54: 49)

Pada ayat ini terdapat kata *بِقَدَرٍ* yang memiliki maksud menurut Shihab (2002) yaitu Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan ukurannya masing-masing tidak kurang maupun lebih. Berdasarkan hal tersebut dapat dipahami bahwa merupakan hal yang wajar jika suatu senyawa memiliki kemampuan yang berbeda-beda karena setiap senyawa aktif memiliki ukurannya sendiri dalam mempengaruhi kerja reseptor.

Tabel 4.2 Residu Asam Amino Reseptor yang Berinteraksi dengan Ligan

Ligan	Sumber	Ikatan hidrogen	Ikatan hidrofobik	ΔG (kkal/mol)
Asam Mefenamat	Asam Mefenamat	-	Leu-384, Gly-526, Met-522, Val-349, Tyr-385 , Ser-530 , Phe-381, Ala-527, Phe-209, Phe-205	-0,3
Atorvastatin	Atorvastatin	Asn-375	Phe-210, Phe-209, Phe-205, Leu-534, Ser-530 , Phe-381, Leu-384, Tyr-385 , Val-344, Val-349, Glu-526, Leu-352, Val-523, Ala-527, Tyr- 348	49,9
<i>Cinnamate</i>	Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>)	-	Phe-381, Tyr-385 , Phe-205, Leu- 352, Val-523	-6,2
<i>Cinnamic Acid</i>		-	Gly-526, Leu-352, Met-522, Val-523, Ala-527	-6
<i>Cinnamaldehyde</i>		Tyr-385	Ala-527, Gly S:526, Met-522, Leu-352, Val-523	-5,8
<i>Caffeic Acid</i>	Pepaya Gunung (<i>Carica Pubescens</i>)	Met-522	Leu-352, Trp-387	-5,8
<i>Ferulic Acid</i>		-	Val-523, Ser-530 , Val-349, Tyr-385	-3,8
<i>Catechin</i>	Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>)	-	Leu-352, Leu-534 Gly-533, Phe-209, Ser-530 , Trp-387, Tyr-385 , Gly-526	0,3
<i>Pelargonidine</i>	Pepaya Gunung (<i>Carica Pubescens</i>)	-	Leu- 534, Val-344, Leu-352, Met-522, Trp-387, Tyr-385 , Ser-530 , Phe-209	1,1
peonidin		-	Ala-527, Val-344, Leu-534, Val-523, Tyr-385 , Ser-530 , Met-522, Gly-526	1,3

Kaemferol	Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>) dan Pepaya Gunung (<i>Carica Pubescens</i>)	-	Leu-534, Ser-530 , Trp-387, Tyr-385	1,8
Myricetin	Pepaya Gunung (<i>Carica Pubescens</i>)	-	Phe-209, Ser-530 , Leu-534, Tyr-385 , Leu-352	4,3
Chlorogenic Acid		Tyr-348	Met-522, Leu-384, Gly-526, Phe-205, Leu-534, Val-344	4,7
Pseudocarpaine		-	Leu-534, Ser-530 , Leu-352, Trp-387, Phe-209, Phe-381, Phe-210, Tyr-385 , Gly-526, Leu-384, Met-522, Phe-518	5
isorhamnetin	Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>)	-	Met-522, Trp-387, Tyr-385 , Phe-209, Tyr-348, Ser-530 , Phe-205	9,8
Quercetin		Met-522	Ser-530 , Leu-352, Tyr-385 , Trp-387, Leu-534, Phe-209, Leu-384, Phe-381	16,7
Malvidin	Pepaya Gunung (<i>Carica Pubescens</i>)	Ala-527	Phe-205, Ser-530 , Leu-352, Leu-534, Trp-387, Phe-518, Phe-381, Gly-526, Phe-209, Tyr-385 , Leu-384	24
Rutin	Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>)	-	Met-522, Leu-352, Phe-518, Val-523, Leu-386, Tyr-385 , Phe-381, Ser-530 , Phe-205, Leu-534, Val-344, Phe-209, Ile-377	52,8
Carpaine	Pepaya Gunung (<i>Carica Pubescens</i>)	-	Phe-209, Phe-205, Leu-534, Ser-530 , Val-344, Phe-381, Tyr-385 , Leu-384, Tyr-348, Leu-352, Trp-387, Phe-518, Val-523, Met-522	108,4
Dehydrocarpaine I		-	Trp-387, Val-523, Tyr-385 , Met-522, Leu-384, Phe-381, Phe-209, Phe-210, Ile-377	135,7
Dehydrocarpaine II		Met-522	Trp-387, Tyr-385 , Leu-352, Tyr-348, Ser-530 , Gly-526, Phe-381, Phe-529, Ile-377, Ala-378, Phe-209	147,3

Keterangan: Warna merah = residu yang menempel pada sisi aktif enzim COX

4.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Batang Kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens*) terhadap Kadar MDA (Malondialdehida) Pembuluh Koroner (*Mus musculus*) Dislipidemia

Penelitian Pengukuran kadar MDA dilakukan pada pembuluh koroner mencit yang diperoleh dari 6 perlakuan dan 5 ulangan setelah 56 hari pemberian perlakuan. Pengukuran kadar MDA pembuluh koroner mencit dilakukan dengan diambil data dari hasil spektrofotometer yang dihitung kadar MDA-nya menggunakan kurva standar yang dibuat dengan mereaksikan TEP (Tetraetoksipropan) dalam berbagai konsentrasi dengan TBA 0,67%. Kadar MDA pembuluh koroner mencit hasil penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Pengukuran Kadar MDA pembuluh koroner mencit dan Standar Deviasi

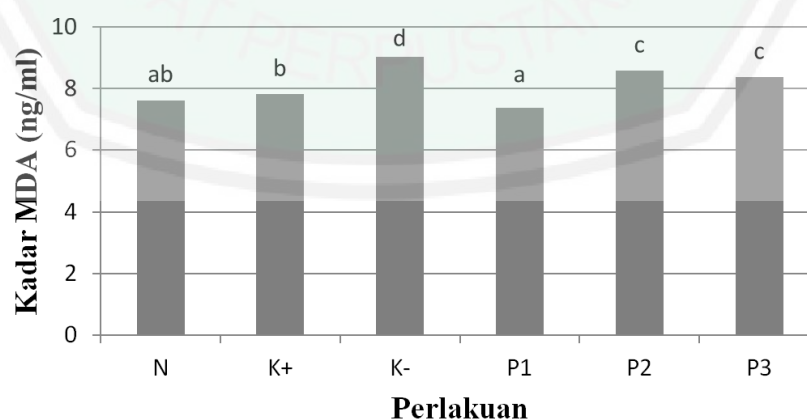
Perlakuan	Rata-rata $\pm$ Standar Deviasi
Normal (N)	7,62 $\pm$ 0,21 ^{ab}
HFD (K-)	9,04 $\pm$ 0,13 ^d
HFD + Atorvastatin (K+)	7,81 $\pm$ 0,14 ^b
HFD + ekstrak kayu manis (P1)	7,37 $\pm$ 0,11 ^a
HFD + ekstrak kayu manis & pepaya gunung (P2)	8,58 $\pm$ 0,33 ^c
HFD + ekstrak pepaya gunung (P3)	8,37 $\pm$ 0,35 ^c

Keterangan: notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan

Data yang didapatkan kemudian dianalisis statistik menggunakan SPSS 16.0 (Lampiran 4). Pengujian statistik pertama yang dilakukan adalah uji normalitas menggunakan Kolmogorov-Smirnov Test. Hasil uji normalitas menunjukkan nilai signifikan sebesar 0,435 ($p > 0.05$), sehingga dapat

dikatakan bahwa data terdistribusi normal. Setelah diketahui data terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji homogenitas pada Levene Test. Hasil uji homogenitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,097 ($p > 0.05$), sehingga dapat dikatakan bahwa data yang diperoleh bersifat homogen. Data yang telah normal dan homogen menurut Sudjana (2013) dapat dilanjutkan dengan uji One-Way ANOVA. Pada penelitian ini uji One-Way ANOVA dilakukan dengan taraf signifikansi 5%.

Hasil uji One-Way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,0 ($p < 0.05$), 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 dengan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang berpengaruh terhadap kadar MDA pembuluh koroner mencit.



Gambar 4.7 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 dan pepaya gunung, P3 = HFD + ekstrak pepaya gunung

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa pada perlakuan K- (pemberian HFD) telah terjadi kenaikan kadar MDA pembuluh koroner secara signifikan dibandingkan perlakuan N (normal) jika dilihat dari nilai notasinya (Gambar 4.7). 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 dapat memicu peningkatan kadar MDA pembuluh koroner mencit. Terjadinya peningkatan kadar MDA pembuluh koroner mencit dapat dikaitkan dengan adanya peningkatan jumlah LDL (*low-density lipoprotein*) akibat dari pemberian HFD. LDL menurut Sunarjo (2012) memiliki peran dalam pembentukan MDA. Peran LDL adalah apabila terdapat stres oksidasi yang tinggi dalam tubuh, LDL akan dapat teroksidasi dengan cara adanya reaksi bersama senyawa oksigen reaktif (SOR) membentuk hidroperoksida yang selanjutnya akan terbentuk MDA.

Pada hasil uji duncan seluruh perlakuan pemberian ekstrak (P1,P2, dan P3) menunjukkan bahwa adanya perbedaan secara signifikan terhadap perlakuan HFD (K-). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak dapat mengurangi peningkatan kadar MDA pembuluh koroner mencit. Jika dilihat dari nilai notasinya, maka perlakuan ekstrak yang paling baik adalah P1 (pemberian HFD + ekstrak kulit batang kayu manis) karena tidak berbeda secara signifikan dengan N (normal). Kemampuan kayu manis dalam mengurangi kadar MDA pembuluh koroner mencit sesungguhnya berkaitan dengan data *in silico*. Data tersebut menunjukkan bahwa terdapat dua senyawa

aktif dari kulit batang kayu manis yang memiliki nilai *binding affinity* lebih kecil dari asam mefenamat (Gambar 4.3), kemampuan absorbansi yang baik (Tabel 4.1), dan berpotensi aktif menghambat peroksidasi lipid secara eksperimen melalui uji PASS (Gambar 4.1), yaitu senyawa *cinnamate* dan *cinnamaldehyde*.

Mekanisme kerja senyawa *cinnamate* dan *cinnamaldehyde* dalam menurunkan kadar MDA pembuluh koroner mencit adalah dengan menghambat kerja enzim siklooksigenase. Enzim siklooksigenase menurut Ayala (2014) adalah enzim yang memiliki peran dalam terjadinya peroksidasi lipid enzimatis yang nantinya akan menghasilkan produk berupa MDA. Berkurangnya kerja enzim siklooksigenase menyebabkan berkurangnya jumlah PUFA yang direaksikan untuk membentuk PGG (Prostaglandin G) sehingga berkurangnya pembentukan PGH₂ (Prostaglandin H₂). Berkurangnya pembentukan PGH₂ tentunya akan mengurangi kadar MDA yang merupakan produk samping dan produk lainnya yang utama yaitu TXA₂ (tromboksan A₂) dan 12-l-*hydroxy-5,8,10-heptadecatrienoic acid* (HHT). Peroksidasi lipid yang terjadi terus menerus pada pembuluh koroner akan menjadi berbahaya karena menurut Sargowo (2015) dan Makheja (1990) TXA₂ (tromboksan A₂) dan 12-l-*hydroxy-5,8,10-heptadecatrienoic acid* (HHT) dapat menyebabkan agregasi platelet terus menerus dimana agregasi ini dapat menyebabkan infark miokardial.

Selain karena adanya kemampuan senyawa aktif kulit batang kayu manis dalam menghambat kerja enzim siklooksigenase, terdapat alasan lainnya yaitu pada kulit batang kayu manis terdapat senyawa aktif flavonoid seperti *myricetin*; polifenol seperti *catechin*, *quercetin*, *rutin*, kaempferol, dan isorhamnetin; serta alkaloid seperti *carpaine*, *pseudocarpaine*, *dehydrocarpaine* I dan II yang telah diketahui berperan sebagai antioksidan (Simanjuntak, 2012; Ridwan, Raden, dan Anggraini, 2012; Wedhasari, 2014). Senyawa antioksidan dapat berperan pada berkurangnya kadar MDA melalui tahap peroksidasi lipid non-enzimatis dengan cara mengubah radikal bebas yang ada dalam tubuh menjadi bentuk lain. Antioksidan ini termasuk dalam antioksidan sekunder yang dapat mengurangi radikal bebas dengan mereduksi kecepatan rantai inisiasi melalui berbagai mekanisme. Mekanisme tersebut diantaranya melalui pengikatan ion-ion logam, scavenger oksigen, dekomposisi hidroperoksida menjadi bentuk-bentuk non radikal, penyerapan radiasi sinar ultra violet atau deaktivasi singlet oksigen (Gordon, 1990).

Adanya kemampuan senyawa aktif kayu manis dan pepaya gunung dalam mengurangi kadar MDA pembuluh darah mencit dapat memberikan gambaran bahwa adanya kemampuan kayu manis dalam mengurangi keluhan penyakit yang berkaitan dengan adanya aktivitas peroksidasi lipid. Namun hal ini tidak serta merta melupakan adanya hal lain yang berperan dalam kesembuhan seseorang. Allah SWT berfirman dalam surat asy-Syuara' ayat 80 yang berbunyi:

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ (٨٠)

“*Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan aku.*”(QS. Asy-Syuara’ 26: 80)

Pada ayat ini menurut Shihab (2002) memiliki makna bahwa kesembuhan penyakit bersumber kepada Allah SWT. Sehingga Allah SWT yang berhak dalam memberikan kesembuhan kepada hamba-Nya dengan diiringi usaha. Usaha yang dilakukan dapat dengan mengamati pemanfaatan dari setiap ciptaan-Nya karena diantaranya terdapat ciptaan-Nya yang bisa digunakan sebagai obat. Salah satu contohnya adalah pemanfaatan kayu manis dan daun pepaya gunung yang dapat membantu dalam penyembuhan penyakit yang berkaitan dengan adanya peroksidasi lipid.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Ada senyawa aktif yang berpotensi menghambat aktivitas enzim siklooksigenase berdasarkan uji *in silico* yaitu *cinnamate*(*Cinnamomum burmannii*) dan *ferulic acid*(*Carica pubescens*) dilihat dari nilai *binding affinity*, HIA, Pa dan asam amino yang berikatan.
2. Ada pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang kayumanis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) terhadap kadar MDA pembuluh koroner mencit (*Mus musculus*) secara *in vivo*.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat diketahui beberapa saran yang bisa digunakan untuk penelitian selanjutnya, yaitu:

1. Perlu adanya penelitian secara *in vivo* untuk melihat pengaruh *cinnamate* dan *ferulic acid* terhadap kadar enzim siklooksigenase.
2. Perlu adanya penelitian dalam melihat hubungan antara kadar enzim siklooksigenase dengan kadar MDA.
3. Perlu adanya penelitian yang menunjukkan gambaran histologis pembuluh koroner setelah diberikan senyawa aktif *cinnamate* dan *ferulic acid*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam JMF. 2009. *Dislipidemia (Buku Ajar Penyakit Dalam, Edisi 4)*. Jakarta: Interna Publishing.
- Alladin, AA., Harrison, Melinda. 2012. Preeclamsia: Systemic Endothelial Damage Leading to Increased Activation of The Blood Coagulation Cascade. *Journal of Biotech Research*. vol. 4, pp. 26-43.
- Araujo, Rodrigo Santos Aquinode, Jose Maria Barbosa-Filho, Marcus Tullius Scotti, Luciana Scotti, Ryldene Marques Duarteda Cruz, Vivyannedos Santos Falcao-Silva, Jose Pintode Siqueira-Junior, and Francisco Jaime Bezerra Mendonca-Junior. 2016. Modulation of Drug Resistance in *Staphylococcus aureus* with Coumarin Derivatives. *Scientifica*. Vol. 16.
- Arora, A., M.G. Nair, and G.M. Strasburg. 1998. Structure – activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radic. Biol. & Med.* 24(9): 1355-1363.
- Arwansyah. 2014. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Tesis*. Sekolah Pascasarjana IPB Bogor.
- Ayala, Antonio., Mario F. Muñoz, dan Sandro Argüelles. 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Volume Article ID 360438, 31 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/360438>.
- Baker, W.L. Gutierrez-William, G. White, C.M. Kluger, J. Coleman, C.I. 2008. *Effect of cinnamon og glucose control and lipid parameters*. *Diabetes Care*. 31 (1): 41-43
- Benigni, Romualdo. 2003. *Quantitative Structure Activity Relationship*. New York: CRC Press.
- Chang, Raymond. 2006. *Kimia Dasar*. Jakarta: Erlangga.
- Chellilah, D. A. 2008. Biological Activity Prediction of an Ethno Medicinal Plant *Cinnamomum camphora* Through Bioinformatics. *Ethnobotanical Leaflets*. 12: 181-190
- Dasuki, Undang Ahmad. 1991. *Sistematik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati Institut Teknologi Bandung
- DeLano, W. L., dan Bromberg, S. 2004. *PyMolUser's Guide*. USE: DeLano Scientific LLC.

- Diah, K. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press
- Du, X., Li Y., Xia Y., Ai S.M. Liang J., dan Sang P. 2016. Insight Into Protein-Ligand Interaction: Mechanism, Models, And Method. *Int J Mol Sci*. 17(2): 144
- Dwiloka B. 2003. Efek Kolesterolemik berbagai Telur. *Media Gizi dan Keluarga*. Vol. 2. No. 27. Hal. 58-65.
- Efendi, Nur Rohman. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Karika (*Carica Pubescens* L.) Terhadap Aktivitas Lipid Peroxidation (LPO) Hepar Tikus Yang Diinduksi Parasetamol. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Fauzi, Reza. 2009. Efek Jus Buah Anggur Merah (*Vitis vinifera* Linn.) Terhadap Penghambatan Peningkatan Kadar Ldl Kolesterol Darah Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret
- Filimonov, D. A., A. A. Lagunin, T. A. Glorizova, A. V. Rudik, D. S. Druzhilovskii, P. V. Pogodin, and V. V. Poroikov. 2014. Prediction of The Biological Activity Spectra of Organic Compound Using The Pass Online Web Resource. *Russian Original*. Vol. 50. No. 3.
- Firdaus, 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.
- Fitria, R.I.N.K Retno Triandhini., Jubhar C Mangimbulude., dan Ferry F Karwur. 2013. Merokok dan Oksidasi DNA. *Sains Medika*. 5 (2):113-120.
- Fitriasari, Aditya, Natasya Kana Wijayanti, Nur Ismiyanti, Dyaningtyas Dewi, Wisnu Kundarto, BS Ari Sudarmanto dan Edy Meiyanto. 2008. Studi Potensi Kurkumin dan Analognya Sebagai *Selective Estrogen Receptor Modulators* (SERMS): *Docking* pada Estrogen β . *Pharmacon*. Vol. 9.No. 1.
- Fodor G. 2011. *Primary Prevention of CVD: Treating Dyslipidemia*. Clinical Evidence Handbook A Publication of BMJ Publishing Group., 83(10): 1.
- Fracon, N.R., Teofilo, M.J., Satin, B.R., Lamano, T. 2008. Prostaglandin and bone potential risk and benefit related to the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in clinical dentistry. *Journal Oral*. No. 50. Hal. 247-252.
- Francis, A. A., and G. N Pierce. 2011. An Integrated Approach for the Mechanisms Responsible for Atherosclerotic Plaque Regression. *Experimental and Clinical Cardiology*. Vol. 16. No. 3.

- Funkhouser, T. 2007. *Protein –Ligand Docking Methods*. Princeton, New Jersey, U.S.A: Princeton University.
- Gordon, M. H. 1990. *The Mechanism of Antioxidants Action In Vitro*. London: Elsevier Applied Sciences.
- Grundy, S. M. 2002. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment 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.
- Jauziyah, Ibnul Qayyim. 2008. *Praktek Kedokteran Nabi SAW*. Yogyakarta: Hikam Pustaka Abdollahi.
- 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.
- Kabel, Ahmed M. 2014. Free Radicals and Antioxidant: Role of Enzymes and Nutrition. *World Journal Nutrition and Health*. 2 (3):35-38.
- Kabo, Peter. 2008. *Mengungkap Pengobatan Penyakit Jantung Koroner*. Jakarta: Gramedia.
- Kandou, G. D. 2009. Kebiasaan Makan Makanan Etnik Minahasa di Provinsi Sulawesi Utara. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. Vol. 3. No. 2. Hal. 1-9.
- Khotimah, Khusnul. 2016. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Metabolit Sekunder Senyawa Karpain pada Ekstrak Metanol Daun *Carica pubescens* Lenne & K. Koch dengan LC/MS (Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Kusuma, Anjar Mahardian. 2016. Efek Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) Merr) dan Ubi Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol dan Trigliserida Darah Pada Tikus Jantan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. Vol. 06. No. 02.
- Kusumawati, Diah. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Laily, Ainun Nikmati, Suranto, dan Sugiyarto. 2012. Characterization of *Carica Pubescens* in Dieng Plateau, Central Java based on Morphological Characters, Antioxidant Capacity, and Protein Banding Pattern. *Bioscience*, 4 (1): 16-21

- Lee, N, Koo N, and Min DB. 2004. Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 3 (1):21-33.
- Lukacinova, J. Mojzis, R. Benacka, J. Keller, T. Maguth, P. Kurila, L. Vasko, O. Racz, Maguth, P. Kurila, L. Vasko, O. Racz, dan F. Nistiar. 2008. Preventive effects of flavonoids on alloxan-induced diabetes mellitus in rats. *Acta Veterno*. No. 77. Hal. 175-182.
- Lukita, Nadia. 2016. *Happy Healthy Food*. Jakarta: Gramedia
- Ma'rufi, Rian, Dan Linda Rosita. 2014. Hubungan Dislipidemia dan Kejadian Penyakit Jantung Koroner. *JKK*. Vol.6. No.1.
- Makheja A. N. dan J. M. Bailey. 1990. Antiplatelet constituents of garlic and onion. *Jurnal Springer Link*. Vol. 29. No. 3. Hal. 360-363
- Maragi, Ahmad Mustafa. 1992. *Tafsir Al Maragi*. Semarang: PT. Karya Toha Putra.
- Marwaha, A., Goel R.K., dan Mahajan M.P. 2007. PASS-predicted design, synthesis and biological evaluation of cyclic nitrones as nootropics. *Bioorg Med Chem Lett*. Vol. 17. Hal: 5251–5255.
- Megasari, Noor Lianti. 2010. Pengaruh Lama Stres dan Diet Atherogenik terhadap pembentukan Foam Cell Pada Arteri Koroner Jantung Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Sprague Dawley) Jantan. *Skripsi*. Universitas Islam negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mittal, A. 2010. The clinical implications of thyroid hormones and its association with lipid profile: A comparative study from Western Nepal. *Nepal Journal of Epidemiology*.
- Morris, G.M. 2009. AutoDock 4 and AutoDock Tools 4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *Journal of Computation Chemistry*. Vol. 30
- Mukesh, B., dan K. Rakesh. 2011. Molecular Docking: A Review. *International Journal Res Ayurv Pharm*. Vol. 2. No.2
- Musunuru, Kiran. 2010. Atherogenic Dyslipidemia: Cardiovascular Risk and Dietary Intervention. *Lipids*. Vol. 45. No. 10. Hal. 907-914.
- Nabet, F.B. 1996. Zat gizi antioksidan penangkal senyawa radikal pangan dalam sistem biologis. Di dalam Zakaria, F.R., R. Dewanti, dan S. Yasni (Ed..) : *Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan* : Reaksi Biomolekuler, Dampak terhadap Kesehatan dan Panangkalan. Kerjasama Pusat Studi Pangan dan Gizi IPB dengan Kedutaan Perancis, Jakarta.

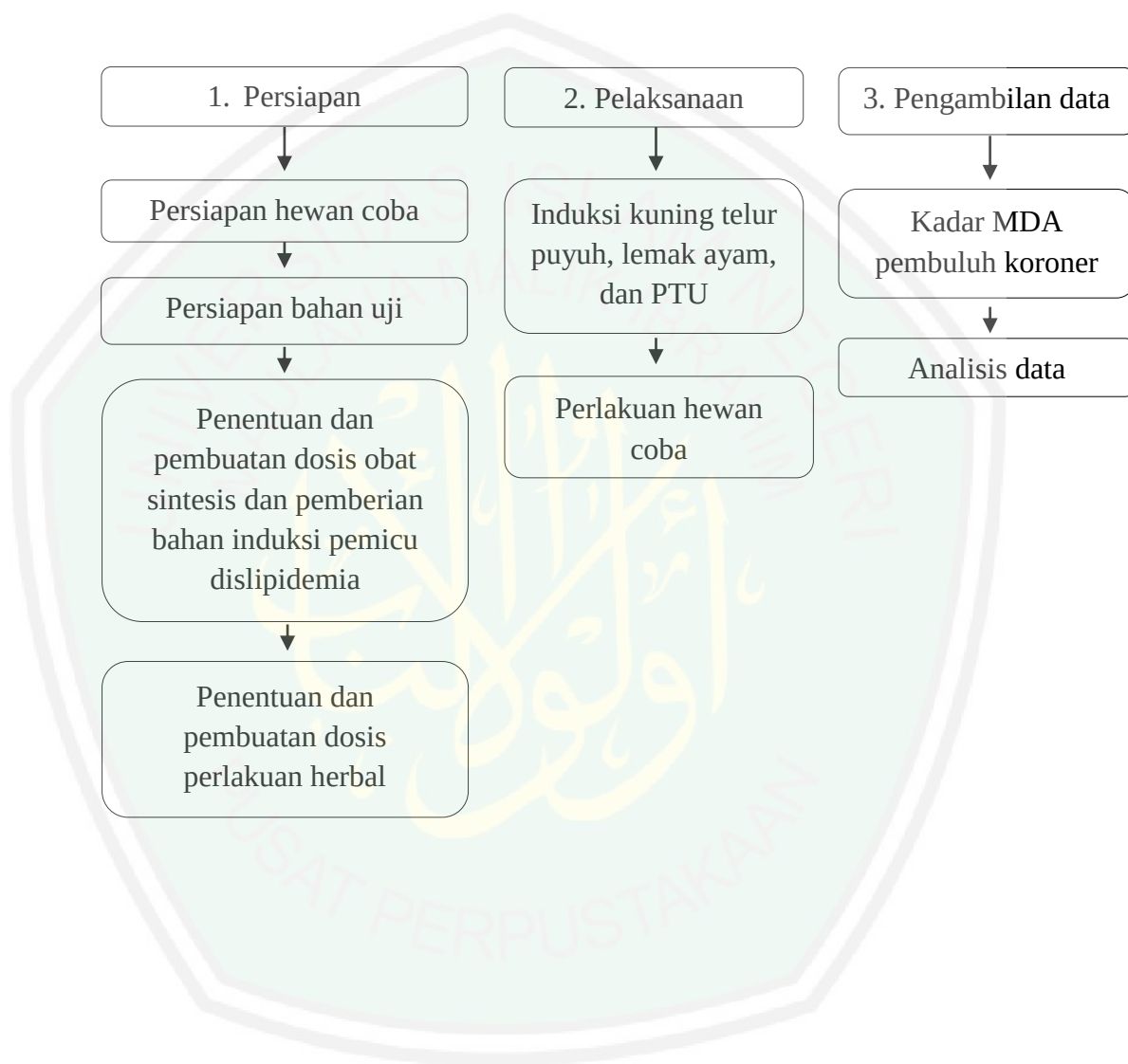
- Nerkar, A. G., Kudale, S. A., Joshi, P. P., Chikhale, H. U. 2012. In silico Screening, Synthesis and Pharmacological Evaluation of Novel Quinazolinones as NMDA Receptor Inhibitors for Anticonvulsant Activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutival Science*. Vol. 4 Issue 3.
- Nugrahaningtyas, Khoirina Dwi, Sabirin Matsjeh, Tutik Dwi Wahyuni. 2005. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.). *Biofarmasi*. Vol. 3. No. 1.
- Polii, Lendy S. F., Djon Wongkar, dan Sunny Wangko. 2016. Gambaran histologi aorta kelinci yang diinduksi dengan lemak babi dan diberi ekstrak beras hitam. *Jurnal e-Biomedik*. Vol. 4. No. 1. Hal. 1-4.
- Prasetya, Rendra Chriestedy. 2015. Ekspresi dan Peran Siklooksigenase-2 dalam Berbagai Penyakit di Rongga Mulut. *Stomatognatic (J. K. G Unej)*. Vol. 12. No. 1. Hal. 16-19.
- Pratama, Miftah Farid Yoga, Subhan Rosyad Abidi, Khisma Arum Firdaus, Alif Fitri Aulia dan Broto Santoso. 2016. Kajian Docking Molekular Pada Binding Site Pocket Dari Flavopiridol Dalam Menghambat Glikogen Fosforilase Menggunakan Pyrx-Autodock-Vina. *The 4th Univesity Research Coloquium*. Hal. 154-158.
- Purseglove, J.w., Brown, E.G., Green, C.L and Robbins, S.R.J., 1981. *Cinnamon and Cassia in Spices*. Volume 1 (439), pp. 100-173
- Putri, Latifa Octadiani, Diah hermayanti, dan Fathiyah S. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) Peroral Terhadap Perbaikan Profil Lipid Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Strain Winstar Dislipidemia. *Saintika Medika*. Vol. 9. No. 1. Hal. 25-32.
- Qarni, ‘Aidh. 2008. *At-Tafsuru Al-Muyasar Juz 1-8*. Jakarta: Qishi Press.
- Qurthubi, Imam. 2009. *Tafsir al-Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Rastini, Endah Kusuma, M. Aris Widodo, dan M. Saifur Rohman. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Aktivasi NF- κ B dan Ekspresi Protein (TNF- α , ICAM-1) pada Kultur Sel Endotel (HUVECs) Dipapar Ox-LDL. *J. Exp. Life Sci*. Vol. 1 No. 1. Hal.1-55.
- Ridwan, Ahmad, Raden Tanita Astrian, dan Anggraini Barlian. 2012. Pengukuran Efek Antidiabetes Polifenol (Polyphenon 60) Berdasarkan Kadar Glukosa Darah dan Histologi Pankreas Mencit (*Mus musculus*) S. W. Jantan yang Dikondisikan Diabetes Mellitus. *Jurnal Matematika & Sains*. Vol. 17. No. 2. Hal. 78-82.

- RISKESDAS. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Risyad, Atikah, Resi Levi Permadani, Siswarni MZ. 2016. Ekstraksi Minyak dari Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Menggunakan Pelarut N-Heptana. *Jurnal Teknik Kimia USU*. Vol. 5. No. 1.
- Rowlinson, S. W., Kiefer JR, Prusakiewicz JJ, Pawlitz JL, Kozak KR, Kalgutkar AS, Stallings WC, Kurumbail RG, Marnett LJ. 2003. A novel mechanism of cyclooxygenase-2 inhibition involving interactions with Ser-530 and Tyr-385. *J Biol Chem*. Vol. 14. No. 278.
- Sargowo, Djanggan. 2015. *Patogenesis Aterosklerosis*. Malang: UB Press
- Scalbert, A., Morand C., Monach C., & Remesy C. 2002. Absorption and metabolism of polyphenol in the gut and impact on health. *Biomed Pharmacother*. 56: 276-282.
- Schteingert, DE. 2006. *Gangguan kelenjar tiroid, Dalam: Patofisiologi Jilid II. Edisi ke-6*. Jakarta: EGC.
- Shiddieqy, Tengku Muhammad Hasbi. 2000. *Tafsir Al-Qur'anul Majid An-Nuur. Jilid 2*. Semarang: PT. Pustaka Rizki Putra.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Al-Lubab (Makna, Tujuan, dan Pembelajaran dari Surah-Surah Al-Qur'an)*. Tangerang: Lentera Hati.
- Simanjuntak, Kristina. 2012. Peran Antioksidan Flavonoid Dalam Meningkatkan Kesehatan. *Bina Widya*. Vol. 23 No. 3. Hal. 135-140.
- Sinzinger, H, dan Peskar B. A., 2009. *Statins: Indication and Uses, Safety, and Modes of Action*. New York: Nova Science Publisher.
- Suarsana, Eresdiyati, dan Suprayogi. 2013. Respon Stres Oksidatif dan Pemberian Isoflavon terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Peroksidasi Lipid pada Hati Tikus. *JITV*. Vol. 18 No 2: 146-152.
- Sudjana, M. A. 2013. *Metoda Statistika*. Bandung: Penerbit Tarsito
- Suharti, K. S. Elysabeth. 2007. *Farmakologi dan Terapi: Hormon Tiroid dan Antitiroid*. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI.
- Sumardjo, Damin. 2009. *Pengantar Kimia*. Jakarta: EGC.
- Sumbono, Agung. 2016. *Biokimia Pangan Dasar*. Yogyakarta: Deepublish.
- Sunarjo, Ineke. 2012. Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Menurunkan Kadar MDA Tikus Putih (Wistar) yang Dipapar Asap Rokok. *Tesis*. Universitas Udayana Denpasar.

- Sunarno, Sri Isdadiyanto. 2010. Profil Kadar Kolagen Kulit dan Tulang Tikus Wistar pada Berbagai Umur yang Mendapat Perlakuan Stres Oksidatif Hiperkolesterolemia dan Oleoresin Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum* sp). *Jurnal Bioma*. Vol. 12. No. 2
- Sunaryo, Hadi, Rizky Arcintha Rahmania, Dwitianti, dan Siska. 2015. Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Jahe Gajah (*Zingiber officinale* Rosc.) dan Zink Berdasarkan Pengukuran MDA, SOD dan Katalase pada Mencit Hiperkolesterolemia dan Hiperglikemia dengan Penginduksi Streptozototin. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 13, No. 2. Hal. 187-193.
- Syahputra, G., L. Ambarsari, T. Sumaryada. 2014. Simulasi *Docking* Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin dan Analoginya sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*. Vol. 10. No. 1.
- Tesseur, Ina and Bart De Strooper. 2013. When the dust settles: what did we learn from the bexarotene discussion? *Alzheimer's Research & Therapy*.
- Tiwari, Prashant Bimlesh Kumar dan Mandeep Kaur. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *International Pharmaceutica Scientia*. Vol. 1. No.1.
- USP. 2007. *The United States Pharmacopeial*, 30 Edition. USA: United States Pharmacopeial.
- Utami, Donna Fujie Rahaditha. 2010. Peroksidasi Lipid pada Tikus Hiperkolesterolemia selama Pemberian Ekstrak Kulit Batang Mahoni (*Swietenia Macrophylla*). *Tesis*. Institut Pertanian Bogor.
- Vanessa, Rebecca. 2014. *Pemanfaatan Minuman Serbuk Instan Kayu Manis (Cinnamomum burmannii Bi.) untuk Menurunkan Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. *Jurnal Biologi*. Hal. 1-14.
- Wahyuni, Sri. 2016. Analisis Keanekaragaman Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* Nees & T. Nees Blume.) Di Kabupaten Agam, Sumatera Barat Berdasarkan Karakter Morfologi. *Jurnal Riau Biologia*. Vol. 1. No. 2.
- Wardani, Elly, Hadi Sunaryo, Muhammad Zaki Sopiani, Mulki Fatahillah. 2015. Aktivitas Antihipertrigliserida Dan Antihiperglikemik Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lam.) Pada Tikus Hipertrigliserida Diabetes. *Media Farmasi*. Vol. 12. No. 2. Hal. 199-212.
- Werdhasari, Asri. 2014. Peran Antioksidan bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 3 (2):59-68.
- WHO. 2016. Cardiovascular disease(online). Tersedia: <http://www.who.int/cardio>.

- Wicaksono, D. & Idris R. 2013. Pengaruh ekstrak buah *Garcinia atrovirdis* terhadap kadar LDL pada darah tikus strain wistar yang diberi asupan lemak berlebih. *Naskah Publikasi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Wihastuti, Titin Andri, Sri Andarini, dan Teuku Heriansyah. 2016. *Patofisiologi Dasar Keperawatan Penyakit Jantung Koroner: Inflamasi Vaskular*. Malang: UB Press.
- Wilson, C. 2011. The Organization of the Gut and the Oral Absorption of Drugs: Anatomical, Biological and Physiological Consideration in Oral Formulation Development. *Controlled Release in Oral Drug Delivery*
- Winarsi, Heri. 2008. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Yanuar, Arry. 2012. *Penambatan Molekular: Praktek dan Aplikasi Virtual Screening*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Boolootion, R.A. 1991. *Zoologi*. Macmillan Publishing Co., Inc. New York. Collier Macmillan Publishers London.
- Yogiraj, V., Pradeep K.G., Chetan S.C., Anju G., Bhupendra V. 2015. *Carica papaya* Linn: an overview. *International Journal of Herbal Medicine*. 2(5): 01-08.
- Yosmar, Rahmi, Helmi Arifin, dan Risha Mustika. 2014. Pengaruh Ekstrak Etanol Rambut Jagung (*Zea mays* L.) terhadap Kadar Kolesterol Mencit Putih Jantan Hiperkolesterol. Prosiding Seminar Nasional dan Workshop "Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik IV". Hal. 96-104.
- Zhang, X., Jinhui S., Xiaopeng S., Shan M., Yan L., & Aidong W. 2013. Absorption and metabolism characteristic of rutin in caco-2 cells. *The Scientific World Journal*. Vol. 2013.

LAMPIRAN

Lampiran 1: Alur Penelitian *In Vivo*

Lampiran 2 : Penentuan dan Perhitungan Dosis

1) Dosis Bahan Induksi Pemicu Dislipidemia (HFD)

Komposisi bahan induksi untuk per ekor tikus

- a. 1,5 ml kuning telur puyuh
- b. 0,375 ml lemak ayam
- c. PTU 12,5 mg/ekor

Konversi dosis untuk mencit dari dosis untuk tikus

a) Kuning telur puyuh

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

b) Lemak ayam

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

c) PTU

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

Sehingga diperoleh dosis yaitu 0,26 ml kuning telur puyuh, 0,09 ml lemak ayam dan 1,095 mg PTU untuk satu ekor mencit. Volume ekstrak yang disondekan sebanyak 0,35 ml per mencit.

2) Dosis Treatment Kombinasi Ekstrak Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescen*)

a) Persiapan larutan CMC-Na 0,1%

$$\begin{aligned} \text{CMC-Na } 0,1\% \text{ yang dibutuhkan} &= 0,1/100 \times 3000 \text{ ml} \\ &= 0,3 \text{ g} \end{aligned}$$

0,3 g CMC-Na 0,1% kemudian di larutkan dalam 3000 ml akuades

b) Dosis perlakuan I

Dosis ekstrak kayu manis dari referensi yang digunakan adalah 300 mg/kgBB (200 gram BB tikus)

$$\begin{aligned}\text{Dosis untuk 1 ekor tikus} &= 200/1000 \times 300 \\ &= 60 \text{ mg / 200 gr BB tikus}\end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned}\text{Dosis untuk mencit 25 gr} &= 25/20 \times 8,4 \text{ mg} \\ &= 10,5 \text{ mg / 25 ekor mencit}\end{aligned}$$

Dosis ekstrak kayu manis: dosis ekstrak pepaya gunung= 1: 0

$$\begin{aligned}\text{Dosis ekstrak kayu manis} &= 1/1 \times 10,5 \text{ mg} \\ &= 10,5 \text{ mg/ 25 gr BB mencit}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Dosis ekstrak pepaya gunung} &= 0/1 \times 10,5 \text{ mg} \\ &= 0 \text{ mg/ 25 gr BB mencit}\end{aligned}$$

Perhitungan untuk membuat larutan stok perlakuan I:

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak kayu manis} &= 10,5 \times 1000 \\ &= 10.500 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{CMC-Na 0,1\% yang dibutuhkan} &= 0,35 \times 1000 \\ &= 350 \text{ ml}\end{aligned}$$

10.500 mg ekstrak kayu manis kemudian dilarutkan dalam 350 ml CMC-Na 0,1%.

c) Dosis perlakuan II

Dosis ekstrak kayu manis: dosis ekstrak pepaya gunung= 1: 1

$$\begin{aligned}\text{Dosis ekstrak kayu manis} &= \frac{1}{2} \times 10,5 \text{ mg} \\ &= 5,25 \text{ mg/ 25 gr BB mencit}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Dosis ekstrak pepaya gunung} &= \frac{1}{2} \times 10,5 \text{ mg} \\ &= 5,25 \text{ mg/ 25 gr BB mencit}\end{aligned}$$

Perhitungan untuk membuat larutan stok perlakuan I:

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak kayu manis} &= 5,25 \times 1000 \\ &= 5.250 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak pepaya gunung} &= 5,25 \times 1000 \\ &= 5.250 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{CMC-Na } 0,1\% \text{ yang dibutuhkan} &= 0,35 \times 1000 \\ &= 350 \text{ ml}\end{aligned}$$

5.250 mg ekstrak kayu manis dan 5.250 mg ekstrak pepaya gunung kemudian dilarutkan dalam 350 ml CMC-Na 0,1%.

d) Dosis perlakuan III

Dosis ekstrak kayu manis: dosis ekstrak pepaya gunung = 0: 1

$$\begin{aligned}\text{Dosis ekstrak kayu manis} &= 0/1 \times 10,5 \text{ mg} \\ &= 0 \text{ mg/ } 25 \text{ gr BB mencit}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Dosis ekstrak pepaya gunung} &= 1/1 \times 10,5 \text{ mg} \\ &= 10,5 \text{ mg/ } 25 \text{ gr BB mencit}\end{aligned}$$

Perhitungan untuk membuat larutan stok perlakuan I:

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak pepaya gunung} &= 10,5 \times 1000 \\ &= 10.500 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{CMC-Na } 0,1\% \text{ yang dibutuhkan} &= 0,35 \times 1000 \\ &= 350 \text{ ml}\end{aligned}$$

10.500 mg ekstrak pepaya gunung kemudian dilarutkan dalam 350 ml CMC-Na 0,1%.

3) Dosis Obat Kontrol Atorvastatin

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

$$\text{Berat tablet} = 30 \text{ mg}$$

1 tablet mengandung 20 mg atorvastatin

$$\begin{aligned}\text{Berat tablet pada } 1 \text{ mg atorvastatin} &= 30/20 \\ &= 1,5 \text{ mg tablet}\end{aligned}$$

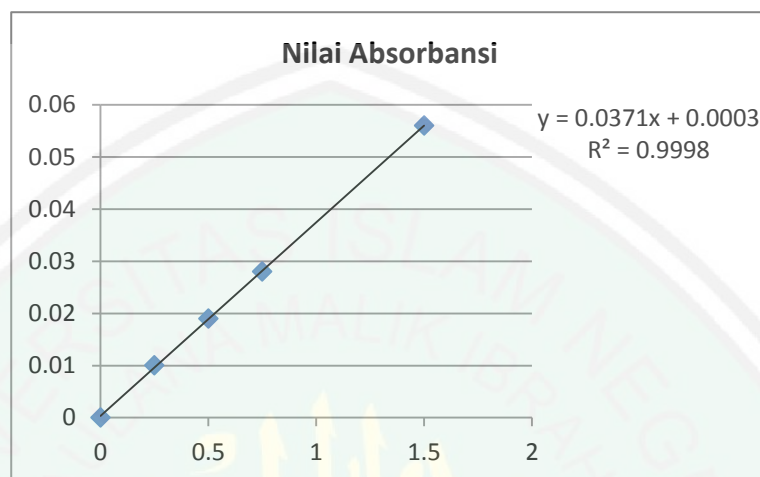
Perhitungan untuk membuat larutan stok atorvastatin:

$$\begin{aligned}\text{Atorvastatin} &= 0,065 \times 1000 \times 1,5 \text{ mg} \\ &= 97,5 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Akuades yang dibutuhkan} &= 0,35 \times 1000 \\ &= 350 \text{ ml}\end{aligned}$$

97,5 mg atorvastatin kemudian dilarutkan dalam 350 ml akuades.

Lampiran 3: Data Nilai Absorbansi Pembuluh Koroner dan Perhitungan kadar MDA dari kurva standar TEP



Gambar 5.1. Kurva standar yang dibuat dari reaksi berbagai konsentrasi TEP dengan TBA 0,067%

Diketahui:

Y = nilai absorbansi

Persamaan garis $\rightarrow Y = 0,0371 X + 0,00032$

$$X = (Y - 0,00032) / 0,0371$$

Tabel 5.1. Data Nilai Absorbansi Pembuluh Koroner (nilai Y)

	N	K+	K-	P1	P2	P3
U1	0,278	0,298	0,339	0,285	0,309	0,312
U2	0,27	0,292	0,334	0,288	0,339	0,302
U3	0,269	0,288	0,337	0,286	0,321	0,294
U4	0,274	0,285	0,328	0,287	0,313	0,319
U5	0,277	0,288	0,34	0,269	0,311	0,327

Ditanyakan = X = kadar MDA pembuluh koroner

Setelah dilakukan perhitungan dari persamaan garis dan nilai Y, maka dapat diketahui nilai X pada tabel 5.2.

Tabel 5.2. Data Hasil Kadar MDA Pembuluh Koroner (nilai X)

	N	K+	K-	P1	P2	P3
U1	7,673	8,024	9,129	7,485	8,320	8,401
U2	7,754	7,862	8,994	7,269	9,128	8,132
U3	7,7	7,754	9,075	7,242	8,644	7,916
U4	7,727	7,673	8,832	7,377	8,428	8,59
U5	7,242	7,754	9,156	7,458	8,374	8,805

Lampiran 4: Perhitungan Statistik Hasil Penelitian Kadar MDA dengan SPSS One Way Anova dan Uji Lanjut Duncan

1. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kadar_MDA
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	8.1306
	Std. Deviation	.62810
Most Extreme Differences	Absolute	.159
	Positive	.159
	Negative	-.092
Kolmogorov-Smirnov Z		.870
Asymp. Sig. (2-tailed)		.435

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

kadar_MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.128	5	24	.097

3. Uji One Way Anova

ANOVA

kadar_MDA

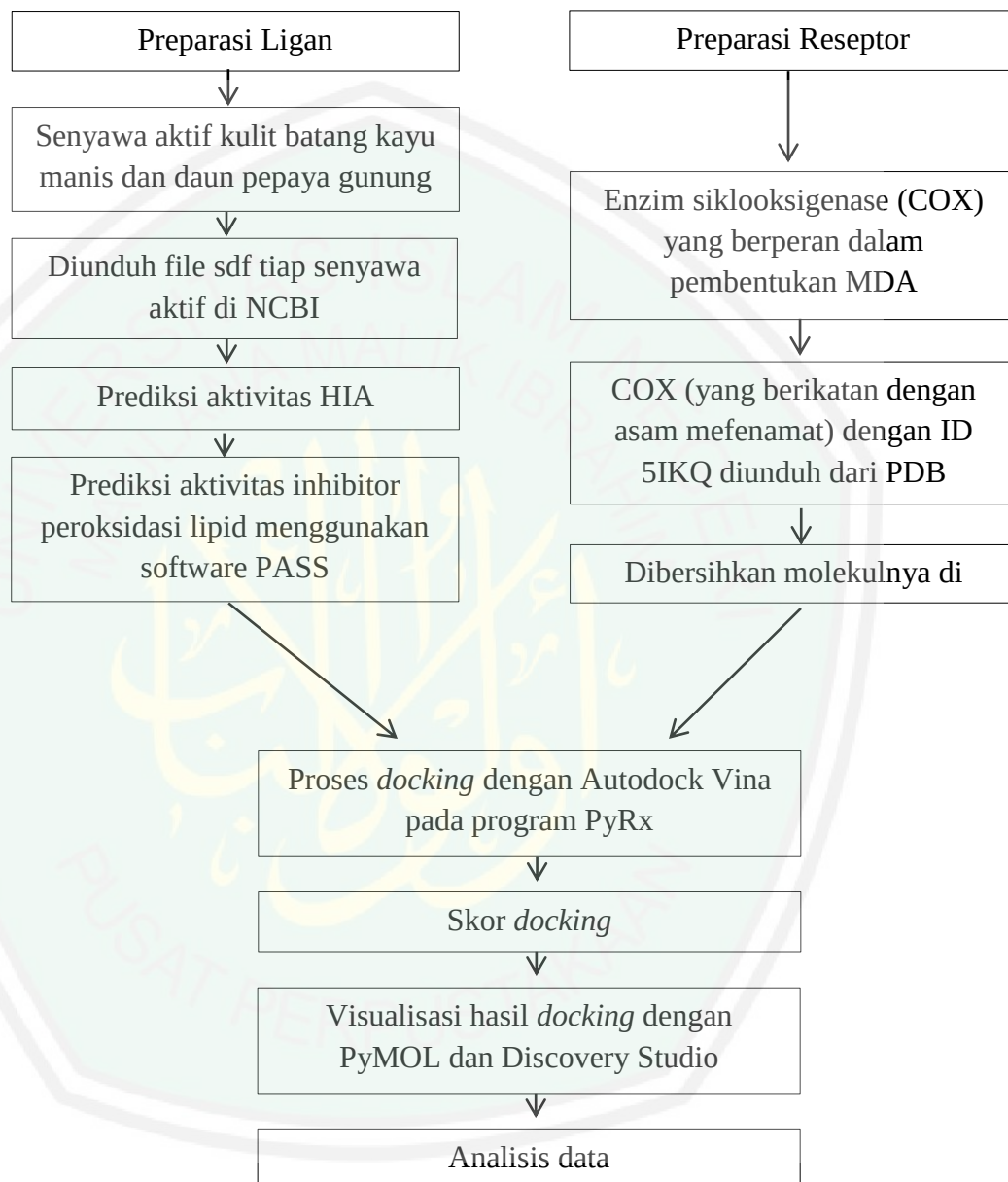
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.131	5	2.026	37.117	.000
Within Groups	1.310	24	.055		
Total	11.441	29			

4. Uji Lanjut *Duncan***kadar_MDA**Duncan^a

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
P1	5	7.3660			
N	5	7.6194	7.6194		
K+	5		7.8135		
P3	5			8.3687	
P2	5			8.5790	
K-	5				9.0372
Sig.		.099	.201	.168	1.000

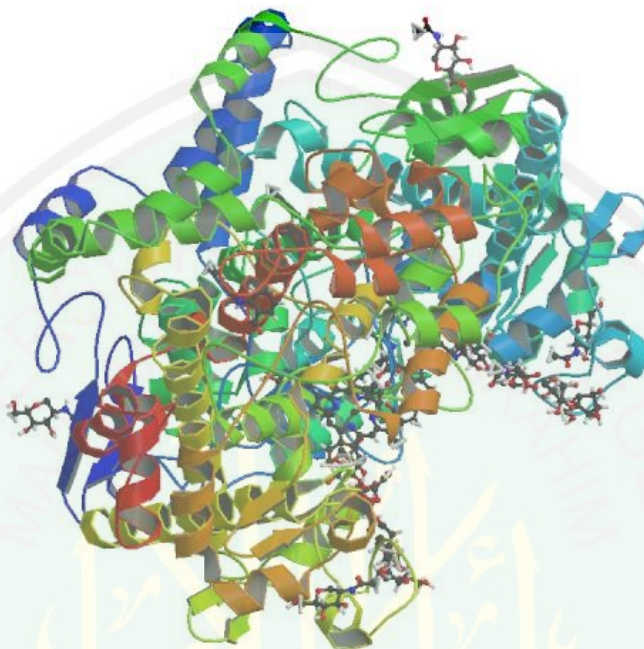
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 5 : Alur Penelitian *In Silico*

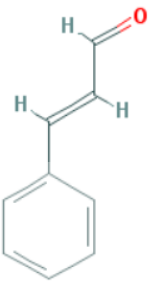
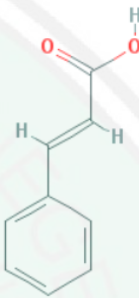
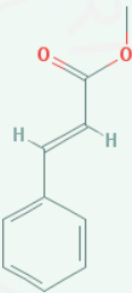
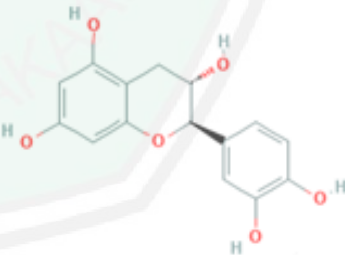
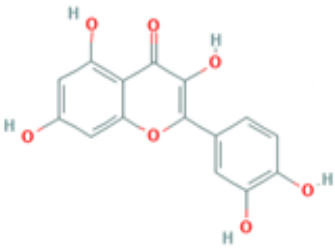
Lampiran 6: Gambar Ligan

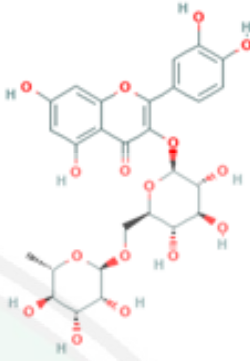
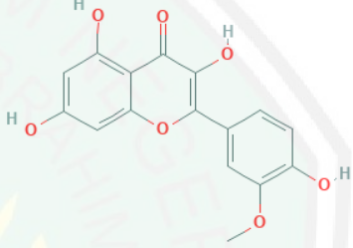
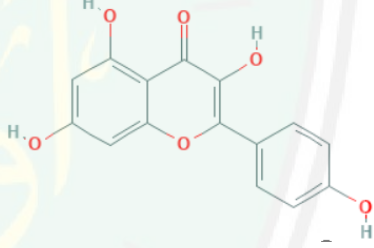
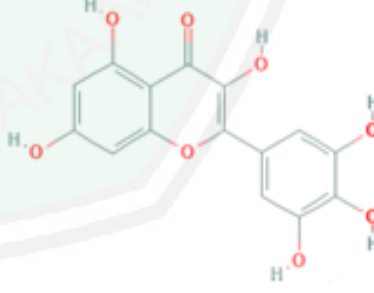
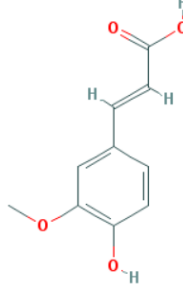
a. Reseptor Enzim Siklooksigenase ID: 5IKQ

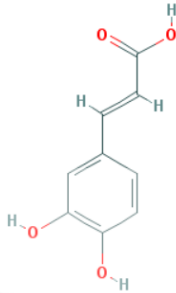
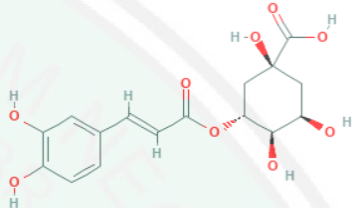
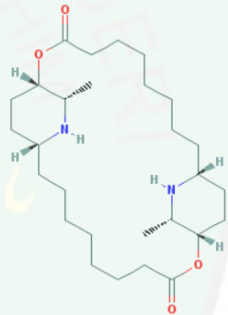
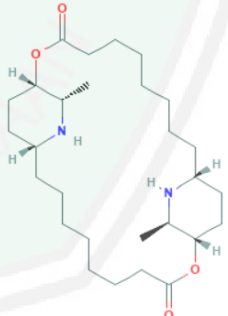
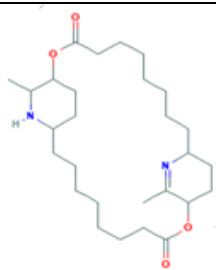


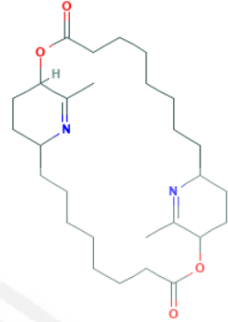
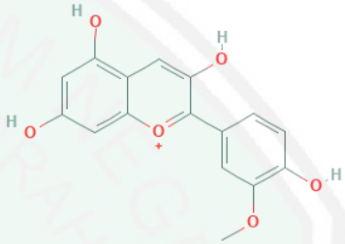
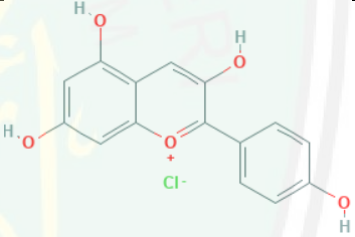
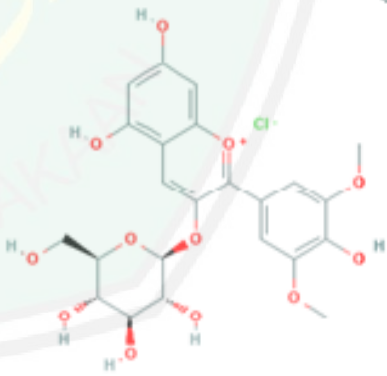
b. Ligan

Nama Senyawa	CID Senyawa	Struktur
Asam mefenamat	4044	
Atorvastatin	60823	

<i>Cinnamaldehyde</i>	637511	
<i>Cinnamic acid</i>	444539	
<i>Cinnamate</i>	637520	
<i>Catechin</i>	9064	
<i>Quercetin</i>	5280804	

Rutin	5280805	
Isorhamnetin	5487766	
Kaemferol	5280863	
Myricetin	5281672	
Ferulic Acid	445858	

<i>Caffeic Acid</i>	689043	
<i>Chlorogenic acid</i>	1794427	
<i>Carpaine</i>	442630	
<i>Pseudocarpaine</i>	12305270	
<i>Dehydrocarpaine I</i>	131750991	

<i>Dehydrocarpaine II</i>	131750991	
Peonidin	441773	
<i>Pelargonidine</i>	440832	
<i>Malvidine</i>	443652	

Lampiran 7: Langkah *In Silico*

A. Preparasi Ligan

1. Ligan yang terdapat dalam batang kulit kayu manis dan daun pepaya gunung diunduh dari (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

The screenshot shows the PubChem 'Compound Summary for CID: 5280805' for Rutin. It includes a search bar, a 'Download' button, and a 'Cite this Record' link. The main content area features a 'Rutin' title, a chemical structure icon, and a list of categories: STRUCTURE, VENDORS, PHARMACOLOGY, LITERATURE, PATENTS, and BIOACTIVITIES. Below this, the 'PubChem CID' is 5280805, and 'Chemical Names' include RUTIN, 153-18-4, Rutoside, Phytomelin, Quercetin 3-rutinoside, and Birutan. A '2 3D Conformer' section is visible, showing a 3D molecular model and a 'Download' button.

2. Ligan dalam bentuk 3D disimpan dalam format “.sdf”

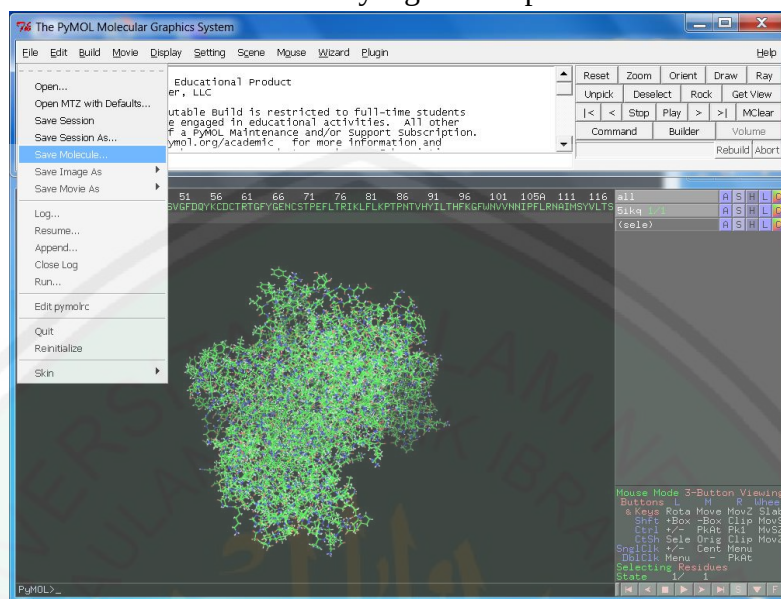
B. Preparasi Protein

1. Struktur 3D reseptor enzim siklooksigenase (COX) dengan ID 5IKQ diunduh dari Protein Data Bank (PDB) melalui <http://www.rcsb.org>

The screenshot shows the RCSB PDB 'Structure Summary' for 5IKQ. It includes a search bar, a 'Go' button, and a 'MyPDB' link. The main content area features a '5IKQ' title, a description 'The Structure of Meclofenamic Acid Bound', and a 'Download Files' button. The 'Macromolecule Content' section lists: Total Structure Weight: 131680.97, Atom Count: 9255, Residue Count: 1102, and Unique protein chains: 1. The 'Classification' is OXIDOREDUCTASE, 'Organism(s)' is Homo sapiens, and 'Expression System' is Spodoptera frugiperda.

Search "5IKQ"- Klik 'Download File'- Klik 'PDB Format'

2. Pembersihan molekul-molekul yang tidak diperlukan



Klik 'S'- Pilih sekuen- Klik kanan- Klik 'remove'- Pilih file- Pilih 'save molecule'

C. Preparasi Ligan

1. Uji HIA dilakukan dengan klik 'ADME' di Pre ADMET online melalui <http://preadmet.bmdrc.org/>.

2. Disalin MOL file ligan

```

O=C1C=CC(=O)N1
-OEChem-10011819493D

21 21 0 0 0 0 0 0 0999 V2000
3.3190 -1.7785 0.1936 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
4.0965 0.8849 0.0508 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
-4.5229 0.9658 0.3589 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
-4.0902 -1.1869 -0.2597 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0.0725 -0.1250 -0.1066 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
1.0350 -1.1270 0.0177 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0.4630 1.2122 -0.1779 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
2.3879 -0.7918 0.0705 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
2.7784 0.5453 -0.0005 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
1.8160 1.5473 -0.1248 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
1.3368 0.4746 0.1607 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

```

Pre ADMET

Home About ☑️ Druglikeness [Load ADME](#) ⚙️ Toxicity Community Commercial

The screenshot shows the Pre ADMET web application. At the top is a navigation bar with links: Home, About, Druglikeness, Load ADME (highlighted), Toxicity, Community, and Commercial. Below the navigation bar is a toolbar with various icons for file operations and drawing tools. The main area is divided into two panels. The left panel is a large empty space for drawing or viewing molecules. The right panel contains a 'Load Molecule' dialog box. This dialog box has a title bar with a close button. Inside, it instructs the user to copy and paste the contents of a MOLfile (.mol) or ChemDoodle JSON into the text area below and then press the 'Load' button. The text area contains the following text:

```
689043
-CBChem=10011819493D

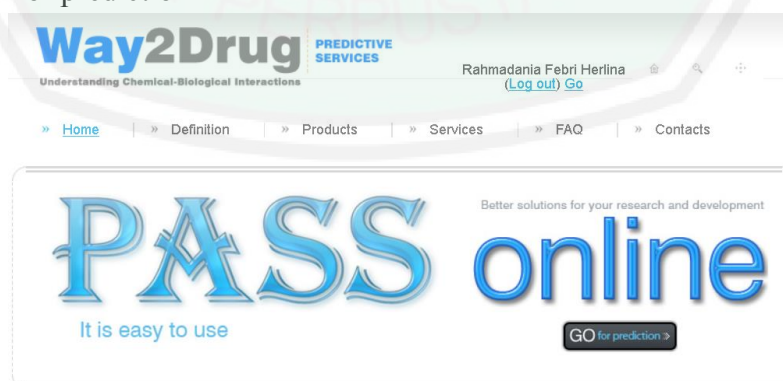
21 21 0      0 0 0 0 0 0 0999 v2000
3.3190 -1.7785 0.1936 O 0 0 0 0 0
0 0 0 0 0 0 0
4.0965 0.8849 0.0506 O 0 0 0 0 0
```

Below the text area, there is a link: "Where do I get MOLfiles or ChemDoodle JSON?". At the bottom right of the dialog box is a 'Load' button.

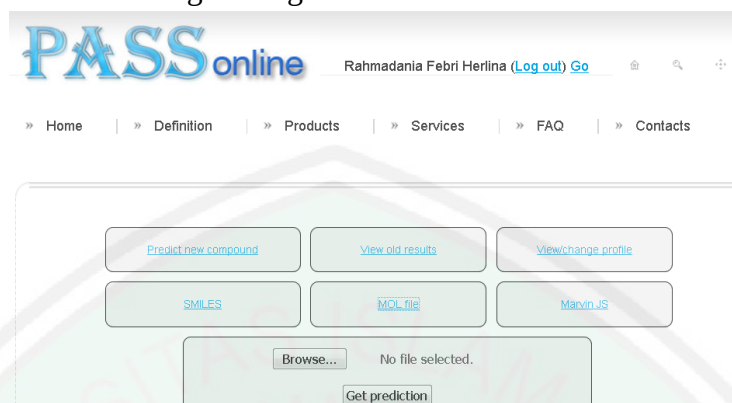
4. Hasil Prediksi HIA menggunakan software PreADMET

Pre ADMET		Home	About	☯ Druglikeness	<u>ADME</u>	☯ Toxicity	Community	Commercial
🟢	CYP_2C9_inhibition					Inhibitor		
🟢	CYP_2D6_inhibition					Non		
🟢	CYP_2D6_substrate					Non		
🟢	CYP_3A4_inhibition					Inhibitor		
🟢	CYP_3A4_substrate					Non		
🟢	HIA					82.301311		
🟢	MDCK					109.433		
🟢	Pgp_inhibition					Non		
🟢	Plasma_Protein_Binding					40.290625		
🟢	Pure_water_solubility_mg_l					4879.52		

1. Buka <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/index.php> dan klik 'GO for prediction'



2. Memasukkan ligan dengan format .mol



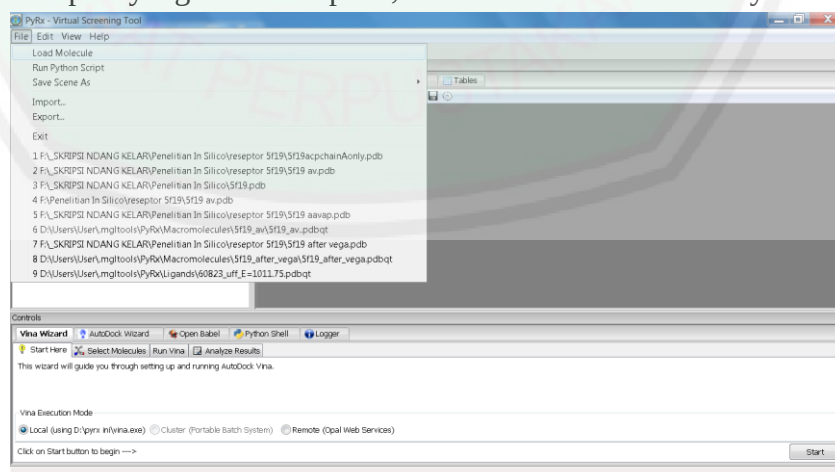
Klik 'Predict new compound'- Klik 'MOL file'- Klik 'Browse'-
Masukkan file ".mol"- Klik 'Get prediction'

3. Hasil prediksi aktivitas inhibisi peroksidasi lipid

0,397	0,002	Ligase inhibitor
0,397	0,016	Interleukin antagonist
0,383	0,002	CYP26A substrate
0,391	0,010	Gametolysin inhibitor
0,386	0,005	Riboflavin phosphotransferase inhibitor
0,385	0,004	Aspartate-ammonia ligase (ADP-forming) inhibitor
0,412	0,032	Lipid peroxidase inhibitor
0,394	0,013	Lactose synthase inhibitor
0,391	0,012	1,4-Alpha-glucan branching enzyme inhibitor
0,425	0,045	Membrane permeability enhancer

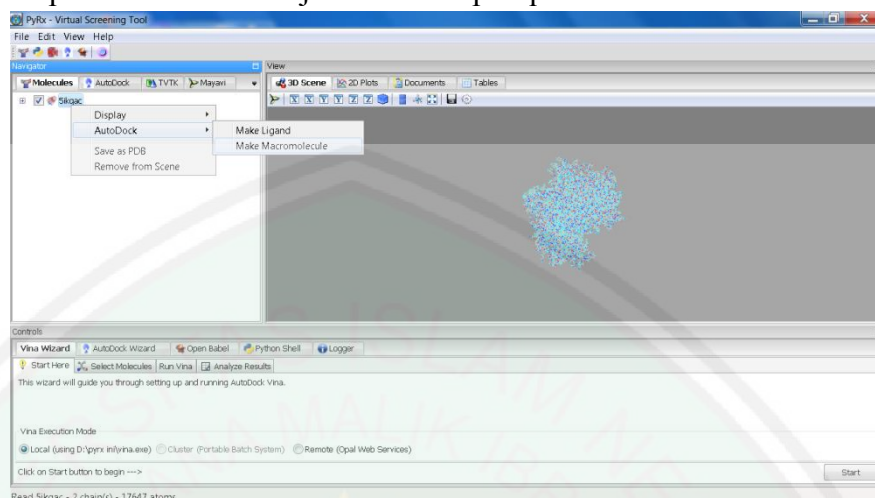
E. Penambatan Molekul (*Molecular Docking*)

1. Reseptor yang telah disiapkan, dimasukkan ke Software Pyrx



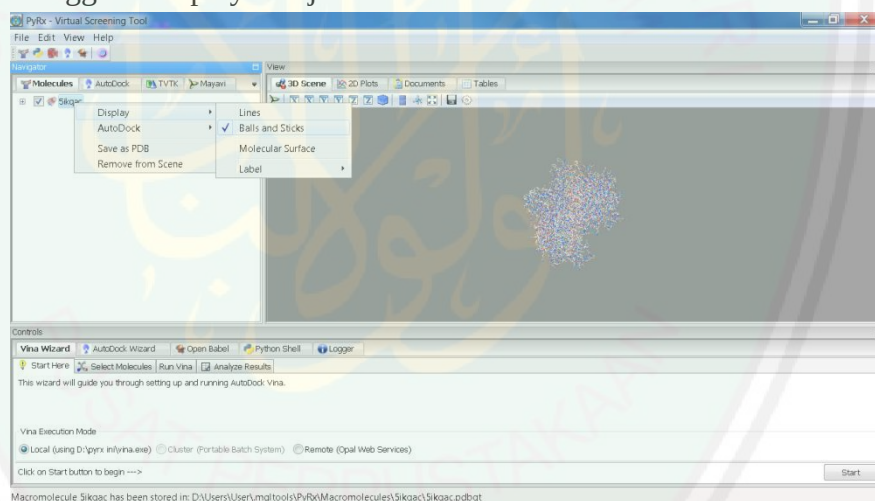
Buka software Pyrx- klik 'File'- klik 'Load molecule'

2. Preparasi molekul menjadi format “.pdbqt”



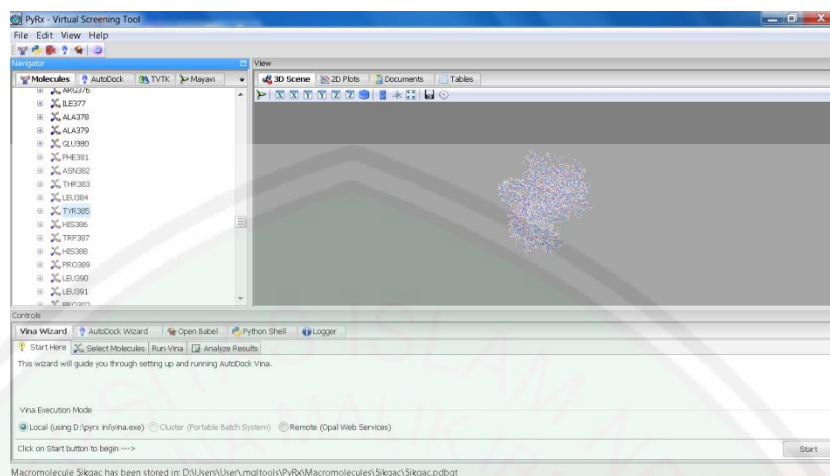
Klik 'File'- Klik 'Autodock'- Klik 'Make macromolecule'

3. Mengganti display menjadi "Balls and Sticks"



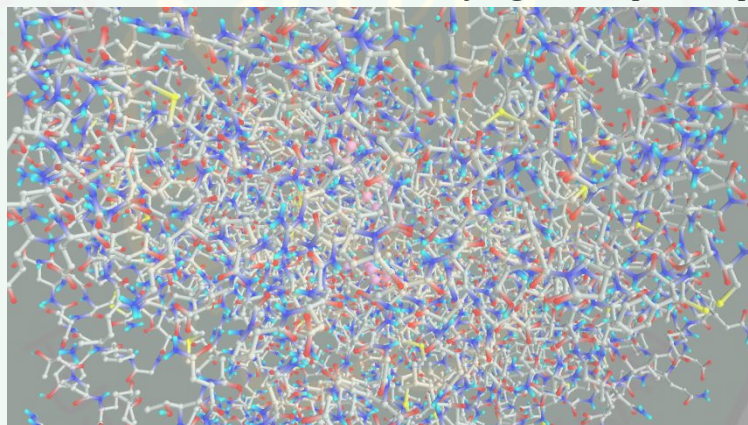
Klik kanan pada molekul- Klik 'Display'- klik 'Balls and Sticks'

4. Memunculkan asam amino TYR385 dan SER530

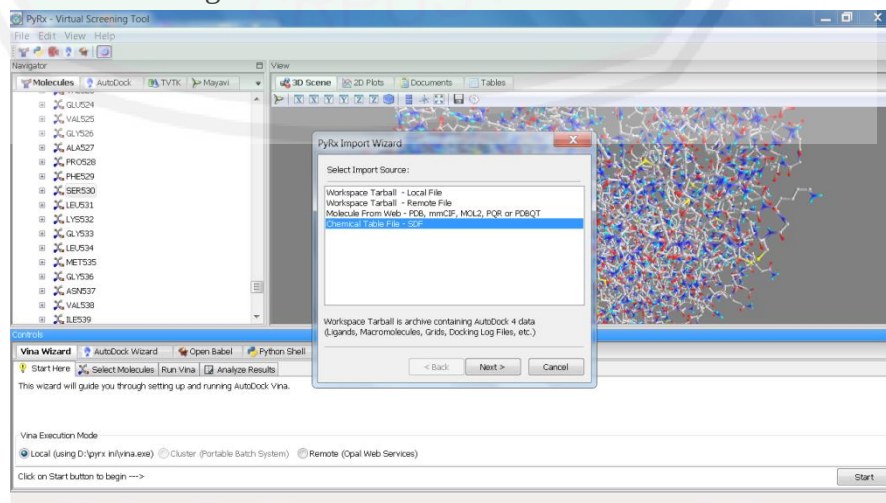


Klik “TYR385”- Klik ‘Toggle selection spheres’

5. Asam amino TYR385 dan SER530 yang terlihat pada display

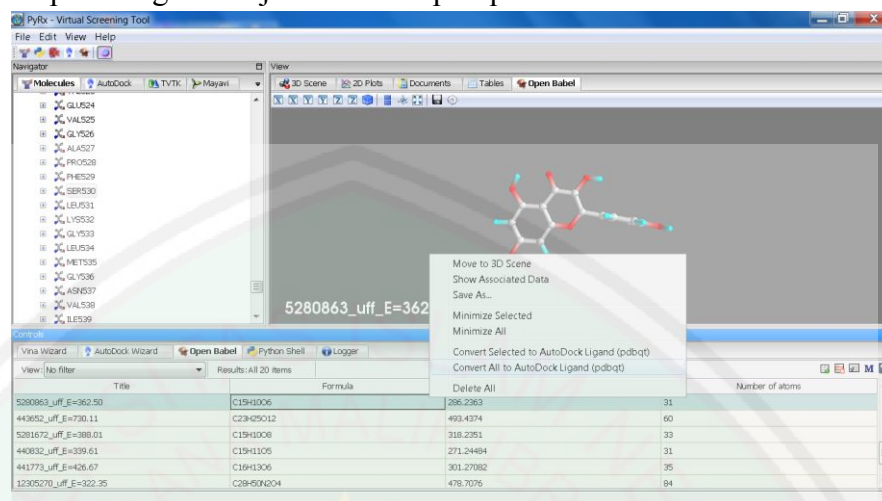


6. Memasukkan ligan



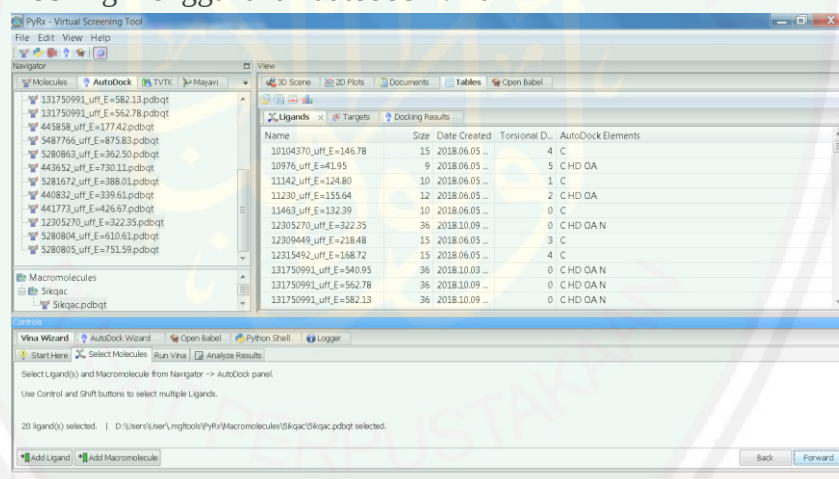
File- Import- Chemical table SDF- Open

7. Preparasi ligan menjadi format “.pdbqt”



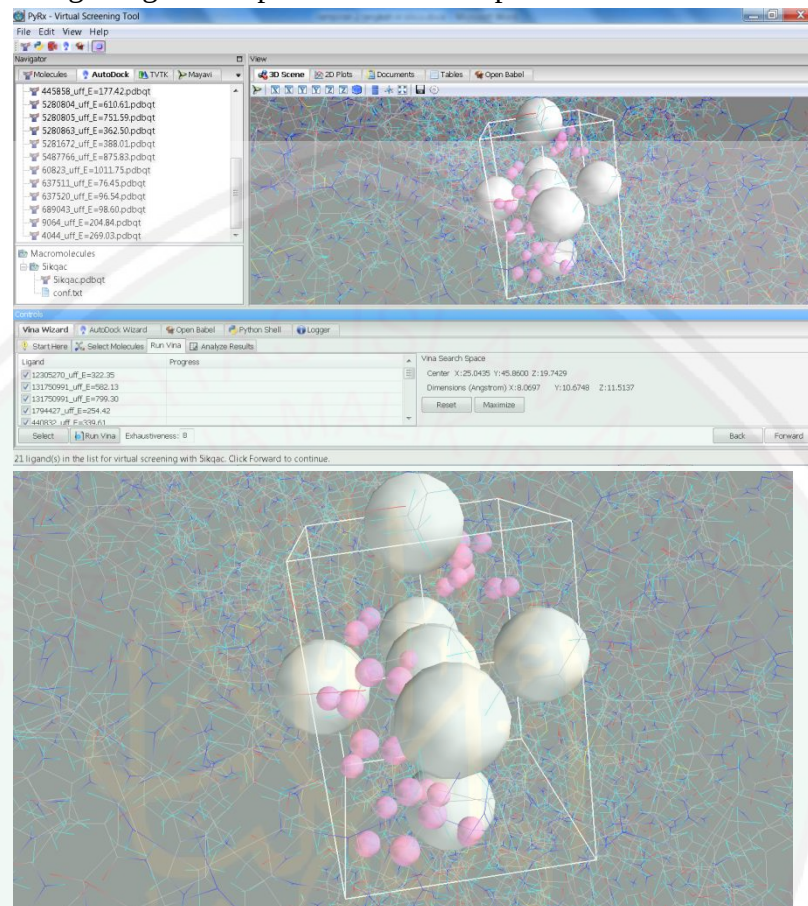
Klik kanan nama ligan pada open bable- klik ‘Minimize all’- Klik kanan nama ligan- klik ‘Convert all to pdbqt’

8. Docking menggunakan autodock vina



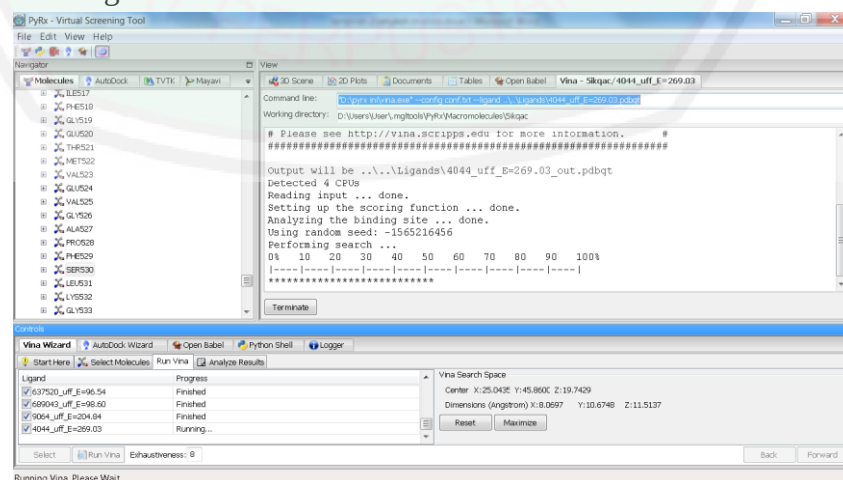
Klik ‘Vina wizard’- klik ‘Start’- Pilih molekul dan ligan yang akan di docking- klik ‘forward’

9. Mengatur grid box pada sisi aktif reseptor

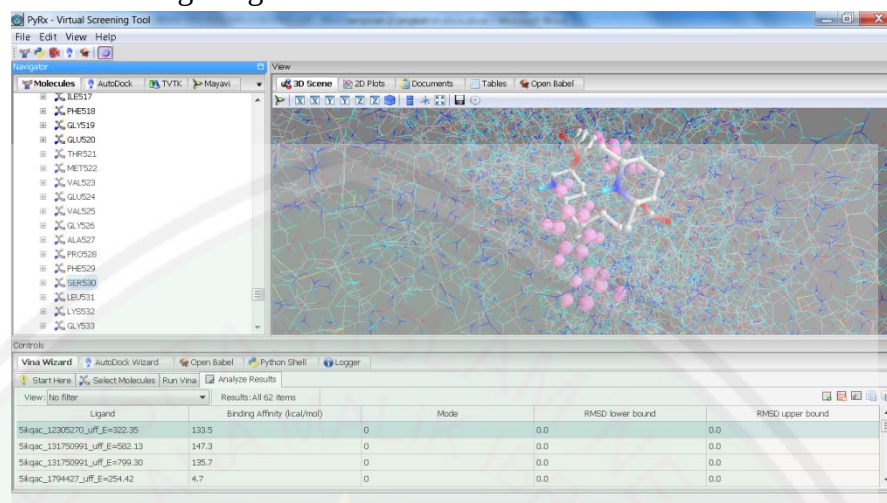


Diletakkan grid box pada asam amino TYR380 dan SER530

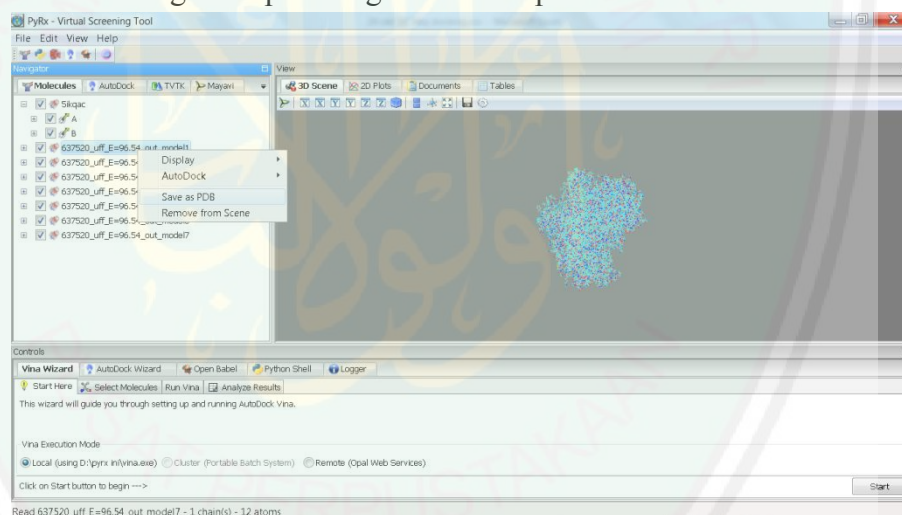
10. Running autodock vina



11. Hasil Docking dengan autodock vina

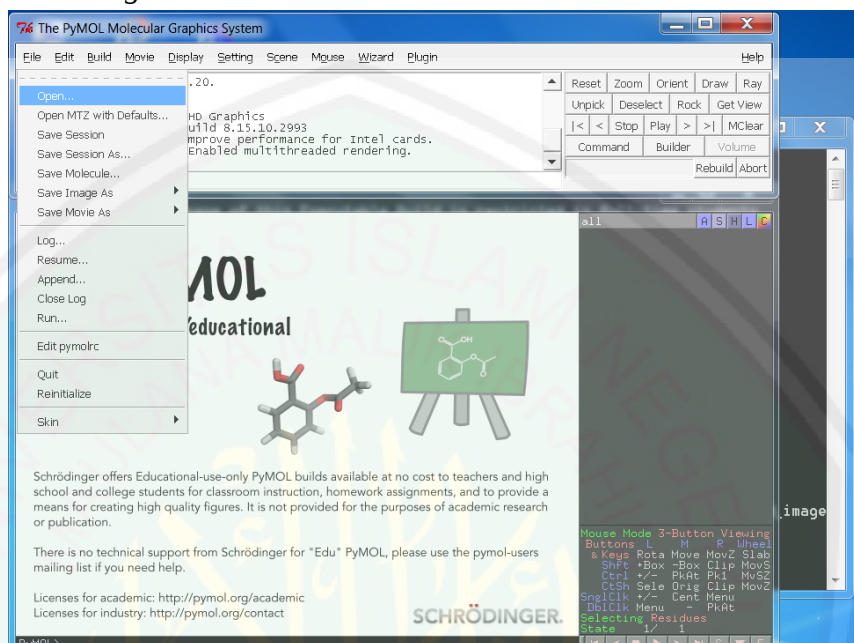


12. Hasil docking disimpan dengan format “.pdb”



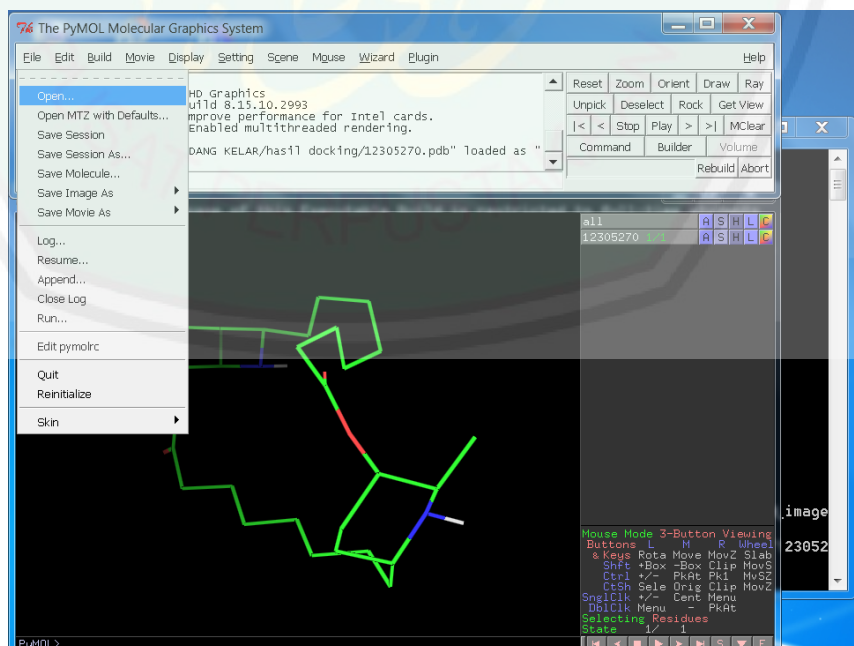
F. Visualisasi dengan PyMOL dan Discovery Studio

1. Buka PyMOL dan masukkan file salah satu senyawa yang telah di-docking



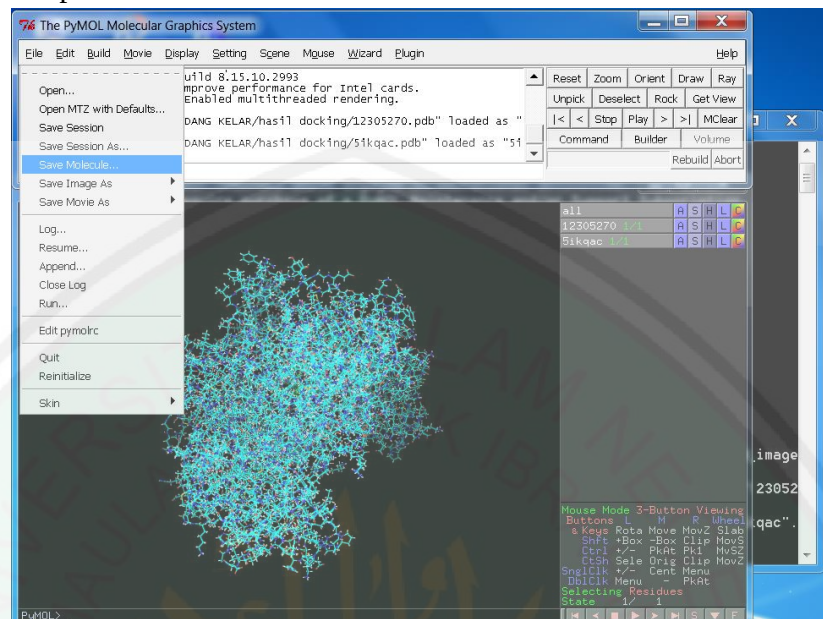
Klik 'file' - klik 'open' - masukkan file ".pdb"

2. Masukkan file reseptor yang telah dibersihkan setelah diunduh dari PDB



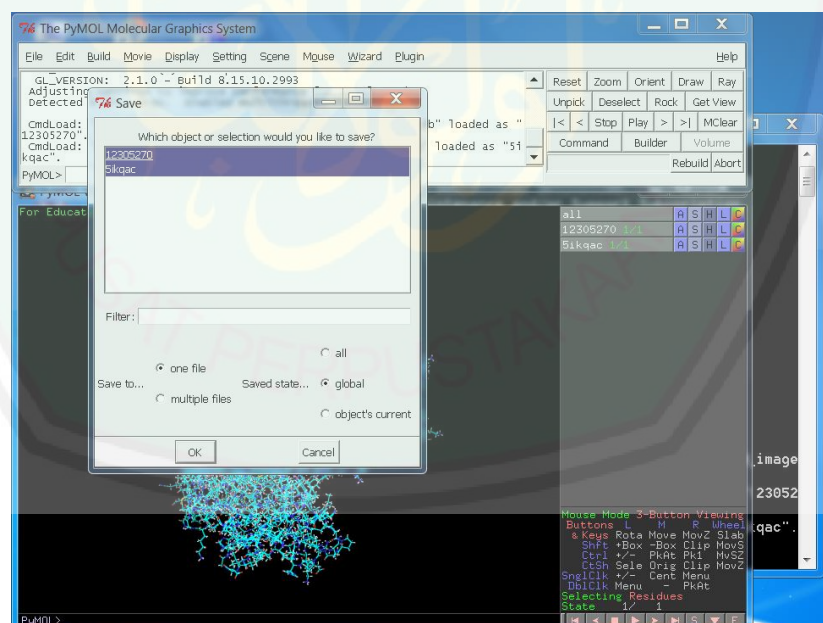
Klik 'file' - klik 'open' - masukkan file ".pdb"

3. Simpan file

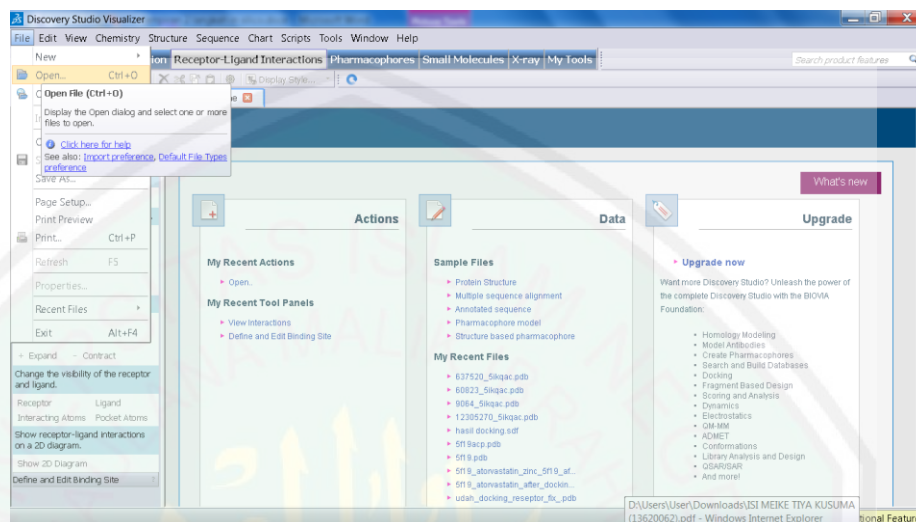


Klik 'file'- klik 'save molecule'

4. Blok kedua nama file sebelum klik 'ok'

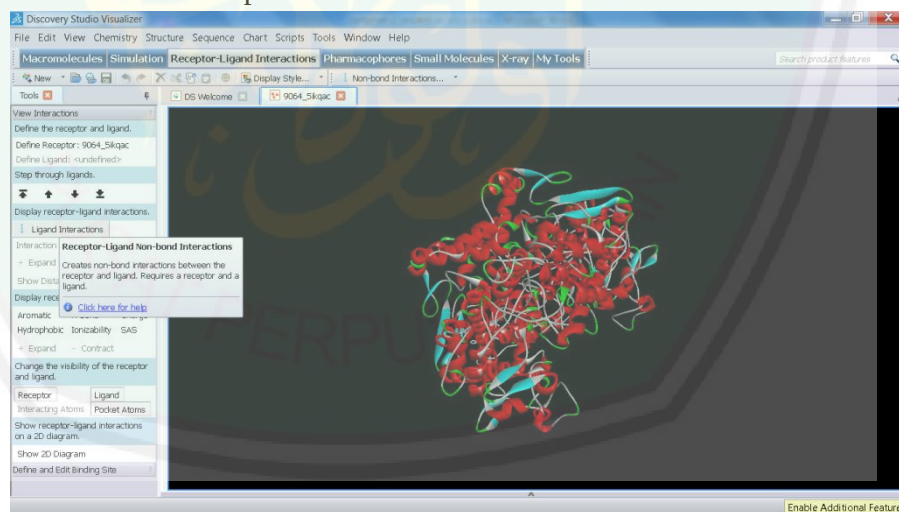


5. Buka Discovery Studio dan masukkan file yang barusan disimpan dari PyMOL

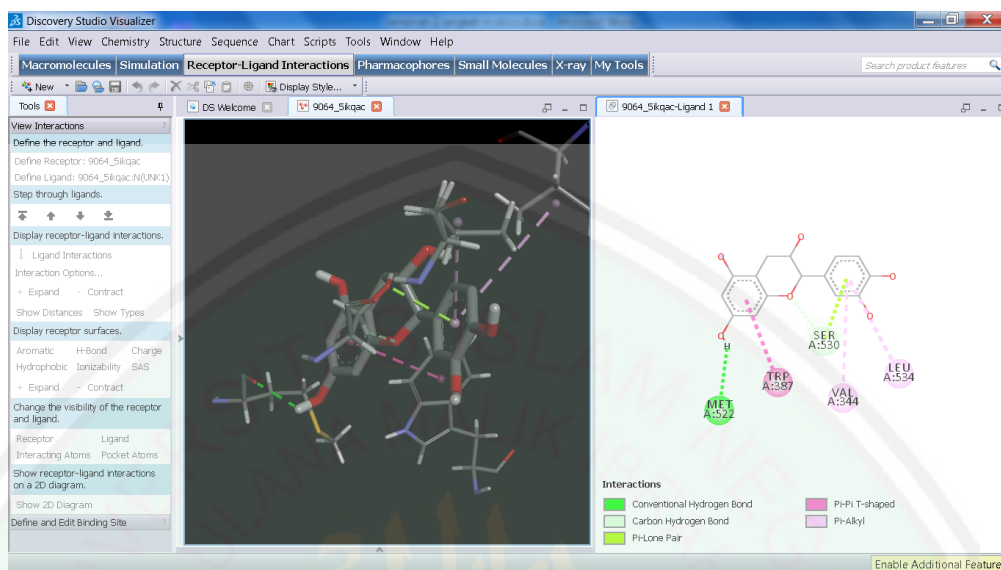


Klik 'file'- klik 'open'- masukkan file ".pdb"

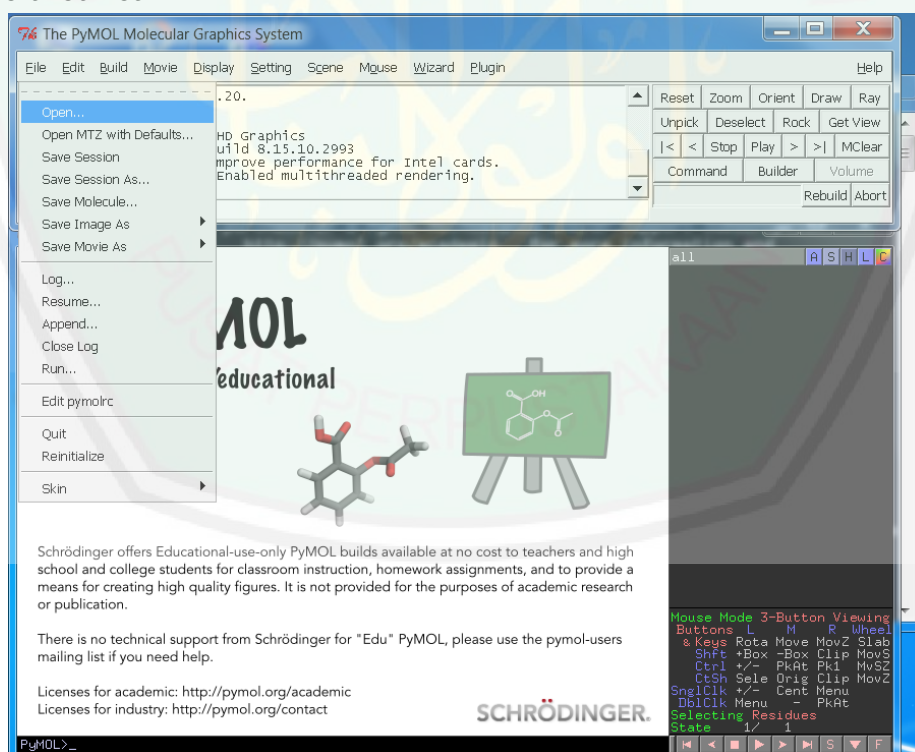
6. Klik 'ligan interaction' dan 'show 2D diagram' untuk memunculkan tampilan visualisasi 2D



7. Hasil visualisasi 2D

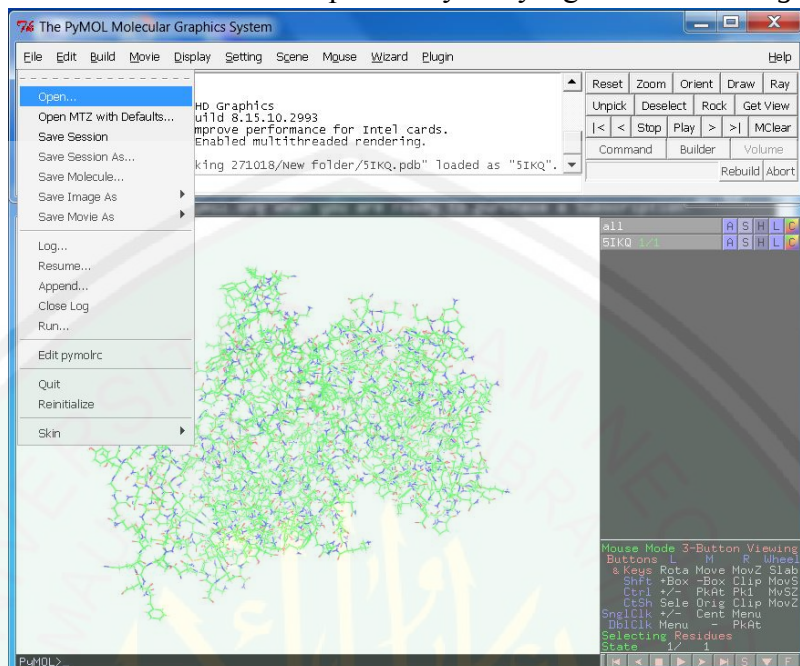


8. Buka PyMOL dan masukkan file reseptor yang telah dibersihkan setelah diunduh dari PDB



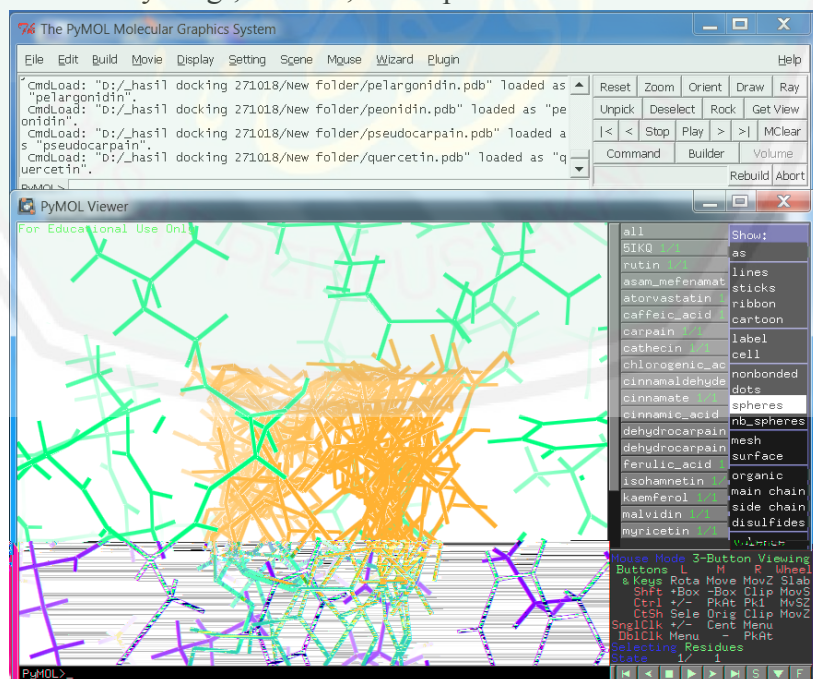
Klik 'file'- klik 'open'- masukkan file “.pdb”

9. Masukkan seluruh file “.pdb” senyawa yang telah di-docking

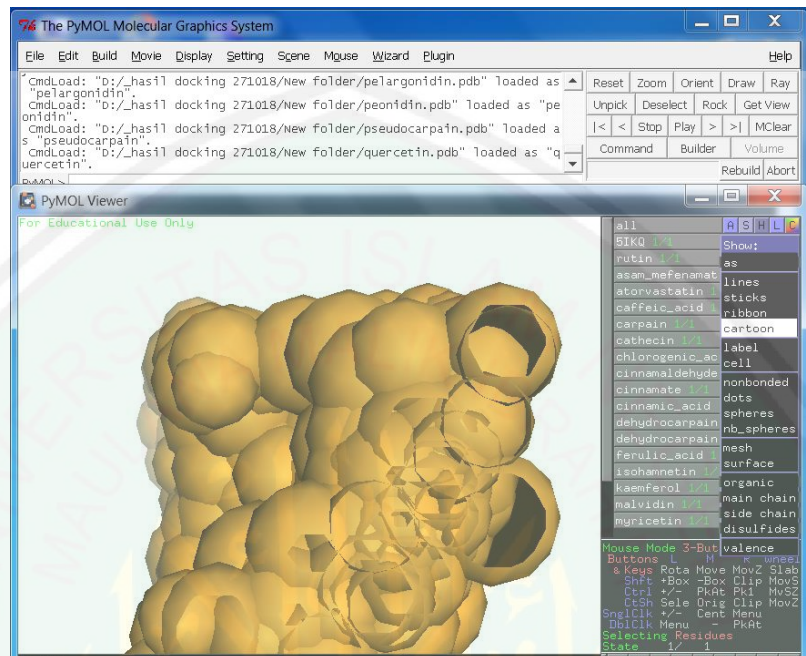


Klik 'file' - klik 'open' - masukkan file “.pdb”

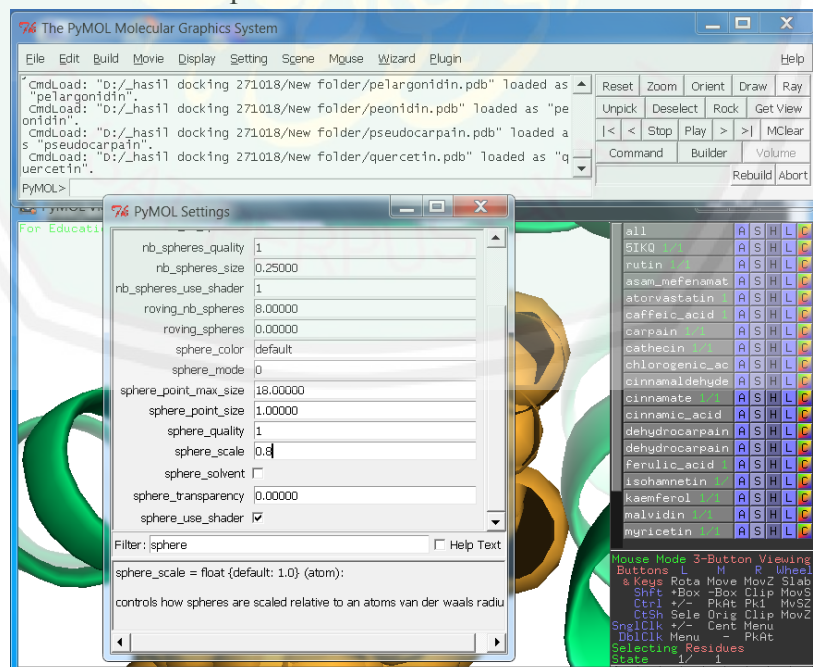
10. Klik 'H' pada file salah satu senyawa yang telah di-docking, klik 'everything', klik 'S', klik 'sphere'



11. Klik 'H' pada reseptor yaitu "SIKQ", klik 'everything', Klik 'S', dan klik 'cartoon'

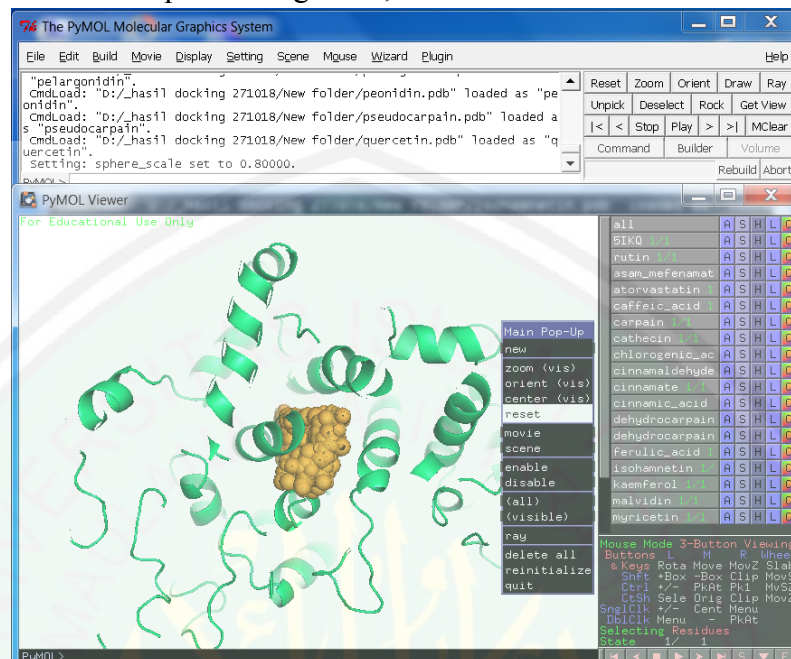


12. Merubah skala "sphere"

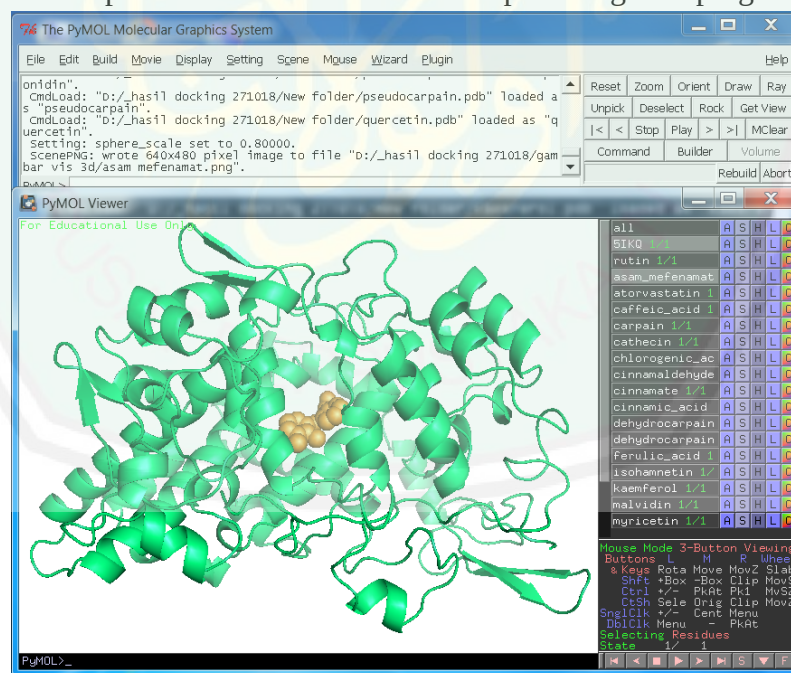


- Klik 'setting'- klik 'edit all'- masukkan "sphere" pada filter- ubah skala di "sphere_scale"

13. Klik kanan pada background, klik 'reset'

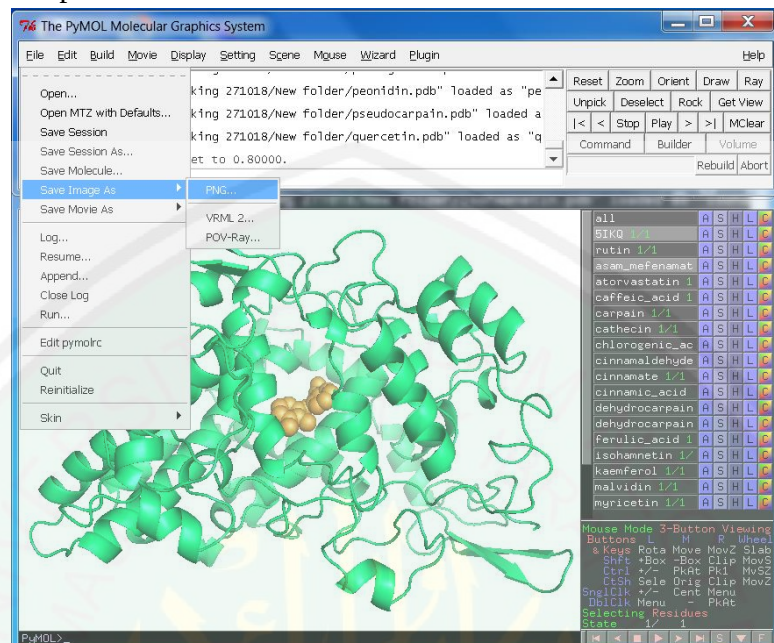


14. Menampilkan visualisasi interaksi reseptor dengan tiap ligan



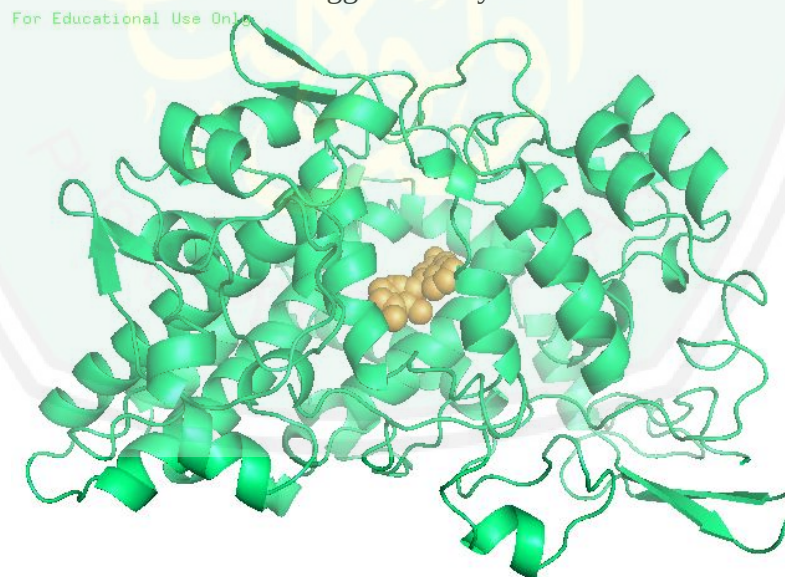
Klik "5ikqac" (reseptor)- klik "asam mefenamat" (ligan)

15. Simpan hasil visualisasi 3D

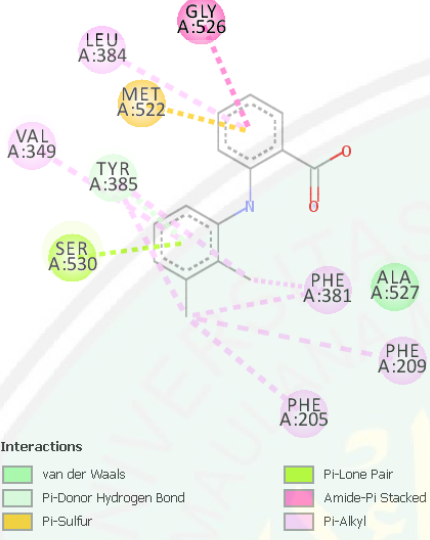
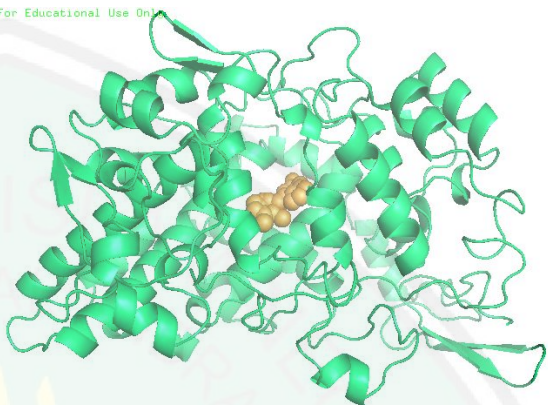
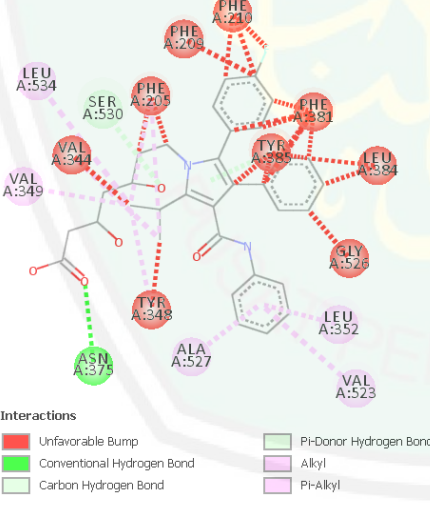
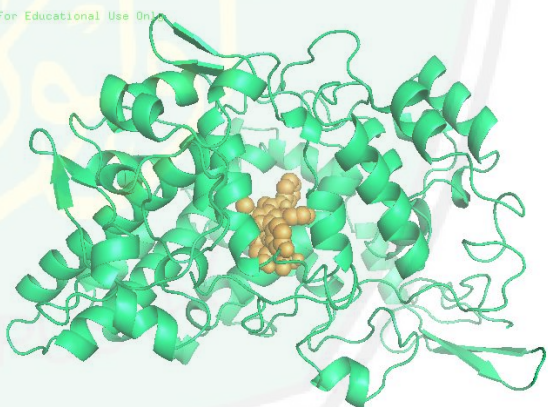


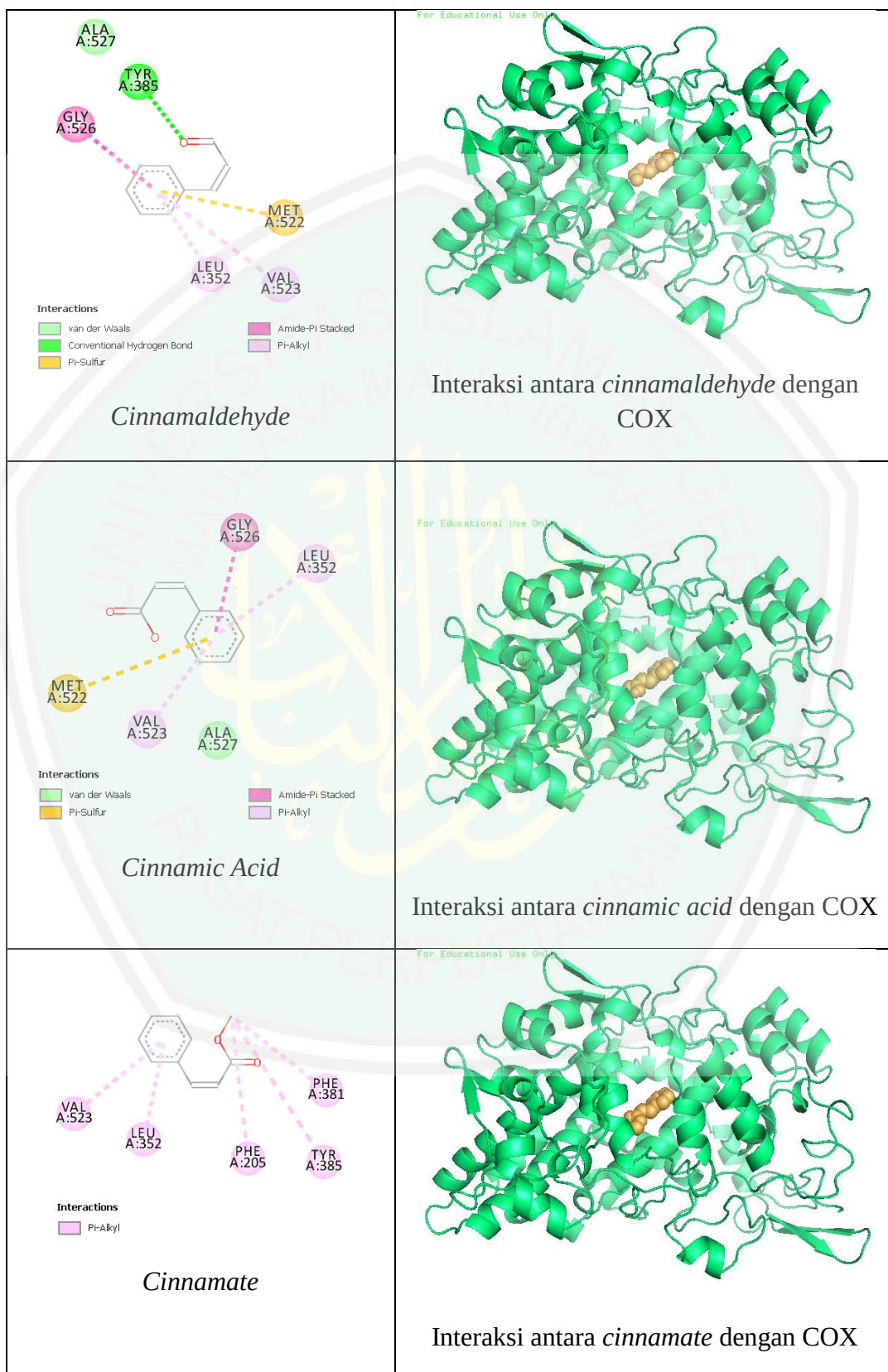
Klik 'file'- klik 'save image'- klik 'PNG'

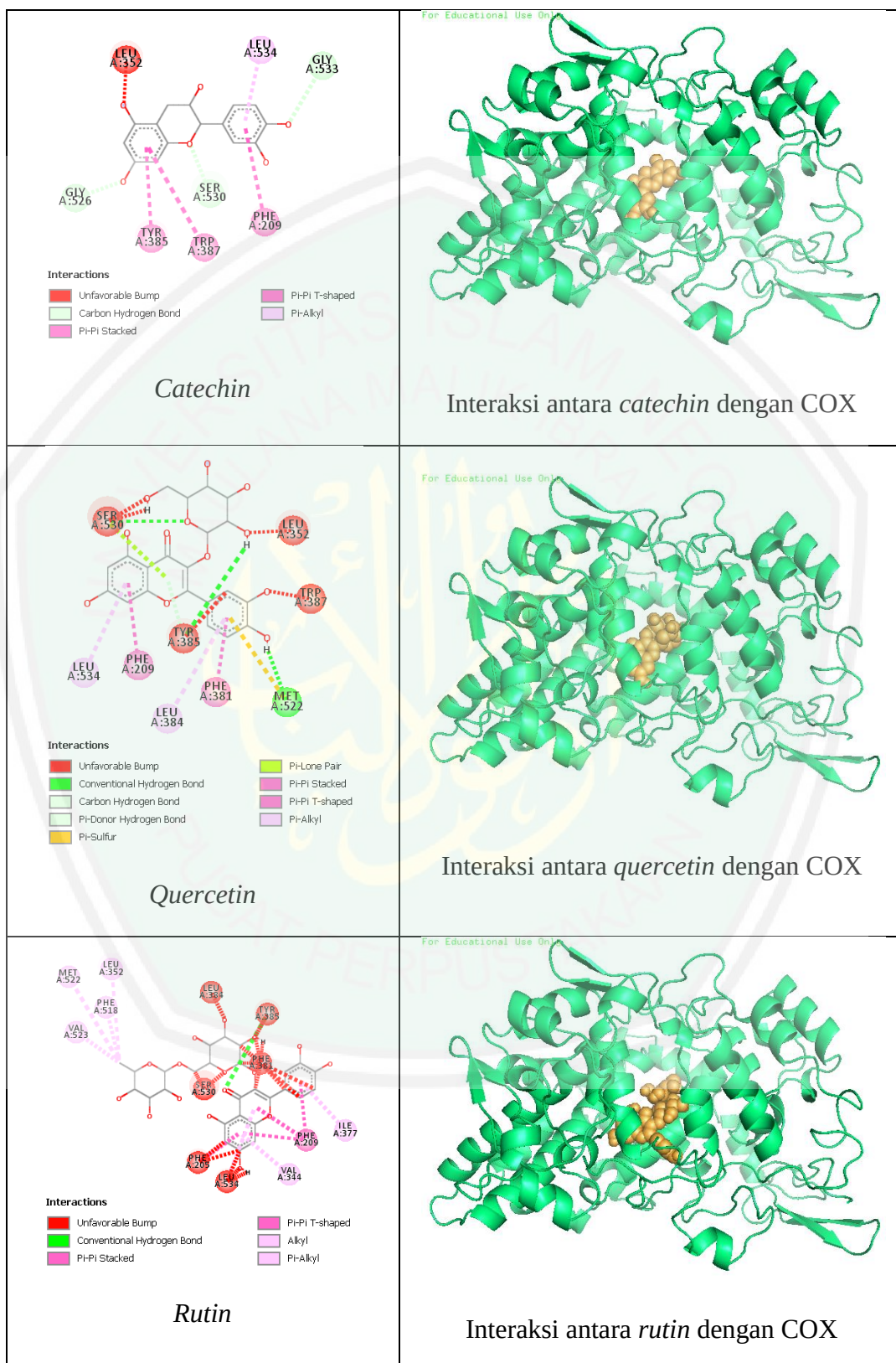
16. Hasil visualisasi 3D menggunakan PyMOL

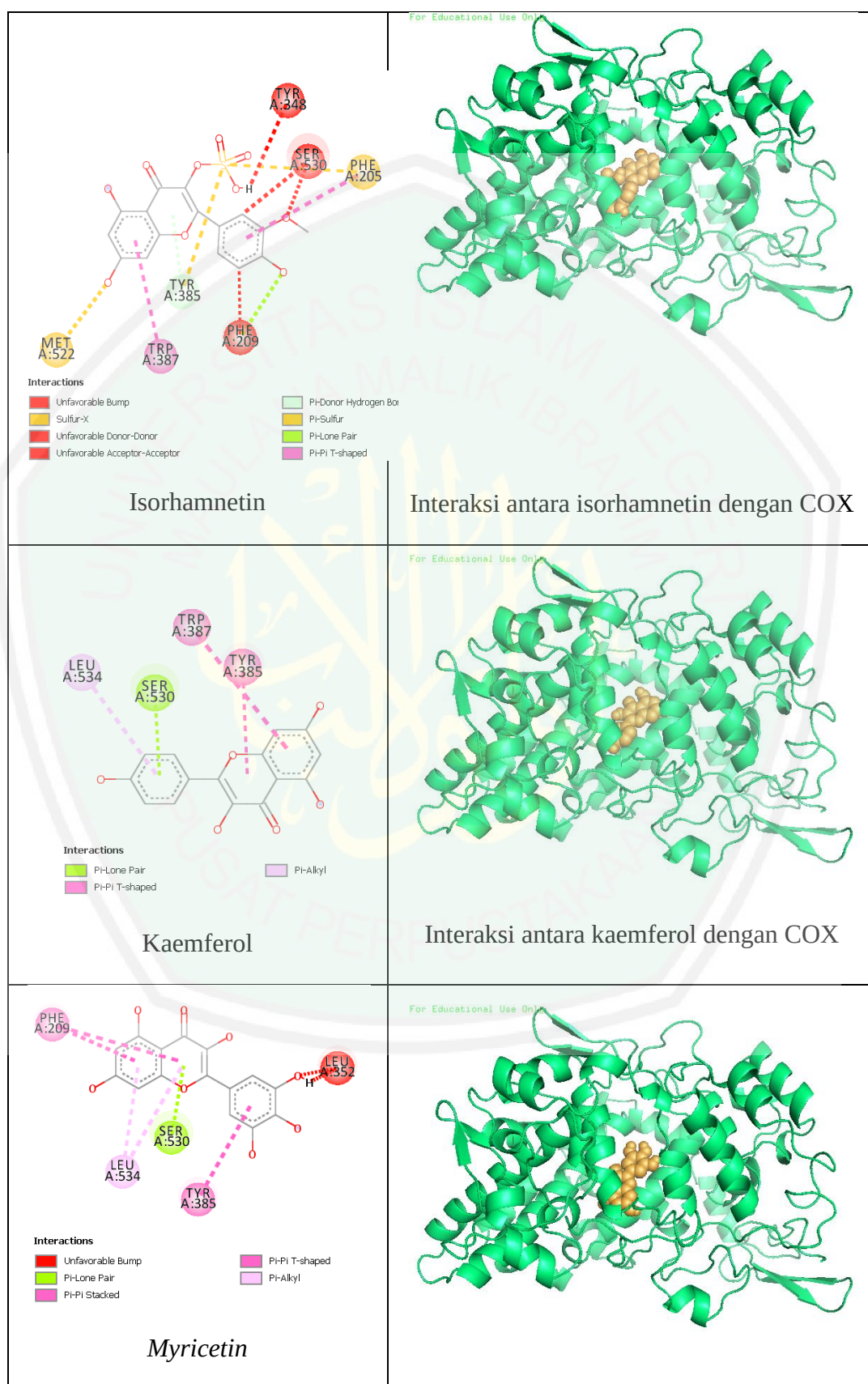


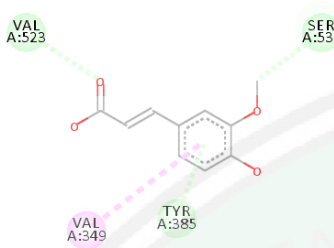
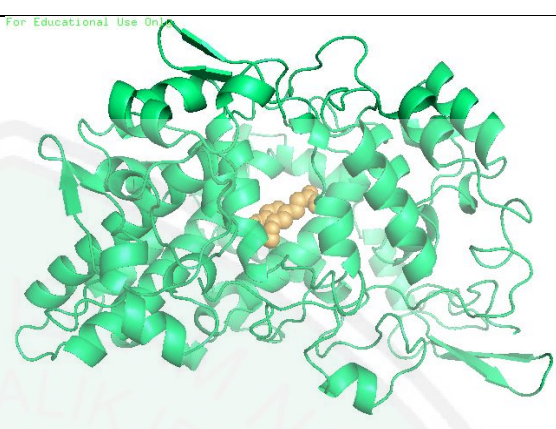
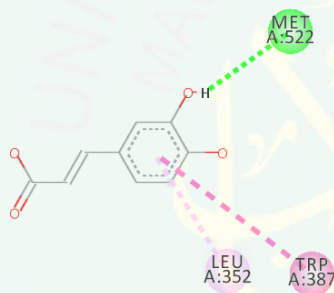
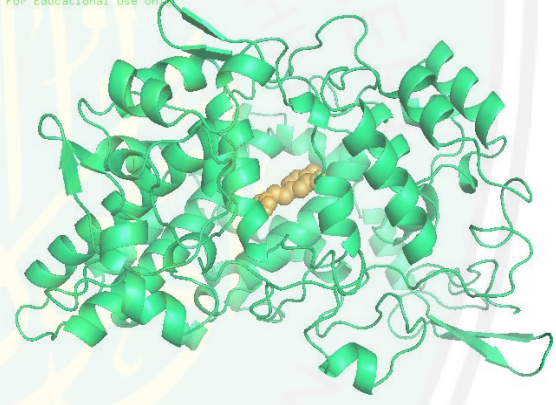
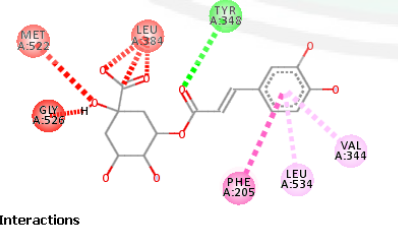
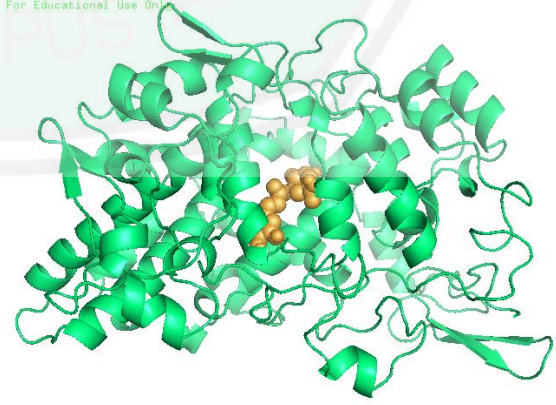
Lampiran 8: Hasil Visualisasi

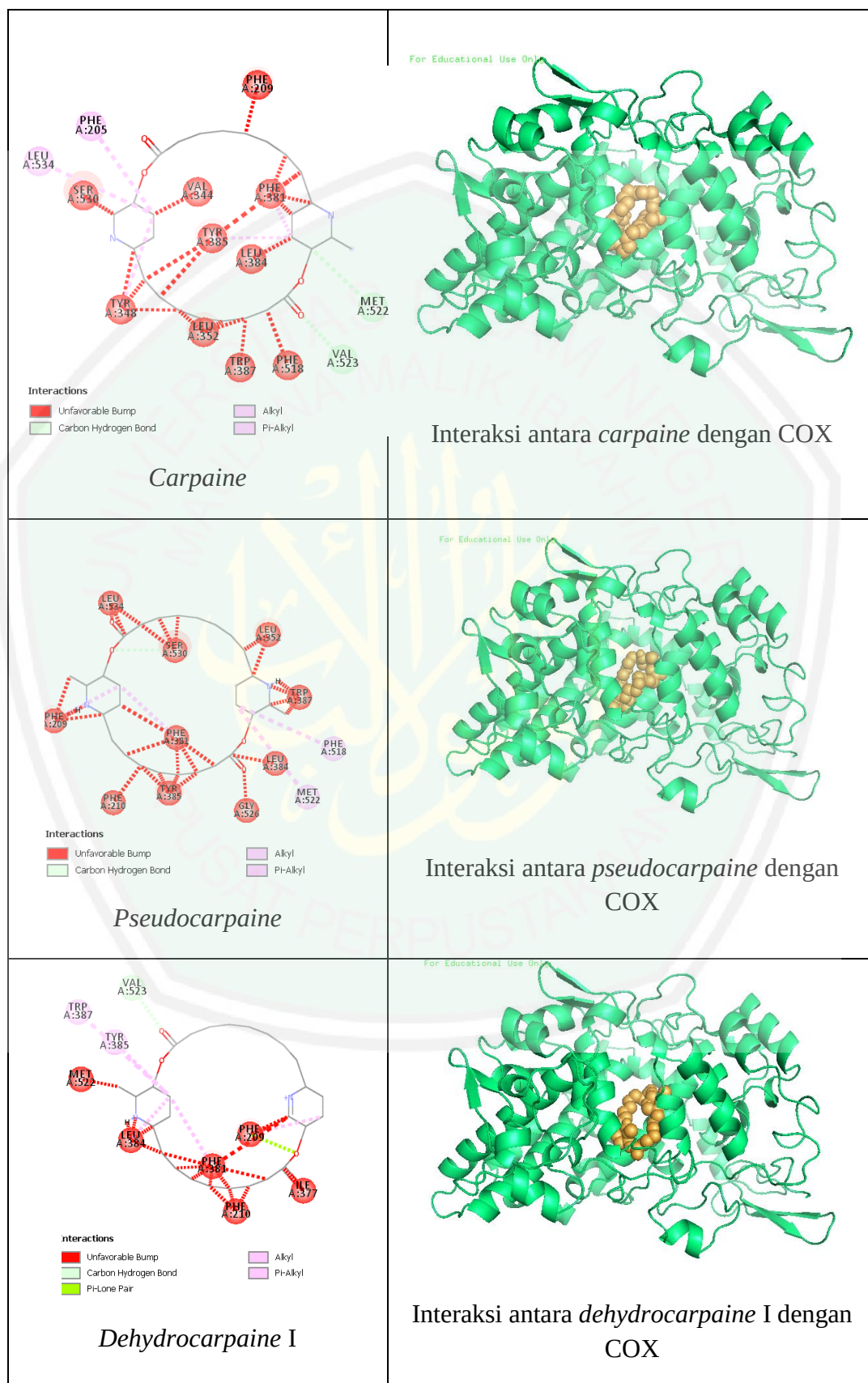
Visualisasi 2D	Visualisasi 3D
 Interactions - van der Waals - Pi-Donor Hydrogen Bond - Pi-Sulfur - Pi-Lone Pair - Amide-Pi Stacked - Pi-Alkyl Asam Mefenamat	For Educational Use Only  Interaksi antara asam mefenamat dengan COX
 Interactions - Unfavorable Bump - Conventional Hydrogen Bond - Carbon Hydrogen Bond - Pi-Donor Hydrogen Bond - Alkyl - Pi-Alkyl Atorvastatin	For Educational Use Only  Interaksi antara atorvastatin dengan COX

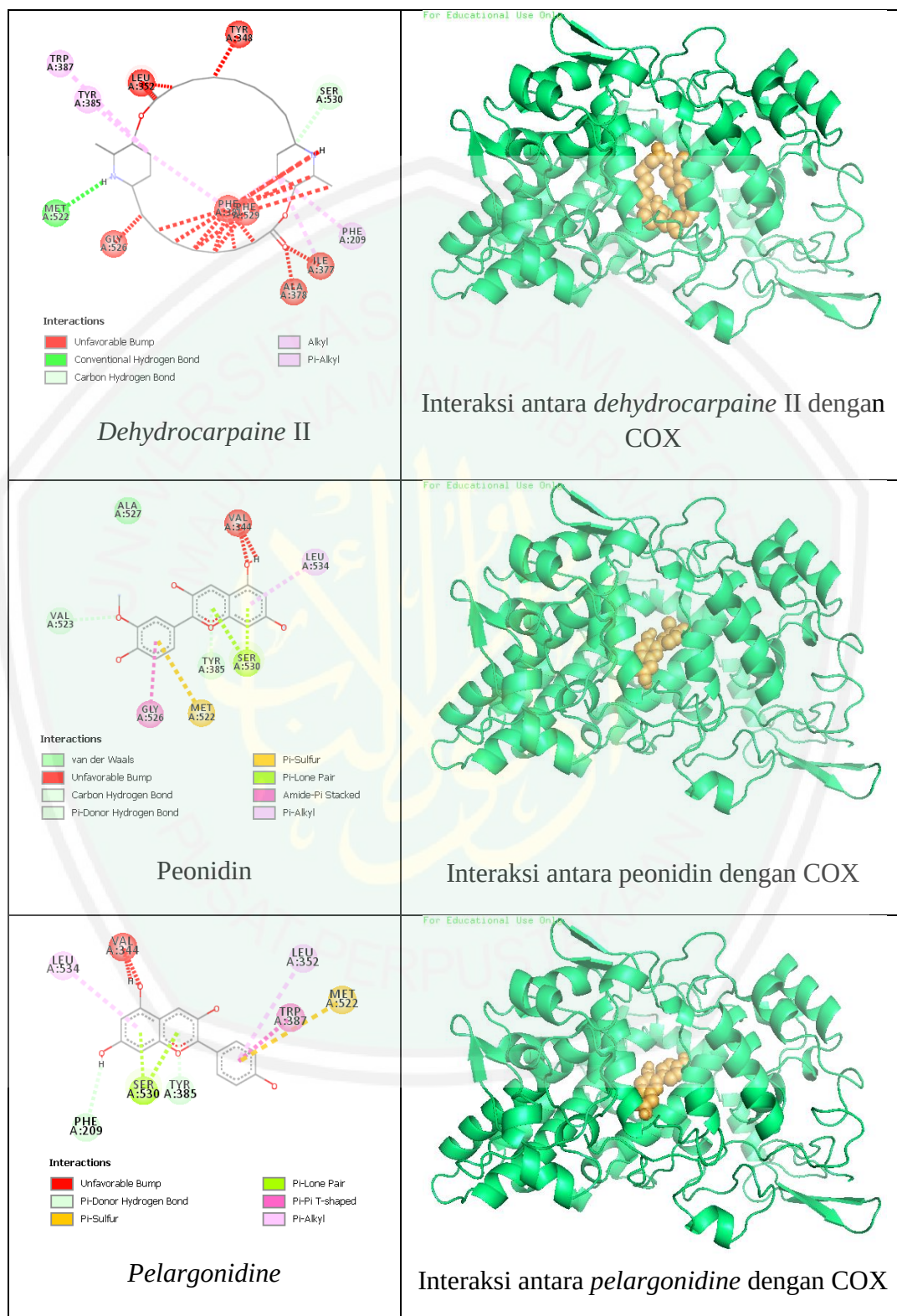


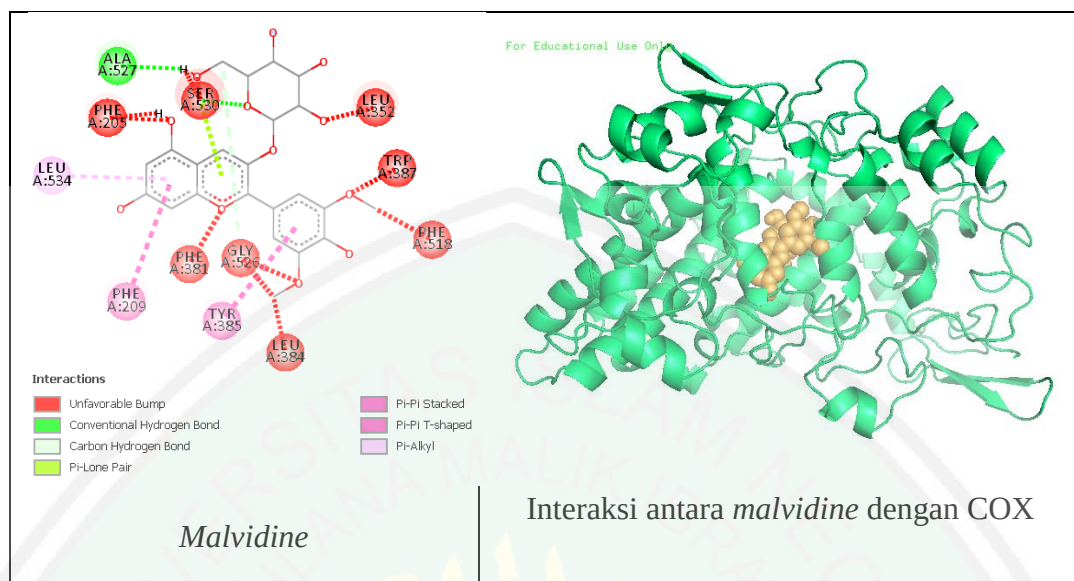




 Interactions - Carbon Hydrogen Bond - Pi-Donor Hydrogen Bond - Pi-Alkyl Ferulic Acid	Interaksi antara <i>myricetin</i> dengan COX  Interaksi antara ferulic acid dengan COX
 Interactions - Conventional Hydrogen Bond - Pi-Pi T-shaped - Pi-Alkyl Caffeic Acid	Interaksi antara <i>caffeic acid</i> dengan COX 
 Interactions - Unfavorable Bump - Conventional Hydrogen Bond - Unfavorable Acceptor-Acceptor - Pi-Pi T-shaped - Pi-Alkyl Chlorogenic Acid	Interaksi antara <i>chlorogenic acid</i> dengan COX 



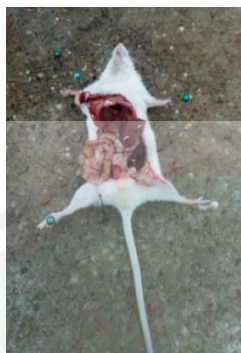




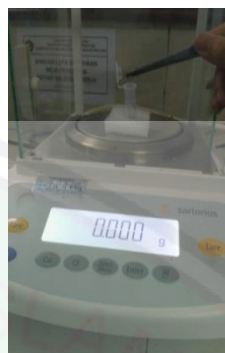
Lampiran 9: Dokumentasi Penelitian



Pembedahan hewan coba
0,67%



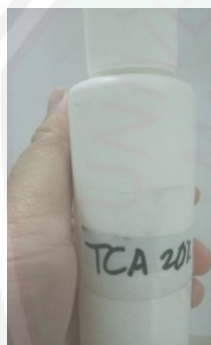
Pengambilan organ



Penimbangan organ



Bahan TBA



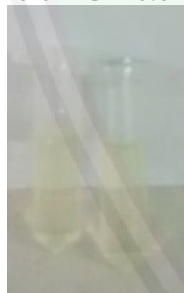
Bahan TCA 20%



Tahap sentrifugasi



Supernatan yang telah dipindah



Supernatan setelah
diberi TBA 0,67%



Tahap pemanasan menggunakan
waterbath selama 10 menit



Tahap pengukuran menggunakan
spektrofotometer



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 : Rahmadania Febri Herlina
NIM : 14620001
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil TA. 2018/2019
Pembimbing : Dr. Retno Susilowati, M.Si
Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak etanol Kulit Batang *Cinnamomum burmanii* dan Daun *Carica pubescens* terhadap Kadar MDA Pembuluh Koroner *Mus musculus* secara *In Vivo* dan *In Silico*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	TTD. Pembimbing
1.	26 Januari 2018	Kerangka konsep	
2.	31 Januari 2018	BAB I	
3.	5 Februari 2018	Revisi BAB I	
4.	8 Februari 2018	BAB III	
5.	19 Februari 2018	Revisi BAB I dan BAB III	
6.	8 Maret 2018	Revisi BAB I	
7.	12 Maret 2018	BAB II	
8.	14 Maret 2018	Revisi BAB I dan BAB II	
9.	3 Oktober 2018	Revisi BAB I, BAB II, dan BAB III	
10.	5 Oktober 2018	Data hasil penelitian	
11.	29 Oktober 2018	BAB IV dan BAB V	
12.	1 November 2018	Revisi BAB IV dan BAB V	
13.	5 November 2018	Revisi BAB IV dan BAB V	

Pembimbing Skripsi,

Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 1971113 199402 2 001



Malang, 11 Januari 2019
Kepada Jurusan,

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



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 SKRIPSI

Nama : Rahmadania Febri Herlina
 NIM : 14620001
 Program Studi : Biologi
 Semester : Ganjil TA. 2018/2019
 Pembimbing : Umayyatus Syarifah, M.A.
 Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak etanol Kulit Batang *Cinnamomum burmanii* dan Daun *Carica pubescens* terhadap Kadar MDA Pembuluh Koroner *Mus musculus* secara *In Vivo* dan *In Silico*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	TTD. Pembimbing
1.	12 Maret 2018	Integrasi BAB I dan BAB II	
2.	14 Maret 2018	Revisi BAB I dan BAB II	
3.	19 Oktober 2018	Revisi BAB I dan BAB II	
4.	1 November 2018	Integrasi BAB IV	

Pembimbing Skripsi,

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



Malang, 11 Januari 2019
 Ketua Jurusan,

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