

**PENGARUH EKSTRAK KOMBINASI *Cinnamomum burmannii* DAN  
*Eleutherine bulbosa* TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL  
SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**FARRAH NUR WIDAYANTI**  
**NIM. 15620060**



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

**PENGARUH EKSTRAK KOMBINASI *Cinnamomum burmannii* DAN  
*Eleutherine bulbosa* TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL  
SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**FARRAH NUR WIDAYANTI**  
**NIM. 15620060**



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

**PENGARUH EKSTRAK KOMBINASI *Cinnamomum burmannii* DAN  
*Eleutherine bulbosa* TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL  
SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**FARRAH NUR WIDAYANTI**  
**NIM. 15620060**

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

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

**PENGARUH EKSTRAK KOMBINASI *Cinnamomum burmannii* DAN  
*Eleutherine bulbosa* TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL  
SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO***

SKRIPSI

Oleh:  
**FARRAH NUR WIDAYANTI**  
NIM. 15620060

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:  
Tanggal: 13 November 2019

Pemimbing I,



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


Pemimbing II,



Oky Bagas Prasetyo, M. Pd. I.  
NIDT. 19890113 20180201 1 244

Mengetahui  
Ketua Jurusan Biologi



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

**PENGARUH EKSTRAK KOMBINASI *Cinnamomum burmannii* DAN  
*Eleutherine bulbosa* TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL  
SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**FARRAH NUR WIDAYANTI**  
NIM. 15620060

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

Tanggal: 18 November 2019

Penguji Utama	: <u>Dr. drh. Bayyinatul M., M. Si.</u> NIP. 19710910 200003 2 001	(.....)
Ketua Penguji	: <u>Kholifah Holil, M. Si.</u> NIP. 19751106 200912 2 002	(.....)
Sekretaris Penguji	: <u>Dr. Retno Susilowati, M. Si.</u> NIP.19671113 199402 2 001	(.....)
Anggota Penguji	: <u>Okky Bagas Prasetyo, M. Pd. I.</u> NIDT. 19890113 20180201 1 244	(.....)

Mengetahui

Ketua Jurusan Biologi

  
**Romaidi, M. Si., D.Sc**  
NIP. 19800201 200901 1 019

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

**Saya yang bertanda tangan di bawah ini:**

Nama : Farrah Nur Widayanti  
NIM : 15620060  
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi  
Judul Penelitian : Pengaruh Ekstrak Kombinasi *Cinnamomum Burmannii*  
dan *Eleutherine Bulbosa* Terhadap Kadar Kolesterol Total  
Secara *In Vivo* dan *In Silico*

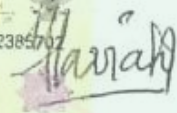
Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka.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

Malang, 06 November 2019  
Yang Membuat Pernyataan

METERAI  
TEMPEL

7A1E4AFF402385702

6000  
RUPIAH

  
Farrah Nur Widayanti  
NIM. 15620060



## **MOTTO**

**“Cinta Allah SWT Ada pada Setiap Ujian yang Diberikan”**

***“Maka Sesungguhnya Bersama Kesulitan Ada Kemudahan (QS. Al-Insyirah: 5)”***

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan syukur

(الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ)

Puji syukur yang tak terhingga kupanjatkan kepada Allah SWT atas rahmat, karunia, dan pertolongan yang Allah berikan, saya dijadikan manusia yang senantiasa berpikir, berilmu, sabar, dan ikhlas dalam melaksanakan segala kewajiban. Kupersembahkan skripsi saya ini kepada orang-orang hebat yang telah memberikan motivasi dan dukungan, kepada:

1. Aku yang tak henti-henti berjuang meski sering mengenal kata menyerah
2. Kedua orang tua Papa Indri Winarno dan Mama Ani Indrayanti, yang selalu mengalirkan kasih sayang dan doa tulus untuk saya
3. Suamiku tercinta Wahyu Eko Febriyanto, yang senantiasa menemani berjuang dan mensupport saya
4. Kedua mertua saya, Bapak Misbah dan Ibuk Ustriyah, yang juga senantiasa memberi semangat dan doa untuk saya
5. Kakak-kakakku dan adik-adikku, Zainudin Ardiansyah, Tita Rasmika, Dwi Maulidiah, dan Nila Anjani atas motivasi dan dukungan dalam bentuk apapun selama proses pengerjaan skripsi ini
6. Ibu Dr. Retno Susilowati, M.Si, selaku dosen pembimbing I yang senantiasa memberikan arahan dan motivasi dengan sabarnya untuk menyelesaikan semua tugas-tugas ini
7. Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I, selaku dosen pembimbing II yang senantiasa memberikan ilmu dan bimbingannya selama ini
8. Sahabat- sahabatku tercinta Dina, Intan, Indri, Laila, Faisal yang selama ini bersedia menjadi orang-orang yang selalu aku reportkan selama hidup di Malang
9. Rekan-rekan penelitian Warda, Fitri, Ambar, Mita, Shifa, Anis, Indah, Ulum yang telah bekerjasama dengan baik dan saling mensupport satu sama lain
10. Teman berjuang GENETIST 2015, yang telah menemani perjuangan selama 4 tahun ini. Dan tentunya semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu yang telah membantu terealisasinya tugas akhir ini.

Hanya Allah yang bisa membalas kebaikan-kebaikan yang telah diberikan. Semoga karya ini dapat bermanfaat khususnya bagi saya sendiri, dan bagi orang lain.

Aamiin

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan pada kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Berkah, Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan Skripsi ini dengan baik. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian bersama dengan dosen pembimbing yang diketuai oleh Dr. Retno Susilowati, M. Si. dengan judul **“Antihiperlipidemia Ekstrak Kulit Batang Kayu Manis dengan Umbi Bawang Dayak (Implementasi QS Asy-Syu'ara':7)”**.

Selanjutnya penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Retno Susilowati, M. Si. dan Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I selaku pembimbing skripsi dan pembimbing agama, yang telah banyak memberikan bimbingan selama melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi.
4. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si. dan Kholifah Holil, M. Si. selaku penguji yang telah memberikan banyak masukan dan saran yang membangun.
5. Fitriyah, M. Si. dan Moh. Basyaruddin, M. Si. yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing peneliti dalam melakukan Penelitian baik secara *In Silico* maupun *In Vivo*
6. Suamiku tercinta, Orang tua dan Mertua tersayang, yang senantiasa memberikan doa dan supportnya kepada penulis dalam menuntut ilmu selama ini.
7. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

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

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Malang, 06 November 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiv</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xvi</b>
البحث ملخص.....	<b>xvii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Hipotesis Penelitian .....	7
1.5 Manfaat Penelitian .....	7
1.6 Batasan Masalah .....	8
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Lipid .....	9
2.1.1 Lipoprotein .....	9
2.1.1.1 Kilomikron.....	10
2.1.1.2 VLDL.....	11
2.1.1.3 IDL.....	11
2.1.1.4 LDL.....	12
2.1.1.5 HDL .....	12
2.1.2 Kolesterol.....	13
2.1.3 Metabolisme Lipid.....	14
2.1.3.1 Jalur Eksogen.....	14
2.1.3.2 Jalur Endogen .....	14
2.1.3.3 Jalur Reserve Cholesterol Transport.....	15
2.2 Hiperkolesterolemia.....	16
2.3 Obat Statin .....	17
2.3.1 Atorvastatin.....	18
2.3.2 Statin Sebagai Inhibitor HMG KoA reduktase.....	19
2.4 Ekstraksi Senyawa Kimia.....	20
2.5 Kayu Manis (Cinnamomum burmannii).....	20
2.5.1 Klasifikasi Kayu Manis .....	20
2.5.2 Deskripsi Kayu Manis .....	21
2.5.3 Manfaat Kayu Manis .....	21
2.6 Bawang Dayak (Eleutherine bulbosa) .....	22
2.6.1 Klasifikasi Bawang Dayak .....	22
2.6.2 Deskripsi Bawang Dayak .....	22
2.6.3 Manfaat Bawang Dayak .....	22
2.7 Uji In Silico dengan Molecular Docking.....	23
2.7.1 Pengertian .....	23
2.7.2 Database <i>In Silico</i> .....	24

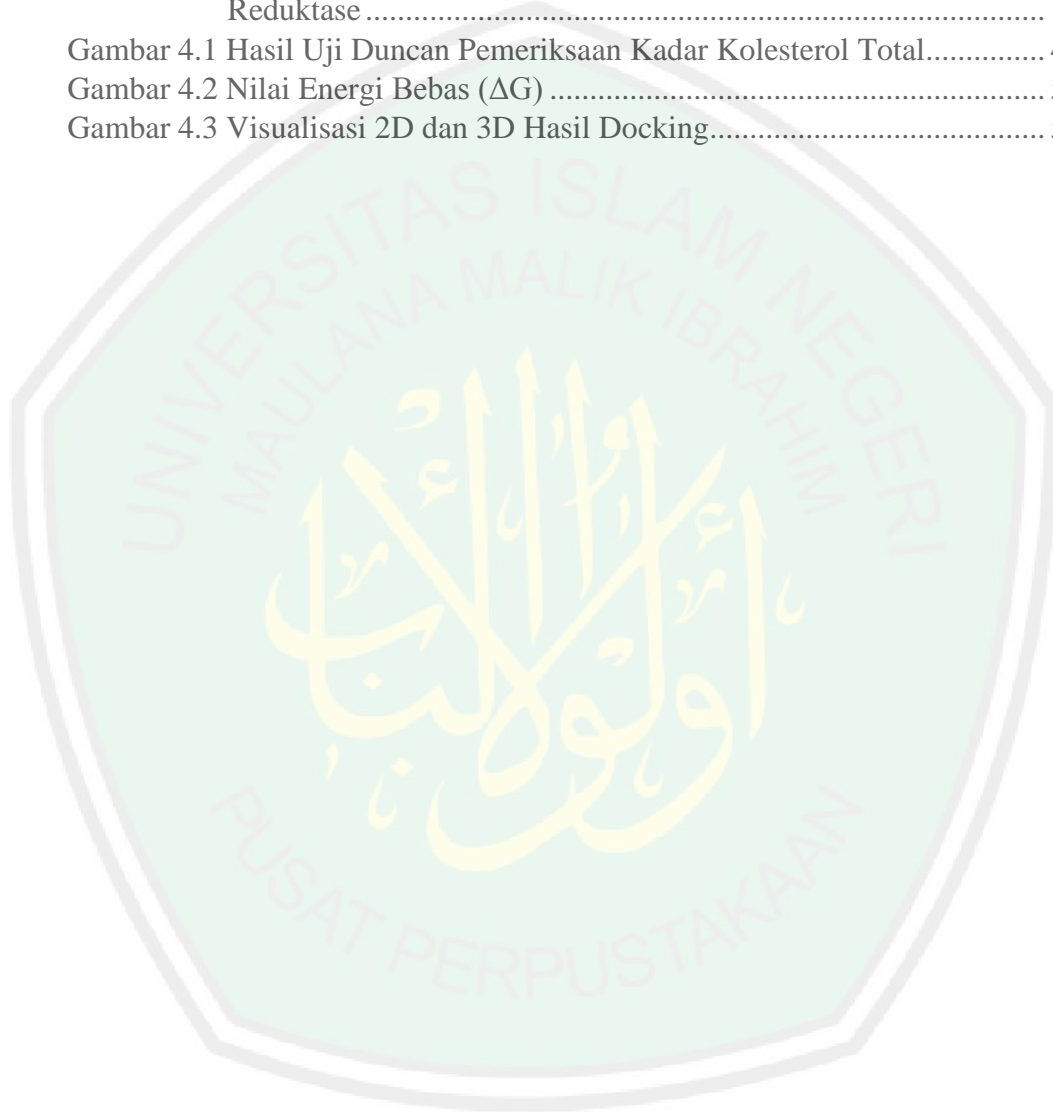
2.7.2.1 Protein Data Bank.....	24
2.7.2.2 PubChem.....	24
2.7.3 Perangkat Lunak Uji <i>In Silico</i> .....	25
2.7.3.1 PyMOL .....	25
2.7.3.2 AutoDock Vina.....	25
2.7.3.3 Discovery Studio Visualizer .....	25
2.7.3.4 Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS) .....	25
2.7.3.5 PreADMET.....	26
2.7.3.6 Lipinski Rule of Five .....	27
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Rancangan Penelitian .....	28
3.2 Waktu dan Tempat.....	28
3.3 Variabel Penelitian .....	28
3.3.1 Uji <i>In Vivo</i> .....	28
3.3.2 Uji <i>In Silico</i> .....	29
3.4 Populasi dan Sampel.....	30
3.5 Alat dan Bahan .....	31
3.5.1 Alat .....	31
3.5.2 Bahan .....	31
3.6 Prosedur Penelitian .....	31
3.6.1 Uji <i>In Vivo</i> .....	31
3.6.1.1 Aklimatisasi Hewan Coba .....	31
3.6.1.2 Pembuatan dan Pemberian <i>High Fat Diet</i> (HFD) ....	32
3.6.1.3 Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Kayu Manis ( <i>Cinnamomum burmannii</i> ) dan Bawang Dayak ( <i>Eleutherine bulbosa</i> ) .....	32
3.6.1.4 Penentuan Dosis dan Pemberian Atorvastatin.....	33
3.6.1.5 Pembuatan Larutan Na-CMC 0,5% .....	33
3.6.1.6 Pemberian Ekstrak Etanol 96% Kayu Manis ( <i>Cinnamomum burmannii</i> ) dan Bawang Dayak ( <i>Eleutherine bulbosa</i> ) .....	33
3.6.1.7 Euthanasia dan Pengambilan Serum Darah Mencit..	34
3.6.1.8 Pengukuran Kadar Kolesterol Total pada Serum Darah Mencit.....	34
3.6.1.9 Analisis Data <i>In Vivo</i> .....	35
3.6.2 Uji <i>In Silico</i> .....	36
3.6.2.1 Preparasi Ligan .....	36
3.6.2.2 Preparasi Protein Reseptor.....	36
3.6.2.3 Uji Prediksi PASS .....	36
3.6.2.4 Uji HIA .....	37
3.6.2.5 Uji Lipinski Rule of Five.....	37
3.6.2.6 Molecular Docking .....	38
3.6.2.7 Visualisasi Hasil <i>Docking</i> .....	38
3.6.2.8 Analisis Data Uji <i>In Silico</i> .....	38

## **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Pengaruh Ekstrak Etanol 96% <i>Cinnamomum burmannii</i> dan <i>Eleutherine bulbosa</i> Terhadap Kadar Kolesterol Total Mencit yang Diinduksi HFD Secara <i>In Vivo</i> .....	40
4.2 Analisis Senyawa Aktif pada <i>Cinnamomum burmannii</i> dan <i>Eleutherine bulbosa</i> yang Efektif Menurunkan Kadar Kolesterol Total Secara <i>In Silico</i> .....	46
4.2.1 Prediksi Potensi Senyawa Aktif pada <i>Cinnamomum burmannii</i> dan <i>Eleutherine bulbosa</i> dengan Menggunakan Software PASS 2.0 ( <i>Prediction of Activity for Substances</i> ).....	46
4.2.2 Potensi Senyawa Aktif <i>Cinnamomum burmannii</i> dan <i>Eleutherine bulbosa</i> Dapat Diabsorpsi oleh Usus Halus Berdasarkan Uji HIA ( <i>Human Intestinal Absorption</i> ).....	49
4.2.3 Potensi Senyawa Aktif <i>Cinnamomum burmannii</i> dan <i>Eleutherine bulbosa</i> Sebagai Kandidat Obat Oral dengan Aturan <i>Lipinski Rule of Five</i> .....	51
4.2.4 Uji Potensi Senyawa Aktif <i>Cinnamomum burmannii</i> dan <i>Eleutherine bulbosa</i> dalam Menghambat Reseptor HMG KoA Reduktase dengan Metode <i>Molecular Docking</i> .....	54
4.2.5 Tinjauan Hasil Uji <i>In Silico</i> .....	59
<b>BAB V PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan.....	61
5.2 Saran .....	61
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>62</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>70</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Jalur Eksogen dan Endogen Metabolisme Lipid.....	15
Gambar 2.2 Jalur <i>Reserve Cholesterol Transport</i> .....	16
Gambar 2.3 Struktur Kimia Atorvastatin .....	19
Gambar 2.4 Mekanisme Statin Bekerja dalam Menghambat HMG KoA Reduktase .....	19
Gambar 4.1 Hasil Uji Duncan Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total.....	41
Gambar 4.2 Nilai Energi Bebas ( $\Delta G$ ) .....	55
Gambar 4.3 Visualisasi 2D dan 3D Hasil Docking.....	57



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Jenis Lipoprotein dalam Plasma Normal .....	10
Tabel 3.1 Perbandingan Volume dalam Kuvet untuk Pengukuran Kadar Kolesterol Total.....	35
Tabel 4.1 Hasil Uji Duncan Pengukuran Kadar Kolesterol Total (mg/dl).....	40
Tabel 4.2 Hasil Prediksi dengan Parameter PASS.....	47
Tabel 4.3 Hasil Prediksi HIA Senyawa-senyawa Ligan .....	50
Tabel 4.4 Nilai Uji <i>Lipinski Rule of Five</i> Senyawa-senyawa Ligan .....	52
Tabel 4.5 Residu Asam Amino Ikatan Ligan dan Reseptor.....	56



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Alur Penelitian <i>In Vivo</i> .....	70
Lampiran 2 Timeline Penelitian <i>In Vivo</i> .....	71
Lampiran 3 Perhitungan Dosis .....	72
Lampiran 4 Hasil Uji Statistik Menggunakan SPSS .....	74
Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian <i>In Vivo</i> .....	76
Lampiran 6 Alur Penelitian <i>In Silico</i> .....	77
Lampiran 7 Struktur Reseptor .....	78
Lampiran 8 Struktur Ligan .....	79
Lampiran 9 Uji PASS .....	83
Lampiran 10 Uji HIA .....	85
Lampiran 11 Kalkulasi Nilai <i>drug-likeness</i> .....	88
Lampiran 12 Penambatan Molekuler .....	89
Lampiran 13 Visualisasi Hasil Docking .....	91
Lampiran 14 Data Nilai Energi Bebas Ligan-Reseptor .....	94



## Pengaruh Ekstrak Kombinasi *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* Terhadap Kadar Kolesterol Total Secara *In Vivo* dan *In Silico*

Farrah Nur Widayanti, Retno Susilowati, Oky Bagas Prasetyo

### ABSTRAK

Dislipidemia merupakan suatu keadaan dimana terjadi ketidaknormalan profil lipid dalam tubuh. Dislipidemia merupakan faktor resiko utama dari penyakit kardiovaskuler. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 96% *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* terhadap kadar kolesterol total serum darah mencit secara *in vivo* dan *in silico*. Uji *in vivo* merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan RAL sebanyak 8 perlakuan dan 4 ulangan. Kelompok perlakuan antara lain adalah N (Normal), K- (HFD), K+ (HFD + atorvastatin), P1 (HFD + 100% *C. burmannii*), P2 (HFD + 75% *C. burmannii* & 25% *E. bulbosa*), P3 (HFD + 50% *C. burmannii* & 50% *E. bulbosa*), P4 (HFD + 25% *C. burmannii* & 75% *E. bulbosa*), dan P5 (HFD + 100% *E. bulbosa*). Induksi HFD diberikan selama 120 hari dan pemberian terapi dilakukan pada hari ke-91 hingga 120. Analisis data menggunakan ANOVA dengan  $\alpha=5\%$ . Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *C. burmannii* dan *E. bulbosa* serta kombinasi keduanya dapat menurunkan kadar kolesterol total serum darah mencit yang diinduksi HFD. Uji *in silico* pada penelitian ini menggunakan metode *molecular docking* ligan senyawa aktif yang terkandung pada *C. burmannii* dan *E. bulbosa* dengan reseptor HMG KoA reduktase. Hasil *molecular docking* yang dikaitkan dengan prediksi PASS, HIA, dan kalkulasi nilai *drug-likeness* menunjukkan bahwa senyawa quercetin dan eleutherine merupakan senyawa yang paling berpotensi dalam penurunan kadar kolesterol total melalui penghambatan HMG KoA reduktase.

Kata Kunci: kolesterol total, serum darah, induksi HFD, ekstrak, *in vivo*, *in silico*, *molecular docking*

## The Effect of Combination Extracts of *Cinnamomum burmannii* and *Eleutherine bulbosa* on Total Cholesterol Levels by In Vivo and In Silico

Farrah Nur Widayanti, Retno Susilowati, Oky Bagas Prasetyo

### ABSTRACT

Dyslipidemia is a condition of lipid profile abnormality in the body. Dyslipidemia is a major risk factor for cardiovascular disease. The purpose of this study is to determine the effect of 96% ethanolic extract administration of *Cinnamomum burmannii* and *Eleutherine bulbosa* on total cholesterol levels of mice serum blood by *in vivo* and *in silico*. *In vivo* test was an experimental laboratory study using CRD for eight treatments and four replications. The treatment group included N (Normal), K- (HFD), K+ (HFD + atorvastatin), P1 (HFD + 100% *C. burmannii*), P2 (HFD + 75% *C. burmannii* & 25% *E. bulbosa*), P3 (HFD + 50% *C. burmannii* & 50% *E. bulbosa*), P4 (HFD + 25% *C. burmannii* & 75% *E. bulbosa*), and P5 (HFD + 100% *E. bulbosa*). HFD induction was given for 120 days, and therapy was given on days 91 to 120. Data analysis was using ANOVA with  $\alpha=1\%$ . ANOVA analysis results showed that the administration of *C. burmannii* and *E. bulbosa* extracts as well as a combination of both could reduce total serum blood cholesterol levels of HFD-induced mice. *In silico* test in this study used the molecular docking ligand methods of active compounds contained in *C. burmannii* and *E. bulbosa* with HMG-CoA reductase receptors. The results of molecular docking associated with the prediction of PASS, HIA, and calculation of drug-likeness values indicated that the quercetin and eleutherinol compound was the most potential compound in reducing total cholesterol levels through inhibition of HMG-CoA reductase.

Keywords: *total cholesterol, blood serum, HFD induction, extract, in vivo, in silico, molecular docking*

تأثير استخراج الجمع سناموموم بورماني و أنوطين بولبوسا على قدر الكوليسترول الكلي في نين فيفو و نين سيليجو

فرح نور ويداياتي و رتنو سوسيلوواتي و أوكي باكاس فراستيو

### البحث ملخص

اضطراب شحوم الدم هو الحال الذي وقعه غير عادي الملف الشخصي الدهون في الجسم. اضطراب شحوم الدم هو عامل الخطر الرئيسي من داء القلب والأوعية الدموية. الهدف من هذا البحث هو لتعريف التأثير إعطاء استخراج الإتاوول 96 % سناموموم بورماني و أنوطين بولبوسا على قدر الكوليسترول الكلي مصل الدم الفئران في نين فيفو و نين سيليجو. اختبار نين فيفو هو البحوث المختبرية التجريبية يستخدم رأل 8 مرات تداويا و 4 تكرارا. من أحد فرقة التداوي هي ن (عادي), ك - (هد), ك + (هد + أتورفاستاتين), ف1 (هد + 100% ج. بورماني) ف2 (هد + 75% ج. بورماني و 25% آ. بولبوسا), ف3 (هد + 50% ج. بورماني و 50% آ. بولبوسا), ف4 (هد + 25% ج. بورماني و 75% آ. بولبوسا) و ف5 (هد + 100% آ. بولبوسا). الإستقراء هد يعطى لمدة 120 =1%. نتائج  $\alpha$  يوما وتوفير العلاج يعمل في اليوم 91 حتى 120. يستخدم تحليل البيانات أنوفا بوسيلة التحليل أنوفا تدل على أن إعطاء استخراج ج. بورماني و آ. بولبوسا وكذلك مزيج من الإثنين معا يستطع في أن ينخفض مستويات الكوليستيرول الكلي مصل الدم من الفئران الذي يسببه هد. اختبار نين سيليجو هذا البحث يستخدم الطريقة الإلتحام الجزيني مركب يجند النشط الواردة على ج. بورماني و آ. بولبوسا مع المستقبلات ممك كئوفا إختزال. نتائج الإلتحام الجزيني الذي يرتبط مع التوقعات فأسس, في أ, و حساب القيمة الشبه المخدرات يدل على أن مركب كيرسيتين هو المجمع الأكثر احتمالا في انخفاض قدر الكوليسترول الكلي من خلال تثبيط ممك كئوفا إختزال. إلى جانب ذلك مركب حمض سيناميك من سناموموم بورماني و مركب الإيثيرينول من أنوطين بولبوسا تصنيف فعال جدا أيضا لتثبيط عمل الإنزيمات ممك كئوفا إختزال.

الكلمة الرئيسية : الكوليسترول الكلي, مصل الدم المستحث هد, مقتطف, نين فيفو, نين سيليجو, الإلتحام الجزيني

## **BAB I PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Penyakit kardiovaskuler termasuk ke dalam golongan penyakit yang mematikan di dunia. *World Health Organization* (WHO) menyebutkan bahwa pada tahun 2016 saja, 17,9 juta orang meninggal dunia akibat penyakit kardiovaskuler atau 31% dari semua data kematian di seluruh dunia. Dari data kematian tersebut, 7,4 juta orang diantaranya meninggal dunia karena penyakit jantung koroner (WHO, 2017). Survei dari *Sample Registration System* (SRS) pada tahun 2014 menyebutkan bahwa Penyakit Jantung Koroner (PJK) menjadi penyebab kematian tertinggi pada semua umur setelah stroke dengan persentase 12,9% dari total data kematian yang ada di Indonesia (Kemenkes RI, 2017). Grundy (2004) menyatakan bahwa dislipidemia merupakan faktor resiko primer terjadinya penyakit jantung koroner yang didahului dengan terjadinya aterosklerosis atau yang biasa disebut dengan penyempitan pada pembuluh darah koroner.

Dislipidemia merupakan suatu keadaan dimana terjadi ketidaknormalan profil lipid dalam tubuh. Keadaan tersebut biasanya ditandai dengan berbagai macam keadaan diantaranya adalah tingginya kolesterol total, trigliserida, dan LDL kolesterol dalam darah. Selain itu juga ditandai oleh penurunan kadar HDL kolesterol. Dislipidemia diklasifikasikan oleh Adam (2006) menjadi 2 macam antara lain dislipidemia primer dan dislipidemia sekunder. Dislipidemia primer terjadi karena terdapat kelainan genetik yang dapat menyebabkan kelainan pada profil lipid darah. Sedangkan dislipidemia sekunder terjadi karena beberapa keadaan yang tidak dipengaruhi oleh kelainan genetik seperti diabetes melitus, hipotiroidisme, sindroma metabolik, dan sindroma nefrotik. Kondisi yang demikian akan memicu timbulnya berbagai keadaan seperti hiperkolesterolemia dan hipertrigliseridemia.

Hiperkolesterolemia menurut Guyton & Hall (1997), merupakan salah satu kondisi dislipidemia dimana terjadi peningkatan kadar kolesterol dalam darah

yang melebihi batas normal. Mengonsumsi makanan tinggi lemak yang berlebihan dapat menyebabkan penumpukan kolesterol dalam tubuh. Hal tersebut menyebabkan meningkatnya resiko terjadinya dislipidemia (Restyani, 2015). Oleh sebab itu salah satu cara untuk menanggulangi kelainan dislipidemia adalah pengaturan pola makan. Kolesterol memang unsur penting yang diperlukan oleh tubuh makhluk hidup. Namun, sesuatu yang berlebihan bukanlah sesuatu yang baik. Sebagaimana Firman Allah SWT dalam QS Al-Maidah(5): 88 yang berbunyi:

وَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلَالًا طَيِّبًا وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي أَنْتُمْ بِهِ مُؤْمِنُونَ ﴿٨٨﴾

Artinya : “Dan makanlah dari apa yang telah diberikan Allah kepadamu sebagai rezeki yang halal dan baik, dan bertakwalah kepada Allah yang kamu beriman kepada-Nya” (QS Al Maidah(5): 88).

Ayat tersebut merupakan Firman Allah SWT tentang makanan. Hal tersebut sesuai dengan kata pertama yang terdapat pada ayat tersebut yakni “كلو” yang artinya makan. Pada ayat ini Allah memerintahkan hambaNya untuk memakan sesuatu yang halal dan juga baik (Shihab, 2002). Makanan atau ta’am ialah sesuatu yang dapat dimakan, dapat berupa sayur mayur, buah-buahan, biji-bijian, serta berbagai jenis daging juga ikan. Pada dasarnya, hukum asli dari semua barang di bumi ini adalah halal atau boleh dimakan (Qardhawi, 2000). Namun hal tersebut tidak bisa menjadi acuan bahwa umat muslim dapat mengonsumsi semua makanan dengan sesukanya. Menurut Kemenag RI (2011), dalam hal mengonsumsi makanan, umat muslim perlu menaati ketentuan-ketentuan makanan yang boleh dikonsumsi antara lain “حَلَالًا” yang berarti halal dan “طَيِّبًا” yang berarti baik dan menurut ukuran yang layak dan tidak berlebihan sebagaimana yang juga tercantum pada QS. Al-A’raf(7): 31 yang berbunyi:

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

Artinya:”Wahai anak cucu Adam! Pakailah pakaianmu yang bagus pada setiap (memasuki) masjid, makan dan minumlah, tetapi jangan berlebihan. Sungguh, Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan” (QS. Al-A’raf(7): 31).

Mengacu pada penafsiran Shihab (2002), bahwa Allah SWT tidak menyukai orang-orang yang berlebihan dalam hal makan dan minum. Allah SWT tidak akan melimpahkan rahmat dan ganjaran bagi orang-orang yang berlebihan. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa kita diperintahkan untuk tidak mengonsumsi salah satu bahan makanan atau lebih secara berlebihan, misalnya dalam mengonsumsi makanan dengan kadar lemak jenuh yang tinggi karena dapat meningkatkan kadar kolesterol total dalam tubuh. Selain menjaga pola makan, dislipidemia sebagai faktor resiko utama PJK juga dapat diatasi dengan pengobatan dengan obat-obatan yang termasuk ke dalam golongan statin. Statin merupakan obat yang digunakan untuk menurunkan konsentrasi LDL dalam darah (Catapano, 2016). Obat statin dalam literatur Tomlinson & Mangione (2005) bekerja dengan cara menghambat aktivitas dari enzim 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-KoA reduktase). Enzim tersebut merupakan enzim yang berperan dalam produksi mevalonat sebagai bahan yang dibutuhkan dalam biosintesis kolesterol. Dengan demikian kadar kolesterol dapat berkurang.

Atorvastatin adalah salah satu obat yang termasuk ke dalam golongan statin yang dinilai paling efektif diantara obat statin yang lain. Menurut Wierzbicki, *et al* (1999), atorvastatin dapat dikonsumsi dengan dosis lebih rendah yakni 10 mg karena atorvastatin lebih efektif menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Namun penggunaan obat golongan statin ini juga memiliki dampak negatif yakni adanya gejala nyeri pada otot dan persendian (miopati). Tomlinson & Mangione (2005) dalam literturnya menjelaskan bahwa kerja obat statin yang menghambat kerja aktivitas HMG-KoA reduktase juga akan mengganggu produksi energi dari rantai respiratori mitokondria akibat berkurangnya sintesis ubikoinon yang akan

berpengaruh terhadap otot. Hal tersebut dikarenakan terganggunya produksi mevalonat juga berpengaruh pada biosintesis ubiquinon atau koenzim Q10.

Efek samping yang ditimbulkan dari obat-obatan yang termasuk ke dalam golongan statin tersebut mendorong para ilmuwan untuk menemukan alternatif pengobatan terbaru untuk mengatasi dislipidemia. Para ilmuwan harus dapat menemukan pengobatan yang lebih aman untuk para penderita dislipidemia. Dalam suatu penelitian Sharma & Upadhyay (2009), menyebutkan bahwa hasil ekstraksi senyawa bioaktif dari tumbuhan dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan. Hal tersebut menjadikan para ilmuwan berlomba-lomba dalam penemuan-penemuan obat-obatan herbal yang memiliki efek samping tidak berbahaya. Hal tersebut sesuai dengan Firman Allah SWT yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik” (QS. Asy Syu’araa’(26): 7).

Menurut tafsir Al Qurthubi (2009), terdapat tiga kata yang dapat diperhatikan dalam ayat tersebut yakni kata “يَرَوْا” yang artinya memperhatikan, “زَوْجٍ” yang artinya tumbuh-tumbuhan, dan “كَرِيمٍ” artinya baik dan mulia. Pada ayat tersebut kita sebagai hambaNya diperintahkan untuk selalu memperhatikan setiap tanda-tanda kebesarannya, salah satunya adalah tumbuh-tumbuhan yang baik serta mulia yang telah Dia tumbuhkan di bumi ini. Dalam hal ini, tumbuh-tumbuhan yang baik merupakan tumbuh-tumbuhan yang memiliki berbagai manfaat di dalamnya.

Banyak tanaman di sekitar kita yang dapat dijadikan sebagai kandidat obat alternatif untuk beberapa penyakit, salah satunya adalah kayu manis (*Cinnamomum burmannii*). Baker, *et al* (2008) menyebutkan bahwa dalam kulit

batang kayu manis terkandung beberapa senyawa polifenol diantaranya adalah rutin, quercetin, isorhamnetin, catechin, dan kaempferol. Deaville, *et al.*, (2010) menambahkan bahwa selain yang disebutkan sebelumnya, kulit batang kayu manis juga mengandung senyawa polifenol berupa tannin. Menurut Azima, *et al.* (2004), kayu manis memiliki kandungan tannin lebih banyak jika dibandingkan dengan tanaman rempah lainnya. Dalam literatur lain disebutkan bahwa senyawa tannin memiliki peran sebagai penurun kadar kolesterol total darah dengan cara penghambatan aktivitas HMG-KoA reduktase (Ervina, *et al.*, 2016).

Selain kayu manis, pada penelitian ini juga digunakan tanaman lain yakni umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) sebagai kombinasi. Pada bawang dayak terkandung senyawa aktif seperti elecanacin, eleutherin, eleutherol, dan eleutherinol (Hara, *et al.*, 1997). Galingging (2009) menambahkan bahwa pada umbi bawang dayak terdiri dari senyawa alkaloid, glikosida, fenolik, tannin, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan kuinon. Salah satu senyawa kandungannya adalah flavonoid. Menurut Bok, *et al.* (1996) senyawa flavonoid dapat menghambat penyerapan kolesterol dalam tubuh sehingga dapat menyebabkan perbaikan profil lipid pada serum. Selain itu, senyawa ini juga dapat menghambat sintesis enzim asetil KoA sehingga esterifikasi kolesterol mengalami penurunan di usus dan hati.

Potensi dari kedua tanaman tersebut yang akhirnya mendorong untuk diadakannya penelitian ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh dari pemberian ekstrak etanol 96% kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) terhadap kadar kolesterol total serum darah mencit. Sebelum pemberian ekstrak, hewan coba mencit terlebih dahulu diberi perlakuan induksi HFD (*High Fat Diet*). Adapun komposisi HFD yang diberikan meliputi kolesterol murni, *propylthiourasil* (PTU), kuning telur puyuh, dan lemak sapi. Adapun pemberian ekstrak *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* dilakukan setelah pemberian HFD pada hewan coba mencapai hari ke-91.

Pembuatan ekstrak *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%.

Etanol 96% dipilih sebagai pelarut dikarenakan etanol bersifat polar sehingga etanol dapat menarik senyawa-senyawa aktif yang terdapat pada tumbuhan yang sebagian besar juga bersifat polar (Bimakr, 2011). Pada penelitian ini hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan terapi ekstrak. Masing-masing kelompok akan diberi perlakuan ekstrak kedua tanaman dengan berbagai macam komposisi, baik diberikan tanpa dikombinasikan maupun diberikan dengan dikombinasikan satu sama lain untuk mengetahui komposisi yang paling berpengaruh terhadap kadar kolesterol total serum darah mencit yang diinduksi HFD.

Kedua tanaman yang digunakan mengandung berbagai senyawa aktif yang diantaranya berkemungkinan memiliki potensi yang sama dengan atorvastatin sebagai penghambat kerja enzim HMG KoA reduktase. Dalam hal ini, untuk mengetahui senyawa aktif yang paling efektif dari kedua senyawa tersebut maka dilakukan pengujian secara *in silico* terhadap senyawa-senyawa tersebut. Hal tersebut dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya peran senyawa-senyawa yang terkandung pada *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* terhadap kadar kolesterol total ditinjau dari bidang komputasi. Dengan demikian, hasil yang didapatkan dari uji *in silico* akan digunakan untuk menjelaskan hasil yang didapat dari uji *in vivo*. Uji *in silico* pada penelitian ini dilakukan dengan metode *molecular docking*. Dengan metode ini, peneliti dapat mengetahui model interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor. Dalam literturnya, Meng, *et al.*, (2011) menjelaskan bahwa dengan metode *molecular docking*, peneliti dapat mengetahui mekanisme kerja suatu senyawa kimia dalam skala molekuler.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan sebelumnya maka rumusan masalah yang disusun pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak etanol 96% kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) terhadap kadar kolesterol total serum darah mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi HFD secara *in vivo*?

2. Adakah senyawa aktif pada kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) yang berpotensi menurunkan kadar kolesterol total melalui penghambatan aktivitas enzim HMG-KoA reduktase secara *in silico*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 96% kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) terhadap kadar kolesterol total darah mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi HFD secara *in vivo*
2. Untuk mengetahui adanya senyawa aktif pada kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) yang berpotensi menurunkan kadar kolesterol total melalui penghambatan aktivitas enzim HMG-KoA reduktase secara *in silico*.

### 1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Ada pengaruh pemberian ekstrak etanol 96% kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) terhadap kadar kolesterol total darah mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi HFD secara *in vivo*
2. Ada senyawa aktif pada kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) yang berpotensi menurunkan kadar kolesterol total melalui penghambatan aktivitas enzim HMG-KoA reduktase secara *in silico*.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari diadakannya penelitian ini adalah:

1. Manfaat teoritis  
Memberikan informasi mengenai senyawa aktif yang terkandung dalam kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*)

yang efektif dalam menghambat enzim HMG-KoA reduktase sehingga berpengaruh terhadap kadar kolesterol total dalam darah

## 2. Manfaat aplikatif

Menjadikan rujukan dalam dunia medis dalam hal pengobatan alternatif untuk menurunkan kadar kolesterol total dalam darah sebagai upaya peningkatan kesehatan dan kesejahteraan masyarakat Indonesia.

### 1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Ekstrak yang digunakan dalam penelitian merupakan simplisia bagian kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bagian umbi lapis bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*).
2. Kontrol positif dalam penelitian ini menggunakan obat atorvastatin dengan kandungan 20 mg pada tiap tabletnya
3. Sampel uji yang digunakan dalam pemeriksaan kadar kolesterol total adalah serum darah mencit
4. Penelitian dilakukan pada salah satu jalur biosintesis kolesterol yang berbahan baku asam mevalonat produksi dari enzim HMG KoA reduktase.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Lipid

Lemak atau lipid adalah salah satu zat kaya energi yang diperlukan oleh tubuh. Lemak dapat didefinisikan sebagai senyawa organik heterogen yang bersumber dari alam. Lemak bersifat larut dalam pelarut non polar. Lemak tersusun atas karbon dan hidrogen yang tidak dapat larut dalam air (Hartono, 2006). Lemak merupakan sumber energi utama yang berperan dalam metabolisme tubuh. Lipid yang ada di dalam tubuh didapatkan dari makanan yang masuk ke dalam tubuh dan hasil produksi dari hepar dan jaringan adiposa. Pada transportasi lipid diperlukan penggabungan lipid non polar (ester kolesterol dan trigliserida) dengan lipid amfipatik (kolesterol dan fosfolipid) serta protein untuk menghasilkan lipoprotein yang dapat bercampur dengan air (Murray, *et al.*, 2006).

Lipid merupakan bahan bakar dalam bentuk energi bagi (sel-sel) tubuh, komponen pembentuk insulator untuk mengurangi turunnya panas tubuh, komponen struktural membran sel, menghemat protein, memberikan rasa kenyang dan kelezatan, bahan dasar dalam produksi hormon, dan mengurangi dampak benturan pada tubuh (Hartono, 2006). Lipid dalam plasma darah diangkut dalam bentuk lipoprotein. Lipid plasma terdiri dari ester kolesterol (36%), fosfolipid (30%), trigliserida (16%), kolesterol (14%), dan asam lemak bebas (Murray, *et al.*, 2006).

#### 2.1.1 Lipoprotein

Lipoprotein merupakan jenis kompleks antara lipid dan protein yang berfungsi sebagai transport lipid di dalam darah. Partikel lipoprotein tersusun atas inti trigliserida atau ester kolesterol yang berbentuk bulat hidrofobik. Lipoprotein dikelilingi oleh fosfolipid, kolesterol, dan apolipoprotein amfipatik yang membentuk suatu lapisan (Dorland, 2011). Lipoprotein mengangkut lipid dari usus sebagai kilomikron dan dari hepar sebagai VLDL (*Very Low Density*

*Lipoprotein*) untuk dioksidasi di jaringan tubuh yang kemudian disimpan di jaringan adiposa (Murray, *et al.*, 2006).

Lipoprotein diklasifikasikan berdasarkan densitasnya yang didapat dari hasil ultrasentrifugasi menjadi beberapa jenis diantaranya adalah *high-density-lipoprotein* (HDL), *low-density-lipoprotein* (LDL), *intermediate-density-lipoprotein* (IDL), *very-low-density-lipoprotein* (VLDL), dan kilomikron (Adam, 2009). Metode ultrasentrifugasi merupakan proses pemisahan lipoprotein dari protein plasma yang lain. Masing-masing dari lipoprotein tersebut memiliki apolipoprotein atau apoprotein sebagai pelarut lemak agar bisa bersirkulasi di dalam darah (Adam, 2009).

Tabel 2.1 Jenis Lipoprotein dalam Plasma Normal

Lipoprotein	Fungsi Fisiologis	Komponen (%)				Apolipoprotein
		TG	Ch	Pl	Pr	
Kilomikron	Transport trigliserida dari sistem pencernaan ke jaringan dan hepar	90	5	3	2	B-48, C-II, C-III, A-IV, E
VLDL	Transport trigliserida endogen dari hepar ke jaringan	60	20	14	6	B-100, C-II, C-III, E
IDL	Merupakan bagian dari metabolisme VLDL	20	40	22	18	B-100, E
LDL	Transport kolesterol dari hepar ke jaringan	7	50	22	21	B-100
HDL	Transport kolesterol dari jaringan ke hepar	5	25	26	44	A-1, A-II, A-IV

Keterangan: TG (Trigliserida), Ch (Cholesterol), Pl (Phospholipid), Pr (Protein) (Kwan, *et al.*, 2007)

### 2.1.1.1 Kilomikron

Kilomikron merupakan jenis lipoprotein yang memiliki berat molekul terbesar dengan ukuran diameter 80-1200 nm dengan densitas terendah yakni <

0,95 g/ml. Kilomikron berperan dalam pengangkutan dan penyerapan lipid dari makanan yang berada di usus untuk diedarkan di seluruh tubuh. Lipid utama yang diangkut oleh kilomikron adalah trigliserida (Almatsier, 2004). Kilomikron dibentuk oleh kolesterol, trigliserol, dan protein. Selain itu juga berasal dari makanan yang masuk ke dalam tubuh (Stryer, 1996). Asam-asam lemak yang berasal dari trigliserol kilomikron disalurkan ke jaringan adiposa, jantung, dan otot (80%). Sedangkan sisanya sebanyak 20% disalurkan ke hepar. Proses penghilangan kilomikron dalam darah manusia berlangsung dalam kurang dari 1 jam (Murray, *et al.*, 2006).

#### **2.1.1.2 VLDL**

VLDL merupakan lipoprotein dengan berat molekul terbesar kedua setelah kilomikron yang memiliki diameter 40-80 nm dan densitas 0,95-1,006 g/ml. VLDL berperan dalam penyaluran asam lemak dari trigliserida VLDL ke adiposit dengan cara pengikatan VLDL untuk diinteraksikan dengan lipoprotein lipase (Murray, *et al.*, 2006). Goodman & Gilman (2012) menyatakan bahwa trigliserida yang terdapat dalam VLDL dihidrolisis oleh lipoprotein lipase menjadi VLDL remnant. VLDL remnant ditangkap oleh hepar melalui reseptor LDL yang berinteraksi dengan ApoB-100. Komponen trigliserida dalam VLDL diserap melalui proses endositosis oleh reseptor yang kemudian dihidrolisis oleh enzim lipase menjadi IDL dan LDL.

#### **2.1.1.3 IDL**

IDL adalah lipoprotein yang berperan sebagai perantara pada proses katabolisme VLDL menjadi LDL. VLDL yang telah dikatabolisme menjadi IDL akan diserap oleh hepar melalui reseptor LDL yang akan mengubah IDL menjadi LDL (Murray, *et al.*, 2006). IDL tersusun atas protein yang mengelilingi asam lemak di tubuh. IDL hanya mengandung kolesterol sebanyak 20% dan trigliserida sebesar 30%. IDL juga banyak mengandung apoprotein B & E (Paramawati & Hildegardis, 2016).

#### 2.1.1.4 LDL

LDL adalah jenis lipoprotein yang paling banyak mengandung kolesterol. Sebagian dari kolesterol yang terkandung dibawa ke hati, sedangkan sebagian yang lain mengalami oksidasi dan ditangkap oleh reseptor scavenger-A di makrofag yang kemudian diubah menjadi sel busa. Semakin banyak kadar LDL dalam plasma maka semakin banyak LDL yang akan mengalami oksidasi dan ditangkap oleh sel makrofag (Adam, 2009). Oksidasi LDL yang berlebih akan menyebabkan pengendapan di dinding pembuluh dan mengakibatkan aterosklerosis (Tjay & Rahardja, 2007).

Transfer kolesterol oleh LDL ke jaringan perifer berfungsi untuk dipecah menjadi energi ataupun disimpan. Reseptor Apo-B 100 berperan dalam pengaturan kadar kolesterol yang terdapat di dalam darah. Reseptor tersebut akan mengeluarkan LDL dari sirkulasi. Sehingga dapat dikatakan proses penyediaan kolesterol pada jaringan ekstra hepatic dinamakan jalur LDL reseptor, sedangkan proses pengembalian kolesterol ke hepar dari jaringan perifer dinamakan dengan transport kolesterol balik (Murray, *et al.*, 2006).

#### 2.1.1.5 HDL

HDL merupakan lipoprotein yang memiliki densitas tertinggi diantara yang lain. Kandungan protein yang dimiliki oleh HDL sangat tinggi dibandingkan dengan kandungan kolesterolnya sehingga HDL disebut sebagai lipoprotein terkecil diantara yang lain. HDL berperan dalam transport kolesterol bebas keluar jaringan atau biasa yang disebut dengan transport kolesterol balik (*reverse cholesterol transport*) pada metabolisme VLDL dan kilomikron. HDL mengandung sedikit kolesterol, di dalamnya terkandung Apo A, C, dan E sehingga disebut dengan HDL *nascent* yang menerima kolesterol bebas (Murray, *et al.*, 2006). Hepar mensintesis hdl untuk mengangkut kolesterol diedarkan ke seluruh tubuh melalui darah. Kadar HDL yang tinggi akan mencegah pengendapan lemak pada pembuluh darah (Wirahadikusumah, 1985).

### 2.1.2 Kolesterol

Kolesterol merupakan suatu zat lemak yang berasal dari hepar dan makanan. Kolesterol ada yang berbentuk kolesterol bebas dan ada juga yang merupakan gabungan dengan asam lemak rantai panjang sebagai kolesterol ester. Kolesterol termasuk ke dalam lipid amfipatik dan merupakan komponen struktural esensial pada membran sel dan lapisan luar lipoprotein plasma. Kolesterol disintesis di berbagai jaringan tubuh dari asetil-KoA dan merupakan prekursor semua steroid lain di tubuh termasuk kortikosteroid, hormon seks, asam empedu, dan vitamin D. Kolesterol dan ester kolesterol diedarkan ke banyak jaringan dengan bantuan LDL. Setelah itu kolesterol dari jaringan dibantu oleh HDL untuk diangkut ke hepar dan melakukan transport balik (Murray, *et al.*, 2006).

Sintesis kolesterol dalam tubuh terdiri dari lima tahapan antara lain sebagai berikut (Murray, *et al.*, 2006):

#### 1. Biosintesis Mevalonat

Dua molekul asetil-KoA bersatu membentuk asetoasetil-KoA dibantu oleh tiolase sitosol. Kemudian asetoasetil-KoA diubah menjadi HMG-KoA (3-hidroksi-3metilglutaril-KoA) dibantu oleh HMG-KoA sintase. HMG-KoA direduksi menjadi mevalonat oleh NADPH yang dikatalis oleh HMG-KoA reduktase.

#### 2. Pembentukan Unit Isoprenoid

Unit isoprenoid dibentuk oleh mevalonat dengan cara menghilangkan CO<sub>2</sub> sehingga terbentuk isoprenoid difosfat.

#### 3. Pembentukan Skualen

Enam unit isoprenoid dikondensasi hingga terbentuk skualen.

#### 4. Pembentukan Lanosterol

Skualen mengalami siklisasi sehingga menghasilkan senyawa steroid induk (lanosterol) yang dikatalis oleh oksidoskualen.

#### 5. Pembentukan Kolesterol

Kolesterol dibentuk dari lanosterol di membran retikulum endoplasma.

### **2.1.3 Metabolisme Lipid**

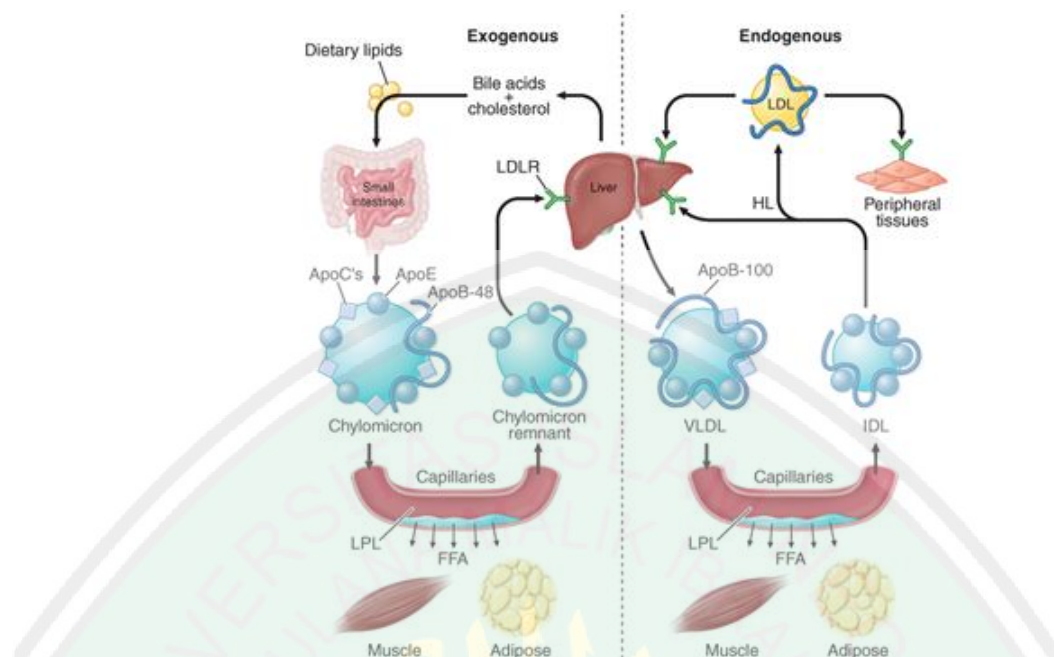
#### **2.1.3.1 Jalur Eksogen**

Metabolisme lipid melalui jalur ini dimulai dengan pengangkutan trigliserida dan kolesterol oleh kilomikron dalam aliran darah. selanjutnya trigliserida akan mengalami penguraian oleh enzim lipoprotein lipase membentuk kilomikron remnan dan asam lemak bebas. Asam lemak bebas akan diubah menjadi trigliserida kembali setelah menembus jaringan lemak atau sel dalam otot. Trigliserida tersebut digunakan sebagai cadangan energi sedangkan kolesterol bebas yang dihasilkan dari kilomikron remnan dimetabolisme dalam hepar (Cakrawati & Mustika, 2012).

Sebagian kolesterol yang ada di hepar diubah menjadi asam empedu yang kemudian dikeluarkan ke dalam usus yang memiliki fungsi seperti detergen untuk proses penyerapan lemak dari makanan. Sedangkan sebagian yang lain dikeluarkan melalui saluran empedu tanpa mengubahnya menjadi asam empedu yang kemudian oleh hepar akan didistribusikan melalui jalur endogen ke jaringan tubuh lainnya. Adapun kilomikron yang lemaknya telah diambil (berlebih) akan dibuang oleh hepar dari aliran darah (Cakrawati & Mustika, 2012).

#### **2.1.3.2 Jalur Endogen**

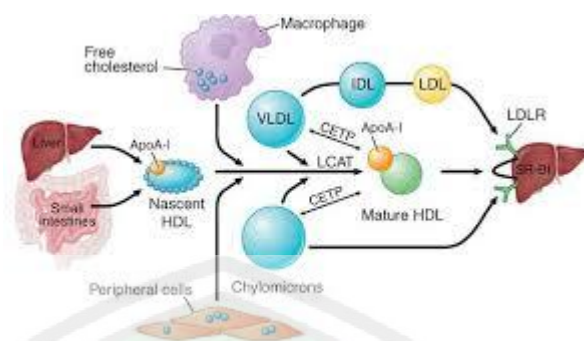
Metabolisme lipid melalui jalur ini dimulai dengan sintesis trigliserida dan kolesterol oleh hepar yang kemudian diedarkan melalui aliran darah dalam bentuk VLDL. VLDL akan dimetabolisme menjadi IDL dan LDL oleh enzim lipoprotein melalui proses hidrolisis yang mengandung banyak kolesterol (Cakrawati & Mustika, 2012). Kolesterol yang tidak dibutuhkan kemudian akan dilepaskan ke dalam darah dengan berikatan dengan HDL. Kelebihan kolesterol dibuang dengan dioksidasi yang kemudian akan ditangkap oleh reseptor scavenger-A (SR-A) dalam makrofag membentuk sel busa (*foam cell*). Di sisi lain, kilomikron mengirim trigliserida ke sel-sel dalam tubuh dan membawa lemak-lemak dari usus yang besar dari makanan. Sedangkan LDL mengirim kolesterol yang dibutuhkan ke sel-sel tubuh. Adapun kolesterol didapat dari pemecahan IDL dari bentuk sebelumnya yakni VLDL (Adam, 2009).



Gambar 2.1 Jalur Eksogen dan Endogen pada Metabolisme Lipid (Longo, *et al.*, 2011)

### 2.1.3.3 Jalur Reverse Cholesterol Transport

HDL merupakan lipoprotein yang kaya akan protein namun rendah kadar kolesterolnya memiliki apolipoprotein A, C, dan E. HDL tersebut dinamakan HDL *nascent* yang berasal dari usus halus dan hepar. HDL tersebut akan mengambil kolesterol yang tersimpan di dalam makrofag dan mengubahnya menjadi HDL dewasa. Kolesterol yang telah diambil dengan bantuan enzim *Lecithin cholesterol acyltransferase* (LCAT) tersebut akan diesterifikasi menjadi kolesterol ester. Kemudian kolesterol ester ditransportasikan melalui dua jalur. Pada jalur pertama, reseptor kolesterol-HDL akan menangkap kolesterol ester pada hepar. Sedangkan pada jalur kedua, CETP (*Cholesterol Ester Transfer Protein*) akan menukar kolesterol ester yang berada pada HDL dengan trigliserida dari VLDL dan IDL (Kwiterovich, 2000).



Gambar 2.2 Jalur *Reverse Cholesterol Transport* (Dan, 2011)

## 2.2 Hiperkolesterolemia

Hiperlipidemia merupakan kelainan yang terjadi pada metabolisme lipid yang ditandai dengan adanya peningkatan kadar fraksi lipid kolesterol total, LDL, dan trigliserida (Mansjoer, *et al.*, 2005). Hiperlipidemia merupakan faktor risiko terjadinya penyakit kardiovaskuler karena Hiperlipidemia dapat menyebabkan aterosklerosis (Gupta, *et al.*, 2017). Umumnya hiperlipidemia terjadi karena beberapa mekanisme yang diawali dengan (1) penurunan ekskresi dari trigliserida yang kaya dengan lipoprotein yang diikuti dengan inhibisi lipoprotein lipase dan trigliserida lipase. (2) terjadinya kelainan metabolisme lemak yang dikarenakan oleh defisiensi carnitine, hipertiroidisme, dan resistensi insulin. (3) terjadinya kenaikan sintesis lipoprotein untuk mempertahankan tekanan onkotik plasma pada penderita sindrom nefrotik yang disebabkan oleh penurunan kadar protein albumin dalam sirkulasi (Majid, 2007). Moor, *et al* (2017) dalam literturnya menyebutkan bahwa terdapat tiga tipe hiperlipidemia yakni hiperkolesterolemia, hipertrigliseridemia, dan hiperlipidemia campuran.

Hiperkolesterolemia merupakan salah satu kondisi hiperlipidemia dimana terdapat kenaikan kadar kolesterol total dalam darah di atas batas normal. Kolesterol total adalah jumlah kolesterol yang dibawa oleh semua partikel pembawa kolesterol dalam darah seperti HDL, LDL, dan VLDL (Silalahi, 2006). Murray, *et al.* (2006) menambahkan bahwasannya peningkatan kadar kolesterol total dalam darah dapat disebabkan karena penyerapan lipoprotein oleh reseptor LDL atau SR-B1 yang mengandung kolesterol, sintesis kolesterol, penyerapan

kolesterol bebas dari lipoprotein ke membran sel, dan hidrolisis ester kolesterol oleh enzim ester kolesterol hidrolase.

Kolesterol LDL akan bersirkulasi dalam tubuh selama dua setengah hari yang kemudian akan berikatan dengan reseptor LDL di sel-sel hati untuk diendositosis. LDL dalam tubuh akan hilang kemudian akan terjadi sintesis kolesterol oleh liver disupresi oleh mekanisme HMG KoA reduktase. Pada penderita hiperkolesterolemia familial akan terjadi gangguan pada fungsi reseptor LDL sehingga LDL bersirkulasi lebih lama yakni empat setengah hari. Dengan demikian kadar LDL akan mengalami kenaikan, namun lipoprotein lainnya tetap dalam kadar yang normal. Pada mutasi dari ApoB terjadi penurunan ikatan partikel LDL dengan reseptor sehingga terjadi kenaikan kadar LDL (Harikumar, *et al.* 2013)

Hiperkolesterolemia menjadi salah satu faktor resiko terbentuknya plak aterosklerosis karena menumpuknya kolesterol dalam aliran darah. LDL merupakan jenis lipoprotein yang mudah mengalami oksidasi di pembuluh darah. Hal tersebut dapat menyebabkan disfungsi pada endotel. Kelainan tersebut dicirikan dengan adanya bercak lemak dan reaksi inflamasi yang menyebabkan peningkatan permeabilitas, pembentukan plak, dan dapat memperparah oksidasi LDL yang tidak bergantung reseptor di endotel pembuluh darah. Kondisi tersebut dapat menyebabkan komplikasi lebih lanjut berupa trombosis ataupun oklusi arteri (Price & Wilson, 2006).

Adapun faktor penyebab terjadinya hiperkolesterolemia adalah dari makanan yang dikonsumsi. Makanan yang rendah serat namun tinggi lemak dapat meningkatkan kadar kolesterol dalam tubuh. Selain itu gaya hidup yang tidak sehat seperti merokok dan kurangnya olahraga dapat meningkatkan faktor resiko terjadinya hiperkolesterolemia (Utaminingsih, 2009).

### **2.3 Obat Statin**

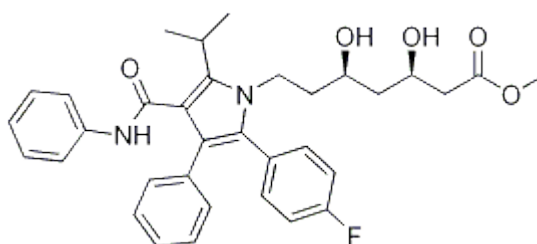
Statin adalah jenis obat yang digunakan untuk menurunkan kolesterol darah. Obat ini digunakan sebagai pilihan pertama dalam pengobatan penyakit dislipidemia (McFarland, *et al.*, 2014). Selain itu obat golongan statin ini juga

berperan dalam upaya pencegahan dari penyakit kardiovaskuler berupa aterosklerosis (Desai, *et al.*, 2014). Istvan & Deisenhofer (2001) mengklasifikasikan statin menjadi 2 tipe antara lain statin tipe 1 dan statin tipe 2. Statin tipe 1 biasa disebut dengan statin alami karena dapat disintesis secara alami oleh berbagai mikroorganisme. Yang termasuk ke dalam statin tipe 1 adalah compactin, lovastatin, pravastatin, dan simvastatin. Sedangkan statin tipe 2 merupakan statin sintesis (buatan) yang terdiri dari fluvastatin, atorvastatin, cerivastatin, dan resuvastatin.

Obat golongan ini bekerja dengan cara menghambat kerja dari reduktase 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzym (HMG-CoA) dalam mensintesis mevalonat (Wells, *et al.*, 2015). Menurut Chakravarti & Sahai (2004), terdapat beberapa mekanisme pengontrolan kolesterol pada darah oleh statin antara lain sebagai berikut: (1) menurunkan kadar LDL kolesterol dengan beberapa cara diantaranya adalah meningkatkan katabolisme dari LDL kolesterol, mengurangi produksi VLDL, dan meningkatkan pembuangan LDL. (2) meningkatkan kadar HDL kolesterol dalam darah. (3) menurunkan kadar trigliserida dalam darah.

### 2.3.1 Atorvastatin

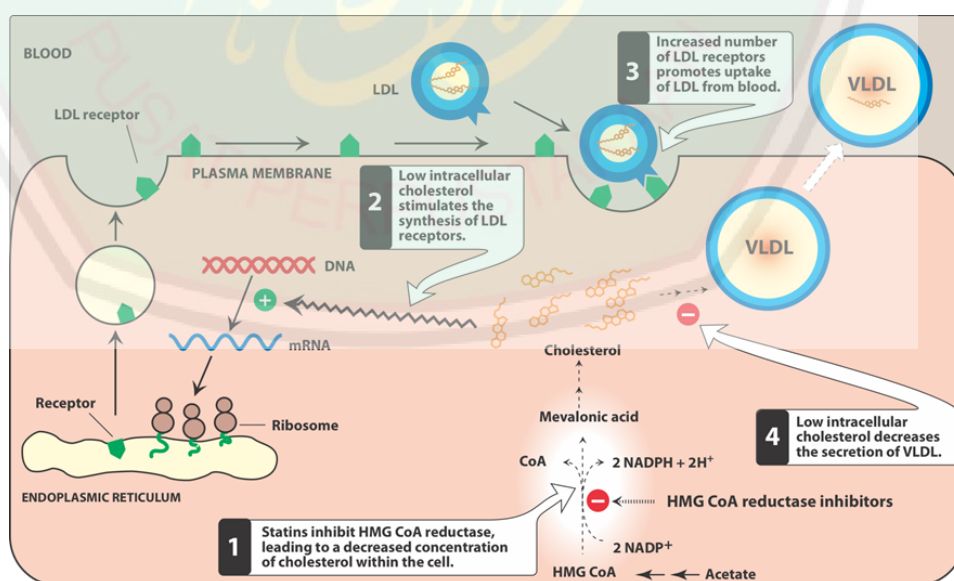
Atorvastatin merupakan salah satu jenis obat yang termasuk ke dalam golongan statin yang diperjualbelikan untuk pengobatan dislipidemia. Atorvastatin sangat efektif menghambat enzim HMG KoA reduktase dalam proses penurunan kadar kolesterol total pada penderita dislipidemia (Dewi, 2016). Selain itu, menurut Funatsu, *et al.* (2001) atorvastatin juga dapat menurunkan kadar LDL dan trigliserida. Atorvastatin dapat menginduksi LDL reseptor untuk membersihkan trigliserida yang kaya lipoprotein.



Gambar 2.3 Struktur kimia atorvastatin (Goodman & Gilman, 2012)

### 2.3.2 Statin Sebagai Inhibitor HMG KoA Reduktase

Obat golongan statin merupakan inhibitor kompetitif bagi enzim HMG KoA reduktase. Statin memiliki cincin lakton yang memiliki struktur yang mirip dengan substrat HMG KoA reduktase. Saat cincin lakton milik statin ini terbuka maka akan berikatan dengan substrat HMG KoA reduktase. Cincin lakton tersebut akan memblokir sisi aktif dari enzim tersebut. Dengan demikian produksi mevalonat sebagai bahan baku sintesis kolesterol dalam tubuh menjadi terhambat (Seenivasan, *et al.*, 2008).



Gambar 2.4. Mekanisme Statin Bekerja dalam Menghambat HMG KoA Reduktase (Harvey, 2012).

## 2.4 Ekstraksi Senyawa Kimia

Tumbuhan-tumbuhan yang diciptakan di muka bumi pasti memiliki manfaat tersendiri. Di dalamnya terkandung berbagai jenis senyawa. Untuk mengetahui manfaat dari senyawa-senyawa tersebut, kita perlu melakukan pengujian terhadap senyawa tersebut. Sebelum melakukan pengujian, hendaknya kita melakukan ekstraksi pada tumbuhan tersebut. Ekstraksi dapat diartikan sebagai suatu proses penarikan senyawa metabolit sekunder dengan bantuan pelarut (Harborne, 1987). Adapun prinsip dari ekstraksi adalah penarikan komponen fisik berdasarkan dengan beda kelarutan dan beda konsentrasi (Risyaad & Siswarni, 2016). Nurhaningtyas, *et al* (2005) menambahkan bahwa ekstraksi merupakan proses penarikan bahan aktif yang ada pada sel ataupun jaringan tanaman menggunakan pelarut yang sesuai dengan sifat polaritasnya.

Beberapa faktor yang mempengaruhi kualitas ekstraksi antara lain adalah jenis pelarut, jenis bahan, dan metode dalam melakukan ekstraksi. Sedangkan faktor-faktor yang mempengaruhi hasil dari ekstraksi meliputi tipe ekstraksi, waktu ekstraksi, ukuran bahan, temperatur, pH, jenis pelarut, konsentrasi pelarut, dan polaritas. Pada ekstraksi biasanya digunakan bahan ukuran kecil karena hal tersebut dapat memperluas bidang permukaan bahan sehingga pelarut akan lebih cepat masuk ke dalam bahan dan ekstraksi pun akan berlangsung lebih cepat (Tiwari & Mandeep, 2011). Harborne (1987) menambahkan bahwa ekstraksi akan lebih cepat dilakukan pada suhu tinggi namun suhu yang tinggi juga dapat mengakibatkan komponen mengalami kerusakan.

## 2.5 Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

### 2.5.1 Klasifikasi Kayu Manis

*Cinnamomum burmannii* merupakan pohon hutan asli Asia Tenggara yang termasuk rempah-rempah, namun juga biasanya dimanfaatkan sebagai tanaman hias (Apriani, 2012). *C. Burmannii* berasal dari Famili Lauraceae yang disebut sebagai *padang cassia*. Orang Indonesia umumnya menyebut tanaman ini dengan nama kayu manis (BPOM, 2009). Adapun klasifikasi *C. Burmannii* menurut Dasuki (1991) adalah sebagai berikut, Kingdom: Plantae, Divisi: Spermatophyta,

Subdivisi: Magnoliophyta, Kelas: Magnoliidae, Ordo: Laurales, Famili: Lauraceae, Genus: *Cinnamomum*, Spesies: *Cinnamomum burmannii* Nees & T. Nees.

### 2.5.2 Deskripsi Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

Umumnya tanaman ini memiliki tinggi berkisar 5-15 meter. Batangnya memiliki kulit yang berwarna abu-abu tua, sedangkan kayunya berwarna coklat muda. Batang kayu manis memiliki aroma yang khas. Morfologi daun dari *C. burmannii* antara lain daunnya tunggal dan memiliki tekstur yang kaku seperti kulit. Panjang tangkai daun umumnya 0,5-1,5 cm yang letaknya berseling pada batang. Warna daun mudanya adalah merah pucat sedangkan warna daun yang sudah tua adalah hijau dengan permukaan atas daun berwarna hijau dan tekstur licin. Pada permukaan bawah daun terdapat tepung sehingga berwarna keabuan. Bentuk daun dari tanaman ini adalah elips memanjang dengan ujung dan pangkal yang meruncing. Tepi daunnya rata dengan tulang daun yang melengkung (Dalimartha, 2009).

### 2.5.3 Manfaat Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

*C. burmannii* memiliki beberapa khasiat dan efek farmakologis antara lain antiinflamasi, antibakteria, antioksidan, antidiabetes, penurun kolesterol dan lipid, anticancer (Rao & Gan, 2014). Kulit batang kayunya memiliki efek farmakologis seperti sebagai hipokolesterolemia, hipoglikemik, dan sebagai obat penyakit kardiovaskular (Ravindran, *et al.*, 2004). Sanggal (2011) menambahkan bahwa kulit batang kayu manis juga dapat dijadikan sebagai imunomodulator, obat penyakit diare dan gangguan pencernaan lain.

Kayu manis mengandung beberapa senyawa aktif, salah satunya adalah senyawa polifenol. Turunan senyawa polifenol yang terkandung pada kulit batang kayu manis antara lain rutin, quercetin, catechin, isorhamnetin, dan kaempferol (Rao & Gan, 2014). Selain itu menurut Baker, *et al.* (2008), pada kulit batang kayu manis juga terdapat senyawa-senyawa bioaktif seperti *cinnamic acid*, *cinnamate*, *cinnamaldehyde*, dan *essential oil*. Dalam literatur Coumarin (2006),

kulit batang kayu manis yang kering banyak dimanfaatkan sebagai penurun kadar kolesterol darah dengan cara menyeduhnya bersama air teh.

## **2.6 Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa*)**

### **2.6.1 Klasifikasi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa*)**

Bawang dayak adalah tanaman khas Kalimantan Tengah. Tanaman ini banyak tumbuh di daerah tropis yang memiliki ketinggian sekitar 600-1500 mdpl. Bawang dayak termasuk ke dalam tanaman terna karena memiliki tinggi berkisar antara 26-50 cm (Galingging, 2009). Adapun klasifikasi tanaman bawang dayak menurut Conquist (1981) adalah sebagai berikut, Kingdom: Plantae, Divisi: Magnoliophyta, Kelas: Liliopsida, Sub Kelas: Liliidae, Ordo: Liliales, Familia: Iridaceae, Genus: *Eleutherine bulbosa* (Mill). Urb, Sinonim: *Eleutherine americana* Merr. (Heyne, 1987).

### **2.6.2 Deskripsi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa*)**

*E. bulbosa* memiliki warna khas pada umbinya yakni berwarna merah menyala dengan permukaan umbi yang licin. Daunnya berwarna hijau dengan bentuk pita. Bentuk tulang daun sejajar dengan tepi daun yang licin (Galingging, 2009). Akar bawang dayak termasuk ke dalam akar serabut yang memiliki warna coklat muda. Bawang dayak memiliki bunga berwarna putih yang termasuk ke dalam bunga majemuk tumbuh di ujung. Pada bunga bawang dayak terdapat putik yang berbentuk jarum berwarna putih kekuningan dengan ukuran kurang lebih 4 mm. Umbi pada tanaman ini berbentuk bulat telur memanjang dengan warna merah berlapis menyerupai bawang merah (Krismawati, 2004)

### **2.6.3 Manfaat Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa*)**

Hasil penelitian Hara, *et al* (1997), pada umbi bawang dayak terkandung senyawa-senyawa bioaktif seperti *naphthoquinonens* dan senyawa-senyawa turunannya antara lain *elecanicin*, *eleutherine*, *eletherol*, *eletherinol* yang dikenal sebagai antifungal, antiparasitik, dan antimikroba. Selain itu, senyawa tersebut juga memiliki bioaktivitas sebagai antikanker dan antioksidan yang

biasanya terdapat di dalam sel vakuola dalam bentuk glikosida. Penelitian lain menunjukkan bahwa pada umbi bawang dayak terkandung senyawa-senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid, saponin, tanin, glikosida, kuinon, dan triterpenoid. Senyawa-senyawa tersebut berpotensi untuk dikembangkan sebagai tanaman obat misalnya seperti alkaloid, glikosida, dan flavonoid yang memiliki peran sebagai hipoglikemik (Galingging, 2009).

Bawang dayak mengandung senyawa flavonoid yang bersifat hipolipidemik yang artinya dapat menurunkan kadar kolesterol dalam tubuh (Rosa, 2013). Mekanisme penurunan kadar kolesterol dalam tubuh oleh senyawa flavonoid ini ada beberapa macam antara lain menghambat aktivitas dari enzim HMG KoA reduktase (Metwally, *et al.*, 2009), menggumpalkan platelet (Syah, 2006), menghambat kerja enzim *acyl-CoA cholesterol acyltransferase* (ACAT) pada usus dan hepar (Maryani, *et al.*, 2016), serta meningkatkan sekresi empedu (Harikumar, *et al.*, 2003). Ranti, *et al.* (2013) juga menyebutkan bahwa pada bawang dayak juga terkandung senyawa fitosterol yang dapat menghambat penyerapan kolesterol pada usus.

## **2.7 Uji *In Silico* dengan *Molecular Docking***

### **2.7.1 Pengertian**

Jenis pengujian *in silico* merupakan jenis pengujian yang membutuhkan bantuan perangkat komputer yang dikembangkan secara luas untuk pengembangan-pengembangan dalam bidang farmakologi. Terdapat beberapa pengujian yang dapat dilakukan dalam pengujian *in silico* antara lain meliputi penggunaan database, pengolahan data, penambatan molekuler, pemodelan, dan identifikasi kekerabatan (Ekins, *et al.*, 2017).

Uji *in silico* merupakan jenis metode pengujian yang memanfaatkan bantuan perangkat komputer yang saat ini banyak digunakan dan dikembangkan. Metode jenis ini biasanya digunakan untuk mengembangkan penelitian-penelitian di bidang farmakologi. Salah satu metode yang banyak digunakan dalam uji *in silico* ini adalah metode *molecular docking* dimana pada metode ini peneliti dapat mengetahui ikatan terbaik yang terjadi antara ligan dengan reseptor yang berupa

protein. Dengan metode ini peneliti dapat mengetahui posisi optimal molekul (ligan) yang tepat secara geometris dan energi ikatan dengan sisi aktif dan protein target (Mukesh & Rakesh, 2011).

Metode *molecular docking* pada uji *in silico* ini menghasilkan data berupa interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor. Interaksi tersebut akan menghasilkan nilai energi bebas ( $\Delta G$ ) atau *binding affinity* (Onkara, *et al.*, 2013). Nilai energi bebas merupakan parameter yang dijadikan untuk mengetahui kestabilan ikatan antara ligan dengan reseptor. Semakin rendah nilai energi bebas maka semakin stabil ikatan yang terbentuk antara ligan dengan reseptor (Arwansyah & Hasrianti, 2014).

## 2.7.2 Database Uji *In Silico*

### 2.7.2.1 Protein Data Bank

Database ini merupakan database online yang dapat diakses melalui link <https://www.rcsb.org/>. Pada database ini tersedia berbagai bentuk struktur mulai dari protein yang berukuran kecil hingga molekul kompleks seperti ribosom. Database ini menyediakan struktur 3D dari makromolekul biologis seperti protein yang berjumlah hingga 32.500 molekul dari berbagai jenis organisme seperti manusia, tanaman, hewan, bahkan bakteri. Molekul yang didapat dari database inilah yang akan digunakan sebagai reseptor pada uji *in silico* (Funkhouser, 2007).

### 2.7.2.2 PubChem

Pubchem merupakan database yang berisi berbagai molekul dalam bentuk tiga dimensi (3D) yang dapat diakses melalui link <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Sumber dari database ini berasal dari peneliti-peneliti yang melakukan penelitian di bidang biologi molekuler di dunia. Data dari database ini digunakan sebagai ligan dalam uji *in silico* (DeLano & Bromberg, 2004).

## 2.7.3 Perangkat Lunak Uji *In Silico*

### 2.7.3.1 PyMOL

PyMOL merupakan software offline yang digunakan untuk memvisualisasi struktur molekul yang dimiliki. PyMOL dapat memvisualisasi berbagai jenis molekul dari yang terkecil hingga makromolekul seperti protein. Visualisasi yang ditampilkan oleh software ini adalah struktur 3 dimensi dengan berbagai pilihan bentuk dan warna (DeLano & Bromberg, 2004).

### 2.7.3.2 AutoDock Vina

AutoDock Vina merupakan sebuah software offline yang digunakan untuk *molecular docking* secara cepat dan akurat. Dengan software ini, peneliti dapat memprediksi bentuk dan nilai energi dari ikatan yang terbentuk antara ligan dengan reseptor protein target. Namun selain dapat digunakan untuk *molecular docking*, software ini juga dapat digunakan untuk *virtual screening* (Sandeep, *et al.*, 2011).

### 2.7.3.3 Discovery Studio Visualizer

Software ini dioperasikan peneliti untuk memvisualisasikan struktur molekul yang telah di-*docking*-kan. Software ini dapat menggambarkan visualisasi dengan jelas dan kualitas tinggi dalam menggambarkan struktur senyawa sehingga peneliti mendapatkan gambaran jelas dari hasil *molecular docking* (Accelrys Enterprise Platform, 2005).

### 2.7.3.4 Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS)

PASS merupakan software online yang digunakan untuk memprediksi aktivitas biologis yang terjadi pada suatu senyawa (Jamkhande, 2014). Analisis yang dilakukan oleh software online ini berdasarkan pada *Structure Activity Relationship* (SAR). Analisis ini dilakukan dengan cara menghubungkan semua hasil percobaan mengenai aktivitas yang telah dilakukan oleh senyawa tersebut (Sadym, *et al.*, 2003). Database software online ini sudah mencapai lebih dari 205.000 senyawa yang menunjukkan lebih dari 3.750 macam aktivitas biologi

(Pramely, 2012). Aktivitas biologis tersebut antara lain seperti efek farmakologis, perannya dalam suatu mekanisme proses dalam tubuh, serta memiliki sifat-sifat toksisitas tertentu (Lagunin, *et al.*, 2000).

Hasil analisis dari software ini berupa nilai Pa (*Probable Activity*) dan Pi (*Probably Inactivity*). Nilai Pa menunjukkan kemungkinan aktif aktivitas biologi tersebut, sedangkan nilai Pi menunjukkan kemungkinan tidak aktifnya aktivitas biologi tersebut. Nilai Pa dan Pi yang didapat berkisar antara 0,000 hingga 1,000. Keterangan dari nilai Pa dan Pi dari software tersebut adalah sebagai berikut (Pramely, 2012):

- a. Jika senyawa memiliki nilai  $Pa > Pi$  maka senyawa tersebut berkemungkinan tergolong senyawa yang baik
- b. Jika senyawa memiliki nilai  $Pa > 0,7$  maka senyawa tersebut berkemungkinan memiliki aktivitas eksperimental yang tinggi
- c. Jika senyawa memiliki nilai Pa berkisar antara 0,5-0,7 maka senyawa tersebut berkemungkinan memiliki aktivitas eksperimental yang rendah, tetapi senyawa tersebut juga berkemungkinan tidak sama dengan obat farmasi yang sudah ada
- d. Jika senyawa memiliki nilai  $Pa < 0,5$  maka senyawa tersebut menunjukkan aktivitas secara eksperimental rendah (Pramely, 2012).

#### 2.7.3.5 PreADMET

PreADMET merupakan software online yang digunakan untuk mendapatkan informasi terkait kemampuan senyawa dalam absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan sifat toksik (ADMET) (Kang, 2005). Terdapat beberapa pengujian yang dapat dilakukan menggunakan software ini salah satunya adalah uji HIA (*Human Intestinal Absorption*). Uji ini digunakan untuk mengetahui kemampuan senyawa dapat terabsorpsi di dinding usus. Umumnya uji HIA ini dilakukan dalam penelitian-penelitian mengenai desain obat-obat baru (Wessel & Jurs, 1998).

### 2.7.3.6 Lipinski Rule of Five

Software ini merupakan software online yang dapat diakses melalui link <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>. Software ini digunakan untuk menguji potensi suatu senyawa untuk dijadikan sebagai kandidat obat. Nilai tersebut biasa disebut dengan nilai *Drug-likeness*. Ada 5 aturan yang harus dipenuhi oleh senyawa sehingga senyawa tersebut dapat dinyatakan mirip dengan obat oral. Aturan tersebut antara lain bahwa senyawa harus mempunyai massa molekul relatif kurang dari 500 g/mol; nilai koefisien partisi (logP) yang dimiliki harus kurang dari lima; jumlah donor ikatan hidrogen tidak lebih dari 5; dan akseptor ikatan hidrogen tidak lebih dari 10 (Wulandari, 2010).



## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan dua jenis penelitian yakni penelitian secara *in vivo* dan *in silico*. Penelitian *in vivo* yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sebanyak 8 perlakuan dan 4 ulangan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol 96% kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) terhadap kadar kolesterol total serum darah mencit (*Mus musculus*) yang sebelumnya telah diinduksi *High Fat Diet* (HFD). Jenis penelitian yang kedua adalah penelitian secara *in silico* yang dilakukan dengan metode deskriptif eksploratif karena penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa aktif dari kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) yang efektif dapat menghambat reseptor HMG-KoA reduktase.

### **3.2 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei hingga September 2019. Adapun penelitian ini dilakukan di tiga tempat yakni di Laboratorium Fisiologi Hewan dan Laboratorium Hewan Coba Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Penelitian juga dilakukan di Laboratorium Biomedik Universitas Muhammadiyah Malang (Lampiran 3).

### **3.3 Variabel Penelitian**

#### **3.3.1 Uji *In Vivo***

##### **1. Variabel Bebas**

Variabel bebas dari penelitian ini adalah dosis kombinasi ekstrak 96% etanol kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*).

## 2. Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah kadar kolesterol total serum darah mencit (*Mus musculus*).

## 3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol dari penelitian ini antara lain adalah:

- a. Hewan coba mencit (*Mus musculus*) jantan strain *Balb/C*
- b. Sebelum induksi dilakukan aklimatisasi mencit selama 7 hari dengan pemberian tempat hidup yang sama. Pakan yang diberikan adalah BR-1 dan minum air mineral
- c. Induksi *High Fat Diet* (HFD) dilakukan melalui pakan, minum, dan oral
- d. Pemberian ekstrak 96% etanol *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* dilakukan secara oral.

### 3.3.2 Uji *In Silico*

#### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah senyawa aktif dari kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) yang disebut sebagai ligan.

#### 2. Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah nilai uji PASS (*Prediction of Activity Spectra for Substance*) tiap senyawa aktif, persentase HIA (*Human Intestinal Absorption*), kalkulasi nilai *drug-likeness* tiap senyawa, nilai energi bebas (*binding affinity*), dan *binding pose* antara ligan dengan reseptor (HMG-KoA reduktase).

#### 3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol penelitian ini adalah metode yang digunakan yakni *molecular docking* dan reseptor yang digunakan yakni HMG-KoA reduktase.

### 3.4 Populasi dan Sampel

Sampel dari penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan strain *Balb/C* dengan berat 25 gram sebanyak 8 perlakuan dan 4 ulangan dengan rincian sebagai berikut:

1. N (Normal) = tanpa diinduksi HFD dan pemberian ekstrak selama 120 hari
2. K- (kontrol negatif) = diinduksi HFD selama 120 hari
3. K+ (kontrol positif) = diinduksi HFD selama 120 hari dan pemberian atorvastatin dengan dosis 0,088 mg/25 grBB mencit pada hari ke-91
4. P1 (perlakuan 1) = diinduksi HFD selama 120 hari dan pemberian ekstrak etanol 96% kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) 10,5 mg dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) 0 mg (persentase kombinasi 100% : 0%) pada hari ke-91
5. P2 (perlakuan 2) = diinduksi HFD selama 120 hari dan pemberian ekstrak etanol 96% kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) 7,875 mg dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) 2,625 mg (persentase kombinasi 75% : 25%) pada hari ke-91
6. P3 (perlakuan 3) = diinduksi HFD selama 120 hari dan pemberian ekstrak etanol 96% kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) 5,25 mg dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) 5,25 mg (persentase kombinasi 50% : 50%) pada hari ke-91
7. P4 (perlakuan 4) = diinduksi HFD selama 120 hari dan pemberian ekstrak etanol 96% kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) 2,625 mg dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) 7,875 mg (persentase kombinasi 25% : 75%) pada hari ke-91
8. P5 (perlakuan 5) = diinduksi HFD selama 120 hari dan pemberian ekstrak etanol 96% kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) 0 mg dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) 10,5 mg (persentase kombinasi 0% : 100%) pada hari ke-91.

### **3.5 Alat dan Bahan**

#### **3.5.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam uji *in vivo* dalam penelitian ini meliputi kandang hewan coba, tempat pakan dan minum mencit, sonde lambung volume 1 ml/1 cc, *safety tools* (masker, *gloves*, jas laboratorium), gelas beker 100 cc, *stirrer*, gelas ukur 100 cc, neraca analitik, jerigen 1000 ml, mikropipet, tip, kertas saring, papan parafin, satu set alat bedah, spuit 1 ml, sentrifus, spektrofotometer, tube 2 ml, dan kuvet. Sedangkan alat-alat yang digunakan dalam uji *in silico* pada penelitian ini meliputi laptop Lenovo B40-80 (Intel Core i3, Windows 64bit, RAM 4GB) dan beberapa software offline maupun online untuk uji *in silico* antara lain PASS online, PreADMET, Autodock Vina pada PyRx, PyMOL, Discovery Studio, SCFBio, dan LigPlot.

#### **3.5.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam uji *in vivo* pada penelitian ini meliputi mencit (*Mus musulus*), BR-1, air mineral, kertas label, plastik, aluminium foil, kuning telur puyuh, lemak sapi, *propylthiourasil* (PTU), kolesterol, etanol 96%, kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*), atorvastatin, kolesterol standar, dan monoreagent kolesterol.

Sedangkan bahan-bahan yang digunakan dalam uji *in silico* pada penelitian ini meliputi struktur 3D ligan rutin, quercetin, catechin, isorhamnetin, kaempferol *cinnamic acid*, *cinnamate*, *cinnamaldehyde*, *elecanicin*, *eleutherine*, *eleutherol*, dan *eleutherin* yang diunduh dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> dengan format .pdb dan struktur 3D reseptor HMG-KoA reduktase (PDB ID = 1HWK) yang diunduh dari <https://www.rcsb.org/>.

### **3.6 Prosedur Penelitian**

#### **3.6.1 Uji *In Vivo***

##### **3.6.1.1 Aklimatisasi Hewan Coba**

Sebelum dilakukan pengujian *in vivo* pada hewan coba, dilakukan tahap persiapan hewan coba terlebih dahulu. Pada tahap ini hewan coba diaklimatisasi

selama 7 hari agar hewan coba dapat beradaptasi dengan lingkungan barunya. Hewan coba ditempatkan pada kandang yang telah dilengkapi dengan tempat pakan, minum, dan juga sekam. Pada tahap aklimatisasi ini hewan coba diberi pakan BR-1 dan minum air mineral setiap hari, sedangkan sekam dilakukan penggantian setiap tiga hari sekali. Adapun hewan coba yang telah teraklimatisasi menurut Wulansari, *et al.* (2017) akan menunjukkan ciri-ciri antara lain bertingkat laku lincah dan aktif, memiliki nafsu makan yang baik sehingga berat badan tidak mengalami penurunan, memiliki mata yang jernih, bulu mengkilat, serta feses yang dikeluarkan tidak lembek.

#### **3.6.1.2 Pembuatan dan Pemberian *High Fat Diet* (HFD)**

Induksi *High Fat Diet* (HFD) pada penelitian ini dilakukan dengan komposisi antara lain adalah kuning telur puyuh (Kartika, 2018), lemak sapi (Darwin & Elfi, 2017), dan PTU 0,01% yang dilarutkan dalam air minum (Kharisma, *et al.*, 2012) yang diberikan secara adlibitum. Selain itu, mengacu pada literatur Pramitasari (2012), dilakukan penambahan komposisi berupa kolesterol murni 17,5 mg/25 grBB mencit yang dilarutkan dalam minyak 0,3 ml dan diberikan secara oral. Semua bahan HFD yang akan diinduksikan lewat pakan dicampurkan terlebih dahulu kemudian diberikan kepada hewan coba pada kelompok perlakuan K-, K+, P1, P2, P3, P4, dan P5 selama 120 hari setelah tahap aklimatisasi hewan coba setiap pukul 08.00 WIB.

#### **3.6.1.3 Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa*)**

Bahan yang digunakan untuk pembuatan ekstrak adalah kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan umbi lapis bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) yang didapatkan dari UPT Materia Medica, Batu, Jawa Timur. Simplisia tersebut merupakan hasil pengolahan kedua bahan yang mulanya dicuci dengan air mengalir kemudian dipotong kecil-kecil lalu dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C hingga kadar air dari kedua bahan tersebut hilang. Selanjutnya

simplisia dari kedua bahan tersebut dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk dan diayak menggunakan saringan berukuran 100 mesh.

Kedua serbuk simplisia yang sudah halus diekstraksi dengan metode maserasi. Dalam pembuatan ekstrak ini digunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 96% karena menurut Wardatun, *et al.* (2017), etanol 96% lebih efektif dalam melarutkan senyawa-senyawa aktif yang terkandung. Kedua serbuk simplisia ditimbang sebanyak 500 gram kemudian dicampur dengan 1500 ml etanol 96% (digunakan perbandingan 1:3). Hasil maserasi disaring dan ditampung kemudian diganti dengan etanol 96% yang baru dengan perbandingan yang sama setiap 24 jam selama 3x24 jam. Hasil maserasi (fitrat) yang telah terkumpul kemudian diperkatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C.

#### **3.6.1.4 Penentuan Dosis dan Pemberian Atorvastatin**

Atorvastatin merupakan obat golongan statin yang digunakan sebagai kontrol positif (K+) pada penelitian ini. Adapun pemberian dosis yang dilakukan mengacu pada Dyaningratri (2014) yakni sebanyak 2,52 mg/kgBB tikus yang kemudian dikonversikan ke mencit menjadi 0,088 mg/25grBB mencit. Atorvastatin yang telah ditimbang kemudian dilarutkan ke dalam akuades hingga mencapai volume 0,3 ml dan diberikan kepada kelompok perlakuan K+ pada hari ke-91 induksi HFD hingga hari ke-120 setiap pukul 10.00 WIB.

#### **3.6.1.5 Pembuatan Larutan Na-CMC 0,5%**

Pembuatan larutan ini dilakukan dengan ditimbang Na-CMC sebanyak 0,5 gram kemudian hasil timbangan dilarutkan ke dalam 100 ml akuades yang kemudian dihomogenkan dengan spatula.

#### **3.6.1.6 Pemberian Ekstrak Etanol 96% Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa*)**

Pemberian ekstrak etanol 96% kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) ini diberikan pada mencit pada hari ke-91 induksi HFD hingga hari ke-120 setiap pukul 10.00 WIB. Pemberian dilakukan

secara oral sebanyak 0,3 ml. Penentuan dosis pemberian ekstrak ini mengacu pada penelitian Firdaus (2014) yang menyatakan bahwa kayu manis secara signifikan dapat menurunkan kadar kolesterol pada tikus dengan dosis 300 mg/kgBB. Namun pada penelitian ini dilakukan modifikasi dosis untuk mengkombinasi ekstrak.

Adapun dosis ekstrak yang telah dikonversi sesuai dosis mencit yang digunakan adalah 10,5 mg/25gramBB ekstrak *Cinnamomum burmannii* (P1); 7,875 mg/25gramBB ekstrak *Cinnamomum burmannii* dan 2,625 mg/25gramBB ekstrak *Eleutherine bulbosa* (P2); 5,25 mg/25gramBB ekstrak *Cinnamomum burmannii* dan 5,25 mg/25gramBB ekstrak *Eleutherine bulbosa* (P3); 2,625 mg/25gramBB ekstrak *Cinnamomum burmannii* dan 7,875 mg/25gramBB ekstrak *Eleutherine bulbosa* (P4); dan 10,5 mg/25gramBB ekstrak *Eleutherine bulbosa* (P5). Masing-masing ekstrak dilarutkan dengan pelarut Na-CMC 0,5% yang telah dibuat sebelumnya.

#### **3.6.1.7 Euthanasia dan Pengambilan Serum Darah Mencit**

Langkah selanjutnya setelah dilangsungkan penelitian selama 120 hari adalah pembedahan hewan coba. Sebelum dilakukan pembedahan, mencit dipuaskan terlebih dahulu. Mencit yang telah dipuaskan sebelumnya selama 12 jam didislokasi pada bagian leher yang kemudian dilakukan pembedahan. Selanjutnya diambil darah mencit pada jantung mencit menggunakan spuit 1 cc dan dimasukkan ke dalam tube yang telah disiapkan. Setelah itu sampel darah disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm untuk didapatkan serum darah mencit. Serum yang didapat akan digunakan untuk pengukuran kadar kolesterol total. Untuk penyimpanan serum dapat dilakukan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### **3.6.1.8 Pengukuran Kadar Kolesterol Total pada Serum Darah Mencit**

Pengukuran kadar kolesterol total menggunakan metode CHOD-PAP. Pengukuran kadar kolesterol digunakan monoreagent kolesterol dan kolesterol standar. Mula-mula disiapkan kuvet yang telah ditandai sebagai blanko, standar, dan sampel. Setelah itu dimasukkan serum pada kuvet sesuai dengan label yang

terdapat pada kuvet. Adapun volume yang dipindahkan ke dalam kuvet sesuai dengan rincian pada tabel di bawah ini:

Tabel 3.2 Perbandingan Volume dalam Kuvet untuk Pengukuran Kadar Kolesterol Total

Tube	Blanko	Sampel	Standart
Monoreagent	1.0 mL	1.0 ML	1.0 mL
Serum	-	10 $\mu$ L	-
Standart	-	-	10 $\mu$ L

Setelah sampel dihomogenkan dan diinkubasi selama 5 menit dengan suhu 37°C, sampel kemudian dibaca nilai absorbansinya dengan spektrofotometer dengan  $\lambda = 490$  nm. Prinsip kerja dari pemeriksaan ini adalah penguraian kolesterol ester menjadi kolesterol dan asam lemak oleh enzim kolesterol esterase. Kemudian kolesterol diubah menjadi *Cholesterol-3-one* dan hidrogen peroksida oleh enzim kolesterol oksidase. Hidrogen peroksidase yang terbentuk inilah yang akan diubah oleh peroksidase menjadi zat berwarna merah (Laboratory, 2011). Adapun perhitungan kadar kolesterol total dan trigliserida menggunakan rumus sebagai berikut:

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

### 3.6.1.9 Analisis Data *In Vivo*

Setelah didapatkan kadar kolesterol total pada serum darah mencit maka dilakukan uji statistik *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan jenis Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan taraf signifikansi sebesar 95%. Uji statistik

ini diawali dengan uji normalitas terlebih dahulu menggunakan *Kolmogorov-Smirnov*. Selanjutnya pengujian dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan *Lavene Statistic*. Karena hasil yang didapatkan adalah data terdistribusi normal dan homogen maka selanjutnya data dianalisis menggunakan uji *One Way Anova*. Selanjutnya dilakukan uji Duncan ( $\alpha = 5\%$ ) karena ditemukannya perbedaan yang signifikan.

### 3.6.2 Uji *In Silico*

#### 3.6.2.1 Preparasi Ligan

Ligan yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa rutin, quercetin, catechin, isorhamnetin, kaempferol cinnamic acid, cinnamaldehyde, cinnamyl acetate, cinnamyl alcohol, coumarin, medioresinol, dan syringaldehyde yang ada pada kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan senyawa elecanacin, eleutherin, eleutherol, dan eleutherinol yang ada pada bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) yang diunduh pada database PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan format PDB (\*.pdb).

#### 3.6.2.2 Preparasi Protein Reseptor

Reseptor yang digunakan dalam pengujian *in silico* ini adalah enzim HMG-KoA reduktase. Enzim ini merupakan enzim yang berperan pada salah satu jalur pembentukan kolesterol dalam tubuh. Struktur 3D dari reseptor tersebut diunduh dari Protein Data Bank (PDB) melalui situs <https://www.rcsb.org/> dengan format PDB file. Sebelum di-*docking*-kan dengan senyawa ligan, reseptor terlebih dahulu dibersihkan dari molekul yang tidak diperlukan. Pemisahan protein dari molekul yang tidak diperlukan dilakukan menggunakan software PyMOL. Setelah pemisahan, hasil disimpan dengan format PDB (\*.pdb).

#### 3.6.2.3 Uji Prediksi PASS (*Prediction of Activity for Substances*)

Bahan yang dibutuhkan untuk uji prediksi menggunakan PASS adalah SMILE dari senyawa ligan tersebut. SMILE dari senyawa ligan tersebut dapat diunduh melalui PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Selanjutnya

dibuka software PASS melalui situs <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/> dan dimasukkan SMILE dari senyawa ligan yang akan diprediksi kemampuan penghambatan sintesis kolesterol. Prediksi ini menghasilkan data berupa nilai Pa dan Pi dari berbagai aktivitas yang dimiliki oleh suatu senyawa. Adanya selisih antara nilai Pa dan Pi menunjukkan adanya potensi atas suatu aktivitas pada senyawa tersebut.

Jika senyawa memiliki nilai  $Pa > 0,7$  maka senyawa tersebut berkemungkinan memiliki aktivitas eksperimental yang tinggi. Jika senyawa memiliki nilai Pa berkisar antara 0,5-0,7 maka senyawa tersebut berkemungkinan memiliki aktivitas eksperimental yang rendah, tetapi senyawa tersebut juga berkemungkinan tidak sama dengan obat farmasi yang sudah ada. Sedangkan jika senyawa memiliki nilai  $Pa < 0,5$  maka senyawa tersebut menunjukkan aktivitas secara eksperimental rendah (Pramely, 2012).

#### **3.6.2.4 Uji HIA (*Human Intestinal Absorption*)**

Uji HIA dilakukan untuk memprediksi kemampuan absorpsi dari senyawa-senyawa ligan di dalam usus. Uji ini dilakukan menggunakan software online PreADMET melalui situs <https://preadmet.bmdrc.kr/>. Sebelum melakukan uji HIA, struktur senyawa-senyawa ligan diunduh dengan format Molfile (\*.mol) terlebih dahulu. Selanjutnya struktur ligan diupload pada software online PreADMET untuk diuji kemampuan absorpsinya. Senyawa yang memiliki nilai prediksi HIA lebih dari 70% dikatakan memiliki kemampuan terabsorpsi yang baik (Nerkar, 2012). Sedangkan senyawa yang memiliki nilai HIA antara 20%-70% maka diprediksi memiliki kemampuan terabsorpsi yang sedang. Dan jika senyawa memiliki nilai HIA kurang dari 20% maka senyawa tersebut diprediksi memiliki kemampuan terabsorpsi yang rendah (Subramainian & Kitchen, 2006).

#### **3.6.2.5 Uji *Lipinski Rule of Five***

Uji ini dilakukan untuk mengetahui prediksi kemiripan senyawa dengan obat. Sebelum melakukan uji ini, disiapkan senyawa ligan dengan format PDB terlebih dahulu. Setelah itu struktur senyawa yang telah diunduh diupload pada

software online di halaman <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>, kemudian diklik submit, maka akan diketahui hasil analisis sifat farmakologi dari senyawa-senyawa tersebut. Melalui uji ini akan didapatkan kalkulasi nilai *drug-likeness* dari suatu senyawa. Menurut aturan *Lipinski Rule of Five*, suatu obat harus mempunyai massa molekul relative kurang dari 500 Da, jumlah rantai hidrogen donor tidak lebih dari 5, jumlah rantai hidrogen akseptor tidak lebih dari 10, nilai koefisien partisi (LogP) kurang dari 5, dan refraktifitas molar diantara 40-130.

#### 3.6.2.6 *Molecular Docking* (Penambatan Molekuler)

Reseptor HMG-KoA reduktase yang telah dipisahkan dengan molekul-molekul yang tidak diperlukan, dimasukkan ke software PyRx lalu diubah format reseptor menjadi pdbqt. Setelah pengubahan format, ligan dimasukkan ke Open Babel untuk diminimasi. Selanjutnya proses *docking* dengan software Autodock Vina dimulai dengan diatur *grid box* untuk menandai sisi aktif dari reseptor HMG-KoA reduktase. Posisi *gridbox* pada *docking* ini adalah center  $x = 19.6047$ ,  $y = 7.7506$ , dan  $z = 15.5146$ . Setelah proses *grid box* maka proses *docking* dimulai. Hasil *docking* disimpan dalam format (\*.pdb), sedangkan nilai energi bebas (*binding affinity*) disimpan dalam format (\*.csv).

#### 3.6.2.7 Visualisasi Hasil *Docking*

Visualisasi hasil *docking* dilakukan dalam dua bentuk yakni dalam struktur 2D dengan software LigPlot dan struktur 3D dengan software Discovery Studio untuk diketahui *binding pose* dari interaksi antara ligan dengan reseptor.

#### 3.6.2.8 Analisis Data *In Silico*

Setelah dilakukannya proses *docking*, langkah selanjutnya yakni mengumpulkan semua hasil dari beberapa proses pengujian seperti prediksi PASS, HIA, *drug-likeness*, dan hasil *docking* untuk ditarik kesimpulan senyawa aktif yang paling berpotensi dalam menghambat kerja dari reseptor HMG KoA reduktase. Senyawa yang memiliki nilai  $\Delta G$  yang terendah atau mendekati obat

kontrol memiliki peluang untuk menjadi senyawa yang paling efektif jika hasil visualisasi juga menunjukkan bahwa senyawa aktif tersebut menambat pada sisi aktif reseptor. Selanjutnya ditinjau hasil prediksi PASS sebagai *HMG CoA reductase inhibitor* senyawa-senyawa yang berpotensi tersebut. Adanya selisih nilai Pa dan Pi dari hasil prediksi PASS menunjukkan potensi senyawa atas aktivitas tersebut. Senyawa yang memiliki nilai  $\Delta G$  terendah dan memiliki potensi sebagai *HMG CoA reductase inhibitor* kemudian ditinjau nilai prediksi HIA dan *drug-likeness* sesuai aturan *Lipinski Rule of Five* untuk mengetahui potensi senyawa tersebut menjadi kandidat obat oral.



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Pengaruh Ekstrak Etanol 96% *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* Terhadap Kadar Kolesterol Total Mencit yang Diinduksi HFD Secara *In Vivo*

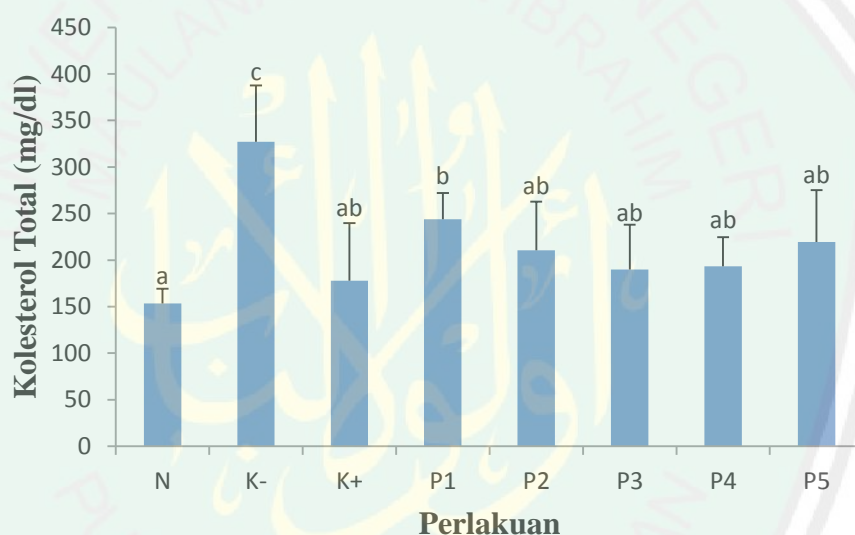
Pengukuran kadar kolesterol total pada penelitian ini menggunakan metode CHOD-PAP yang dilakukan pada 32 sampel uji. Sampel tersebut terdiri dari 8 perlakuan dengan 4 ulangan untuk setiap perlakuannya. Hasil yang didapat dari pengukuran kadar kolesterol total ini dianalisis dengan software SPSS 16.0 (Lampiran 3). Analisis dimulai dengan melakukan uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov. Pada uji normalitas didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.615 ( $p > 0.05$ ) yang menunjukkan bahwa data yang dianalisis terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan Levene Test dan didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.429 ( $p > 0.05$ ) yang menunjukkan bahwa varian bersifat homogen.

Tabel 4.1. Hasil Uji Duncan Pengukuran Kadar Kolesterol Total (mg/dl)

Perlakuan	Hasil Uji Duncan
Normal	153.32±15.80 <sup>a</sup>
K+ (HFD + Atorvastatin)	177.93±61.83 <sup>ab</sup>
P3 (HFD + Ekstrak 5,25 mg <i>C. burmannii</i> & 5,25 mg <i>E. bulbosa</i> )	190.04±48.05 <sup>ab</sup>
P4 (HFD + Ekstrak 2,625 mg <i>C. burmannii</i> & 7,875 mg <i>E. bulbosa</i> )	193.36±31.42 <sup>ab</sup>
P2 (HFD + Ekstrak 7,875 mg <i>C. burmannii</i> & 2,625 mg <i>E. bulbosa</i> )	210.35±52.41 <sup>ab</sup>
P5 (HFD + Ekstrak pekat 10,5 mg <i>E. bulbosa</i> )	219.34±55.99 <sup>ab</sup>
P1 (HFD + Ekstrak 10,5 mg <i>C. burmannii</i> )	243.75±28.46 <sup>b</sup>
K- (HFD)	326.95±60.75 <sup>c</sup>

Keterangan: Perbedaan yang signifikan ditunjukkan dengan adanya notasi yang berbeda (uji Duncan  $\alpha$  5%)

Setelah melakukan uji normalitas dan homogenitas, data yang didapat kemudian dianalisis menggunakan uji One-Way ANOVA. Adapun hasil yang didapat (Lampiran 3) menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.001 ( $p < 0.01$ ) yang artinya  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat pengaruh atas pemberian ekstrak kombinasi *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* terhadap kadar kolesterol total mencit yang diinduksi *High Fat Diet* (HFD). Selanjutnya dilakukan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan pengaruh pada setiap perlakuannya.



Gambar 4.1. Hasil uji Duncan pemeriksaan kadar kolesterol total dengan keterangan N: Normal; K-: HFD, K+:HFD + atorvastatin, P1: HFD + ekstrak 10,5 mg *C. burmannii*, P2: HFD + ekstrak 7,875 mg *C. burmannii* & 2,625 mg *E. bulbosa*, P3: HFD + ekstrak 5,25 mg *C. burmannii* & 5,25 mg *E. bulbosa*, P4: HFD + ekstrak 2,625 mg *C. burmannii* & 7,875 mg *E. bulbosa*, P5: HFD + ekstrak 10,5 mg *E. bulbosa*

Hasil analisis Duncan (Tabel 4.1) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan K- (induksi HFD saja) dengan perlakuan normal. Hal tersebut berarti induksi HFD yang diberikan selama 120 hari mampu

menaikkan kadar kolesterol total serum darah mencit. Adapun induksi HFD yang diberikan antara lain kuning telur puyuh, lemak sapi, kolesterol murni, dan *propylthiouracil* (PTU). Induksi HFD menggunakan kuning telur puyuh dan lemak sapi dinilai efektif dalam meningkatkan kadar kolesterol total dalam serum darah mencit. Menurut Dwiloka (2003), kadar kolesterol pada kuning telur puyuh adalah 21.39 mg/gram. Sedangkan kadar kolesterol pada lemak sapi menurut Abu-Tarboush & Dawood (1993) adalah sebesar 1.75 mg/gram lemak. Jika dalam sehari mencit diberikan campuran berupa telur puyuh dan lemak sapi pada pakan masing-masing sebanyak 2.67 gram, maka kadar kolesterol yang ditambahkan melalui pakan sebesar 61.78 mg/hari. Peningkatan kadar kolesterol total juga disebabkan oleh induksi kolesterol murni secara oral yang dilakukan tiap harinya sebesar 17.5 mg/25 grBB.

Selain itu penambahan *propylthiouracil* (PTU) pada air minum mencit juga mampu meningkatkan kadar kolesterol total pada mencit. Menurut Rahma, *et al* (2014), penambahan PTU dapat menghambat sintesis hormon tiroid yang bertugas meningkatkan sekresi kolesterol ke empedu yang selanjutnya akan dibuang melalui feses. Dengan dihambatnya sintesis hormon tiroid, maka sekresi kolesterol ke empedu menjadi terhambat sehingga terjadi penumpukan kolesterol di dalam tubuh. Induksi HFD dengan berbagai bahan ini telah mampu meningkatkan kadar kolesterol total pada serum darah mencit dengan rerata  $326.95 \pm 60.75$  mg/dl. Nilai ini cukup tinggi jika dibandingkan dengan kadar kolesterol total mencit tanpa perlakuan apapun (Normal) yang memiliki kadar kolesterol total dengan rerata  $153.32 \pm 15.80$  mg/dl.

Perlakuan P1 (induksi HFD dengan pemberian ekstrak 10,5 mg *Cinnamomum burmanniii*) dengan rerata nilai  $243.75 \pm 28.46$  mg/dl berbeda nyata dengan kelompok perlakuan K-. Berdasarkan hasil rerata tersebut, dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak 10,5 mg *Cinnamomum burmanniii* mampu menurunkan kadar kolesterol total pada serum darah mencit yang diinduksi HFD. Hal tersebut dikarenakan adanya senyawa kandungan pada *Cinnamomum burmannii* yang dapat menurunkan kadar kolesterol total dalam tubuh. *Cinnamomum burmannii* merupakan tanaman asli Indonesia yang termasuk ke dalam jenis rempah-rempah.

*Cinnamomum burmannii* mengandung beberapa senyawa polifenol seperti rutin, catechin, quercetin, isorhamnetin, dan kaempferol (Rao & Gan, 2014). Al Dhubiab (2012) menambahkan bahwa di dalam *Cinnamomum burmannii* juga terdapat senyawa-senyawa antara lain alkohol sinamat dan juga minyak atsiri dari golongan fenol berupa sinamaldehyd dan kumarin. Senyawa-senyawa tersebut yang berperan dalam penurunan kadar kolesterol total pada mencit yang diinduksi HFD. Menurut Ervina, *et al.* (2016), senyawa-senyawa jenis polifenol tersebut dapat menghambat kerja enzim HMG KoA Reduktase yang merupakan bahan dasar sintesis kolesterol dalam tubuh.

Selain *Cinnamomum burmannii*, pada penelitian ini juga digunakan tanaman *Eleutherine bulbosa* untuk diketahui potensi tanaman tersebut dalam menurunkan kadar kolesterol total dalam tubuh. Pemberian ekstrak 10,5 mg *Eleutherine bulbosa* dilakukan pada perlakuan yang diberi label P5. Berdasarkan pemeriksaan kadar kolesterol total yang telah dilakukan, kelompok perlakuan P5 menghasilkan rerata yang tidak jauh berbeda dengan kelompok perlakuan P1 yakni sebesar  $219.34 \pm 55.99$  mg/dl. Hal tersebut berarti *Eleutherine bulbosa* memiliki kemampuan yang sama dengan *Cinnamomum burmannii* yakni dapat menurunkan kadar kolesterol total mencit yang diinduksi HFD. Hara, *et al.* (1997) menyebutkan bahwa pada bawang dayak terkandung senyawa naphtoquinonens dengan senyawa turunannya antara lain elecanacin, eleutherine, eleutherol, dan eleutherinol. Menurut Lee, *et al.* (2013), senyawa naphtoquinonens berpotensi dapat menurunkan kadar kolesterol dalam tubuh melalui penghambatan terhadap enzim Acyl-CoA Cholesterol Acyltransferase (ACAT). Enzim ini merupakan enzim yang berperan dalam sekresi ester kolesterol. Ester kolesterol yang terakumulasi dapat menyebabkan pembentukan sel busa dari makrofag pada dinding arteri. Dengan dihambatnya kerja enzim ACAT ini maka sekresi ester kolesterol akan mengalami penurunan.

Kedua senyawa tersebut memiliki cara yang berbeda dalam menurunkan kadar kolesterol total pada mencit yang diinduksi HFD. Hal tersebut yang kemudian menjadi hal yang berpengaruh jika dilakukan kombinasi pada kedua ekstrak yang diberikan. Kedua ekstrak dikombinasi dengan berbagai variasi dosis

yang diberikan kepada tiga kelompok perlakuan yakni kelompok perlakuan P2 (HFD + kombinasi ekstrak 7,875 mg *C. burmannii* & 2,625 mg *E. bulbosa*), P3 (HFD + kombinasi ekstrak 5,25 mg *C. burmannii* & 5,25 mg *E. bulbosa*), dan P4 (HFD + kombinasi ekstrak 2,625 mg *C. burmannii* & 7,875 mg *E. bulbosa*). Pemeriksaan kadar kolesterol total pada ketiga kelompok perlakuan mendapatkan rerata hasil berturut-turut 210.35±52.41 mg/dl, 190.04±48.05 mg/dl, dan 193.36±31.42 mg/dl. Berdasarkan nilai rerata tersebut dapat diketahui bahwa kelompok perlakuan P3 memiliki rerata yang paling mendekati dengan rerata yang dimiliki oleh kelompok perlakuan K+ (obat kontrol).

Kelompok perlakuan K+ (kontrol positif) merupakan kelompok perlakuan mencit yang diinduksi HFD dan dilakukan pemberian atorvastatin sebagai obat kontrol. Hasil rerata yang didapat pada perlakuan ini sebesar 177.93±61.83 mg/dl. Berdasarkan hasil rerata yang didapat, nilai rerata pada perlakuan ini tidak berbeda nyata dengan nilai rerata yang dihasilkan oleh kelompok perlakuan normal. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pemberian atorvastatin sebagai obat kontrol mampu menurunkan kadar kolesterol total mencit yang diinduksi HFD. Menurut Dewi (2016), atorvastatin merupakan obat golongan statin yang efektif menghambat kerja enzim HMG KoA reduktase dalam proses penurunan kadar kolesterol total. Hal tersebut sesuai dengan hasil uji *in silico* yang juga dilakukan. Atorvastatin diprediksi berpotensi memiliki aktivitas sebagai penghambat enzim HMG KoA reduktase dengan nilai  $P_a (0,399) > P_i (0,001)$  dengan prediksi PASS. Selain itu, hasil penambatan molekuler senyawa atorvastatin didapatkan nilai binding affinity yang rendah yakni -9,1 kkal/mol pada sisi aktif enzim HMG KoA reduktase.

Berdasarkan rerata hasil pemeriksaan kadar kolesterol total pada mencit kelompok perlakuan P3 dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kombinasi kedua tanaman dengan perbandingan 1:1 paling efektif dilakukan untuk menurunkan kadar kolesterol total mencit yang diinduksi HFD. Allah SWT berfirman dalam QS. Al-Imran(3): 191 yang berbunyi:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا

خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk, atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Maha Suci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka” (QS Al-Imran(3): 191).

Ayat tersebut menjelaskan tentang seseorang yang disebut sebagai *Ulul-Albab*. Adapun seseorang yang demikian adalah seseorang yang terus-menerus mengingat Allah dalam segala situasi maupun kondisi. Seorang *Ulul-Albab* itu pun juga selalu memikirkan tujuan dari segala penciptaan Allah SWT karena hal tersebut adalah suatu wujud rasa syukur atas penciptaan akal olehNya. Akal diberi kebebasan seluas-luasnya untuk memikirkan fenomena-fenomena alam (Shihab, 2002). Fenomena alam ada banyak macamnya, salah satunya adalah penciptaan tumbuhan olehNya. Penciptaan tumbuhan-tumbuhan di muka bumi ini pastilah ada tujuannya, termasuk di dalamnya adalah penciptaan kedua tanaman *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* yang dapat dijadikan kandidat obat alternatif untuk mengatasi hiperkolesterolemia. Sebagai seorang makhlukNya yang dianugrahi akal pikiran, hendaknya kita memikirkan tujuan salah satu penciptaan Allah tersebut.

Kedua tanaman tersebut dapat dijadikan pengobatan alternatif untuk mengatasi masalah hiperkolesterolemia. Penelitian-penelitian semacam ini perlu terus dikembangkan sebagai bentuk rasa syukur kita atas nikmat yang telah diberikan. Selain sebagai bentuk rasa syukur, Allah SWT juga menjanjikan balasan yang baik bagi orang-orang yang melakukan penelitian-penelitian sebagai bentuk amal saleh sebagaimana dalam firmanNya QS. Al Kahfi(18): 88 yang berbunyi:

وَأَمَّا مَنْ آمَنَ وَعَمِلَ صَالِحًا فَلَهُ جَزَاءٌ ۖ الْحَسَنَىٰ وَسَنُقُولُ لَهُ مِنْ أَمْرِنَا يُسْرًا ۝

Artinya: “Adapun orang yang beriman dan mengerjakan kebajikan (amal saleh), maka dia mendapat (pahala) yang terbaik sebagai balasan, dan akan kami sampaikan kepadanya perintah kami yang mudah” (QS. Al Kahfi(18): 88).

Berdasarkan ayat tersebut Allah menjanjikan balasan surga bagi umatNya yang beramal saleh sebagai bentuk rasa syukurnya atas nikmat yang Allah berikan. Selain itu Allah akan mempermudah urusan-urusannya di dunia (Al Zuhaili, 1991). Al Sya’rawi (2004) menambahkan bahwa ayat tersebut merupakan ayat yang menjelaskan bahwa orang-orang yang mau bergerak membuat perubahan dalam masyarakat merupakan contoh orang-orang yang beramal saleh. Selain itu, orang-orang yang selalu mengembangkan dirinya pada kebaikan juga termasuk dalam beramal saleh. Salah satu bentuk mengembangkan dirinya ke arah kebajikan adalah melakukan penelitian-penelitian yang dapat menghasilkan pengetahuan baru sehingga menghasilkan kemanfaatan bagi umat. Maka bagi masing-masing orang tersebut akan mendapatkan balasan yang baik.

#### **4.2 Analisis Senyawa Aktif pada *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* yang Efektif Menurunkan Kadar Kolesterol Total Secara *In Silico***

##### **4.2.1 Prediksi Potensi Senyawa Aktif pada *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* dengan Menggunakan Software PASS 2.0 (*Prediction of Activity for Substances*)**

Tahapan uji ini dilakukan untuk memprediksi kemampuan senyawa-senyawa yang terkandung dalam kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) dalam mempengaruhi kadar kolesterol total. Dalam pengujian ini digunakan software PASS 2.0 (*Prediction of Activity Spectra for Substances*) untuk memprediksi adanya kemampuan penghambatan sintesis kolesterol oleh senyawa-senyawa tersebut. Menurut Sadyam, *et al.* (2003), analisis yang digunakan dalam pengujian ini didasarkan oleh analisis SAR (*Structure-*

*Activity Relationship*) atau analisis yang didasarkan oleh adanya hubungan antara struktur suatu senyawa dengan aktivitas biologisnya. Prediksi dengan software PASS ini menghasilkan data berupa nilai Pa dan Pi. Stepanchikova, *et al.* (2003), mendefinisikan bahwa nilai Pa merupakan nilai kemungkinan senyawa tersebut dapat menunjukkan aktivitas biologisnya secara eksperimental. Sedangkan nilai Pi didefinisikan sebagai nilai kemungkinan senyawa tersebut tidak dapat menunjukkan aktivitas biologisnya secara eksperimental.

Tabel 4.2. Hasil Prediksi dengan Parameter PASS

No	Senyawa	PASS 1			PASS 2		
		Pa	Pi	Selisih	Pa	Pi	Selisih
1	Atorvastatin*	0,467	0,005	0,462	0,399	0,001	0,398
2	Catechin	0,443	0,006	0,437	-	-	-
3	Quercetin*	0,252	0,033	0,219	0,039	0,037	0,002
4	Rutin	0,131	0,081	0,05	-	-	-
5	Isorhamnetin	0,246	0,035	0,211	-	-	-
6	Kaempferol	0,236	0,037	0,199	-	-	-
7	Cinnamic Acid*	0,396	0,01	0,386	0,048	0,016	0,032
8	Cinnamaldehyde	0,249	0,034	0,215	-	-	-
9	Cinnamyl Acetate	0,251	0,033	0,218	-	-	-
10	Cinnamyl Alcohol*	0,274	0,027	0,247	0,044	0,023	0,021
11	Coumarin	0,248	0,034	0,214	-	-	-
12	Medioresinol	0,224	0,041	0,183	-	-	-
13	Syringaldehyde	0,166	0,061	0,105	-	-	-
14	Elecanacin	0,202	0,048	0,154	-	-	-
15	Eleutherin	0,174	0,058	0,116	-	-	-
16	Eleutherol	0,175	0,057	0,118	-	-	-
17	Eleutherinol	0,123	0,086	0,037	-	-	-

Keterangan: Pa (*Probable ictivity*); Pi (*Probable inactiviy*); PASS 1 (*Cholesterol synthesis inhibitor*); PASS 2 (*HMG CoA reductase inhibitor*)

Prediksi yang dilakukan dalam penelitian ini dilakukan pada dua aktivitas biologis antara lain aktivitas dalam menghambat sintesis kolesterol (PASS 1) dan

aktivitas dalam menghambat kerja enzim HMG KoA reduktase (PASS 2). Berdasarkan uji PASS, atorvastatin dan juga beberapa senyawa yang terkandung pada kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) antara lain quercetin, cinnamic acid, dan cinnamyl alcohol memiliki aktivitas dalam menghambat kerja HMG KoA reduktase karena memiliki nilai Pa yang lebih besar daripada nilai Pi (Tabel 4.2). Semakin besar selisih antara nilai Pa dan Pi, maka semakin besar pula potensi adanya aktivitas biologis tertentu pada suatu senyawa. Meskipun nilai Pa yang dimiliki tergolong rendah, namun masih memiliki potensi tersebut karena memiliki nilai Pa > Pi. Selain itu, senyawa quercetin, cinnamic acid, dan cinnamyl alcohol merupakan senyawa yang termasuk ke dalam golongan fenol. Menurut Mendieta, *et al.* (2014), senyawa yang tergolong ke dalam senyawa fenol dapat menunjukkan aktivitas hipolipidemik yang tinggi. Pada penelitian laboratorium yang dilakukan, pemberian senyawa fenol mampu menyebabkan pengurangan kadar kolesterol total pada serum.

Prediksi yang dilakukan oleh PASS ini berdasarkan pada penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Prediksi PASS juga dilakukan pada senyawa-senyawa yang terkandung pada *Eleutherine bulbosa*. Hasil prediksi menunjukkan bahwa senyawa-senyawa yang terkandung pada *Eleutherine bulbosa* meliputi elecanacin, eleutherin, eleutherol, dan eleutherinol tidak memiliki aktivitas biologis sebagai penghambat kerja enzim HMG KoA reduktase. Namun keempat senyawa tersebut diprediksi memiliki aktivitas biologis sebagai penghambat sintesis kolesterol. Senyawa elecanacin, eleutherin, eleutherol, dan eleutherinol tergolong ke dalam senyawa naphthoquinonens yang berpotensi menghambat sintesis kolesterol dalam tubuh melalui penghambatan enzim Acyl-CoA Cholesterol Acyltransferase (ACAT). Enzim ini merupakan enzim yang berperan dalam sekresi ester kolesterol. Ester kolesterol yang terakumulasi dapat menyebabkan pembentukan sel busa dari makrofag pada dinding arteri. Dengan dihambatnya kerja enzim ACAT ini maka sekresi ester kolesterol akan mengalami penurunan (Lee, *et al.*, 2013). Namun dalam hal ini akan dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan metode *molecular docking* untuk mengetahui potensi senyawa-senyawa tersebut dalam menghambat sintesis

kolesterol pada jalur yang lain yakni sintesis kolesterol yang diperankan oleh enzim HMG KoA reduktase.

Hasil prediksi PASS menunjukkan bahwa senyawa-senyawa ligan yang diujikan memiliki nilai Pa yang tergolong rendah ( $Pa < 0,5$ ). Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut menunjukkan aktivitas yang kecil dalam penelitian laboratorium (Sadym, *et al.*, 2003). Namun hasil dari pengujian ini merupakan hasil yang bersifat prediksi sehingga dapat diartikan bahwa hasil tersebut bukan hasil yang mutlak menyatakan rendahnya kemampuan senyawa-senyawa tersebut dalam menghambat sintesis kolesterol. Oleh karena itu diperlukan pengujian lebih lanjut, salah satunya adalah *molecular docking* dengan menambatkan senyawa-senyawa tersebut dengan reseptor HMG KoA Reduktase sebagai protein yang berperan dalam proses sintesis kolesterol.

#### **4.2.2 Potensi Senyawa Aktif *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* dapat diabsorpsi oleh Usus Halus Berdasarkan Uji HIA (*Human Intestinal Absorption*)**

Suatu senyawa dapat dijadikan sebagai kandidat obat bukan hanya karena aktivitas biologis yang terkandung di dalamnya saja, tetapi juga dipengaruhi oleh kemampuannya dalam mencapai jaringan targetnya di dalam tubuh saat senyawa obat tersebut diberikan secara oral. Namun sebelum menembus membran sel jaringan targetnya, obat tersebut harus mampu diabsorpsi oleh usus dan masuk ke pembuluh darah. Oleh karena itu perlu dilakukan pengujian ini untuk didapatkan nilai prediksi HIA, yaitu kemampuan suatu senyawa dapat diabsorpsi oleh dinding usus yang dinyatakan dengan angka (persentase) (Wessel & Jurs, 1998). Prediksi ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan senyawa-senyawa yang ada di *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* dalam mencapai reseptor targetnya HMG KoA Reduktase. Senyawa obat yang diabsorpsi pada usus halus melalui proses transfer yang kompleks. Senyawa-senyawa tersebut diabsorpsi oleh usus halus melalui difusi pasif melewati daerah paraseluler dan/atau sel yang sifatnya mengabsorpsi ke membran (Simanjuntak, 2007).

Tabel 4.3. Hasil Prediksi HIA Senyawa-senyawa Ligan

No	Senyawa	HIA (%)
1	Atorvastatin*	94.65
<i>Cinnamomum burmannii</i>		
2	Quercetin**	63.49
3	Cinnamic Acid*	97.85
4	Cinnamyl Alcohol*	100
<i>Eleutherine bulbosa</i>		
5	Elecanacin*	98.14
6	Eleutherin*	98.10
7	Eleutherol*	95.51
8	Eleutherinol*	93.04

Keterangan: \*(terabsorpsi baik), \*\*(terabsorpsi sedang)

Hasil prediksi HIA pada tabel 4.3 menunjukkan bahwa atorvastatin dan juga sebagian besar senyawa aktif yang terkandung di dalam *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* memiliki potensi terabsorpsi di dalam usus dengan baik. Hal ini sesuai literatur menurut Nerkar (2012) yang menyatakan bahwa suatu senyawa diprediksi memiliki potensi yang tinggi dapat terabsorpsi di dalam usus jika memiliki nilai HIA lebih dari 70%. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa senyawa-senyawa seperti atorvastatin, cinnamic acid, cinnamyl alcohol, elecanacin, eleutherin, eleutherol, dan eleutherinol diprediksi dapat terabsorpsi dengan baik di dinding usus halus melalui difusi pasif. Senyawa-senyawa yang dapat diabsorpsi oleh dinding usus halus tersebut yang kemudian akan masuk ke dalam aliran darah dan diakan dibawa menuju jaringan target. Namun hasil yang berbeda ditunjukkan oleh senyawa quercetin yang diprediksi memiliki kemampuan terabsorpsi sedang karena memiliki nilai prediksi HIA kurang dari 70%. Hal ini sesuai dengan literatur menurut Subramainian & Kitchen (2006) bahwa suatu senyawa dikatakan memiliki potensi terabsorpsi sedang jika memiliki nilai HIA antara 20%-70%.

Hasil yang didapat dari prediksi HIA ini didasarkan pada kemampuan masing-masing senyawa dalam mengabsorpsi pada usus halus untuk masuk ke peredaran darah. Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi setiap

mekanisme transfer pada membran usus halus. Faktor-faktor tersebut berkaitan dengan sifat fisikokimia dari senyawa yang diabsorpsi seperti berat molekul dan ukuran, stereokimia, volume molekul, kelarutan, partisi ke dalam membran, pKa, muatan distribusi, dan stabilitas secara kimia (Simanjuntak, 2007). Senyawa-senyawa yang diprediksi memiliki kemampuan absorpsi yang tinggi seperti pada tabel 4.3 masih belum bisa dipastikan memiliki kemampuan yang sama dalam hal penghambatan HMG KoA reduktase sebagai reseptor target dalam menghambat sintesis kolesterol dalam tubuh. Dengan demikian, diperlukan penambatan molekul (*molecular docking*) ligan dengan reseptor untuk mengetahui potensi tersebut.

#### **4.2.3 Potensi Senyawa Aktif pada *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* Sebagai Kandidat Obat Oral dengan Aturan *Lipinski Rule of Five***

Suatu senyawa yang hendak dijadikan kandidat obat juga harus dikalkulasi nilai *drug-likeness* dari senyawa tersebut. Menurut Wulandari (2010), cara kalkulasi dari nilai *drug-likeness* ini didasarkan pada kemiripan suatu senyawa dengan obat oral. Metode yang digunakan dalam kalkulasi ini adalah aturan *Lipinski Rule of Five* yang dikembangkan oleh Christopher A. Lipinski sejak tahun 1997. Suatu obat oral harus mempunyai massa molekul relatif kurang dari 500 Da, jumlah rantai hidrogen donor tidak lebih dari 5, jumlah rantai hidrogen akseptor tidak lebih dari 10, nilai koefisien partisi (LogP) kurang dari 5, dan refraktifitas molar diantara 40-130.

Berdasarkan tabel 4.4 dapat diketahui bahwa senyawa-senyawa ligan yang dikalkulasi nilai *drug-likeness* menggunakan aturan *Lipinski Rule of Five* sebagian besar memiliki berat molekul kurang dari 500 Da. Menurut Scalbert, *et al.* (2002), semakin kecil berat molekul suatu senyawa maka semakin mudah senyawa tersebut berdifusi pada usus halus kemudian menuju jaringan yang ditargetkan. Namun hal tersebut tidak terjadi pada senyawa atorvastatin. Senyawa atorvastatin sebagai obat kontrol memiliki berat molekul yang besar sehingga dapat dikatakan bahwa atorvastatin memiliki kemampuan diabsorpsi lebih rendah dibandingkan

senyawa ligan yang lainnya. Namun sebagai obat kontrol, atorvastatin memiliki protein transporter berupa *p-glycoprotein* (P-gp) untuk membantunya mengabsorpsi ke dalam membran. Dalam hal ini P-gp berperan dalam distribusi atorvastatin menuju membran sel atau jaringan yang ditargetkan. Wu X, *et al.* (2000) menyebutkan bahwa atorvastatin dapat menempel dan menjadi substrat protein tersebut yang kemudian p-gp akan membawa atorvastatin melewati membran menuju jaringan target.

Tabel 4.4. Nilai Uji *Lipinski Rule of Five* Senyawa-senyawa Ligan

No	Nama Ligan	Berat Molekul (Da)	H Donor	H Akseptor	LogP	Refraksi Molar
1	Atorvastatin	558*	4	6	6,313600*	157,246735*
2	Quercetin	302	5	7	2,010900	74,050476
3	Cinnamic Acid	148	1	2	1,784400	43,111797
4	Cinnamyl Alcohol	134	1	1	1,692100	42,561794
5	Elecanacin	272	0	4	2,025200	70,213982
6	Eleutherin	272	0	4	2,335400	72,373978
7	Eleutherol	244	1	4	2,785399	65,995285
8	Eleutherinol	256	2	4	2,741410	69,173592

Keterangan: \*(tidak sesuai aturan *Lipinski Rule of Five*)

Faktor selanjutnya yang dapat mempengaruhi tinggi rendahnya kemampuan suatu senyawa dalam menembus membran sel adalah jumlah atom hidrogen donor dan juga atom hidrogen akseptor. Menurut Patrick (2001), semakin banyak jumlah ikatan hidrogen yang terbentuk maka semakin sulit senyawa obat menembus membran untuk mencapai jaringan yang ditargetkan. Dalam hal ini, sebagian besar senyawa ligan yang telah dikalkulasi menggunakan aturan *Lipinski Rule of Five* mempunyai jumlah atom hidrogen donor yang kurang dari 5 dan jumlah atom hidrogen akseptor yang kurang dari 10. Senyawa-senyawa tersebut memiliki kemampuan yang sama baiknya dalam mencapai target.

Suatu senyawa obat tidak boleh mempunyai sifat hidrofobik yang tinggi karena dapat membuat senyawa tersebut tidak dapat menembus lapisan bilayer sehingga membuat senyawa tersebut terdistribusi luas di dalam tubuh. Hal tersebut akan menurunkan kemampuan senyawa tersebut dalam mencapai target. Etkins, *et al.* (2008) menyebutkan bahwa nilai logP berkaitan dengan tingkat hidrofobitas suatu senyawa. Semakin tinggi nilai logP maka semakin hidrofobik senyawa tersebut. Dalam aturan *Lipinski Rule of Five*, suatu senyawa tidak boleh mempunyai nilai logP lebih dari 5 agar dapat menembus lapisan bilayer pada membran sel. Namun hal tersebut tidak terjadi pada senyawa quercetin, cinnamic acid, cinnamyl alcohol, elecanacin, eleutherin, eleutherol, dan eleutherinol. Senyawa-senyawa tersebut memiliki nilai logP kurang dari 5 sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa-senyawa tersebut tidak akan terdistribusi luas di dalam tubuh dan mampu mencapai jaringan yang ditargetkan.

Kriteria terakhir dalam aturan *Lipinski Rule of Five* adalah nilai refraktifitas molar yang dimiliki oleh senyawa tersebut harus dalam kisaran 40-130. Born, *et al.* (1999) menyebutkan bahwa nilai tersebut berhubungan dengan nilai polarisasi 1 mol substansi terhadap indeks refraksi, suhu, dan tekanan. Suatu senyawa harus mempunyai nilai logP pada kisaran yang tepat untuk bisa larut di dalam tubuh. Dari data kalkulasi yang didapat, senyawa atorvastatin memiliki kemampuan dapat dikonsumsi secara oral lebih rendah daripada senyawa-senyawa lainnya karena hasil kalkulasi *drug-likeness* yang tidak sesuai dengan beberapa aturan pada *Lipinski Rule of Five*. Namun dalam hal ini, atorvastatin sebagai obat oral dibantu oleh protein transporter untuk menuju jaringan target.

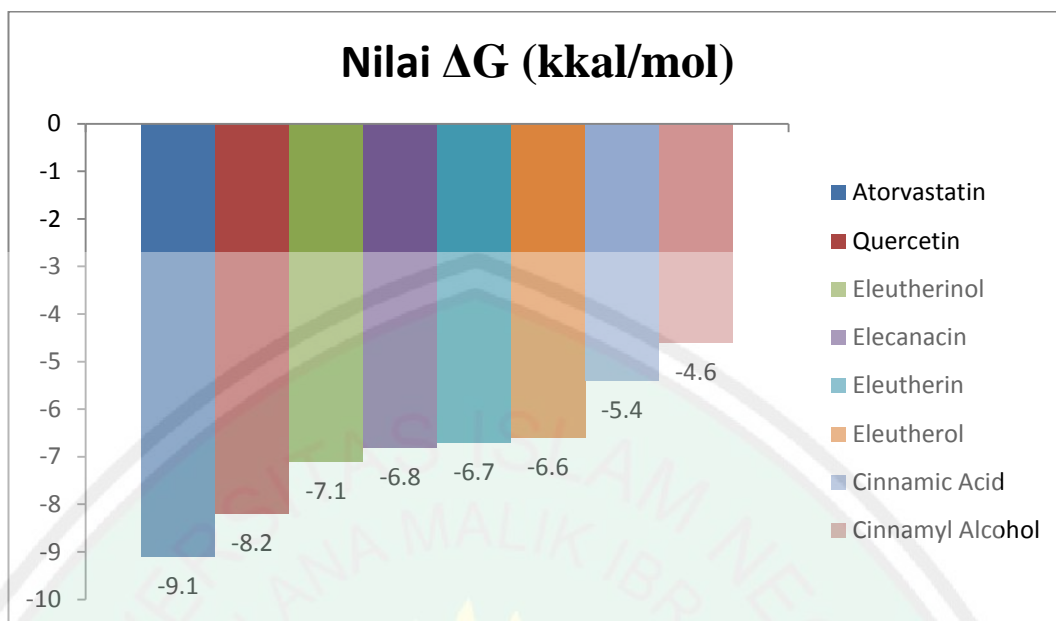
Berdasarkan hasil kalkulasi nilai *drug-likeness* yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa senyawa-senyawa yang memiliki potensi sebagai penghambat kerja enzim HMG KoA reduktase yang terkandung pada *Cinnamomum burmannii* dapat dijadikan sebagai kandidat obat oral sebagai obat penurun kadar kolesterol total dalam tubuh. Begitu juga dengan senyawa-senyawa yang terkandung pada *Eleutherine bulbosa*. Selain memiliki potensi sebagai penghambat sintesis kolesterol, berdasarkan hasil kalkulasi nilai *drug-likeness*

juga menunjukkan bahwa-bahwa senyawa tersebut dapat dijadikan sebagai kandidat obat oral.

#### **4.2.4 Uji Potensi Senyawa Aktif *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* dalam Menghambat Reseptor HMG KoA Reduktase dengan Metode Molecular Docking**

Setelah mengetahui potensi ligan dapat dijadikan sebagai obat oral melalui prediksi PASS, HIA, dan *Lipinski Rule of Five*, maka tahapan selanjutnya dalam pengujian *in silico* ini adalah melakukan penambatan molekuler (*molecular docking*) untuk mengetahui potensi ligan dalam menambat pada protein reseptor HMG KoA reduktase yang berperan dalam produksi kolesterol di dalam tubuh. Menurut Motiejunas & Wade (2006), penambatan molekuler dalam uji *in silico* dengan metode komputasi merupakan bentuk imitasi dari pengujian *in vitro* dalam laboratorium. Kedua metode pengujian tersebut memiliki prinsip kerja yang sama yakni menunjukkan suatu interaksi antara suatu molekul ligan dengan protein reseptor targetnya.

Penambatan molekuler ini dilakukan menggunakan software Autodock Vina (Trott & Olson, 2010) pada software PyRx untuk mendapatkan energi bebas ( $\Delta G$ ) tiap senyawa ligan yang ditambatkan pada reseptor. Adapun senyawa-senyawa ligan yang digunakan merupakan senyawa-senyawa yang terkandung pada *Cinnamomum burmannii* yang memiliki potensi sebagai penghambat kerja enzim HMG KoA reduktase dan juga senyawa-senyawa yang terkandung pada *Eleutherine bulbosa* yang memiliki potensi sebagai penghambat sintesis kolesterol. Selain itu atorvastatin juga digunakan sebagai ligan dalam penelitian ini sebagai obat kontrol. Ligan-ligan tersebut akan diinteraksikan dengan reseptor target enzim HMG KoA reduktase yang diunduh dari Protein Data Bank (PDB ID: 1hwk). *Docking* dilakukan dengan menginteraksikan ligan yang diujikan di tempat ligan asli dari protein target. Hasil dari proses *docking* tersebut akan diperoleh nilai energi bebas ( $\Delta G$ ). Du, *et al.* (2016) menyatakan bahwa energi bebas merupakan energi yang diperlukan oleh ligan untuk berikatan dengan protein target secara spontan.



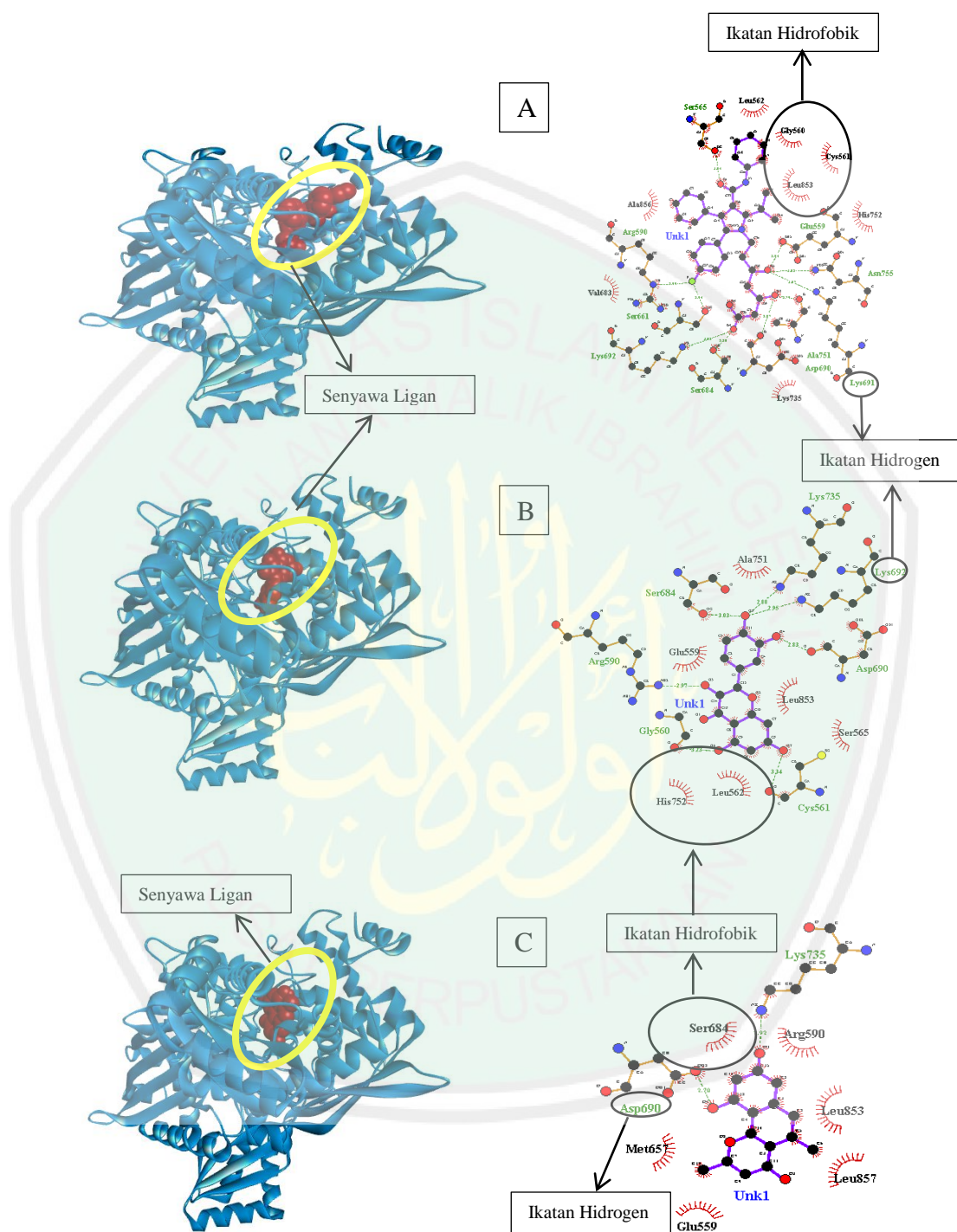
Gambar 4.2. Nilai energi bebas ( $\Delta G$ ) hasil penambatan molekuler antara senyawa ligan dengan reseptor HMG KoA reduktase.

Berdasarkan gambar 4.2 dapat diketahui bahwa quercetin (-8.2 kkal/mol) yang terkandung pada *Cinnamomum burmannii* dan Eleutherinol (-7.1 kkal/mol) yang terkandung pada *Eleutherine bulbosa* mempunyai energi bebas terendah dan mendekati nilai energi bebas atorvastatin (-9.1 kkal/mol) yang berperan sebagai obat kontrol. Menurut Syahputra, *et al.* (2014) menyatakan bahwa semakin rendah (semakin negatif) nilai energi bebas ( $\Delta G$ ) yang dihasilkan maka semakin stabil ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor. Dengan demikian ikatan yang terbentuk akan semakin kuat. Setelah proses *docking*, hasil yang didapatkan kemudian divisualisasi 2D dengan software LigPlot dan visualisasi 3D dengan software Discovery Studio untuk mengetahui *binding site* interaksi ligan dengan reseptor. Hal ini yang kemudian menjadi langkah analisis selanjutnya bagi senyawa-senyawa ligan yang menghasilkan ikatan yang kuat. Ligan tersebut akan dianalisis ada atau tidaknya ikatan dengan sisi aktif pada reseptor. Suatu senyawa dikatakan dapat menghambat kerja suatu reseptor jika ligan berhasil menambat pada sisi aktif reseptor (Meng, *et al.*, 2011). Adapun sisi aktif dari HMG KoA reduktase menurut Istvan & Deisenhover (2000) terletak pada daerah *cis-loop*

yang terbentuk dari dua domain yakni L-domain dan S-domain. Istvan (2003) menambahkan bahwa residu spesifik yang berperan pada sisi aktif enzim tersebut adalah Arg-590, Ser-684, Asp-690, Lys-691, Lys-692, dan Ser-565.

Tabel 4.5. Residu Asam Amino Ikatan Ligan dan Reseptor

No	Ligan	Ikatan Hidrogen	Ikatan Hidrofobik	$\Delta G$ (kkal/mol)
1	Atorvastatin	Arg-590, Ser-661, Ala-751, Asn-755, Ser-684, Asp-690, Lys-691, Lys-692, Glu-559, Ser-565	Ala-856, Val-683, Lys-735, His-752, Leu-853, Gly-560, Cys-561, Leu-562	-9.1
<i>Cinnamomum burmannii</i>				
3	Quercetin	<b>Arg-590, Asp-690, Lys-692, Ser-684,</b> Lys-735, Gly-560, Cys-561	<b>Glu-559, Ser-565, Ala-751,</b> Leu-853, Leu-562, His-752	-8.2
7	Cinnamic Acid	<b>Ser-684, Asp-690, Lys-692,</b> Lys-735	<b>Arg-590,</b> Val-683, <b>Ala-751,</b> Leu-853, Leu-857	-5.4
10	Cinnamyl Alcohol	-	<b>Arg-590, Asp-690, Lys-691, Lys-692, Ala-751,</b> His-752, <b>Glu-559,</b> Leu-562, <b>Asn-755,</b> Leu-853	-4.6
<i>Eleutherine bulbosa</i>				
14	Elecanacin	<b>Arg-590</b>	Val-683, <b>Ser-684,</b> Lys-735, <b>Asn-755,</b> Leu-853, Ala-856, Leu-857	-6.8
15	Eleutherin	<b>Arg-590, Asn-755</b>	<b>Ser-684,</b> Asn-686, <b>Asp-690, Lys-691, Lys-692,</b> Lys-735, <b>Ala-751,</b> His-752, Leu-853, Leu-857	-6.7
16	Eleutherol	<b>Ser-684, Lys-692,</b> Lys-735	<b>Arg-590, Asp-690, Lys-691, Ala-751,</b> His-752, <b>Asn-755, Glu-559,</b> Leu-853, Leu-857	-6.6
17	Eleutherinol	<b>Asp-690,</b> Lys-735	<b>Arg-590, Met-657, Ser-684, Glu-559,</b> Leu-853, Leu-857	-7.1



Gambar 4.3. Visualisasi 2D & 3D hasil *docking* atorvastatin (A), quercetin (B), dan eleutherinol (C) dengan software Discovery Studio dan LigPlot

Visualisasi 2D menggunakan software LigPlot menunjukkan adanya ikatan-ikatan yang terjadi antara ligan dan reseptor (Tabel 4.5). Menurut Arwansyah & Hasrianti (2014), ikatan yang terjadi antara keduanya berupa ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik. Tinggi rendahnya nilai energi bebas atau *binding affinity* dapat dipengaruhi oleh ikatan yang terbentuk antara ligan dengan reseptor. Semakin kuat ikatan yang terbentuk maka akan semakin rendah nilai *binding affinity* yang dihasilkan. Dari data nilai *binding affinity* yang didapatkan, dua senyawa yang memiliki nilai *binding affinity* terendah yakni senyawa quercetin yang terdapat pada *Cinnamomum burmannii* dan senyawa eleutherinol yang terdapat pada *Eleutherine bulbosa*. Senyawa-senyawa tersebut mempunyai ikatan hidrogen pada sisi aktif enzim HMG KoA reduktase. Shiau, *et al.* (1998) menyebutkan bahwa kekuatan interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor dipengaruhi oleh ikatan hidrogen yang terbentuk. Hal tersebut sesuai dengan literatur Hernandez & Appu (2006) yang menyatakan bahwa ikatan hidrogen merupakan ikatan yang paling kuat jika dibandingkan dengan ikatan hidrofobik.

Hasil visualisasi atorvastatin sebagai obat kontrol menunjukkan adanya interaksi ligan tersebut dengan reseptor target pada sisi aktif reseptor. Ligan ini membentuk ikatan-ikatan hidrogen pada residu asam amino Arg-590, Ser-661, Ala-751, Asn-755, Ser-684, Asp-690, Lys-691, Lys-692, Glu-559, Ser-565 dimana enam diantaranya merupakan residu kunci dari reseptor HMG KoA reduktase. Berdasarkan literatur menurut Istvan (2003), residu kunci dari reseptor HMG KoA reduktase adalah Arg-590, Ser-684, Asp-690, Lys-691, Lys-692, dan Ser-565. Dengan demikian, atorvastatin sebagai obat kontrol terbukti dapat memblok sisi aktif HMG KoA reduktase untuk menghambat kerja dari enzim ini. Selanjutnya, hasil visualisasi dari kedua senyawa yang memiliki *binding affinity* terendah juga menunjukkan adanya interaksi yang terbentuk antara ligan dengan reseptor pada sisi aktif reseptor target. Hasil visualisasi senyawa quercetin yang ada pada *Cinnamomum burmannii* menunjukkan adanya ikatan hidrogen yang terbentuk oleh senyawa ini pada residu asam amino yang sama dengan atorvastatin diantaranya adalah Arg-590, Ser-684, Asp-690, dan Lys-692. Begitu juga dengan senyawa eleutherinol pada *Eleutherine bulbosa*. Senyawa ini juga

membentuk ikatan hidrogen pada residu asam amino yang sama dengan atorvastatin yakni pada Asp-690 (Gambar 4.3).

Hasil visualisasi menunjukkan bahwa senyawa ligan tersebut memiliki ikatan pada tempat yang sama dengan obat kontrol maka dapat dikatakan bahwa ligan-ligan tersebut memiliki aktivitas yang sama dengan obat kontrol yakni *memblok* sisi aktif dari enzim tersebut sehingga produksi asam mevalonat yang merupakan bahan dasar sintesis kolesterol dalam tubuh dapat dihambat. Untuk mengetahui senyawa yang paling efektif menghambat HMG KoA reduktase dalam mensintesis kolesterol, maka perlu melakukan tinjauan pada hasil uji *in silico* yang lain diantaranya uji PASS, uji HIA, dan uji *drug-likeness* sesuai aturan *Lipinski Rule of Five*.

#### 4.2.5 Tinjauan Hasil Uji *In Silico*

Tinjauan hasil uji *In Silico* dilakukan dengan mengumpulkan seluruh data hasil dari pengujian-pengujian *in silico* yang diawali dengan melakukan uji prediksi PASS, prediksi nilai HIA, kalkulasi nilai *drug-likeness*, dan penambatan molekuler. Setelah ditinjau dengan menggabungkan hasil prediksi PASS, HIA, dan *drug-likeness* didapatkan senyawa yang berpotensi sebagai penghambat kerja enzim HMG Ko-A reduktase dan berpotensi dapat dijadikan sebagai kandidat obat oral dari *Cinnamomum burmannii* adalah senyawa quercetin, cinnamic acid, cinnamyl alcohol, sedangkan pada *Eleutherine bulbosa* adalah senyawa elecanacin, eleutherin, eletherol, dan eleutherinol.

Suatu senyawa dikatakan efektif jika memiliki nilai *binding affinity* mendekati obat kontrol dan memiliki aktivitas menambat yang sama dengan obat kontrol yakni menambat pada sisi aktif enzim HMG KoA reduktase. Berdasarkan hasil uji *molecular docking* didapatkan 2 senyawa dari masing-masing tanaman yang memiliki nilai *binding affinity* yang mendekati nilai yang dimiliki oleh obat kontrol yakni quercetin dan eleutherinol. Hasil visualisasi yang dilakukan pada kedua senyawa tersebut menunjukkan ikatan yang hampir sama dengan ikatan yang dibentuk oleh obat kontrol dengan protein target. Dengan demikian dapat

dikatakan kedua senyawa tersebut adalah senyawa yang paling berpotensi dalam menghambat kerja enzim HMG KoA reduktase.



## BAB V PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan yang telah diuraikan pada bab sebelumnya dapat ditarik beberapa kesimpulan diantaranya adalah sebagai berikut:

1. Pemberian kombinasi ekstrak etanol 96% *Cinnamomum burmannii*, *Eleutherine bulbosa* dengan perbandingan 1:1 dapat menurunkan kadar kolesterol total serum darah mencit yang diinduksi HFD (*High Fat Diet*) paling efektif secara *in vivo*
2. Berdasarkan hasil prediksi HIA, PASS, *Lipinski Rule of Five*, dan hasil *molecular docking*, senyawa yang terkandung dalam *Cinnamomum burmannii* yang paling efektif berperan dalam penurunan kadar kolesterol total secara *in silico* dengan cara menghambat kerja reseptor HMG KoA reduktase adalah senyawa quercetin sedangkan yang terkandung dalam *Eleutherine bulbosa* adalah senyawa eleutherinol.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terdapat beberapa saran antara lain sebagai berikut:

1. Perlunya diadakan penelitian berupa screening bahan aktif yang ada pada *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa*
2. Perlunya diadakan penelitian tentang interaksi senyawa-senyawa yang terkandung pada *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* terhadap aktivitas enzim HMG KoA reduktase secara *in vitro*
3. Perlunya diadakan penelitian pengaruh senyawa-senyawa yang terkandung pada *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* terhadap aktivitas enzim yang berperan dalam sintesis kolesterol dalam tubuh melalui jalur lain misalnya enzim ACAT secara *in silico* dan *in vitro*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abu-Tarboush, H. M., & Dawood, A. A. 1993. Cholesterol and Fat Contents of Animal Adipose Tissues. *Food Chemistry*. 46(1): 89-93.
- Accerlys, Enterprise Platform. 2005. *Introduction to The Discovery Studio Visualizer*. San Diego: Accelrys Software Inc.
- Adam John, M. F. 2006. *Dislipidemia. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III*. 4th ed. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Adam, J. M. 2009. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III*. Edisi V. Jakarta: Penerbit FKUI.
- Al-Dhubiab, B. E. 2012. Pharmaceutical applications and phytochemical profile of *Cinnamomum burmannii*. *Pharmacognosy reviews*. 6(12): 125.
- Al-Hifnawi, M. I., & Utsman, M. H. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azam.
- Almatsier, Sunita. 2004. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Al-Qurthubi, Syaikh Imam. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- al-Sya'râwi, M. M. 2004. *Tafsir al-Sya'râwî*, terj. Tim Safir al-Azhar. Jakarta: Duta Azhar.
- Al-Zuhaili, W. 1991. *Al-Tafsir al-Munir fi al-Aqidah wa al-Syariah wa al-Manhaj*. Beirut: Dar al-Fikr.
- Apriani, Riza. 2012. Uji Penghambatan Aktivitas  $\alpha$ -Glukosidase dan Identifikasi Golongan Senyawa dari Fraksi yang Aktif pada Ekstrak Kulit Batang *Cinnamomum burmannii* (Nees & T. Nees) Blume. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia. Skripsi.
- Arwansyah & Hasrianti. 2014. Simulasi Molecular Docking Senyawa Kurkumin dan Analoginya Sebagai Selective Androgen Receptor Modulator (SARMs) pada Kanker Prostat. *Jurnal Dinamika*. 5(2).
- Azima, Fauzan. 2004. Potensi Anti-Hiperkolesterolemia Ekstrak *Cassia vera* (*Cinamomum burmanni* Nees ex Blume). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 15(2).
- Baker, W. L., Gutierrez-Williams, G., White, C. M., Kluger, J., & Coleman, C. I. 2008. Effect of Cinnamon on Glucose Control and Lipid Parameters. *Diabetes care*. 31(1): 41-43.
- Bimakr, M., Rahman, R. A., Taip, F. S., Ganjloo, A., Salleh, L. M., Selamat, J., & Zaidul, I. S. M. 2010. Comparisson of Different Extraction Methods for The Extraction of Major Bioactive Flavonoid Compounds from Spearmint (*Mentha spicata* L.) Leaves. *Journal Food and Bioproducts Processing*. 89(1): 67-72.
- Bok, S. H., Lee H., & Park Y. B. 1996. Plasma and Hepatic Cholesterol and Hepatic Activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutary-CoA Reductase and acyl CoA: Cholesterol Transferase are Lower in Rats Fed Citrus Peel

- Extract or a Mixture of Citrus Bioflavonoids. *Journal of Nutritions*. 129 (6).
- BPOM. 2009. *Petunjuk Operasional Pelaksanaan Cara Pembuatan Obat yang Baik*. Jakarta: BPOM.
- Cakrawati, Dewi & Mustika N. H. 2012. *Bahan Pangan, Gizi, dan Kesehatan*. Alfabeta: Bandung.
- Catapano, Alberico L., Graham, Ian., De Backer, G., Wiklund, O., Chapman, M. J., Drexel, H., & Reiner, Ž. 2016. ESC/EAS Guidelines for The Management of Dyslipidaemias. *European Heart Journal*. 37(39):2999-3058.
- Chakravarti, R., & Sahai, V. 2004. Compactin—A Review. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 64(5): 618-624.
- Conquist, A. 1981. *An Integrated System of Clasification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Coumarin. 2006. Opinion on Coumarin (sensitization only). Scientific Committee on Consumer Products (SCCP). *Adopted by the SCCP During The 8<sup>th</sup> Plenary Meeting of 20 June 2006*. Europe Commission.
- Dalimartha, S. 2009. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilis 1*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Darwin, E., & Elfi, E. F. 2017. Effect of Arginine on IL-6, IL-17 and TGF Levels in High-Fat Diet-Induced Hypercholesterolemia Rat. *Journal of Young Pharmacists*. 9(1): 83.
- Dasuki, U. A. 1991. *Sistematik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati Institut Teknologi Bandung.
- Deaville, E. R., Givens, D. I., & Mueller-Harvey, I. 2010. Chestnut and Mimosa Tannin Silages: Effects In Sheep Differ For Apparent Digestibility, Nitrogen Utilisation and Losses. *Animal Feed Science and Technology*. 157(3-4): 129-138.
- DeLano, W. L., & Bromberg S. 2004. *PyMOL User's Guide*. USE: DeLano Scientific LLC.
- Desai, Chintan S., Seth S. Martin, & Roger S. Blumenthal. 2014. Non-cardiovascular Effects Associated with Statins. *British Medical Journal*. 30-37.
- Dewi, F. L. F. 2016. Uji Penetapan Kadar Tablet Atorvastatin yang Beredar di Pasaran Menggunakan Spektrofotometer Ultraviolet. Universitas Negeri Semarang.
- Dorland, N. 2011. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*. Jakarta: EGC.
- Du, X., Li, Y., Xia, Y. L., Ai, S. M., Liang, J., Sang, P., & Liu, S. Q. 2016. Insights Into Protein–Ligand Interactions: Mechanisms, Models, And Methods. *International Journal Of Molecular Sciences*. 17(2): 144.
- Dwiloka, B. 2003. Efek Kolesterolik Berbagai Telur. *Media Gizi dan Keluarga*. 27(2): 58-65.
- Dyaningratri, Y. W. 2014. Pengaruh Ekstrak Curcuma Xanthorrhiza, Roxb. Terhadap Kadar Kolesterol Total Darah Rattus Norvegicus Hiperqlikemia Akibat Induksi Aloksan. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*. 3(1).

- Ekins, S., Mestres, J., & Testa, B. 2007. In Silico Pharmacology For Drug Discovery: Applications to Targets and Beyond. *British Journal Of Pharmacology*. 152(1): 21-37.
- Firdaus, E. A. 2014. Efek Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum cassia*) terhadap Glukosa Darah, Berat Badan, dan Trigliserida Tikus strain Sprague dawley yang Diinduksi Aloksan.
- Funatsu, T., Kakuta, H., Tanaka, H., Arai, Y., Suzuki, K., & Miyata, K. 2001. Atorvastatin (Lipitor): A Review Of Its Pharmacological and Clinical Profile. *Nihon Yakurigaku Zasshi. Folia Pharmacologica Japonica*. 117(1): 65-76.
- Funkhouser, T. 2007. *Protein-Ligand Docking Methods*. Princeton, New Jersey, U.S.A: Princeton University.
- Galingging, Ronny Yuniar. 2009. Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Sebagai Tanaman Obat Multifungsi. *Warta Penelitian dan Pengembangan*. 15(3).
- Goodman & Gilman. 2012. *Dasar Farmakologi Terapi Edisi 10 Volume 2*. Jakarta: EGC.
- Grundy, Scott M. 2004. Obesity, Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Disease. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 89(6).
- Gupta, R., Rao, R. S., Misra, A., & Sharma, S. K. 2017. Recent Trends in Epidemiology of Dyslipidemia in India. *Indian Heart Journal*. 69(3).
- Guyton, A. C. & Hill, J. E. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi ke-9. Jakarta: EGC.
- Hara, H., Maruyama, N., Yamashita, S., Hayashi, Y., Lee, K. H., Bastow, K. F., & Imakura, Y. 1997. Elecanacin, A Novel Naphtoquinone from The Bulg of *Eleutherine americana*. *Chem. Pharm. Bull.* 45(10).
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Harikumar, K., Althaf, S. A., Ramunaik, M., & Suvarna, C. H. 2013. A Review on Hyperlipidemic. *International Journal of Novel Trends In Pharmaceutical Sciences*. 3(4).
- Hartono, Andry. 2006. *Terapi Gizi dan Diet Rumah Sakit Edisi 2*. Jakarta: EGC.
- Harvey, R. A., & Champe, P. C. 2012. Lippincott's Illustrated Reviews Pharmacology. *Wolters Kluwer*. 526: 530-541
- Hernandez, M. A., & Rathinavelu, A. 2017. *Basic Pharmacology: Understanding Drug Actions and Reactions*. Routledge.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia I*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Istvan, E. 2003. Statin Inhibition of HMG-CoA Reductase: A 3-dimensional View. *Atherosclerosis Supplements*. 4(1): 3-8.
- Istvan, E. S., & Deisenhofer, J. 2000. The Structure of The Catalytic Portion of Human HMG-Coa Reductase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 1529(1-3): 9-18.
- Jaganath, I. B., Jaganath, 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 Radical Research*. 40(10): 1035-1046.
- Jamkhande, P. G. 2014. Antioxidant, Antimicrobial Activity and In Silico Pass Prediction of *Annona reticulate* Linn. *Journal of Basic and Applied Sciences*. 1(3).
- Kang, Y. M. 2005. *PreADMET*. Yonsei Engineering Research Complex. Yonsei University. 50 Yonsei-Ro. Seodaemun-Gu. Seoul. Republic of Korea.
- Kartika, Yulis., Hakim Bangun, & Rosidah. 2018. Effect Of Sodium Alginate On Prevention of Hypercholesterolemia and Atherosclerosis In Rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 11(6).
- Kemenag RI. 2011. *Al Quran dan Tafsirannya*. Jakarta: Widya Cahaya.
- Kemenkes RI. 2017. Penyakit Jantung Penyebab Kematian Tertinggi, Kemenkes Ingatkan Cerdik.  
<http://www.depkes.go.id/article/view/17073100005/penyakit-jantung-penyebab-kematian-tertinggi-kemenkes-ingatkan-cerdik-.html>. Diakses pada 05 Februari 2019.
- Kharisma, H. 2012. Pengaruh Ekstrak Air Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Kolesterol Total pada Tikus Hiperlipidemia. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Doctoral dissertation.
- Krismawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Kwan, Bonnie C. H., Kronenberg, F., Beddhu, S., & Cheung, A. K. 2007. Lipoprotein Metabolism and Lipid Management in Chronic Kidney Disease. *Journal American Society of Nephrology*. 18: 1246-1261.
- Kwiterovich, P. O. 2000. The Metabolic Pathways of High-density Lipoprotein, Low-density Lipoprotein, and Triglycerides: A Current Review. *Am J Cardiol*. 86(2).
- Lagunin, A., Stepanchikova, A., Filimonov, D., & Poroikov, V. 2000. PASS: Prediction of Activity Spectra For Biologically Active Substances. *Bioinformatics*. 16(8): 747-748.
- Lee, K., Cho, S. H., Lee, J. H., Goo, J., Lee, S. Y., Boovanahalli, S. K., & Choi, Y. 2013. Synthesis of A Novel Series of 2-Alkylthio Substituted Naphthoquinones As Potent Acyl-Coa: Cholesterol Acyltransferase (ACAT) Inhibitors. *European Journal Of Medicinal Chemistry*. 62: 515-525.
- Longo, D. L., Fauci, A. S., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., & Loscalzo, J. 2011. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. New York: The McGraw-Hill Publishing.
- M., Ervina, Nawu, Y. E., & Esar, S. Y. 2016. Comparison of In Vitro Antioxidant Activity of Infusion, Extract and Fractions of Indonesian Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) Bark. *International Food Research Journal*. 23(3): 1346.
- Majid, Abdul. 2007. Penyakit Jantung Koroner: Patofisiologi, Pencegahan dan Pengobatan Terkini. Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatera Utara. USU eRepository.

- Mansjoer, Arif., Triyanti, K., Savitri, R., Wardhani, W. I., Setiowulan, W., & Tiara, A. D. 2005. *Kapita Selekta Kedokteran Edisi Ketiga Jilid I*. Jakarta: Media Aesculapius Fakultas Kedokteran UI.
- Maryani, P. E., Ulfa, E. U., & Rachmawati, E. 2016. Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Tikus Hiperlipidemia (The Influence of Methanol Extract of Yellow Root (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) Leaves on Total Cholesterol. *Pustaka Kesehatan*. 4(1): 20-26.
- McFarland, Amelia J., Anoopkumar-Dukie, S., Arora, D. S., Grant, G. D., McDermott, C. M., Perkins, A. V., & Davey, A. K. 2014. Molecular Mechanisms Underlying The Effects of Statins in The Central Nervous System. *International Journal of Molecular Sciences*. 15: 20607-20637.
- Mendieta, A., Jiménez, F., Garduño-Siciliano, L., Mojica-Villegas, A., Rosales-Acosta, B., Villa-Tanaca, L., & Montiel, L. E. 2014. Synthesis and Highly Potent Hypolipidemic Activity of Alpha-Asarone-And Fibrate-Based 2-Acyl and 2-Alkyl Phenols As HMG-Coa Reductase Inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 22(21): 5871-5882.
- Meng, X., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. 2011. Molecular docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Curr Comp Aided Drug Des*. 7(2).
- Metwally, M. A. A., El-Gellal, A. M., & El-Sawaisi, S. M. 2009. Effects Of Silymarin On Lipid Metabolism In Rats. *World Appl Sci J*. 6(12): 1634-7.
- Moor, Vicky J., Amougou, S. N., Ombotto, S., Ntone, F., Wouamba, D. E., & Nonga, B. N. 2017. Dyslipidemia in Patient With a Cardiovascular Risk and Disease at The University Teaching Hospital of Yaounde, Cameroon. *Hindawi: International Journal of Medicine*. Vol. 2017.
- Motiejunas, D., & Wade, R. C. 2007. Structural, Energetic, and Dynamic Aspects of Ligand–Receptor Interactions. *Comprehensive Medicinal Chemistry II*. 193–213.
- Mukesh, B., & Rakesh, K. 2011. Molecular docking: A Review. *Int J Res Ayurv Pharm*. 2(6).
- Murray, R. K., Granner, dan Rodwell. 2009. *Biokimia Harper*. Edisi ke 27. Jakarta: EGC.
- 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 Pharmaceuntical Sciences*. 4(3).
- Nurhaningtyas, Khoirina D., Sabirin, M., & Tutik, D. W. 2005. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.). *Bioinformasi*. 3(1).
- Onkara, P. Kumar, S. A., Kanakaraju, S., Prasanna, B., Pydisetty, Y., & Chandramouli, G. V. P. 2013. Molecular Docking Studies, Synthesis and Antibacterial Properties of New Mannich Bases. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 4(2).

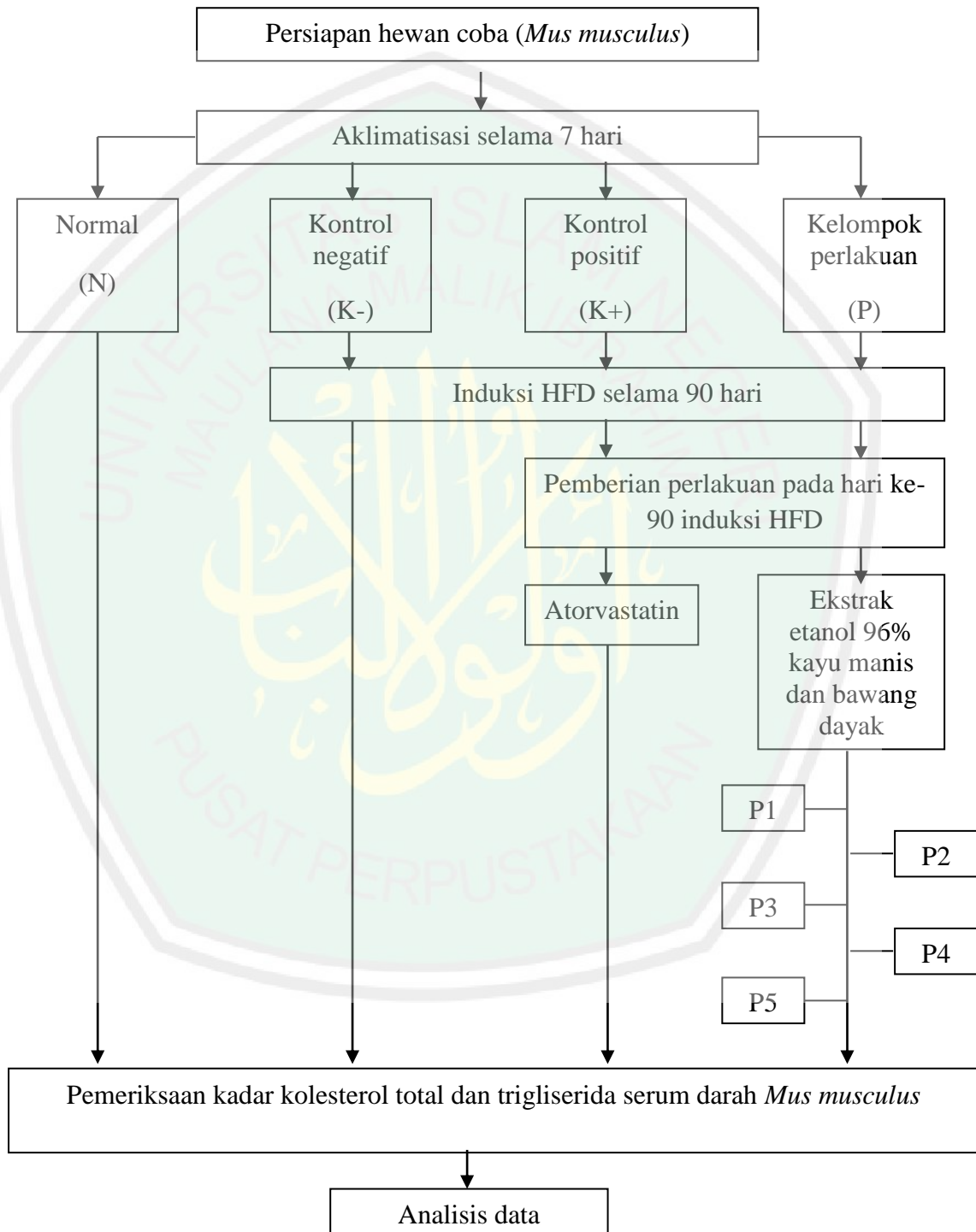
- Paramawati, R., & Dumilah, H. D. R. 2016. *Khasiat Ajaib Daun Avokad*. Jakarta: Penebar Swadaya Grup.
- Patrick, G. 2001. *Medicinal Chemistry-Instant Notes. Bios*. United Kingdom: Scientific Publishers limited.
- Pramely, P. 2012. Prediction of Biological Activity Spectra of A Few Phytoconstituents of *Azadirachta indica*. *Journal Biochem Tech*. 3(4).
- Pramitasari, Mustika Rinjani., Ruby Riana, Moch Bahrudin. 2012. Pengaruh Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Perbaikan Profil Lipid pada *Rattus norvegicus* Strain Wistar Hiperkolesterolemia. *Saintika Medika: Jurnal Ilmu Kesehatan dan Kedokteran Keluarga*. 8(2).
- Price, A. Sylvia & Lorraine Mc. Carty Wilson. 2006. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-proses Penyakit Edisi 6*. Jakarta: EGC.
- Qardhawi, M. Yusuf. 2000. *Halal dan Haram dalam Pandangan Islam*. Jakarta: Robbaani.
- Rahma, S., Rosdiana, N., & Peter, K. 2014. Pengaruh Antioksidan Madu Dorsata dan Madu Trigona Terhadap Penghambatan Oksidasi LDL pada Mencit Hiperkolesterolemia. *JST Kesehatan*. 4(4): 377-384.
- Ranti, G. C., Fatimawali, F., & Wehantouw, F. 2013. Uji Efektivitas Ekstrak Flavonoid Dan Steroid Dari Gedi (*Abelmoschus manihot*) Sebagai Anti Obesitas dan Hipolipidemik pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Pharmacon*. 2(2).
- Rao, Pasupuleti Visweswara, & Slew Hua Gan. 2014. Cinnamon: A Multifaced Medicinal Plant. *Journal Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*. 1(1).
- Ravindran, P. N. Nirmal-Babu, K., & Shylaja, M. 2004. *Cinnamon and Cassia The Genus Cinnamomum*. USA: CRC Press.
- Restyani, A. E. 2015. *Hubungan Pola Konsumsi Lemak Jenuh dan Obesitas Sentral Terhadap Kadar Kolesterol Total*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Risyad, A., Resi L. P., & Siswarni M. Z. 2016. Ekstraksi Minyak dari Biji Alpukat (*Persea americana* Mill) Menggunakan Pelarut N-heptana. *Jurnal Teknik Kimia*. 5(1).
- Rosa, L. E. 2013. Penentuan Kuersetin Dalam Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Institut Pertanian Bogor. Skripsi.
- Sadym, A., Lagunin, A., Filimonov, D., & Poroikov, V. 2003. Prediction Of Biological Activity Spectra Via The Internet. *SAR and QSAR in Environmental Research*. 14(5-6): 339-347.
- Sandeep, G., Nagasree, K. P., Hanisha, M., & Kumar, M. M. K. 2011. Audocker LE: A GUI for Virtual Screening with Autodock Vina. *BMC Research Note*.
- Sanggal, A. 2011. Role of Cinnamon as Beneficial Food Adjunct. *A Review Pelagia Research Library*. 2(4).
- Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., & Rémésy, C. 2002. Absorption and Metabolism of Polyphenols in The Gut and Impact on Health. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 56(6): 276-282.

- Sharma, N., Mogra R., & Upadhyay B. 2009. Effect of Stevia Extract Intervention on Lipid Profile. *Studies on Ethno-Medicine*. 3(2).
- Shiau, A. K., Barstad, D., Loria, P. M., Cheng, L., Kushner, P. J., Agard, D. A., & Greene, G. L. 1998. The Structural Basis of Estrogen Receptor/Coactivator Recognition and The Antagonism of This Interaction by Tamoxifen. *Cell*. 95(7): 927-937.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al Quran Volume 12*. Jakarta: Lentera Hati.
- Silalahi. 2006. *Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Simanjuntak, M. T. 2007. Aspek Biofarmasi Mekanisme Absorpsi Obat: Peranan Monocarboxlic Acid Transporter-1 (MCT-1) Terhadap Absorpsi Obat dalam Usus Halus. Universitas Sumatra Utara.
- Stepanchikova, A. V., Lagunin, A. A., Filimonov, D. A., & Poroikov, V. V. 2003. Prediction of Biological Activity Spectra For Substances: Evaluation on The Diverse Sets of Drug-Like Structures. *Current Medicinal Chemistry*. 10(3): 225-233.
- Stryer, L. 1996. *Biochemistry*. New York: W. H. Freeman and Company.
- Syah, A. N. A. 2006. *Taklukkan Penyakit dengan Teh Hijau*. Jakarta: Agro Media.
- Syahputra, G. 2014. Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*. 10(1).
- Tiwari, P. B. K., & Mandeep K. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *International Pharmaceutica Scientia*. 1(1).
- Tjay, Tan Hoan & Kirana Rahardja. 2007. *Obat-obat Penting Khasiat Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya Edisi Keenam*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Tomlinson, Susan S., & Kathleen K. Mangione. 2005. Potential Adverse Effect of Statins on Muscle. *Physical Therapy*. 85:5.
- Trott, O., & Olson, A. J. 2010. AutoDock Vina: Improving The Speed and Accuracy of Docking With A New Scoring Function, Efficient Optimization, And Multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. 31(2): 455-461.
- Utaminingsih, R. W. 2009. *Mengenal dan Mencegah Penyakit Diabetes, Hipertensi, Jantung, dan Stroke untuk Hidup Lebih Berkualitas*. Yogyakarta: Media Ilmu.
- Wardatun, S., Rustiani, E., Alfiani, N., & Rissani, D. 2017. Study Effect Type of Extraction Method And Type of Solvent To Cinnamaldehyde and Trans-Cinnamic Acid Dry Extract Cinnamon (*Cinnamomum burmanii* [Nees & T, Nees] Blume). *Journal of Young Pharmacists*. 9(1): S49.
- Wells, Barbara G. 2015. *Pharmacotherapy Handbook Ninth Edition*. Inggris: McGraw-Hill Education Companies.
- Wessel, M. D., & Jurs P. C. 1998. Geranyl Flavonoids from The Leaves of *Artocarpus atilis*. *Phytochemistry*. 68: 1300-1306.
- WHO. 2017. Cardiovascular Diseases (CVDs). [https://www.who.int/cardiovascular\\_diseases/world-heart-day/en/](https://www.who.int/cardiovascular_diseases/world-heart-day/en/). Diakses pada 05 Februari 2019.

- Wierzbicki, A. S., Lumb, P. J., Semra, Y., Chik, G., Christ, E. R., & Crook, M. A. 1999. Atorvastatin Compared with Simvastatin-Based Therapies in The Management of Severe Familial Hyperlipidaemias. *Q J Med.* 92:387-394.
- Wirahadikusumah, M. 1985. *Biokimia: Metabolisme Karbohidrat dan Lipid.* Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Wu, X., Whitfield, L. R., & Stewart, B. H. 2000. Atorvastatin Transport In The Caco-2 Cell Model: Contributions Of P-Glycoprotein And The Proton-Monocarboxylic Acid Co-Transporter. *Pharmaceutical Research.* 17(2): 209-215.
- Wulansari, D. D., Basori, A., & Suhartati, S. 2017. Effect of Papaya Seed Extract (*Carica papaya* Linn.) on Glucose Transporter 4 (GLUT 4) Expression of Skeletal Muscle Tissue in Diabetic Mice Induced by High Fructose Diet. *Traditional Medicine Journal.* 22(2), 131-138.



## LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Alur Penelitian *In Vivo*

**LAMPIRAN 2. Timelie Penelitian *In Vivo***

Jenis Kegiatan	Waktu																Tempat		
	Mei		Juni				Juli				Agustus				September				
	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2		3	4
Pembuatan ekstrak etanol 96% <i>Cinnamomum burmannii</i> dan <i>Eleutherine bulbosa</i>																			Lab. Fisiologi Tumbuhan
Aklimatisasi																			Lab. Hewan Coba
Induksi <i>High Fat Diet</i> (HFD) pada pakan dan minum																			Lab. Hewan Coba
Induksi <i>High Fat Diet</i> (HFD) pada pakan, minum, dan oral																			Lab. Hewan Coba
Induksi HFD + ekstrak etanol 96% <i>Cinnamomum burmannii</i> dan <i>Eleutherine bulbosa</i>																			Lab. Hewan Coba
Euthanasia dan pengambilan serum darah mencit																			Lab. Hewan Coba
Pengukuran kadar kolesterol total serum darah mencit																			Lab. Biomedik

### LAMPIRAN 3. Perhitungan Dosis

#### 1. Induksi HFD pada Pakan dan Minum

Induksi HFD yang dilakukan melalui pakan dilakukan dengan mencampurkan kedua bahan yakni kuning telur puyuh, lemak sapi, dan BR-1 dengan perbandingan yang sama. Mencit diberi pakan sebanyak 8 gram per hari sehingga didapatkan komposisi masing-masing bahan yang dicampurkan adalah 2,67 gram/ekor mencit. Sedangkan untuk PTU ditambahkan pada minum mencit dengan ketentuan 100 mg PTU dilarutkan pada 1 liter air minum yang diberikan secara ad libitum.

#### 2. Induksi HFD secara oral

HFD yang diinduksi secara oral terdiri dari kolesterol murni yang dilarutkan dalam minyak goreng. Komposisi kolesterol yang diinduksikan untuk per ekor tikus adalah 0,1 mg sehingga konversi dosis untuk mencit adalah:

$$\begin{aligned} 0,1 \times 0,14 &= 0,014 \text{ mg} / 20 \text{ grBB mencit} \\ &= \frac{25}{20} \times 0,014 \\ &= 0,0175 \text{ mg} / 25 \text{ grBB mencit} \end{aligned}$$

#### 3. Ekstrak Etanol 96% *C. burmannii* dan *E. bulbosa*

##### a. Dosis 100%

300 mg / kgBB tikus (tikus: 200 gram)

$$\frac{200}{1000} \times 300 = 60 \text{ mg} / 200 \text{ grBB tikus lalu dikonversi ke dosis mencit,}$$

$$60 \times 0,14 = 8,4 \text{ mg} / 20 \text{ grBB mencit}$$

$$= \frac{25}{20} \times 8,4$$

$$= 10,5 \text{ mg} / 25 \text{ grBB mencit (Dosis untuk 100% ekstrak)}$$

##### b. Dosis 75%

$$\frac{75}{100} \times 10,5 \text{ mg} = 7,875 \text{ mg} / 25 \text{ grBB mencit}$$

##### c. Dosis 50%

$$\frac{50}{100} \times 10,5 \text{ mg} = 5,25 \text{ mg} / 25 \text{ grBB mencit}$$

d. Dosis 25%

$$\frac{25}{100} \times 10,5 \text{ mg} = 2,625 \text{ mg} / 25 \text{ grBB mencit}$$

#### 4. Obat Kontrol Atorvastatin

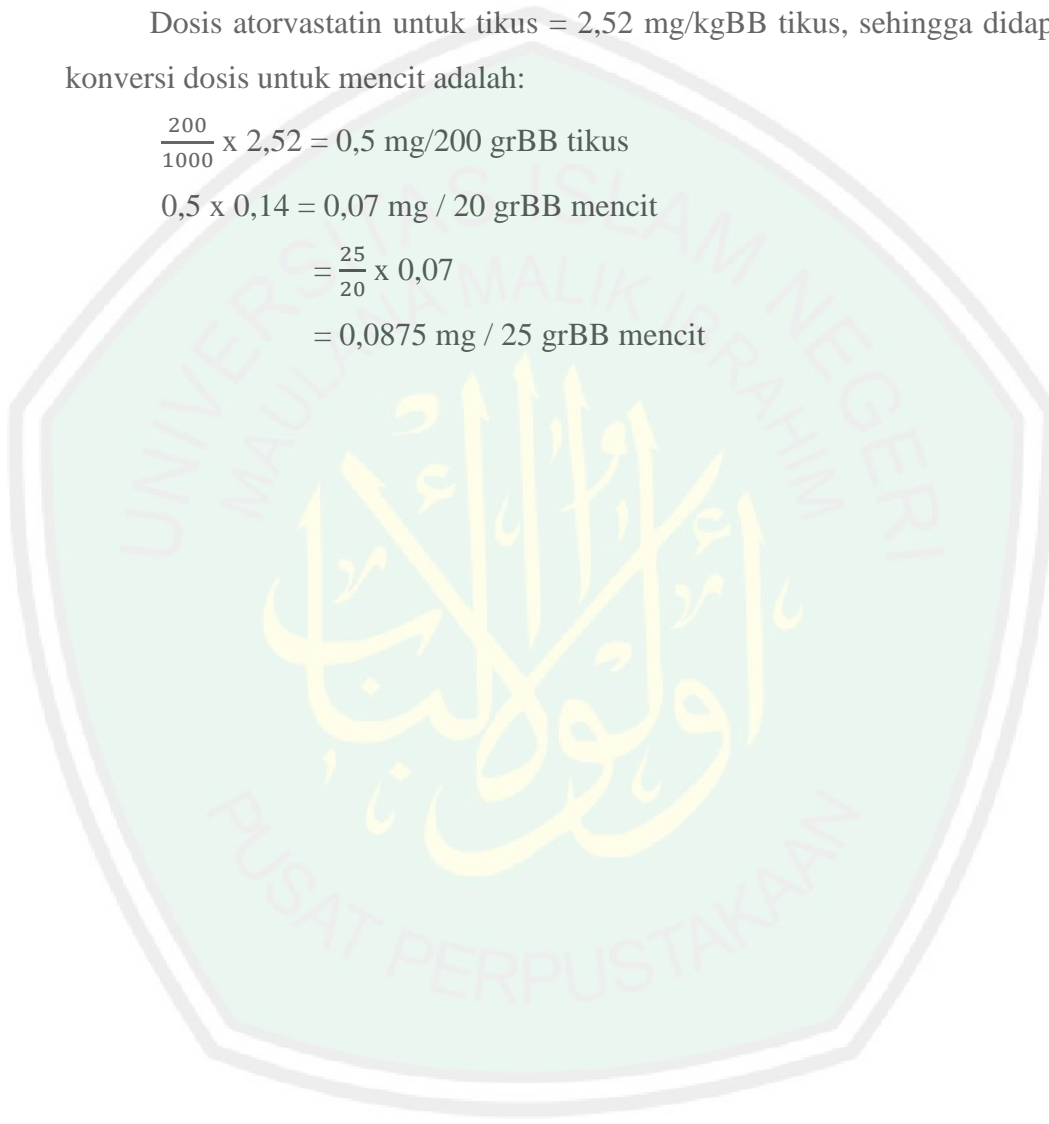
Dosis atorvastatin untuk tikus = 2,52 mg/kgBB tikus, sehingga didapatkan konversi dosis untuk mencit adalah:

$$\frac{200}{1000} \times 2,52 = 0,5 \text{ mg} / 200 \text{ grBB tikus}$$

$$0,5 \times 0,14 = 0,07 \text{ mg} / 20 \text{ grBB mencit}$$

$$= \frac{25}{20} \times 0,07$$

$$= 0,0875 \text{ mg} / 25 \text{ grBB mencit}$$



**LAMPIRAN 4. Hasil Uji Statistik Menggunakan SPSS**

	<b>U1</b>	<b>U2</b>	<b>U3</b>	<b>U4</b>	<b>Rata-rata</b>	<b>SD</b>
<b>Normal</b>	136.72	167.97	165.63	142.97	153.32	15.80
<b>K-</b>	260.94	365.63	291.41	389.84	326.95	60.75
<b>K+</b>	247.66	193.75	171.88	98.44	177.93	61.83
<b>P1</b>	263.28	240.63	204.69	266.41	243.75	28.46
<b>P2</b>	198.44	282.03	204.69	156.25	210.35	52.41
<b>P3</b>	226.56	218.75	193.75	121.09	190.04	48.05
<b>P4</b>	185.16	234.38	195.31	158.59	193.36	31.42
<b>P5</b>	300.00	198.44	207.81	171.09	219.34	55.99

**1. Uji Normalitas**

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Kadar_Kolestero I_Total
N		32
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	214.3799
	Std. Deviation	65.23377
Most Extreme Differences	Absolute	.134
	Positive	.134
	Negative	-.061
Kolmogorov-Smirnov Z		.757
Asymp. Sig. (2-tailed)		.615

a. Test distribution is Normal.

**2. Uji Homogenitas**

**Test of Homogeneity of Variances**

Kadar\_Kolesterol\_Total

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.042	7	24	.429

### 3. Uji One Way Anova

#### ANOVA

Kadar\_Kolesterol\_Total

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	78669.415	7	11238.488	5.065	.001
Within Groups	53249.359	24	2218.723		
Total	131918.774	31			

### 4. Uji Duncan

Kadar\_Kolesterol\_Total

Duncan

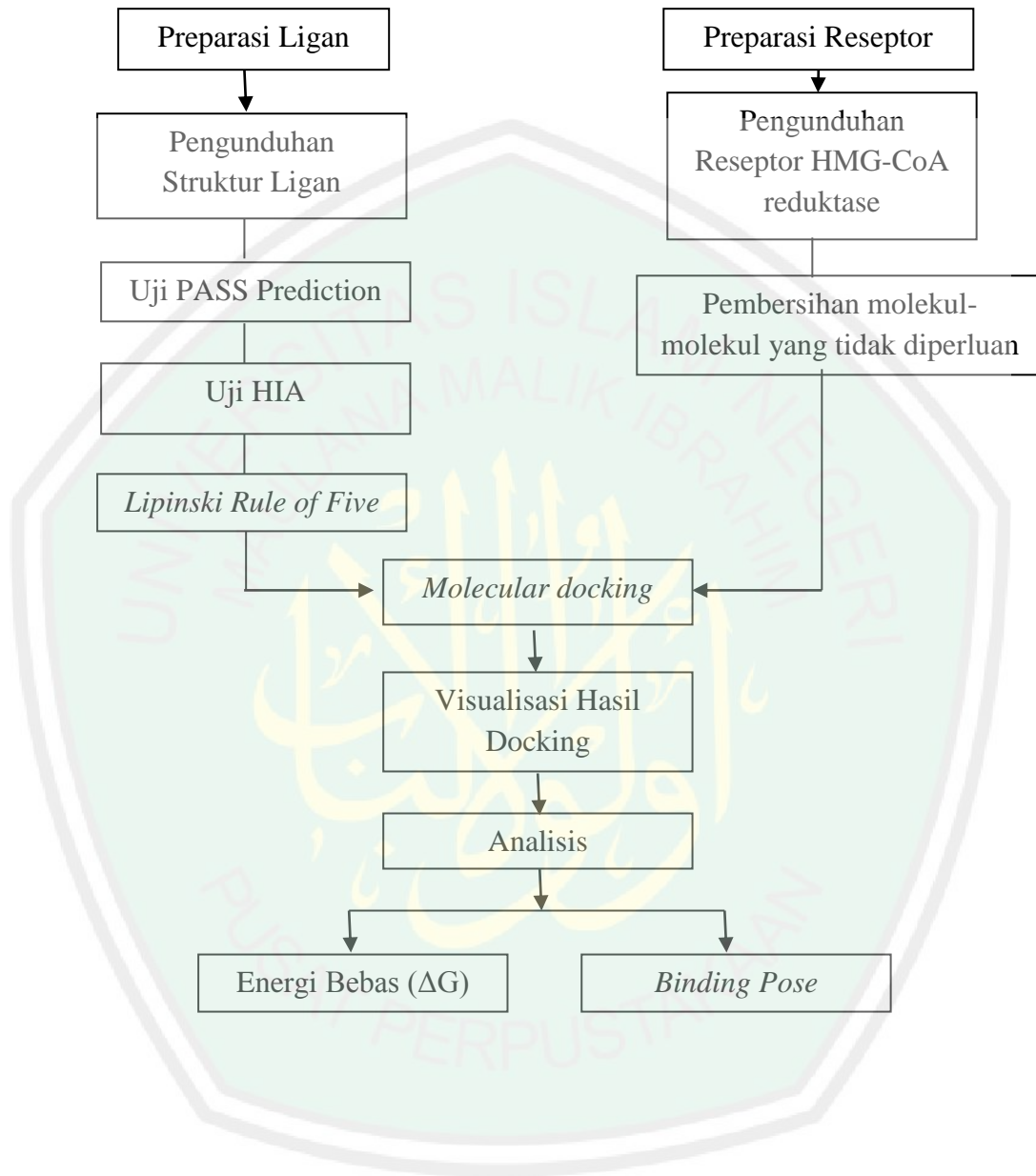
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Normal	4	1.5332E2		
K+	4	1.7793E2	1.7793E2	
P3	4	1.9004E2	1.9004E2	
P4	4	1.9336E2	1.9336E2	
P2	4	2.1035E2	2.1035E2	
P5	4	2.1934E2	2.1934E2	
P1	4		2.4375E2	
K-	4			3.2695E2
Sig.		.091	.092	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

LAMPIRAN 5. Dokumentasi Penelitian *In Vivo*



LAMPIRAN 6. Alur Penelitian *In Silico*

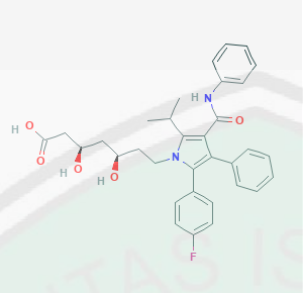
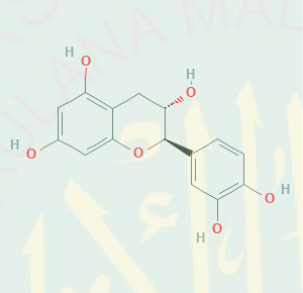
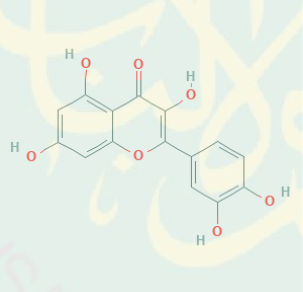
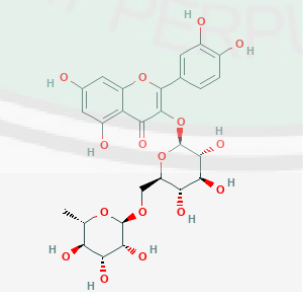


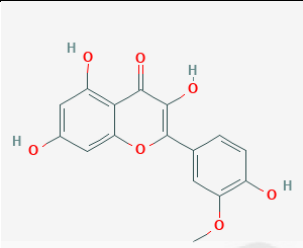
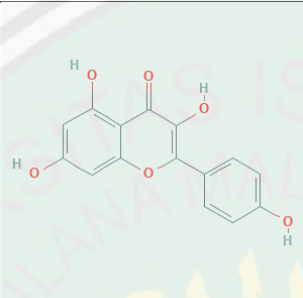
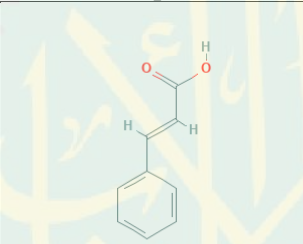
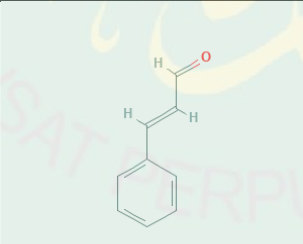
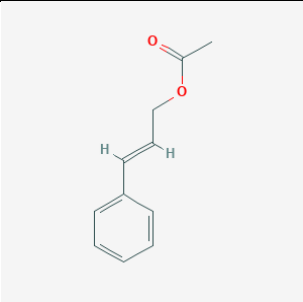
**LAMPIRAN 7. Struktur Reseptor**

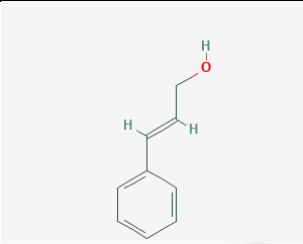
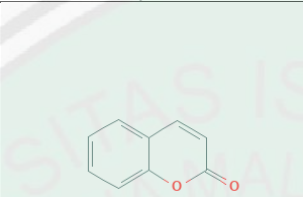
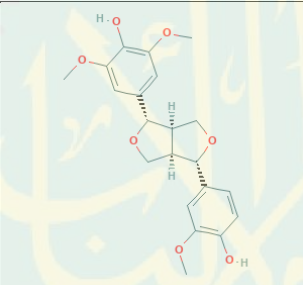
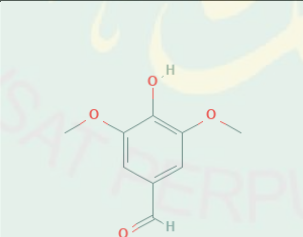
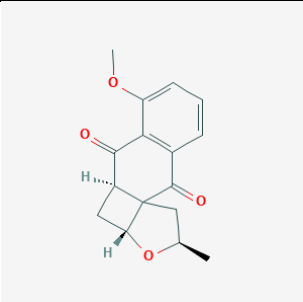


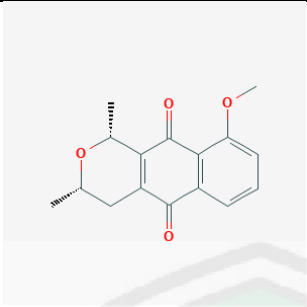
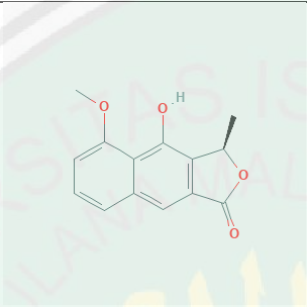
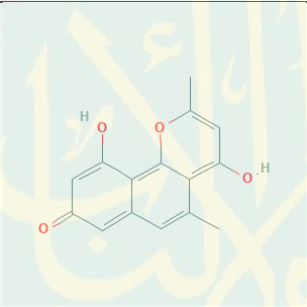
Struktur 3D Reseptor HMG KoA Reduktase

## LAMPIRAN 8. Struktur Ligan

CID Senyawa	Struktur	SMILES
60823	 <p>Atorvastatin</p>	<chem>CC(C)C1=C(C(=C(N1CCC(CC(=O)O)O)O)C2=CC=C(C=C2)F)C3=CC=CC=C3)C(=O)NC4=CC=CC=C4</chem>
9064	 <p>Catechin</p>	<chem>C1C(C(OC2=CC(=CC(=C21)O)O)C3=CC(=C(C=C3)O)O)O</chem>
5280343	 <p>Quercetin</p>	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>
5280805	 <p>Rutin</p>	<chem>CC1C(C(C(C(O1)OCC2C(C(C(C(O2)OC3=C(OC4=CC(=CC(=C4C3=O)O)O)C5=CC(=C(C=C5)O)O)O)O)O)O)O)O</chem>

5281654	 <p>Isorhamnetin</p>	<chem>COC1=C(C=CC(=C1)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>
5280863	 <p>Kaempferol</p>	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>
444539	 <p>Cinnamic Acid</p>	<chem>C1=CC=C(C=C1)C=CC(=O)O</chem>
637511	 <p>Cinnamaldehyde</p>	<chem>C1=CC=C(C=C1)C=CC=O</chem>
5282110	 <p>Cinnamyl Acetate</p>	<chem>CC(=O)OCC=CC1=CC=CC=C1</chem>

5315892	 <p>Cinnamyl Alcohol</p>	<chem>C1=CC=C(C=C1)C=CCO</chem>
323	 <p>Coumarin</p>	<chem>C1=CC=C2C(=C1)C=CC(=O)O2</chem>
181681	 <p>Medioresinol</p>	<chem>COC1=CC(=CC(=C1O)OC)C2C3COC(C3CO2)C4=CC(=C(C=C4)O)OC</chem>
8655	 <p>Syringaldehyde</p>	<chem>COC1=CC(=CC(=C1O)OC)C=O</chem>
5491405	 <p>Elecanacin</p>	<chem>CC1CC23C(CC2O1)C(=O)C4=C(C3=O)C=CC=C4OC</chem>

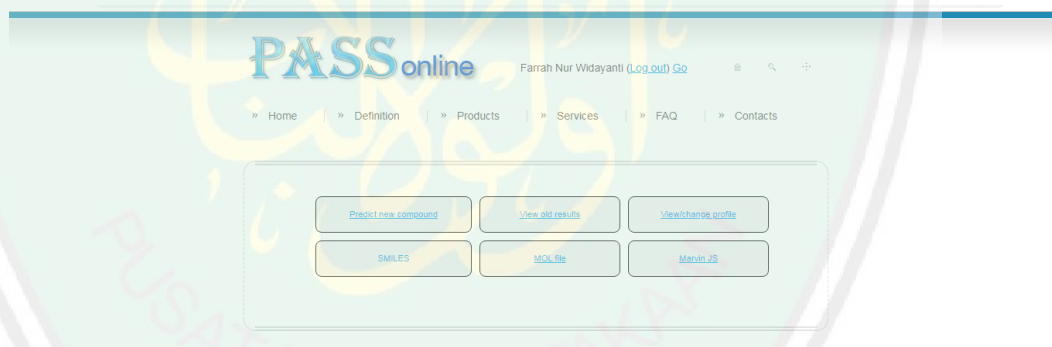
10166	 <p>Chemical structure of Eleutherin, a complex polycyclic compound with multiple oxygen-containing functional groups and a fused ring system.</p>	<chem>CC1CC2=C(C(O1)C)C(=O)C3=C(C2=O)C=CC=C3OC</chem>
120697	 <p>Chemical structure of Eleutherol, a complex polycyclic compound with multiple oxygen-containing functional groups and a fused ring system.</p>	<chem>CC1C2=C(C=C3C=CC=C(C3=C2O)O)C(=O)O1</chem>
136623083	 <p>Chemical structure of Eleutherinol, a complex polycyclic compound with multiple oxygen-containing functional groups and a fused ring system.</p>	<chem>C1C(CC2C(C1O)C1C(C(C2)C)C(=O)CC(O1)C)O</chem>

## LAMPIRAN 9. Uji PASS

1. Dibuka software online PASS melalui link <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/#register-form> kemudian klik Go Prediction



2. Lakukan login dan pilih Predict new compound pilih SMILES



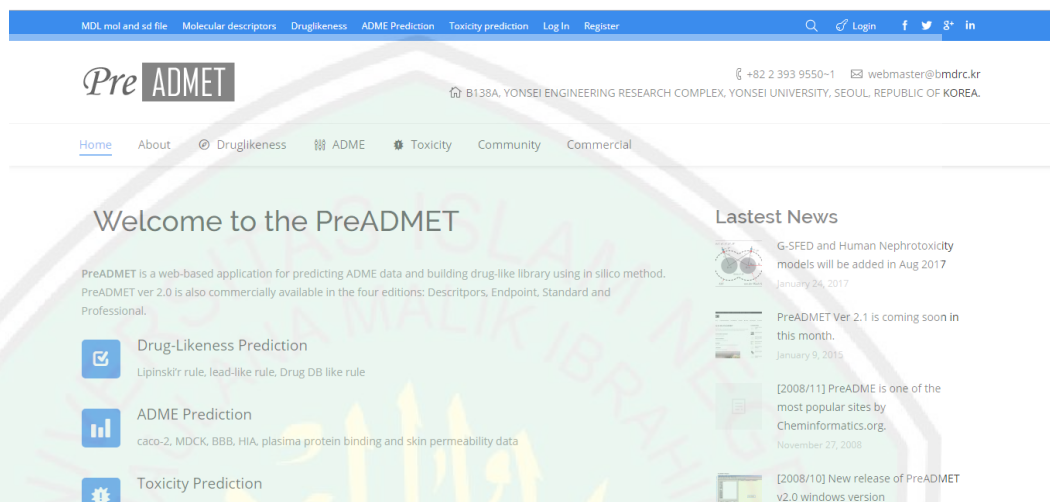
3. Masukkan SMILES yang dimiliki oleh ligan kemudian klik Get prediction

4. Hasil prediksi PASS akan tertera di layar kemudian temukan aktivitas yang dikehendaki

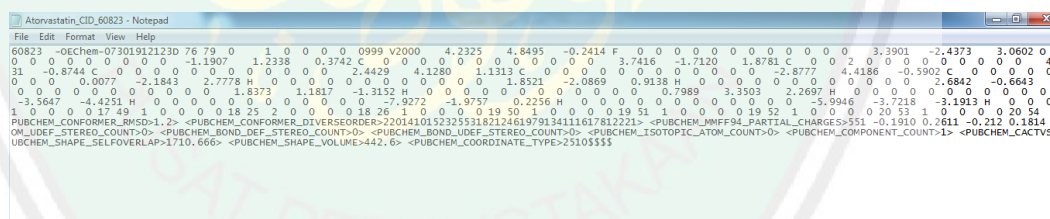
Pa	Pi	Activity
0,860	0,005	Hypolipemic
0,561	0,028	Antianginal
0,545	0,018	APOA1 expression enhancer
0,511	0,020	Antihypercholesterolemic
0,529	0,049	CYP2C8 inhibitor
0,467	0,005	Cholesterol synthesis inhibitor
0,511	0,060	CYP3A4 substrate
0,468	0,028	CYP4A11 substrate
0,450	0,026	Atherosclerosis treatment
0,448	0,049	Antiviral (Rhinovirus)

## LAMPIRAN 10. Uji HIA

1. Dibuka software online PreADMET melalui link <https://preadmet.bmdrc.kr/> lalu pilih ADME Prediction



2. Dibuka ligan yang sudah didownload menggunakan software notepad untuk didapatkan MOL file dari ligan tersebut kemudian dicopy MOL file ligan dari notepad



3. Dipaste MOL file yang telah dicopy pada kotak dialog yang muncul setelah memilih Load Molecule kemudian klik Load

4. Setelah muncul struktur senyawa yang dimasukkan kemudian klik Submit

5. Hasil prediksi HIA akan muncul pada layar

BBB	0.673428
Buffer_solubility_mg_L	14127**
Caco2	21.709
CYP_2C19_inhibition	Non
CYP_2C9_inhibition	Inhibitor
CYP_2D6_inhibition	Non
CYP_2D6_substrate	Non
CYP_3A4_inhibition	Inhibitor
CYP_3A4_substrate	Substrate
HIA	94.651032
MDCK	0.0435818
Pgp_inhibition	Inhibitor
Plasma_Protein_Binding	90.347674
Pure_water_solubility_mg_L	0.114884

## LAMPIRAN 11. Kalkulasi *drug-likeness*

1. Dibuka software online *Lipinski Rule of Five* melalui link <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp> klik Choose File dan pilih ligan yang akan dikalkulasi dengan format .pdb kemudian klik Submit

Supercomputing Facility for Bioinformatics & Computational Biology, IIT Delhi

Home | Group | Publications | Resources | Webmail | Contact Us

### Lipinski Rule of Five

Lipinski rule of 5 helps in distinguishing between drug like and non drug like molecules. It predicts high probability of success or failure due to drug likeness for molecules complying with 2 or more of the following rules

- Molecular mass less than 500 Dalton
- High lipophilicity (expressed as LogP less than 5)
- Less than 5 hydrogen bond donors
- Less than 10 hydrogen bond acceptors
- Molar refractivity should be between 40-130

These filters help in early preclinical development and could help avoid costly late-stage preclinical and clinical failures. To draw a chemical structure [click Here](#) and follow the instructions given.

**Step 1: Input Drug File.**

Input PDB file  No file chosen

**Step 2: Input pH Value**

pH Value:  [Value ranges from 0.0 to 14.0]

**Step 3: Click on 'Submit' to submit your job**

How to Use the Tool

2. Hasil kalkulasi akan langsung muncul di layar

These filters help in early preclinical development and could help avoid costly late-stage preclinical and clinical failures. To draw a chemical structure [click Here](#) and follow the instructions given.

**Step 1: Input Drug File.**

Input PDB file  No file chosen

**Step 2: Input pH Value**

pH Value:  [Value ranges from 0.0 to 14.0]

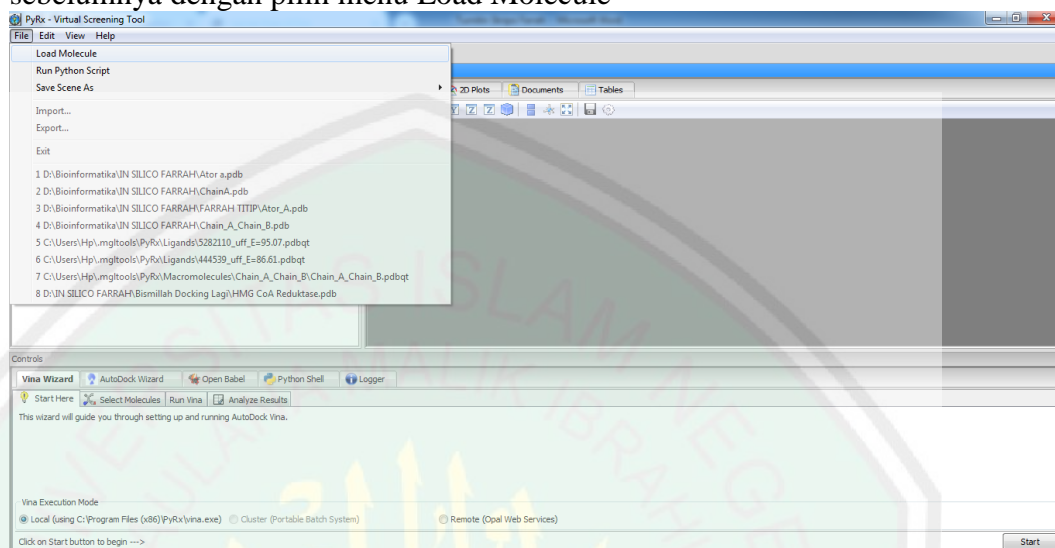
**Step 3: Click on 'Submit' to submit your job**

**Result**

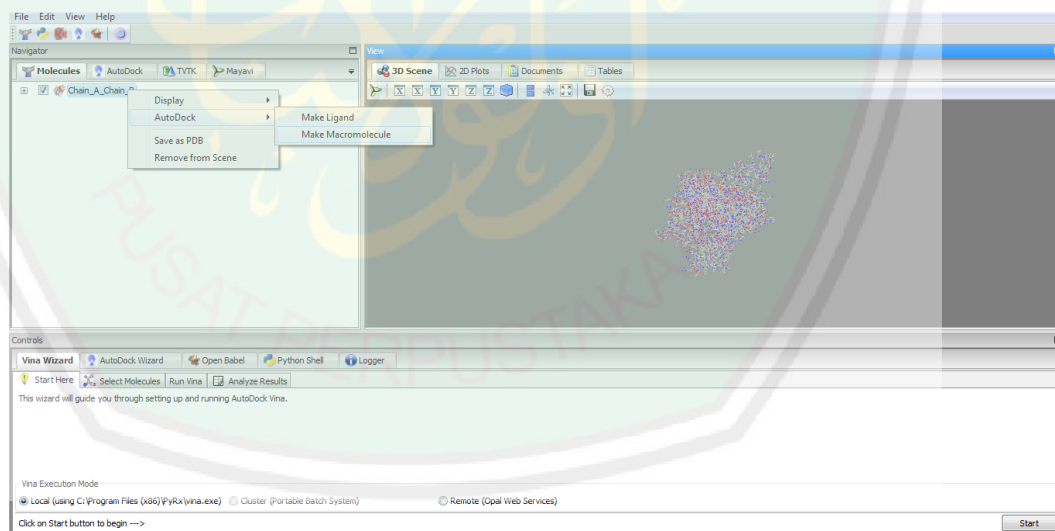
```
mass: 290.000000
hydrogen bond donor: 5
hydrogen bond acceptors: 6
LOGP: 1.546100
Molar Refractivity: 72.622978
```

## LAMPIRAN 12. Penambatan Molekuler

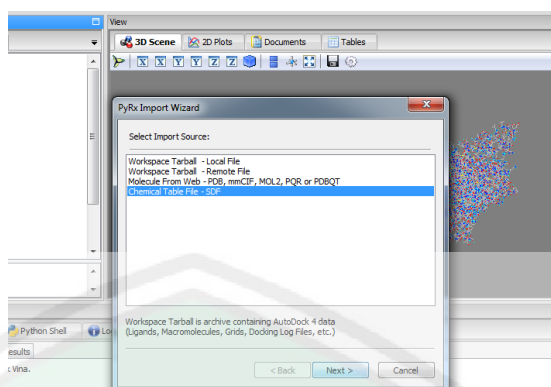
1. Dibuka software PyRx dan dimasukkan reseptor yang telah dibersihkan sebelumnya dengan pilih menu Load Molecule



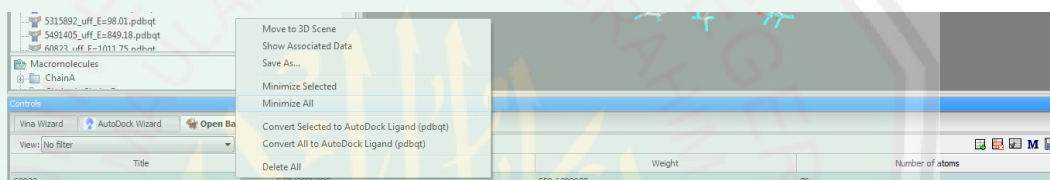
2. Preparasi molekul menjadi format .pdbqt dengan cara klik kanan pada reseptor klik Autodock pilih Make Macromolecule



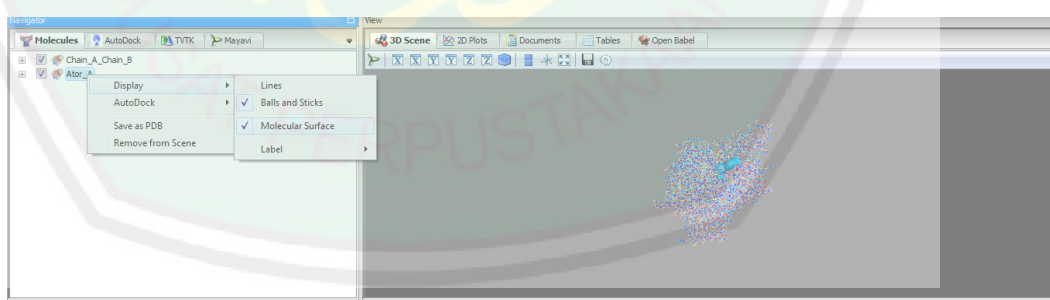
3. Dimasukkan ligan dengan cara klik File – Import kemudian pilih Chemical table SDF – Open



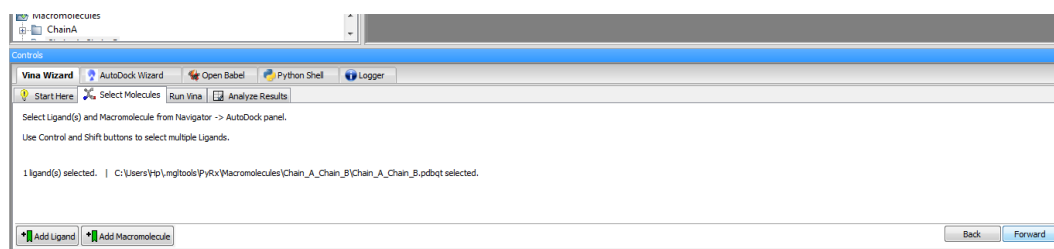
4. Preparasi ligan menjadi format .pdbqt dengan cara klik kanan pada ligan yang ada di menu Open Babel – Minimize All – Convert all to pdbqt



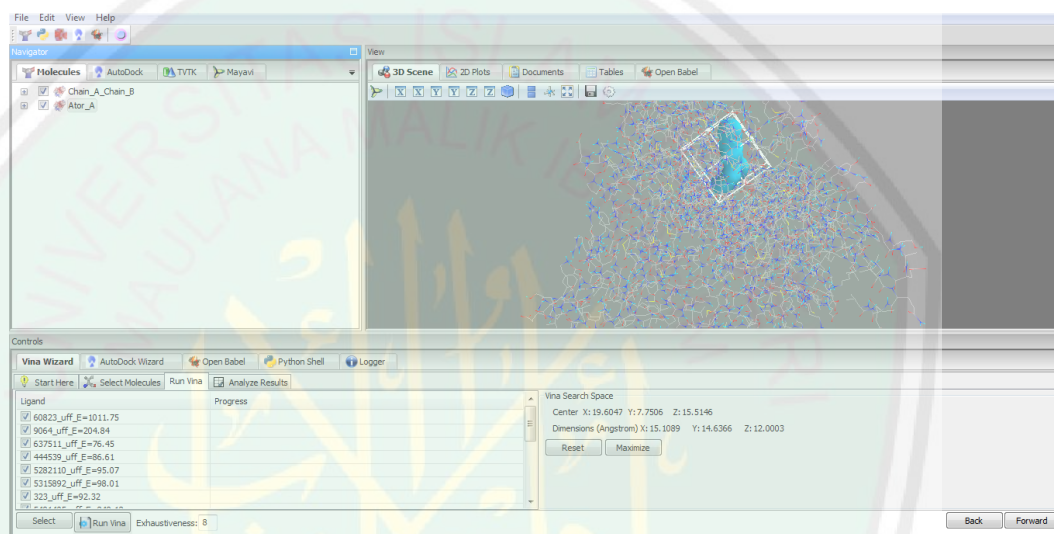
5. Dimasukkan ligan asli dari reseptor HMG KoA reduktase yang diunduh dari Protein Data Bank (PDB ID: 1hwk) dengan langkah yang sama saat memasukkan reseptor pada software PyRx. Ligan asli yang telah dimasukkan divisualisasi dengan cara klik kanan pada ligan pilih Display – Molecular Surface sebagai tanda untuk gridbox



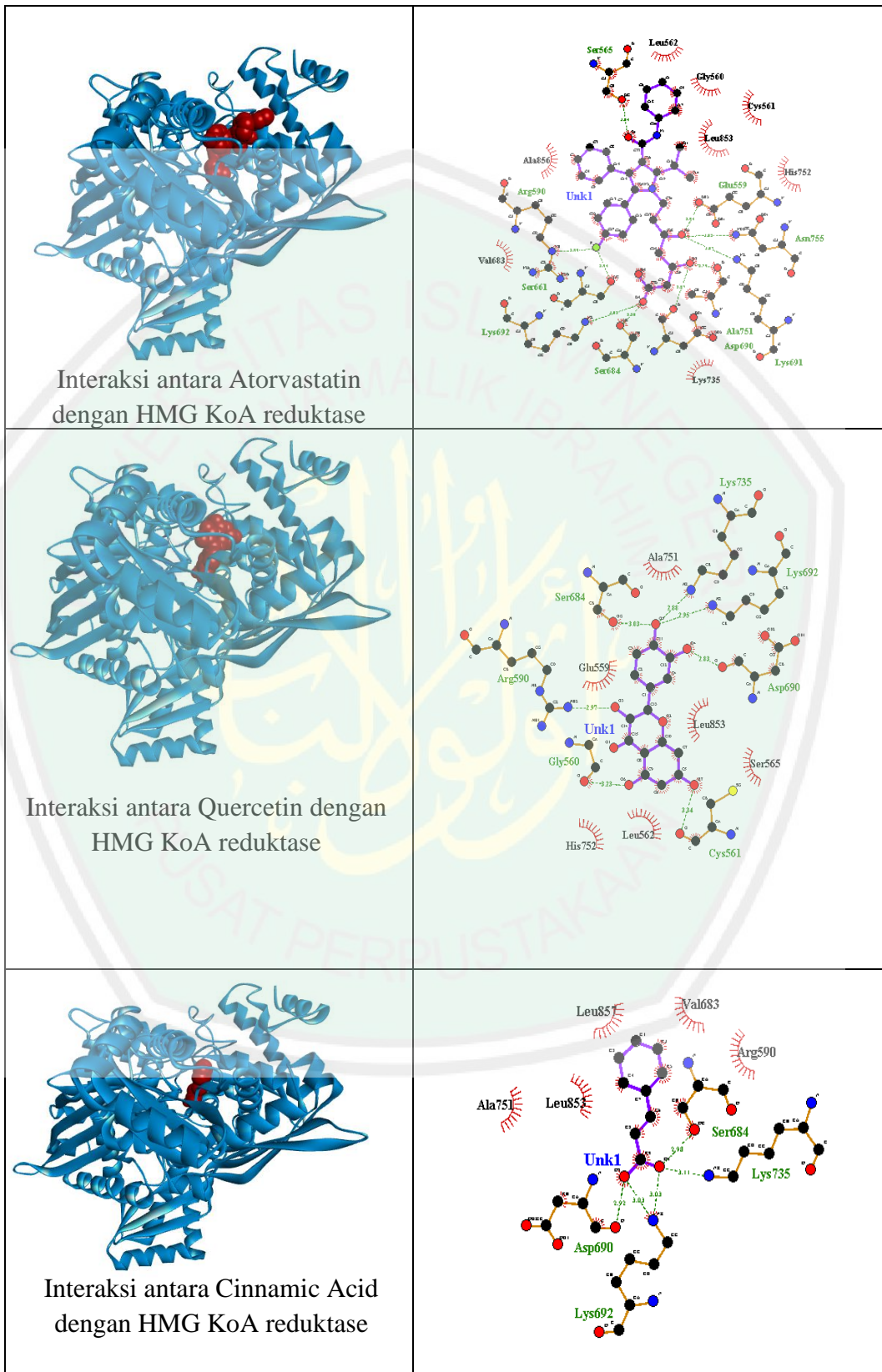
6. Docking dengan cara klik menu Vina Wizard - Start – Pilih molekul ligan yang akan didocking – forward

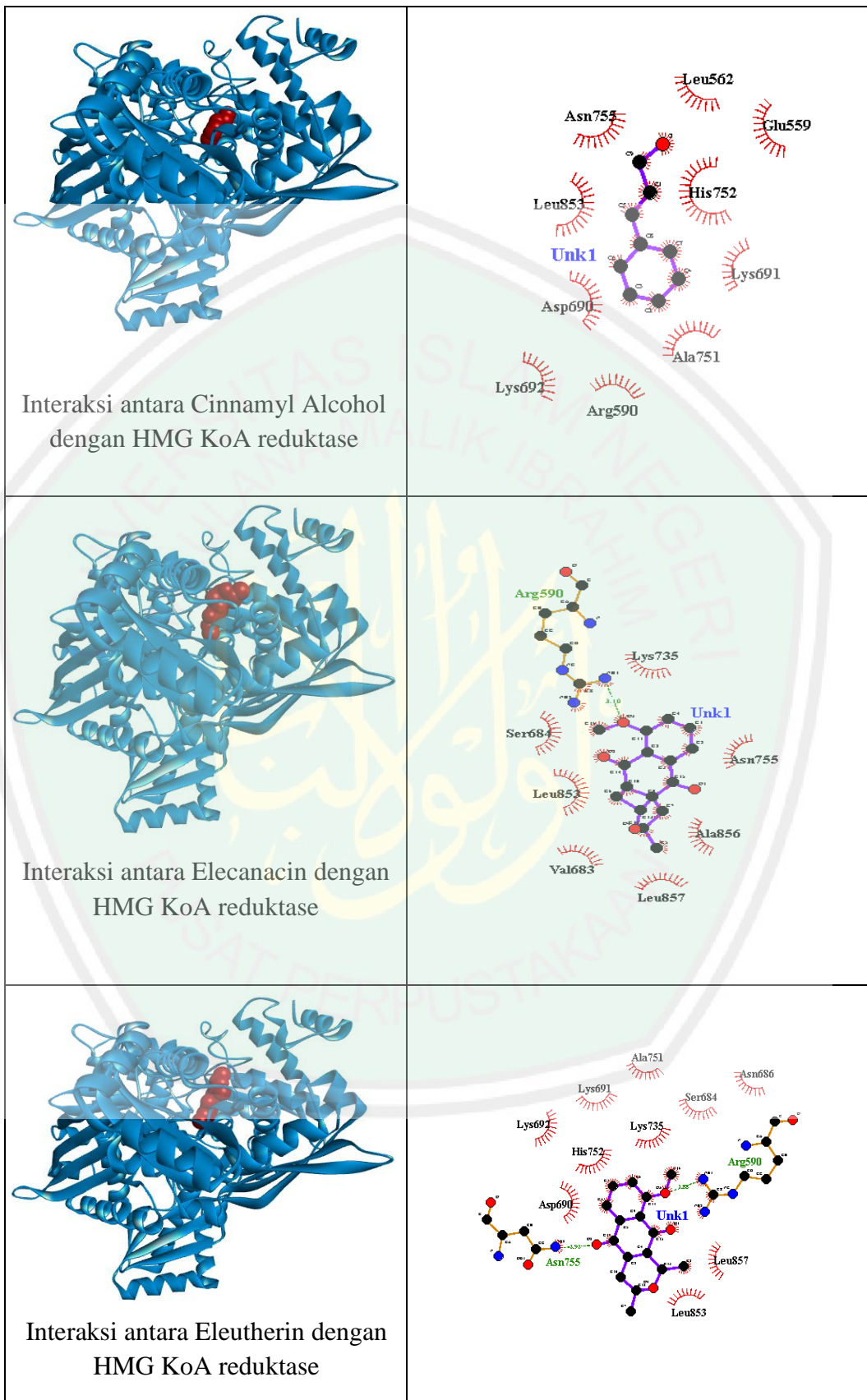


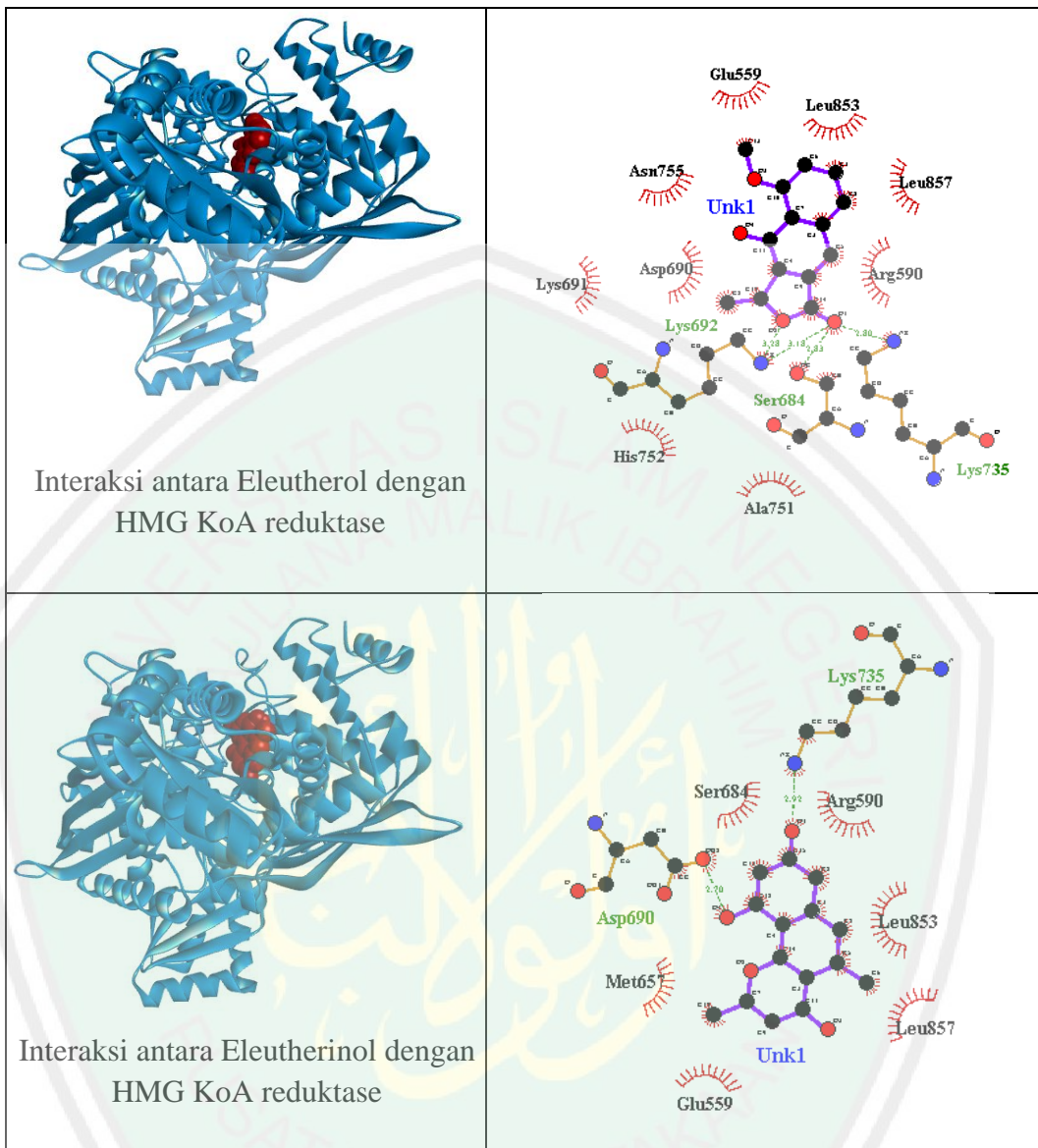
7. Atur Gridbox sesuai dengan tempat ligan asli dari reseptor kemudian klik forward maka proses docking akan berjalan



LAMPIRAN 13. Visualisasi Hasil Docking







**LAMPIRAN 14.** Data Nilai Energi Bebas ( $\Delta G$ ) Ligan-Reseptor

No	Senyawa	Model	Energi Bebas ( $\Delta G$ ) (kkal/mol)	rmsd/ub	rmsd/lb
1	Atorvastatin	Model 1	-9.1	0	0
		Model 2	-8.1	1.728	1.307
		Model 3	-7.8	4.679	2.215
		Model 4	-7.6	9.328	3.077
		Model 5	-7.4	8.611	2.5
		Model 6	-7.1	8.654	2.456
		Model 7	-7.0	8.886	3.978
		Model 8	-6.5	8.808	3.655
		Model 9	-6.5	9.371	3.327
2	Quercetin	Model 1	-8.2	0	0
		Model 2	-7.3	6.623	3.499
		Model 3	-7.2	3.154	1.434
		Model 4	-7.0	4.879	2.967
		Model 5	-7.0	6.855	1.738
		Model 6	-7.0	6.717	2.841
		Model 7	-6.9	6.259	4.05
		Model 8	-6.8	2.938	2.11
		Model 9	-6.8	5.764	4.921
3	Cinnamic Acid	Model 1	-5.4	0	0
		Model 2	-5.3	1.551	0.596
		Model 3	-5.3	2.764	1.648
		Model 4	-4.8	5.6	4.14
		Model 5	-4.8	5.65	4.086
		Model 6	-4.6	5.883	4.515
		Model 7	-4.5	4.325	3.279
		Model 8	-4.4	2.165	1.344
		Model 9	-4.4	4.525	3.541
4	Cinnamyl Alcohol	Model 1	-4.6	0	0
		Model 2	-4.6	1.54	0.177
		Model 3	-4.6	5.025	3.14
		Model 4	-4.5	5.19	3.013
		Model 5	-4.4	5.848	4.09
		Model 6	-4.3	4.157	3.139
		Model 7	-4.3	4.824	3.332
		Model 8	-4.3	3.158	2.738
		Model 9	-4.2	2.055	1.493
5	Elecanacin	Model 1	-6.8	0	0

		Model 2	-6.7	5.897	2.302
		Model 3	-6.5	4.371	2.456
		Model 4	-5.9	3.565	1.327
		Model 5	-5.8	6.014	1.594
		Model 6	-5.8	5.506	2.088
		Model 7	-5.8	7.364	4.305
		Model 8	-5.6	5.787	3.12
		Model 9	-5.6	2.181	1.884
6	Eleutherin	Model 1	-6.7	0	0
		Model 2	-6.5	6.253	1.514
		Model 3	-6.3	3.458	1.91
		Model 4	-6.2	5.864	1.723
		Model 5	-6.1	6.496	1.758
		Model 6	-6.0	5.814	1.589
		Model 7	-5.9	2.229	1.505
		Model 8	-5.8	4.438	1.873
		Model 9	-5.7	4.553	2.706
7	Eleutherol	Model 1	-6.6	0	0
		Model 2	-6.3	5.787	1.413
		Model 3	-6.0	6.046	2.52
		Model 4	-6.0	5.973	3.933
		Model 5	-5.9	5.086	1.609
		Model 6	-5.8	4.977	2.826
		Model 7	-5.7	5.842	2.404
		Model 8	-5.7	4.072	2.535
		Model 9	-5.6	4.256	2.618
8	Eleutherinol	Model 1	-7.1	0	0
		Model 2	-6.8	2.27	2.098
		Model 3	-6.7	3.327	2.372
		Model 4	-6.6	5.042	1.893
		Model 5	-6.5	5.214	2.942
		Model 6	-6.5	5.528	2.966
		Model 7	-6.3	4.889	2.413
		Model 8	-6.3	3.43	1.585
		Model 9	-6.1	4.569	3.375



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](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

**KARTU KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Farrah Nur Widayanti  
NIM : 15620060  
Program Studi : Biologi  
Semester : Ganjil T.A 2019/2020  
Pembimbing : Dr. Retno Susilowati, M. Si.  
Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Kombinasi *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* Terhadap Kadar Kolesterol Total Secara *In Vivo* dan *In Silico*

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	11 Oktober 2018	Konsultasi Judul Penelitian	1.
2.	15 November 2018	Konsultasi Rancangan Penelitian	2.
3.	04 Februari 2019	Konsultasi BAB I	3.
4.	07 Februari 2019	Konsultasi BAB I, II	4.
5.	11 Februari 2019	Konsultasi BAB II	5.
6.	12 Februari 2019	Konsultasi BAB II dan III	6.
7.	14 Februari 2019	Konsultasi BAB III (Metode)	7.
8.	15 Februari 2019	Revisi BAB I, II, III, & Acc Proposal	8.
9.	16 Oktober 2019	Konsultasi Hasil Penelitian	9.
10.	24 Oktober 2019	Konsultasi BAB IV	10.
11.	30 Oktober 2019	Konsultasi BAB IV	11.
12.	04 November 2019	Konsultasi BAB IV, V, Revisi Proposal	12.
13.	06 November 2019	Acc Skripsi	13.

Malang, 06 November 2019

Pembimbing Skripsi,

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



Romadhoni, 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](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

**KARTU KONSULTASI AGAMA SKRIPSI**

Nama : Farrah Nur Widayanti  
NIM : 15620060  
Program Studi : Biologi  
Semester : Ganjil T.A 2019/2020  
Pembimbing : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I  
Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Kombinasi *Cinnamomum burmannii* dan *Eleutherine bulbosa* Terhadap Kadar Kolesterol Total Secara *In Vivo* dan *In Silico*

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	12 Februari 2019	Konsultasi Integrasi Ayat BAB I dan II	1. a. [Signature]
2.	15 Februari 2019	Revisi Integrasi Ayat BAB I, II, Acc Proposal	2. a. [Signature]
3.	04 November 2019	Konsultasi Integrasi Ayat BAB IV	3. a. [Signature]
4.	05 November 2019	Revisi Integrasi Ayat BAB I, II, dan IV	4. a. [Signature]
5.	06 November 2019	Acc Skripsi	5. a. [Signature]

Malang, 06 November 2019

Pembimbing Skripsi,

[Signature]

Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I

NIDT. 19890113 20180201 1 244



Romaidi, M.Si., D.Sc

NIDT. 19810201 200901 1 019