

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)  
DAN KLABET (*Trigonella foenum*) TERHADAP TOTAL KOLESTEROL  
MENCIT (*Mus musculus*) DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN SERTA  
PENGHAMBATAN ENZIM HMG-KOA REDUKTASE**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
SITI SHOFA MAULIDA NUR  
NIM. 17620007**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)  
DAN KLABET (*Trigonella foenum*) TERHADAP TOTAL KOLESTEROL  
MENCIT (*Mus musculus*) DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN SERTA  
PENGHAMBATAN ENZIM HMG-KOA REDUKTASE**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
SITI SHOFA MAULIDA NUR  
NIM. 17620007**

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

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

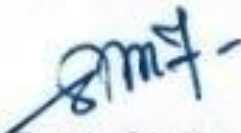
**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) DAN KLABET (*Trigonella foenum*) TERHADAP TOTAL KOLESTEROL MENCIT (*Mus musculus*) DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN SERTA PENGHAMBATAN ENZIM HMG-KOA REDUKTASE**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**SITI SHOFA MAULIDA NUR**  
**NIM. 17620007**

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji  
tanggal: 17 Desember 2021

**Pembimbing I**



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

**Pembimbing II**



**Mujahidin Ahmad, M.Sc**  
**NIP. 19860512 201903 1 002**

**Mengetahui**  
**Ketua Program Studi Biologi**



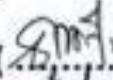
**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P**  
**NIP. 19741018 200312 2 002**

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) DAN KLABET (*Trigonella foenum*) TERHADAP TOTAL KOLESTEROL MENCIT (*Mus musculus*) DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN SERTA PENGHAMBATAN ENZIM HMG-KOA REDUKTASE**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**SITI SHOFA MAULIDA NUR**  
**NIM. 17620007**

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu persyaratan untuk  
**Tanggal: 24 Desember 2021**

|                    |   |                                                                              |                                                                                           |
|--------------------|---|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| Penguji Utama      | : | <u>Prof. Dr. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si</u><br>NIP. 19710919 200003 2 001 | (  ) |
| Ketua Penguji      | : | <u>Kholifah Holil, M.Si</u><br>NIP. 19751106 200912 2 002                    | (  ) |
| Sekretaris Penguji | : | <u>Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si</u><br>NIP. 19671113 199402 2 001        | (  ) |
| Anggota Penguji    | : | <u>Mujahidin Ahmad, M.Sc</u><br>NIP. 19860512 201903 1 002                   | (  ) |

Mengesahkan,  
Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP. 19741018 200312 2 002

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*

Dengan mengucap rasa syukur

الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah ﷻ yang telah memberikan banyak nikmat yang tidak terhitung jumlahnya kepada saya. Sehingga saya dapat mengerjakan kewajiban sebagai mahasiswa dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dengan harapan ilmu yang didapat bermanfaat untuk semua orang. Saya persembahkan laporan skripsi ini kepada orang-orang terdekat saya yang selalu mendukung dan memotivasi saya :

1. Terima kasih shofa yang sudah bekerja keras, jangan menyerah ya demi orang tersayang.
2. Abah Ubaidillah Ahmad dan mama Almh. Fatimah Zein yang selalu menyayangi, mendukung hingga mendoakan saya dengan tulus.
3. Adek Siti Nur Haliza dan Nur Amelia yang selalu menyayangi dan menghibur saya agar selalu semangat.
4. Nenek Raihan, kakek Fadhil Zein, paman Edo, paman Fahmi, paman Syarif, paman Amat, paman Nopal, paman Obi, dan ibu Yani yang selalu memberikan nasihat dan mendukung saya dari jauh.
5. Ibu Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si, selaku dosen pembimbing yang selalu membimbing dengan penuh kesabaran dan selalu mendukung saya dalam melaksanakan penelitian hingga membuat laporan skripsi.
6. Bapak Mujahidin Ahmad, M.Sc. selaku dosen pembimbing agama yang juga membimbing dengan sabar agar saya dapat menulis laporan dengan baik.
7. Sahabat-sahabat tersayang Erza, Qoyyim, Rahadi, Sylvi, Zeni, Lilis, Asna, Ikramina yang selalu bersama saya di masa senang maupun duka.
8. Rekan penelitian saya Nisa, Icha, Ayu, Sylvi, Riska yang menemani saya dalam melakukan penelitian dan penulisan laporan skripsi ini.
9. Teman Wolves Angkatan 2017 tersayang yang telah menjadi teman saya dari masa mahasiswa baru hingga sekarang.

Semoga Allah ﷻ membalas seluruh kebaikan kalian ke saya dengan pahala dan kenikmatan luar biasa dan dapat dipertemukan di surga firdausnya Allah ﷻ dengan kebahagiaan.

آمِينَ يَا رَبَّ الْعَالَمِينَ

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Siti Shofa Maulida Nur  
NIM : 17620007  
Program Studi : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Pengaruh Kombinasi Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Klabet (*Trigonella foenum*) Terhadap Total Kolesterol Mencit (*Mus musculus*) Diinduksi *Streptozotocin* Serta Penghambatan Enzim HMG-KoA Reduktase

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

Malang, 24 Desember 2021

Yang membuat pernyataan,



  
Siti Shofa Maulida Nur  
NIM. 17620007

## MOTTO

*"Barangsiapa yang berusaha menjaga diri, maka Allah ﷻ menjaganya, barangsiapa yang berusaha merasa cukup, maka Allah ﷻ mencukupinya. Barangsiapa yang berusaha bersabar, maka Allah ﷻ akan menjadikannya bisa bersabar dan tidak ada seorang pun yang dianugerahi sesuatu yang melebihi kesabaran."*

(HR. Al Bukhari)

الصَّبْرُ يُعِينُ عَلَى كُلِّ عَمَلٍ

*Kesabaran itu menolong segala pekerjaan*

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

**Pengaruh Kombinasi Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Klabet (*Trigonella foenum*) Terhadap Total Kolesterol Mencit (*Mus musculus*) Diinduksi Streptozotocin Serta Penghambatan Enzim HMG-KoA Reduktase**

Siti Shofa Maulida Nur, Retno Susilowati, Mujahidin Ahmad

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana  
Malik Ibrahim Malang

**ABSTRAK**

Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit dimana pankreas tidak mampu memproduksi insulin, atau tubuh tidak sanggup memakai insulin dengan baik. Sekitar 60%-70% pasien diabetes mellitus tipe 2 mengalami dislipidemia seperti kadar total kolesterol tinggi dan diyakini dapat memicu risiko penyakit kardiovaskular pada penderita diabetes. Konsep dari penyakit diabetes mellitus dan total kolesterol yaitu glukosa tidak terserap ke dalam sel dikarenakan resistensi insulin sehingga tidak dapat digunakan sebagai energi. Oleh karena itu, asam lemak dari jaringan adiposalah yang digunakan untuk membuat energi. Apabila berlebihan, asam lemak diubah menjadi trigliserida dan meningkatkan enzim HMG-KoA reduktase, biosintesis total kolesterol. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dan biji klabet (*Trigonella foenum*) terhadap total kolesterol pada mencit (*Mus musculus*) secara *in vivo* dan *in silico*. Penelitian *in vivo* termasuk jenis penelitian eksperimental menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 6 perlakuan dan 5 ulangan. Pemberian perlakuan terdiri dari normal, K<sup>+</sup> (65 mg/kg BB metformin), K<sup>-</sup> (Na CMC 0,5%), P1 (200 mg/kg BB *N. sativa*), P2 (100 mg/kg BB *T. foenum*), dan P3 (100 mg/kg BB *N. sativa* + 50 mg/kg BB *T. foenum*). Pemberian perlakuan dilakukan secara oral kepada hewan coba selama 35 hari sesuai dengan kelompok perlakuan. Analisis data menggunakan ANOVA nilai 5%. Sedangkan penelitian *in silico* termasuk jenis penelitian deskriptif eksploratif menggunakan senyawa aktif jintan dan klabet dengan 4 metode yaitu uji HIA, *Lipinski Rule of Five*, PASS, dan *Molecular docking*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa *N. sativa* dan *T. foenum* dapat mengurangi total kolesterol pada mencit secara *in vivo* dan memiliki potensi untuk menghambat enzim HMG-KoA reduktase secara *in silico*.

Kata Kunci: *diabetes mellitus, in vivo, in silico, Nigella sativa, Trigonella foenum, total kolesterol*

**Effect of Combination of Black Cumin (*Nigella sativa*) and Clabet (*Trigonella foenum*) Extracts on Total Cholesterol in Mice (*Mus musculus*)  
Streptozotocin induced and inhibits HMG-CoA reductase**

Siti Shofa Maulida Nur, Retno Susilowati, Mujahidin Ahmad

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik  
Ibrahim State Islamic University Malang

**ABSTRACT**

Diabetes mellitus is a disease in which the pancreas is unable to produce insulin, or the body is unable to use insulin properly. Approximately 60%–70% of patients with type 2 diabetes mellitus experience dyslipidemia, such as high total cholesterol levels, which is believed to trigger the risk of cardiovascular disease in diabetics. The concept of diabetes mellitus and total cholesterol is that glucose is not absorbed into cells due to insulin resistance so that it cannot be used as energy. Therefore, fatty acids from adipose tissue are used to make energy. If excessive, fatty acids are converted into triglycerides and increase the enzyme HMG- CoA reductase, which is responsible for the biosynthesis of total cholesterol. The purpose of this study was to determine the effect of the combination of black cumin seed extract (*Nigella sativa*) and clabet seeds (*Trigonella foenum*) on total cholesterol in mice (*Mus musculus*) in vivo and in silico. In vivo research is an experimental research type using RAL (Completely Randomized Design) with 6 treatments and 5 replications. The treatment consisted of normal, K+ (65 mg/kg BW metformin), K- (Na CMC 0,5%), P1 (200 mg/kg BW *N. sativa*), P2 (100 mg/kg BW *T. foenum*) , and P3 (100 mg/kg BW *N. sativa* + 50 mg/kg BW *T. foenum*). The treatment was given orally to the experimental animals for 35 days, according to the treatment group. Data analysis using ANOVA value of 5%. While the in silico research is a descriptive exploratory research using the active compounds of black cumin and clabet with 4 methods, namely the HIA test, Lipinski Rule of Five, PASS, and Molecular docking. The results showed that *N. sativa* and *T. foenum* compounds can reduce total cholesterol in mice in vivo and have the potential to inhibit the HMG-CoA reductase enzyme in silico.

**Keywords:** *diabetes mellitus, in vivo, in silico, Nigella sativa, Trigonella foenum, total cholesterol*

## ملخص البحث

سنى صفاء 2021, تأثير مزيج من مستخلصات الحبة السوداء (*Nigella sativa*) وكلابت (*Trigonella*

*foenum*) على إجمالي الكوليسترول في الفئران (*Mus musculus*) المستحثة

بالستربتوزوتوسين Streptozotocin وتنشيط اختزال HMG-CoA

المشرفة الأول: ريتنو سوسيلواتي ، والمشرف الثاني مجاهدين أحمد

الكلمات الرئيسية : داء السكري ، الكوليسترول الكلي ، *Nigella sativa* ، *Trigonella foenum* ، في الجسم الحي ، في السيليكو

مرض السكري (DM) هو مرض يعجز فيه البنكرياس عن إنتاج الأنسولين ، أو يكون الجسم غير قادر على استخدام الأنسولين بشكل صحيح. يعاني ما يقرب من 60٪ - 70٪ من مرضى السكري من النوع 2 من اضطراب شحيمات الدم مثل ارتفاع مستويات الكوليسترول الكلي ويعتقد أنه يؤدي إلى خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية لدى مرضى السكري. إن مفهوم داء السكري والكوليسترول الكلي هو أن الجلوكوز لا يتم امتصاصه في الخلايا بسبب مقاومة الأنسولين بحيث لا يمكن استخدامه كطاقة. لذلك ، تستخدم الأحماض الدهنية من الأنسجة الدهنية لتوليد الطاقة. إذا تم تحويل الأحماض الدهنية المفرطة إلى دهون ثلاثية وزيادة إنزيم HMG-CoA reductase ، وهو التخليق الحيوي للكوليسترول الكلي. الغرض من هذه الدراسة هو تحديد تأثير مزيج مستخلص بذور الكمون الأسود (حبة البركة) وبذور الحلبة (*Trigonella foenum*) على الكوليسترول الكلي في الفئران (*Mus musculus*) في الجسم الحي وفي السيليكو. البحث في الجسم الحي هو نوع بحث تجريبي يستخدم RAL (تصميم عشوائي بالكامل) مع 6 معالجات و 5 مكررات. يتكون العلاج من 65 + K مجم / كجم من ميتفورمين من وزن الجسم) ، K- (Na CMC 0.5٪ (200 ، P1 مجم / كجم من وزن الجسم (*N. sativa*، 100 P2 مجم / كجم من وزن الجسم (*T. foenum*) ، و 100 P3 ملغم / كجم من وزن الجسم من 50 + *N. sativa* ملغم / كجم من وزن الجسم (*T.*). تم إعطاء العلاج عن طريق الفم لحيوانات التجربة لمدة 35 يوماً وفقاً لمجموعة العلاج. تحليل البيانات باستخدام ANOVA بقيمة 5٪. بينما يعتبر البحث في السيليكو بحثاً استكشافياً وصفيًا باستخدام المركبات النشطة من الكمون والحلبة بأربع طرق وهي اختبار HIA وقاعدة Lipinski of Five و PASS و Molecular Docking. أظهرت النتائج أن مركبات *T. foenum* و *N. sativa* يمكن أن تقلل من الكوليسترول الكلي في الفئران في الجسم الحي ولديها القدرة على تثبيط إنزيم اختزال HMG-CoA في السيليكو.

## KATA PENGANTAR

*Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*

*Bismillahirrohmaanirrohiim*, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah ﷻ yang telah memberikan banyak kenikmatan dalam hidup ini sehingga penulis bisa menyelesaikan laporan skripsi dengan judul Pengaruh Kombinasi Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Klabet (*Trigonella foenum*) Terhadap Total Kolesterol Mencit (*Mus musculus*) Diinduksi *Streptozotocin* Serta Penghambatan Enzim HMG-KoA Reduktase. Tidak lupa penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah ﷻ atas berkat rahmat dan hidayah-Nya laporan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA sebagai Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si, selaku dosen pembimbing yang senantiasa membimbing penulis dalam melaksanakan penelitian maupun penulisan laporan skripsi.
6. Bapak Mujahidin Ahmad, M.Sc. selaku dosen pembimbing agama yang telah membimbing penulis dalam penulisan skripsi.
7. Bapak Muhammad Asmuni Hasyim, M.Si, sebagai dosen wali yang telah memberikan bimbingan dan saran selama penulis menjadi mahasiswa jurusan biologi UIN Malang.
8. Orang tua, saudara, keluarga besar, serta teman-teman atas perhatian serta dukungannya sehingga penulis dapat melaksanakan proyek penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan lancar.  
Semoga semua kebaikan kalian dibalas Allah ﷻ dengan pahala yang besar.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Malang, 2 Desember 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

|                                           |       |
|-------------------------------------------|-------|
| HALAMAN JUDUL.....                        | i     |
| HALAMAN PERSETUJUAN.....                  | iii   |
| HALAMAN PENGESAHAN.....                   | iv    |
| HALAMAN PERSEMBAHAN .....                 | v     |
| HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN ..... | vi    |
| HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....   | viii  |
| ABSTRAK.....                              | ix    |
| ABSTRACT.....                             | x     |
| ملخص البحث.....                           | xi    |
| KATA PENGANTAR .....                      | xii   |
| DAFTAR ISI.....                           | xiii  |
| DAFTAR TABEL.....                         | xvii  |
| DAFTAR GAMBAR .....                       | xviii |
| DAFTAR LAMPIRAN.....                      | xix   |
| DAFTAR SINGKATAN .....                    | xx    |

### BAB I. PENDAHULUAN

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| 1.1 Latar Belakang .....      | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah .....     | 7 |
| 1.3 Tujuan Penelitian.....    | 7 |
| 1.4 Hipotesis Penelitian..... | 8 |
| 1.5 Manfaat Penelitian.....   | 8 |
| 1.6 Batasan Masalah.....      | 9 |

### BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

|                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------|----|
| 2.1 Diabetes Mellitus.....                                   | 11 |
| 2.1.1 Pengertian Diabetes Mellitus .....                     | 11 |
| 2.1.2 Klasifikasi Diabetes Mellitus.....                     | 11 |
| 2.2 Lipid dan Kolesterol.....                                | 13 |
| 2.3 Hiperkolesterol Pada Diabetes Mellitus.....              | 17 |
| 2.4 Lipoprotein .....                                        | 18 |
| 2.4.1 Pengertian Lipoprotein.....                            | 13 |
| 2.4.2 Jenis-Jenis Lipoprotein .....                          | 19 |
| 2.5 Metabolisme Lipoprotein .....                            | 21 |
| 2.5.1 Metabolisme Eksogen.....                               | 21 |
| 2.5.2 Metabolisme Endogen .....                              | 22 |
| 2.5.3 Metabolisme HDL dan Reverse Cholesterol Transport..... | 22 |
| 2.6 Jintan Hitam ( <i>Nigella sativa</i> ) .....             | 24 |
| 2.6.1 Deskripsi Jintan Hitam.....                            | 24 |

|                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| 2.6.2 Morfologi Jintan Hitam.....                               | 27 |
| 2.6.3 Aktivitas Farmakologi Biji Jintan Hitam.....              | 28 |
| 2.6.3.1 Kandungan Senyawa Aktif Biji Jintan Hitam.....          | 28 |
| 2.6.3.2 Efek Farmakologi Biji Jintan Hitam .....                | 29 |
| 2.7 Klabet ( <i>Trigonella foenum</i> ).....                    | 29 |
| 2.7.1 Deskripsi Klabet.....                                     | 29 |
| 2.7.2 Morfologi Klabet .....                                    | 30 |
| 2.7.3 Aktivitas Farmakologi Biji Klabet.....                    | 31 |
| 2.7.3.1 Kandungan Senyawa Aktif Biji Klabet.....                | 31 |
| 2.7.3.2 Efek Farmakologi Biji Klabet .....                      | 32 |
| 2.8 Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) .....                        | 33 |
| 2.9 Metformin.....                                              | 35 |
| 2.10 Streptozotocin (STZ).....                                  | 36 |
| 2.11 Simvastin.....                                             | 36 |
| 2.12 <i>Molecular Docking</i> (Penambatan Molekuler).....       | 37 |
| 2.13 HMG-KoA reduktase Sebagai Reseptor Pada Uji In Silico..... | 38 |
| 2.14 Database Penambatan Molekuler .....                        | 40 |
| 2.14.1 PubChem NCBI .....                                       | 40 |
| 2.14.2 Protein Data Bank (PDB).....                             | 40 |
| 2.15 Perangkat Lunak Penambatan Molekuler .....                 | 41 |
| 2.15.1 AutoDock Vina .....                                      | 41 |
| 2.15.2 Discovery Studio Visualizer .....                        | 41 |
| 2.15.3 LigPlot.....                                             | 41 |
| 2.15.4 Lipinski Rule of Five .....                              | 42 |
| 2.15.5 PASS Online .....                                        | 42 |
| 2.15.6 PyMol.....                                               | 43 |
| 2.15.7 admetSAR.....                                            | 43 |
| 2.16 Ikatan Ligan dan Reseptor.....                             | 44 |
| 2.17 Kerangka Pikiran.....                                      | 45 |

### **BAB III. METODE PENELITIAN**

|                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1 Rancangan Penelitian .....                                                                                        | 46 |
| 3.2 Variabel Penelitian .....                                                                                         | 47 |
| 3.3 Waktu dan Tempat Penelitian .....                                                                                 | 47 |
| 3.4 Populasi Penelitian .....                                                                                         | 48 |
| 3.5 Alat dan Bahan .....                                                                                              | 48 |
| 3.5.1 Alat.....                                                                                                       | 48 |
| 3.5.2 Bahan .....                                                                                                     | 48 |
| 3.6 Prosedur Penelitian.....                                                                                          | 49 |
| 3.6.1 Pembuatan Ekstrak Biji Jintan Hitam ( <i>Nigella sativa</i> ) dan Biji Klabet ( <i>Trigonella foenum</i> )..... | 49 |
| 3.6.2 Pembuatan Sediaan Larutan Streptozotocin .....                                                                  | 50 |

|                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.6.3 Pembuatan Larutan Na CMC 0,5% .....                                                                                                    | 50 |
| 3.6.4 Pembuatan Larutan Ekstrak Biji Jintan Hitam ( <i>Nigella sativa</i> )<br>dan Biji Klabet ( <i>Trigonella foenum</i> ) .....            | 50 |
| 3.6.5 Pembuatan Sediaan Larutan Metformin .....                                                                                              | 51 |
| 3.6.6 Prosedur Pembuatan Mencit Model Diabetes Mellitus .....                                                                                | 51 |
| 3.6.7 Pemberian Perlakuan Kombinasi Ekstrak Biji Jintan<br>Hitam ( <i>Nigella Sativa</i> ) dan Biji Klabet ( <i>Trigonella Foenum</i> )..... | 52 |
| 3.6.8 Pengukuran Kadar Kolesterol Total.....                                                                                                 | 53 |
| 3.7 Penambatan Molekuler Terhadap Enzim HMG-KoA<br>Reduktase .....                                                                           | 54 |
| 3.7.1 Persiapan Ligan dan Reseptor.....                                                                                                      | 54 |
| 3.7.2 Pengujian Nilai HIA .....                                                                                                              | 54 |
| 3.7.3 Pengujian Lipinski Rule of Five .....                                                                                                  | 55 |
| 3.7.4 Pengujian Nilai PASS .....                                                                                                             | 55 |
| 3.7.5 Penambatan Molekuler ( <i>Molecular Docking</i> ) .....                                                                                | 55 |
| 3.7.6 Visualisasi Hasil Penambatan Molekuler .....                                                                                           | 56 |
| 3.8 Analisis Data .....                                                                                                                      | 56 |
| 3.8.1 Perlakuan Ekstrak Biji Jintan Hitam ( <i>Nigella Sativa</i> ) dan<br>Biji Klabet ( <i>Trigonella Foenum</i> ).....                     | 56 |
| 3.8.2 Penambatan Molekuler Terhadap Enzim HMG-KoA<br>reduktase.....                                                                          | 56 |

#### **BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

|                                                                                                                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1 Pengaruh Kombinasi Ekstrak Jintan Hitam ( <i>Nigella sativa</i> ) dan Klabet ( <i>Trigonella foenum</i> ) Terhadap Total Kolesterol Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) Diinduksi Streptozotocin Secara In Vivo ..... | 58 |
| 4.2 Analisis Senyawa Aktif pada Jintan Hitam ( <i>Nigella sativa</i> ) dan Klabet ( <i>Trigonella foenum</i> ) Untuk Penghambatan Enzim HMG-KoA Reduktase Secara In Silico .....                                     | 63 |
| 4.2.1 Prediksi Uji HIA ( <i>Human Intestinal Absorption</i> ).....                                                                                                                                                   | 65 |
| 4.2.2 Prediksi Uji Drug-Likeness dengan Aturan Lipinski Rule of Five .....                                                                                                                                           | 67 |
| 4.2.3 Prediksi Uji PASS ( <i>Prediction of Activity Spectra for Substances</i> ) .....                                                                                                                               | 70 |
| 4.2.4 Prediksi Senyawa Aktif <i>Nigella sativa</i> dan <i>Trigonella foenum</i> dalam Menghambat Enzim HMG-KoA Reduktase dengan Penambatan Molekuler ( <i>Molecular Docking</i> ) .....                              | 74 |

#### **BAB V. PENUTUP**

|                     |    |
|---------------------|----|
| 5.1 Kesimpulan..... | 81 |
| 5.2 Saran.....      | 81 |

|                             |           |
|-----------------------------|-----------|
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b> | <b>83</b> |
| <b>LAMPIRAN.....</b>        | <b>93</b> |

## DAFTAR TABEL

| Tabel     |                                                                                         | Halaman |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Tabel 4.1 | Hasil duncan $\alpha$ 0.05 total kolesterol mencit pada setiap kelompok perlakuan ..... | 59      |
| Tabel 4.2 | Hasil uji HIA .....                                                                     | 66      |
| Tabel 4.3 | Hasil uji Lipinski Rule of Five .....                                                   | 68      |
| Tabel 4.4 | Hasil prediksi PASS .....                                                               | 71      |
| Tabel 4.5 | Residu asam amino ligan dan reseptor .....                                              | 75      |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar                                                                     | Halaman |
|----------------------------------------------------------------------------|---------|
| Gambar 2.1 Biosintesis kolesterol .....                                    | 15      |
| Gambar 2.2 Metabolisme eksogen dan endogen .....                           | 21      |
| Gambar 2.3 Metabolisme HDL dan <i>Reverse Cholesterol Transport</i> . .... | 23      |
| Gambar 2.4 Bunga dan biji jintan hitam.....                                | 27      |
| Gambar 2.5 Tumbuhan dan biji klabet .....                                  | 31      |
| Gambar 2.6 Mencit ( <i>Mus musculus</i> ).....                             | 34      |
| Gambar 2.7 Kerangka pikiran.....                                           | 45      |
| Gambar 4.1 Visualisasi 2D dan 3D <i>Molecular Docking</i> .....            | 77      |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran                                                                   | Halaman |
|----------------------------------------------------------------------------|---------|
| Lampiran 1. Alur Penelitian <i>In Vivo</i> .....                           | 93      |
| Lampiran 2. Uji Statistik Menggunakan SPSS .....                           | 94      |
| Lampiran 3. Perhitungan Dosis.....                                         | 96      |
| Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian.....                                    | 98      |
| Lampiran 5. Alur Penelitian <i>In Silico</i> .....                         | 99      |
| Lampiran 6. Struktur 3D Reseptor HMG-KoA Reduktase.....                    | 100     |
| Lampiran 7. Struktur Ligan.....                                            | 101     |
| Lampiran 8. Uji HIA ( <i>Human Intestinal Absorption</i> ).....            | 106     |
| Lampiran 9. Uji <i>drug likeness</i> ( <i>Lipinski Rule of Five</i> )..... | 107     |
| Lampiran 10. Uji PASS .....                                                | 109     |
| Lampiran 11. Uji Penambatan Molekular ( <i>Molecular Docking</i> ).....    | 111     |
| Lampiran 12. Visualisasi 2D dan 3D Hasil Docking.....                      | 116     |
| Lampiran 13. Hasil Ikatan Energi Bebas .....                               | 123     |

## DAFTAR SINGKATAN

| Simbol/Singkat | Keterangan                                                      |
|----------------|-----------------------------------------------------------------|
| Å              | Ångström                                                        |
| BBB            | <i>Blood Brain Barrier</i>                                      |
| CHOD-PAP       | <i>Cholesterol Oxidase – Peroxidase Aminoantypirin</i>          |
| HIA            | <i>Human Intestinal Absorption</i>                              |
| HMGCR          | <i>Hidroxymethylglutaryl Coenzyme A Reductase<br/>Reduktase</i> |
| MTP            | <i>Microsomal Triglyceride Transfer Protein</i>                 |
| PASS           | <i>Prediction of Activity Spectra for Substances</i>            |
| PDB            | <i>Protein Data Bank</i>                                        |
| ROS            | <i>Reactive Oxygen Species</i>                                  |
| SREBP-1        | <i>Sterol Regulatory Element Binding Protein</i>                |
| TNF            | <i>Tumor Necrosis Factor</i>                                    |
| Cc             | <i>Cubical Centimeter</i>                                       |
| Na CMC         | <i>Carboxymethyl Cellulose Sodium</i>                           |
| Na OH          | Natrium Hidroksida                                              |
| Pa             | <i>Probability Activity</i>                                     |
| P-gp           | P-Glikoprotein                                                  |
| pH             | <i>Power Of Hydrogen</i>                                        |
| Pi             | <i>Probability Inhibition</i>                                   |
| Rpm            | <i>Revolutions Per Minute</i>                                   |
| log P          | Koefisien Partisi                                               |
| mg/dl          | <i>Miligrams Per Decilitre</i>                                  |

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Perkembangan teknologi dan ekonomi yang semakin modern berdampak besar terhadap gaya hidup masyarakat salah satunya kebiasaan pola makan. Gaya hidup tersebut membuat masyarakat lebih menggemari makanan dan minuman instan yang biasanya mengandung gula, karbohidrat, dan garam yang tinggi. Apabila makanan dan minuman tersebut terlalu sering dikonsumsi maka akan memicu timbulnya penyakit-penyakit berbahaya (Dwianita dkk., 2017). Salah satu ayat dalam kitab suci Al-Qur'an telah menyinggung terkait gaya hidup masyarakat yang berlebih-lebihan yaitu dalam QS: Al-A'raf [7]: 31 yang berbunyi:

يَبْنَىٰٓءَآدَمَ خُذُوْا زِيْنَتَكُمْ عِنْدَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُوْا وَشَرِبُوْا وَلَا تُسْرِفُوْا اِنَّهٗ لَا  
يُحِبُّ الْمُسْرِفِيْنَ ﴿٣١﴾

*“Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di setiap (memasuki) mesjid, makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan”* (QS: Al-A'raf [7]: 31)

Berdasarkan firman Allah ﷻ kata yang sesuai dengan ayat di atas yaitu *تُسْرِفُوْا* dan *الْمُسْرِفُوْنَ* dengan terjemahan secara bahasa berarti “boros” atau “berlebih-lebihan”. Boros merupakan perbuatan manusia dalam memanfaatkan uang, benda, dan sebagainya tetapi melampaui batas. Tafsir Al Qurthubi (2008) menerangkan bahwa Allah ﷻ melarang umatnya berperilaku berlebihan (bermewah-mewahan) dalam hal makan dan minum. Makanan dan minuman yang sesuai dengan kebutuhan adalah yang dapat menghilangkan rasa lapar dan dahaga

agar dapat menjaga kesehatan jiwa dan raga. Perilaku berlebih-lebihan adalah perkara yang dibenci Allah ﷻ karena dapat membahayakan tubuh dan kehidupan sehari-hari, terkadang membawa manusia kepada keadaan yang membuatnya tidak mampu memenuhi kewajiban agamanya. Oleh karena itu, manusia dilarang melakukan hal melebihi batas dari yang dibutuhkan seperti mengonsumsi makanan tidak sehat secara berlebihan agar tidak mudah terserang penyakit berbahaya. Lebih baik mengonsumsi makanan secukupnya saja sesuai kebutuhan supaya tubuh sehat dan bisa menjalani aktivitas sehari-hari dengan baik. Diantara berbagai macam penyakit berbahaya yang diakibatkan oleh pola makan masyarakat yang buruk salah satunya ialah diabetes mellitus.

Diabetes mellitus (DM) ialah penyakit yang diakibatkan penurunan sekresi insulin oleh pankreas sehingga meningkatkan kadar glukosa darah (hiperglikemia). Penyakit DM memiliki jumlah penderita tinggi dimana menurut data dari IDF (*International Diabetes Federation*) menunjukkan bahwa total pasien akan melonjak dari 171 juta orang pada tahun 2001, menjadi 366 juta pada tahun 2030. Akibat dari tingginya jumlah pasien DM dikarenakan gangguan metabolik yang dapat menyebabkan risiko berbahaya seperti dislipidemia, penyakit jantung, hingga kematian. Sekitar 60%-70% pasien diabetes tipe 2 mengalami dislipidemia seperti kadar total kolesterol tinggi dan diyakini dapat memicu risiko penyakit kardiovaskular pada penderita diabetes (Iskandar dkk., 2017; Parhofer, 2015).

Konsep dari penyakit diabetes mellitus dan total kolesterol yaitu mengetahui hubungan antara glukosa dan metabolisme lipid (lemak). Hubungan antara lipid dan glukosa memainkan peran penting dalam pembentukan energi dan

kedua hal tersebut diatur oleh hati. Asupan makanan yang dikonsumsi pada orang normal biasanya akan diubah menjadi energi dengan dibantu oleh hormon insulin pada kelenjar pankreas. Berbeda dengan penderita diabetes mellitus, makanan yang masuk ke dalam tubuh akan dirubah menjadi glukosa. Glukosa tidak terserap ke dalam sel dengan baik dikarenakan insulin yang tidak berfungsi sehingga glukosa menumpuk di peredaran darah dan tidak dapat digunakan sebagai energi. Oleh karena itu, asam lemak dari jaringan adiposalah yang digunakan untuk membuat energi. Apabila berlebihan, asam lemak akan terakumulasi di hati dan diubah menjadi trigliserida. Kadar total kolesterol juga ikut meningkat karena menurunnya fungsi penyerapan dan meningkatnya sintesis asetil koenzim A, enzim HMG-KoA reduktase, dan mevalonat sebagai biosintesis kolesterol (Parhofer, 2015; Ramachandran *et al.*, 2014; Shari *et al.*, 2020).

Tingginya total kolesterol darah pada penderita diabetes juga dikarenakan peningkatan aktivitas enzim HMG-KoA reduktase sebagai jalur biosintesis utama kolesterol (Devi *et al.*, 2018). Bukti penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim HMG-KoA reduktase meningkat pada tikus diabetes (Ramachandran *et al.*, 2014). Hingga saat ini, masih banyak penelitian yang berfokus terhadap pengembangan inhibitor enzim HMG-KoA reduktase secara *in silico* sebagai salah satu metode untuk menurunkan total kolesterol darah (Teli & Rajanikant, 2012).

Tidak terhitung hasil penelitian ilmiah yang memberikan informasi terkait efek senyawa bioaktif tumbuhan herbal terhadap kesehatan sehingga pengobatan herbal memiliki potensi besar untuk mencegah dan menyembuhkan berbagai

penyakit (Sultan *et al.*, 2020). Pernyataan tersebut sejalan dengan hadits Nabi Muhammad ﷺ yang diriwayatkan oleh Muslim yaitu:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أَصَابَ الدَّوَاءُ الدَّاءَ، بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

*“Setiap penyakit pasti memiliki obat. Bila sebuah obat sesuai dengan penyakitnya maka dia akan sembuh dengan seizin Allah Subhanahu wa Ta’ala.”* (HR. Muslim).

Berlandaskan hadits di atas, kata utamanya ialah دَاءٌ artinya “sakit, penyakit” dan دَوَاءٌ artinya “obat, pengobatan, penyembuhan” dalam kamus bahasa arab. Kata-kata tersebut sudah menyatakan dengan jelas bahwa diperkenankan bagi seorang Muslim untuk mengobati penyakitnya karena ada obat untuk setiap penyakit yang ada. Allah ﷻ mengajak umatnya untuk selalu bertawakal kepada-Nya setiap saat, termasuk dalam hal kesembuhan dari penyakit. Atas izin Allah ﷻ, orang sakit akan sembuh jika pengobatan yang dilakukan sesuai dengan akar penyakitnya. Banyak jenis obat dan suplemen berbeda yang beredar luas di pasaran dari bahan herbal hingga kimia yang tidak hanya aman dikonsumsi tetapi juga baik untuk kesehatan (al cudadapi, 2016).

Jintan hitam memiliki banyak senyawa aktif yang berguna bagi kesehatan manusia seperti timokuinon, timohidrokuinon, ditimokuinon, 4-terpineol, carvacrol, carvone, t-anethol,  $\alpha$ -pinene, thymol, a-hederin, limonene, dan banyak senyawa lain yang ditemukan dalam jumlah kecil (Shafiq *et al.*, 2014). Manfaat dari jintan hitam itu sendiri yaitu menurunkan kadar gula darah pada penderita diabetes mellitus, meningkatkan sistem imun, anti hipertensi, dan sebagainya (Yuniarto & Rakhmawati, 2020). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Abbasnezhad *et al* (2019) terhadap tikus yang diinduksi STZ diberikan ekstrak

jintan hitam 100, 200, dan 400 mg/kg selama 6 minggu dapat mengurangi glukosa dan profil lipid secara signifikan dibandingkan yang tidak diberi perlakuan. Pengaruh senyawa aktif jintan hitam pada pasien diabetes dapat mempengaruhi metabolisme kolesterol dengan menurunkan aktivitas enzim HMG-KoA reduktase (Torequl *et al.*, 2016).

Selain jintan hitam, tumbuhan klabet juga berperan sebagai alternatif pengobatan herbal lainnya. Jenis senyawa aktif yang dapat ditemukan yaitu alkaloid (trigonella, *trigocoumarin*, asam nikotinat, trimetil kumarin), flavonoid (*quercetin*, *luteolin* dan *vitexin*), polifenol, aglikon, kaempferol, tricin, dan naringenin (Syed *et al.*, 2020). Menurut penelitian dari Bafadam *et al* (2021), tikus yang diinduksi STZ diberi perlakuan ekstrak klabet dengan dosis 50, 100 dan 200 mg/kg selama 6 minggu menunjukkan kadar glukosa darah berkurang signifikan pada semua kelompok perlakuan dibandingkan kelompok diabetes serta kadar lipid pada kelompok dosis 100 mg/kg dan 200 mg/kg secara signifikan lebih rendah daripada kelompok metformin. Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui efek jika kedua tumbuhan tersebut dikombinasikan terhadap total kolesterol darah pada mencit yang diinduksi *streptozotocin*. Penelitian Shari *et al* (2020) menyatakan tentang efek kombinasi dari jintan hitam dan klabet pada 80 pasien DM tipe 2 (45 laki-laki dan 35 perempuan berusia 40-60 tahun) dengan perlakuan diberi 2 g bubuk biji jintan hitam dan 20 g bubuk biji klabet sehari selama 2 bulan hasilnya menunjukkan penurunan yang signifikan dalam total kolesterol, LDL, dan trigliserida dibandingkan dengan nilai profil lipid dasar mereka dan kelompok kontrol. Senyawa klabet yaitu *trigonellin* diketahui dapat menghambat biosintesis

kolesterol dengan menghalangi akses substrat ke situs aktif enzim HMG-KoA reduktase.

Informasi tentang potensi aktivitas biologis dari tumbuhan jintan hitam (*Nigella sativa*) dan fenugreek (*Trigonella foenum*) sebagai obat penurun total kolesterol pada penderita diabetes melitus dilakukan uji secara *in vivo* dan *in silico*. Metode *in vivo* bertujuan untuk mengetahui efek pemberian dosis jintan hitam dan fenugreek terhadap total kolesterol pada organisme atau sel hidup secara keseluruhan seperti hewan mencit yang sengaja diinduksi STZ agar memiliki penyakit diabetes mellitus. Sedangkan, uji *in silico* berguna untuk mengetahui senyawa-senyawa aktif jintan hitam dan fenugreek yang berperan dalam menurunkan total kolesterol melalui proses menghambat enzim HMG-KoA reduktase dan melihat apakah hasil *in silico* konsisten dengan hasil *in vivo*. Model *in silico* yang dilakukan merupakan tahap awal untuk penemuan dan pengembangan obat baru. Berdasarkan penjelasan di atas, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak dan senyawa aktif jintan hitam (*Nigella sativa*) dan klabet (*Trigonella foenum*) terhadap total kolesterol pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi *streptozotocin* secara *in vivo* serta penghambatan terhadap enzim HMG-KoA reduktase sebagai biosintesis kolesterol secara *in silico*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka rumusan masalah untuk penelitian tersebut, yaitu:

1. Adakah pengaruh kombinasi ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dan biji klabet (*Trigonella foenum*) terhadap total kolesterol pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi *streptozotocin*?
2. Apakah senyawa aktif jintan hitam (*Nigella sativa*) dan klabet (*Trigonella foenum*) memiliki aktivitas penghambatan enzim HMG-KoA reduktase secara *in silico*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penelitian tersebut, yaitu:

1. Mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dan biji klabet (*Trigonella foenum*) terhadap total kolesterol pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi *streptozotocin*.
2. Mengetahui senyawa aktif jintan hitam (*Nigella sativa*) dan klabet (*Trigonella foenum*) yang memiliki aktivitas penghambatan enzim HMG-KoA reduktase secara *in silico*.

#### 1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis berdasarkan penelitian tersebut, yaitu:

1. Ada pengaruh kombinasi ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dan biji klabet (*Trigonella foenum*) terhadap total kolesterol pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi *streptozotocin*.
2. Ada senyawa aktif jintan hitam (*Nigella sativa*) dan klabet (*Trigonella foenum*) memiliki aktivitas penghambatan enzim HMG-KoA reduktase secara *in silico*

#### 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapatkan dari penelitian ini, yaitu

1. Penelitian ini dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmiah secara *in vivo* dan *in silico* dari ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dan biji klabet (*Trigonella foenum*).
2. Penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah terkait dengan pengaruh kombinasi ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dan biji klabet (*Trigonella foenum*) terhadap total kolesterol pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi *streptozotocin*.
3. Penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah terkait dengan potensi kombinasi ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dan biji klabet (*Trigonella foenum*) sebagai obat herbal anti kolesterol di masa depan.
4. Penelitian ini dapat dijadikan acuan untuk penelitian lebih lanjut terkait potensi dari jintan hitam (*Nigella sativa*) dan klabet (*Trigonella foenum*) sebagai obat herbal untuk berbagai macam penyakit.

## 1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah yang digunakan untuk penelitian ini, yaitu:

1. Parameter yang diujikan ada dua yaitu parameter *in vivo* untuk menguji pemberian ekstrak jintan hitam dan klabet terhadap total kolesterol mencit DM dan parameter *in silico* untuk mengetahui senyawa aktif jintan hitam dan fenugreek yang berperan dalam menurunkan total kolesterol dengan cara menghambat enzim HMG-KoA reduktase.
2. Ekstrak yang digunakan adalah biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dan biji klabet (*Trigonella Foenum*) menggunakan pelarut etanol 70%.
3. Penelitian *in vivo* menggunakan mencit (*Mus musculus*) strain *swiss webster* jantan berumur 4-5 bulan dengan berat badan rata-rata 30-40 g.
4. Mencit DM diinduksi STZ dengan *multiple dose* yaitu 45 mg/kg dan 60 mg/kg agar mencit dapat dengan cepat memiliki penyakit diabetes mellitus.
5. Pengukuran kadar gula darah menggunakan strip *Easy Touch*. Apabila kadar gula darah mencit  $\geq 200$  mg/dl menunjukkan bahwa mencit sudah diabetes mellitus.
6. Penelitian *in vivo* terbagi menjadi 6 perlakuan, yaitu kelompok normal, kelompok positif, kelompok negatif, kelompok perlakuan ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) 100% dosis 200 mg/kg BB, kelompok perlakuan ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum*) 100% dosis 100 mg/kg BB, dan perlakuan kombinasi biji jintan hitam (*Nigella sativa*) 50 % dan biji klabet (*Trigonella foenum*) 50% dengan dosis 100 mg/kg BB + 50 mg/kg BB selama 28-30 hari.

7. Pengukuran total kolesterol menggunakan metode CHOD-PAP. Kisaran nilai normal total kolesterol pada mencit yaitu 40-130 mg/dl.
8. Senyawa aktif yang digunakan dari jintan hitam untuk pengujian *in silico* yaitu *thymoquinone*, *thymohydroquinone*, *dithymoquinone*, *4-terpineol*, *carvacrol*, *carvone*, *thymol*, dan *limonene* (Shafiq *et al.*, 2014). Sedangkan senyawa aktif klabet yaitu *4-hydroxyisoleucine*, *quercetin*, *luteolin*, *vitexin*, *diosgenin*, *kaempferol*, *tricin*, *naringenin*, *quercitrin*, *afroside*, *isovitexin*, dan *trigonelline* (Syed *et al.*, 2020) dan reseptor 3D HMG-KoA reduktase yang diunduh dari *Protein Data Bank*.
9. Penelitian secara *in silico* menggunakan software offline dan online yaitu *AutoDock Vina*, *Discovery Studio*, *LigPlot*, *Open Babel*, *PASS Online*, *PyMOL*, *Protein Data Bank*, *Lipinski Rule of Five*, dan *admetSAR*.
10. Parameter yang diamati pada uji *in vivo* adalah total kolesterol pada mencit diabetes mellitus sedangkan parameter *in silico* yang diamati yaitu persentase HIA, nilai *drug-likeness* (*Lipinski rule of five*), nilai *PASS*, nilai energi bebas, dan ikatan ligan dengan reseptor.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Diabetes Mellitus**

##### **2.1.1 Pengertian Diabetes Mellitus**

Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit dimana pankreas tidak mampu memproduksi insulin, atau tubuh tidak sanggup memakai insulin dengan baik. Apabila kekurangan insulin, sel tubuh tidak dapat menyerap glukosa sehingga kadar glukosa darah meningkat umumnya disebut kondisi hiperglikemia. Penyakit tersebut biasanya memiliki gejala buang air kencing berlebihan dan air kencingnya mengandung gula. Penyakit DM bersifat degeneratif artinya diakibatkan oleh menurunnya fungsi organ tubuh sehingga sulit disembuhkan. (Kaur *et al.*, 2018; Sarasa *et al.*, 2011). Usaha penyembuhan yang dilakukan untuk mencegah munculnya penyakit DM yaitu dengan mengontrol kadar gula darah melalui pengaturan pola makan, pengobatan secara medis, olahraga, hingga pola hidup yang sehat (Krisnatuti dkk., 2014).

##### **2.1.2 Klasifikasi Diabetes Mellitus**

###### **2.1.2.1 Diabetes Mellitus Tipe-1**

Diabetes mellitus tipe 1 ialah penyakit dimana penderita mengalami kerusakan sel pada pulau Langerhans pankreas menyebabkan penurunan sekresi insulin sehingga regulasi glukosa terganggu. Kerusakan tersebut disebabkan oleh gangguan sistem kekebalan tubuh yaitu autoimun atau dikarenakan faktor genetik. Autoimun adalah kondisi dimana sistem imunitas memusnahkan sel yang memproduksi insulin yaitu sel alfa dan sel beta pankreas dimana terjadi sekresi glukagon yang berlebihan. Hal tersebut mengakibatkan kondisi hiperglikemia

secara terus-menerus, terganggunya metabolisme tubuh, hingga kematian (Fandinata & Ernawati, 2020).

Penyakit diabetes mellitus tipe 1 saat ini belum dapat dicegah dan hanya dapat diobati dengan pemberian insulin secara rutin. Tahap pengobatan pada penderita diabetes tipe 1 harus tepat, berkelanjutan, serta disiplin dalam pemeriksaan dan perawatan yang dilakukan. Pengawasan terhadap kadar glukosa darah penderita menggunakan alat monitor pengujian darah. (Fandinata & Ernawati, 2020; Krisnatuti dkk., 2014).

#### **2.1.2.2 Diabetes Mellitus Tipe-2**

Diabetes mellitus tipe 2 ialah penyakit yang diakibatkan penurunan sekresi insulin oleh pankreas sehingga meningkatkan kadar glukosa darah (hiperglikemia). Peningkatan kadar gula darah memicu produksi ROS (*reactive oxygen species*) sehingga mengakibatkan kerusakan sel dan perkembangan komplikasi diabetes. Komplikasi tersebut meliputi risiko kardiovaskular seperti dislipidemia, hipertensi, dan obesitas (Hamdan *et al.*, 2020; Nurmaylinda *et al.*, 2020). Munculnya penyakit dislipidemia pada pasien DM 2 disebabkan resistensi insulin dimana gejalanya adalah kadar kolesterol total melampaui 239 mg/mL, kadar trigliserida tinggi (200-499 mg/dl), dan kadar HDL rendah (Dewi dkk., 2018). Apabila penderita mempunyai kadar gula darah yang sangat tinggi (>1.000 mg/dl) atau hiperglikemia hiperosmolar nonketotik, gejala yang terjadi akan semakin serius seperti dehidrasi berat sehingga gejala buang air berlebihan, gatal-gatal, gangguan mental, kejang, pusing, kesemutan, bahkan impoten pada pria serta *vulvitis* pada wanita (Krisnatuti dkk., 2014).

### **2.1.2.3 Diabetes Mellitus Gestasional**

DM gestasional adalah penyakit yang diakibatkan oleh kurangnya produksi hormon insulin selama kehamilan dan dapat mencelakakan kesehatan ibu dan bayi dalam janin. Penyebab terjadinya DM gestasional seperti keturunan dari keluarga penderita diabetes mellitus, obesitas, usia, pernah melahirkan bayi dengan berat badan  $> 4$  kg, hipertensi, dan abortus. Akibat yang ditimbulkan dari DM gestasional yaitu cacat janin, dan penyakit jantung bawaan. Penyakit tersebut hanya dialami oleh 2-5% dari seluruh populasi ibu hamil. Setelah proses persalinan, biasanya penyakit DM gestasional pada ibu hamil dapat membaik seiring berjalannya waktu (Fandinata & Ernawati, 2020; Krisnatuti dkk., 2014).

## **2.2 Lipid dan Kolesterol**

### **2.2.1 Lipid**

Lipid (lemak) merupakan komponen utama penyusun membran sel, hormon steroid, dan asam empedu. Lipid ini berperan penting untuk menjalankan berbagai macam fungsi sel yaitu pelindung tubuh, sumber energi, maupun prekursor prostaglandin. Lipid terdiri dari tiga jenis yaitu trigliserida, kolesterol dan asam lemak. Trigliserida dan kolesterol diangkut dengan protein yang disebut apoprotein, bersifat hidrofilik dan dapat larut dalam darah. Kompleks lipid apoprotein disebut lipoprotein dalam bentuk kompleks dimana lipid akan diangkut ke seluruh tubuh. Asam lemak bebas juga diangkut beriringan dengan protein (Bali & Utaal, 2019).

Penyakit gangguan pada metabolisme lipid yang terjadi dalam plasma darah seperti hiperlipidemia. Hiperlipidemia terjadi karena tingginya kadar kolesterol

total serta trigliserida, dan kadar kolesterol HDL yang rendah. Ketiga hal tersebut juga saling berkaitan satu sama lain untuk memicu penyakit aterosklerosis (Staf Pengajar Departemen Farmakologi, 2008).

### **2.2.2 Kolesterol dan Peran Enzim HMG-KoA Reduktase**

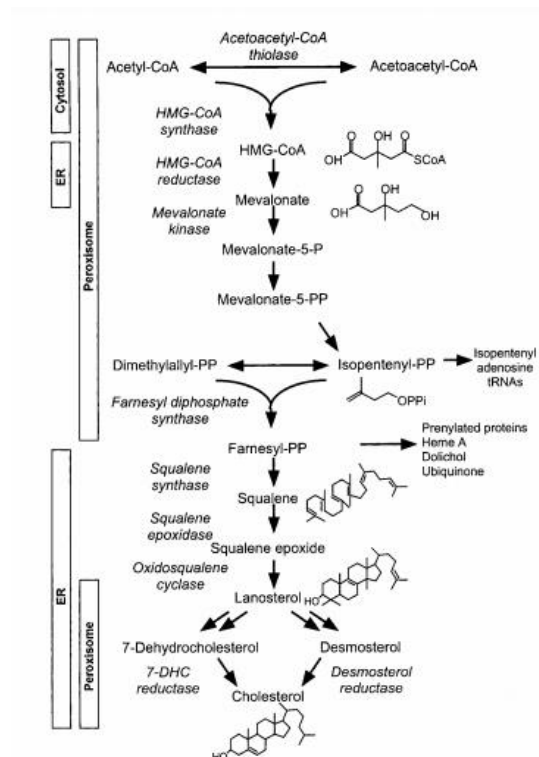
Kolesterol ialah lemak yang ada di seluruh tubuh seperti sistem saraf, hati, usus, otot, kulit, serta jantung. Kolesterol sangat berperan dalam proses metabolisme tubuh yang terjadi pada manusia. Kadar kolesterol normal yang diperlukan oleh manusia yaitu 220 mg/dl. Gaya hidup dan pola makan tidak sehat contohnya konsumsi makanan lemak tinggi dan tinggi karbohidrat memicu kadar kolesterol yang berlebihan atau hiperkolesterolemia (Ayu dkk., 2017). Hiperkolesterolemia adalah kondisi tubuh dimana kadar TG, total kolesterol, LDL, VLDL naik sedangkan kadar HDL turun. Kenaikan kadar HDL serta pengurangan kadar LDL dalam darah dapat mengurangi risiko penyakit-penyakit kardiovaskular (Karaçıl Ermumucu & Şanlıer, 2017).

Kolesterol juga berpotensi untuk melekat di dinding pembuluh darah, sehingga memperkecil aliran pembuluh darah yang mengakibatkan tekanan darah tinggi, gagal ginjal, gangguan mata, penyakit jantung hingga stroke. Keadaan tersebut akan mengganggu proses metabolisme tubuh karena aliran darah ke seluruh tubuh tidak lancar. Aliran oksigen pada tubuh juga ikut terganggu keseimbangannya karena tidak tersebar dengan baik di tubuh. Sementara itu, proses metabolisme aerobik yang terjadi sangat memerlukan peran oksigen disitu. Efek gangguan metabolisme secara anaerobik akan memunculkan rasa nyeri di dada (kejang jantung) akibat penimbunan asam laktat. Gejala gangguan akibat

penyempitan pembuluh darah pada organ mata yaitu terbentuknya benang tipis yang mirip sarang laba-laba hingga kornea mata yang tertutupi lemak (Ali, 2003).

Biosintesis kolesterol terdiri dari lima langkah utama, yaitu (Ekinci, 2012):

1. Asetil-KoA diubah menjadi 3-hidroksi-3-metilglutaril-KoA (HMG-CoA).
2. HMG-CoA diubah menjadi mevalonat.
3. Mevalonat diubah menjadi molekul berbasis isoprena, isopentenil pirofosfat (IPP), dengan hilangnya CO<sub>2</sub> secara bersamaan.
4. IPP menjadi squalene.
5. Squalene menjadi kolesterol.



**Gambar 2.1 Biosintesis kolesterol**

**Sumber : Ekinci (2012)**

Pembentukan HMG-KoA diawali dengan perubahan Asetil-KoA menjadi mevalonat melalui beberapa proses reaksi. HMG-KoA terbentuk selama sintesis keton di mitokondria. Dua mol asetil-KoA terkondensasi dari reaksi tiolase,

membentuk asetoasetil-KoA. Asetoasetil-KoA dan mol ketiga asetil-KoA dirubah menjadi HMG-KoA dengan HMG-KoA sintase. HMG-KoA dirubah menjadi mevalonat oleh HMG-KoA reduktase (enzim ini terikat pada retikulum endoplasma). HMG-KoA reduktase membutuhkan NADPH sebagai kofaktor dan dua mol NADPH selama konversi HMG-KoA dirubah menjadi mevalonat. Reaksi yang dikatalisasi oleh HMG-KoA reduktase ialah sebagai pembatas laju biosintesis kolesterol (Ekinci, 2012).

Mevalonat dimetabolisme menjadi farnesil-difosfat (-PP) oleh serangkaian enzim yang berada di peroksisom. Pertama, mevalonat kinase memfosforilasi gugus 5-hidroksi dari asam mevalonat. Produk mevalonat kinase, yaitu mevalonate-5-P kemudian difosforilasi lagi untuk membentuk asam mevalonat-5-PP, yang didekarboksilasi oleh mevalonat PP dekarboksilase membentuk isopentenil-PP. Isopentenil-PP terletak dalam kesetimbangan dengan isomernya yaitu dimetilalil pirofosfat. *Farnesyl*-PP sintase mengkatalisis kondensasi kepala ke ekor dari dua molekul isopentenil-PP dengan dimetilalil-PP untuk membentuk farnesyl-PP. *Squalene* sintase adalah protein 47-kDa dari retikulum endoplasma. Enzim tersebut mengondensasikan dua molekul *farnesyl*-PP dan mereduksi zat antara *presqualene*-PP menjadi *squalene*. *Squalene* sintase diatur oleh kandungan kolesterol dalam sel. *Squalene* diubah menjadi sterol pertama, lanosterol oleh *squalene* epoksidase dan *oksidosqualen cyclase*. Lanosterol kemudian diubah menjadi kolesterol melalui serangkaian oksidasi, reduksi, dan demetilasi. 7-dehydrokolesterol dan desmosterol merupakan prekursor langsung dari kolesterol. Salah satu enzim kunci biosintesis kolesterol adalah 7-

*dehydrocholesterol A7-reductase* serta protein membran integral 55-kDa (Ridgway & McLeod, 2008).

### **2.3 Hiperkolesterol Pada Diabetes Mellitus**

Hubungan antara kolesterol dan diabetes yaitu pasien DM Tipe 2 memiliki kadar glukosa darah yang tinggi disebabkan sedikitnya hormon insulin yang dikeluarkan sehingga glukosa darah tidak dapat dirubah menjadi energi karena glukosa tidak dipecah menjadi glukosa 6-fosfat. Oleh karena itu, karena kekurangan energi maka diambil dari proses pemecahan lemak dan metabolisme protein. Proses tersebut akan mempercepat penyusunan asetil koenzim A dimana kolesterol bersumber dari sintesis asetil koenzim A, HMG-KoA, dan Mevalonat (Na'i dkk., 2019). Bukti penelitian menunjukkan bahwa kurangnya insulin yang terjadi dapat meningkatkan aktivitas enzim HMG-KoA reduktase pada tikus diabetes (Ramachandran *et al.*, 2014)

Akibat lain dari kurangnya energi oleh kadar glukosa yang rendah yaitu meningkatnya nafsu makan yang berlebihan. Aktifitas tersebut membuat tubuh cenderung memproduksi energi dari lemak sehingga menyebabkan tingginya lemak dalam darah. Sebagian besar jenis lemak yang ditemukan dalam makanan yaitu kolesterol dan trigliserida. Kolesterol dibawa dalam darah melalui lipoprotein. LDL dan HDL merupakan komponen utama yang berperan dalam mempertahankan keseimbangan kolesterol dalam tubuh. LDL (kolesterol jahat) memiliki ukuran yang kecil sehingga dapat masuk ke jaringan dengan mudah melalui transpor difusi pasif. Setelah masuk ke jaringan, LDL dapat menyebabkan kerusakan seperti pada penumpukan lemak di dalam dinding arteri. Sebaliknya,

HDL (kolesterol baik) berfungsi untuk menghilangkan lemak dan kolesterol dari tubuh. Selain fungsi tersebut, HDL juga berperan sebagai antioksidan, anti inflamasi dan anti apoptosis. Fungsi-fungsi HDL tersebut dapat menghambat penyakit-penyakit mematikan seperti aterosklerosis, jantung koroner, serangan jantung, dan stroke (Vitalis *et al.*, 2019).

## **2.4 Lipoprotein**

### **2.4.1 Pengertian Lipoprotein**

Lipoprotein merupakan hubungan ikatan makromolekul antara lipid dengan sifatnya yang tidak larut dalam air dan protein. Kompleks lipoprotein (partikel lipoprotein) berperan untuk membawa lipid dalam darah. Lipoprotein terdiri dari kolesterol, kolesterol ester, fosfolipid, trigliserida, dan asam lemak. Enzim lipoprotein lipase berfungsi untuk memecah VLDL dan trigliserida. Asam lemak bebas dan gliserol dipecah oleh trigliserida. Seluruh lipid yang dibawa dalam darah yaitu lipoprotein, kecuali asam lemak berikatan dengan albumin, melakukan beta-oksidasi, dan hasil yang didapat ialah energi yang digunakan oleh jantung dan otot rangka. Pengelompokan lipoprotein menurut kepadatan (ukuran) yaitu *ultra-low density lipoprotein* (kilomikron), *very low density lipoprotein* (VLDL), *low density lipoprotein* (LDL), *intermediate density lipoproteins* (IDL), dan *high density lipoprotein* (HDL) (Staf Pengajar Departemen Farmakologi, 2008; Zhyvotovska *et al.*, 2019).

## 2.4.2 Jenis-Jenis Lipoprotein

### 2.4.2.1 Kilomikron

Kilomikron (*chylomicron*) ialah lipoprotein bersumber dari makanan yang diselubungi oleh sel mukosa dan tinggi akan trigliserida. Kilomikron dari usus akan memasuki sirkulasi darah seluruh tubuh lewat sistem limfatik. Trigliserida oleh enzim lipoprotein lipase yang terletak di sel endotel pembuluh darah akan dihidrolisis. Enzim tersebut akan hidrolisis trigliserida dan menghasilkan asam lemak. Kilomikron akan disimpan sebagai energi jika memasuki jaringan lemak serta otot. Beberapa jam sesudah konsumsi makanan berlemak, sisa kilomikron akan dibersihkan oleh hati (Staf Pengajar Departemen Farmakologi, 2008; Sumbono, 2016).

### 2.4.2.2 VLDL

VLDL (*very low density lipoprotein*) ialah jenis lipoprotein terendah kedua atau *pre- $\beta$ -lipoprotein*. VLDL berperan untuk membawa trigliserida dari hati ke seluruh tubuh. VLDL juga dipecah oleh enzim lipoprotein lipase. Sisa dari trigliserida yang dilepaskan disebut VLDL *remnant* atau IDL. IDL mengandung protein spesifik seperti apoprotein B-100 dan apoprotein E yang tinggi. IDL yang berikatan dengan reseptor apoprotein B/E akan dikirimkan ke seluruh tubuh. Sebelum dikirimkan ke seluruh tubuh, IDL terlebih dahulu diubah menjadi LDL oleh enzim lipoprotein lipase bersama dengan pelepasan trigliserida dan apoprotein E. Proses tersebut berlangsung di permukaan sel hepar (Staf Pengajar Departemen Farmakologi, 2008)

#### 2.4.2.3 LDL

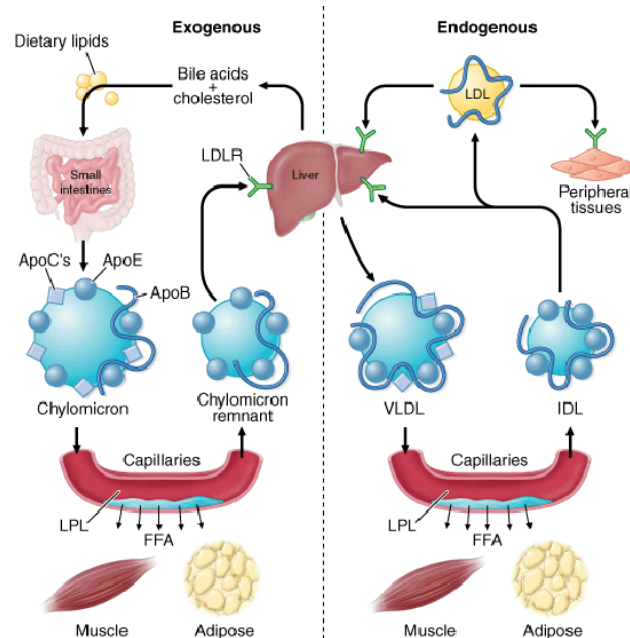
LDL (*low density lipoprotein*) ialah pembawa kolesterol utama yang memindahkan 70-80% kolesterol total dari hati ke semua jaringan tubuh. LDL juga berperan untuk penyusunan dinding sel dan hormon. Sumber-sumber dari kolesterol ialah makanan protein hewani dan zat yang diproduksi di hati. LDL berfungsi untuk memelihara kolesterol dalam tubuh dengan cara berikatan dengan reseptor B-100 dan reseptor E dari VLDL di hati dan jaringan ekstrahepatik (di luar hati). Kolesterol LDL yang dilepas ke seluruh tubuh akan memicu sintesis molekul kolesterol yang baru. (Staf Pengajar Departemen Farmakologi, 2008). LDL dapat memicu penyakit aterosklerosis sehingga dalam fase penyembuhan biasanya berfokus pada pengurangan kadar LDL dalam tubuh. Angka kadar LDL normal <130 mg/dl. Apabila kadar LDL menjangkau 130-155 mg/dl berarti penderita berisiko sedang sedangkan >160 mg/dl penderita berisiko tinggi (Ali, 2003).

#### 2.4.2.4 HDL

HDL (*high density lipoprotein*) memiliki peran untuk mengirim kolesterol dari jaringan ke hati untuk dikatabolisme dan dilepaskan oleh tubuh. Kolesterol tersebut juga digunakan untuk pembentukan empedu dan hormon. Kadar HDL yang tinggi dapat menyebabkan penumpukan lemak hingga penyempitan pada pembuluh darah. Angka kadar kolesterol HDL diduga rendah apabila < 35 mg/dl (pria) < 42 mg/dl (wanita) (Ali, 2003; Staf Pengajar Departemen Farmakologi, 2008).

## 2.5 Metabolisme Lipoprotein

### 2.5.1 Metabolisme Eksogen



**Gambar 2.2 Metabolisme Eksogen dan Endogen**  
**Sumber : Edmond (2013)**

Kilomikron merupakan lipoprotein yang terlibat dalam proses pengangkutan lipid eksogen (makanan) dari usus ke sistem limfatik oleh pembuluh darah melalui jalur metabolisme eksogen. Lipid mengalami proses emulsifikasi oleh empedu menjadi partikel lebih kecil sehingga enzim pencernaan dapat berfungsi dengan baik di dalam lambung. Trigliserida dihidrolisis oleh enzim lipase pankreas di dalam usus dan lipase dirubah menjadi asam lemak bebas dan monogliserida. Asam lemak bebas dilepaskan serta melakukan beta oksidasi agar dapat digunakan sebagai sumber energi pada otot atau disimpan sebagai lemak di jaringan adipose (Jim, 2014).

Selama proses pengangkutan, empedu juga dilepas untuk didaur ulang kembali. Asam lemak bebas akan dirubah kembali menjadi trigliserida. Kilomikron memperoleh kolesterol ester dari HDL sebagai pengganti trigliserida

melalui *cholesteryl ester transfer protein* (CETP). Selanjutnya, kilomikron dalam sistem limfatik menukar ApO A-I dan ApO A-II dengan ApO C dan ApO E dari HDL. ApO C diperlukan untuk aktivasi enzim lipoprotein lipase, sementara ApO E untuk mengenali sisa-sisa kilomikron oleh reseptor hati (Jim, 2014; Zhyvotovska *et al.*, 2019).

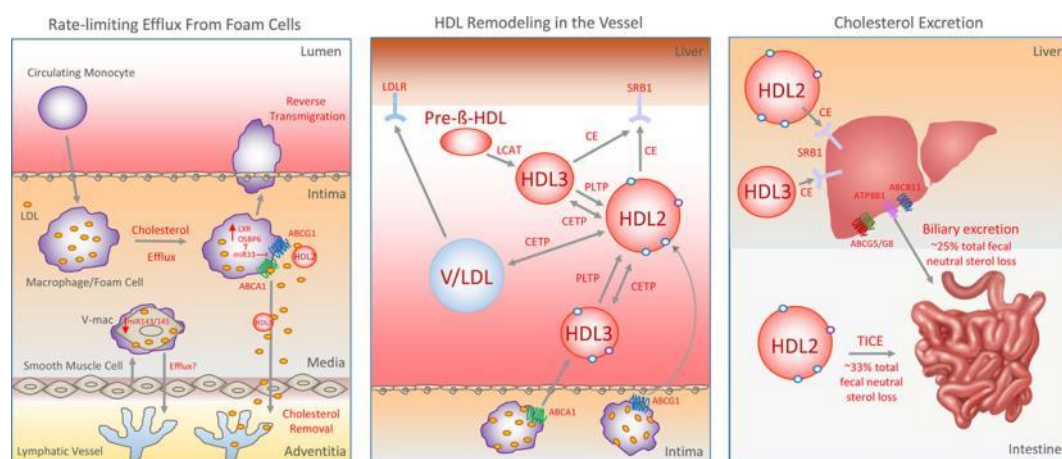
### 2.5.2 Metabolisme Endogen

Hasil dari proses katabolisme sisa kilomikron adalah trigliserida dan kolesterol. Kedua hasil tersebut diproduksi secara endogen di hati dan disekresikan dalam VLDL yang mengandung ApO B-100. Kilomikron, ApO C, dan ApO E diperoleh dari HDL dimana ApO C mengaktifkan enzim lipoprotein lipase. Aktivasi enzim tersebut akan mempercepat reaksi hidrolisis trigliserida dalam VLDL untuk membuat asam lemak bebas agar dapat memproduksi energi atau disimpan di jaringan adiposa. Melalui CETP, VLDL mengubah kolesterol menjadi trigliserida oleh HDL dan membentuk IDL yang didapat oleh hati melalui ApO E/reseptor sisa. IDL kemudian direduksi oleh enzim lipase hati menjadi LDL. LDL hanya memiliki satu apoprotein (B-100) yang diperoleh hati melalui reseptor LDL untuk pembentukan membran dan hormon steroid (Zhyvotovska *et al.*, 2019).

### 2.5.3 Metabolisme HDL dan Reverse Cholesterol Transport

Proses metabolisme HDL dan *reverse cholesterol transport* merupakan proses pemindahan kolesterol dari membran plasma sel di dinding arteri ke hati dalam bentuk kolesterol ester (CE). Kolesterol ester dihidrolisis melalui kolesterol ester hidrolase (CEH) di dalam makrofag dinding pembuluh darah dan melepaskan kolesterol bebas. Kolesterol bebas ini dibawa ke luar makrofag

melalui transporter ABCA1 ke apolipoprotein A1 dan membentuk pre- $\beta$  HDL yang baru. Kolesterol bebas diesterifikasi menjadi kolesterol ester melalui *lecithin cholesterol acyltransferase* (LCAT). Pre- $\beta$  HDL yang baru terbentuk akan dirubah menjadi  $\alpha$ -HDL.  $\alpha$ -HDL dibagi menjadi tiga sub tipe yaitu  $\alpha$ -HDL dewasa,  $\alpha$ -HDL2 dan  $\alpha$ -HDL3. Proses tersebut dibantu oleh enzim LCAT, lipase hati, dan lipase endotel yang terjadi di dinding pembuluh darah dan plasma. Sel akan terus mengirimkan kolesterol bebas kepada  $\alpha$ -HDL2 dan  $\alpha$ -HDL3 dewasa melalui ABCG1 (Zhyvotovska *et al.*, 2019).



**Gambar 2.3 Metabolisme HDL dan Reverse Cholesterol Transport**  
**Sumber : Mireille (2019)**

$\alpha$ -HDL berperan membawa kolesterol ke hati memiliki dua jalur yaitu langsung dan tidak langsung. Jalur  $\alpha$ -HDL secara langsung ialah jalur dimana  $\alpha$ -HDL yang tinggi kolesterol ester mengikat reseptor B1 (SR B1). Reseptor tersebut akan mengenali ApO A1 sehingga kolesterol ester dapat diambil oleh sel hepatosit dan diekskresikan di empedu. Sementara pada jalur  $\alpha$ -HDL tidak langsung,  $\alpha$ -HDL menukar kolesterol ester dengan trigliserida pada VLDL. Proses pertukaran tersebut dibantu oleh CETP, sehingga membentuk HDL yang tinggi trigliserida serta LDL dan VLDL yang tinggi kolesterol ester. Kolesterol ester kemudian

diambil oleh sel hepatosit melalui reseptor LDL, dikatabolisme, dan diekskresikan di empedu, seperti jalur langsung (Zhyvotovska *et al.*, 2019).

## 2.6 Jintan Hitam (*Nigella Sativa*)

### 2.6.1 Deskripsi Jintan Hitam

Zaman sekarang banyak masyarakat menggunakan obat kimia untuk pengobatan sehari-hari padahal pada masa Rasulullah ﷺ, lebih dari 90% pengobatan menggunakan tumbuhan herbal (Marwat *et al.*, 2009). Oleh karena itu, tujuan Allah ﷻ menciptakan tumbuhan herbal tersebut ialah untuk menunjang seluruh kehidupan manusia, hal tersebut telah tercantum dalam QS: Asy-Syu'ara [26]: 7-8 yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾

*“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. dan kebanyakan mereka tidak beriman”* (QS: Asy-Syu'ara [26]: 7-8).

Berdasarkan ayat di atas, ada beberapa kata yang perlu diperhatikan seperti *أَنْبَتْنَا* dimana secara bahasa memiliki arti “kami tumbuhkan” serta *زَوْجٍ كَرِيمٍ* yang berarti “pasangan yang mulia” kata tersebut memiliki keterkaitan dengan kata pertama meskipun secara tersirat dimana arti “pasangan” merujuk kepada kata sebelumnya yaitu tumbuhan yang bermakna banyak. Oleh karena itu, makna kata tersebut yang sebenarnya yaitu ditumbuhkan beraneka macam tumbuh-tumbuhan

mulia (baik) pembawa manfaat. Tafsir Al Qurthubi (2008) dan Ibnu Katsir (2004) menjelaskan terkait ayat tersebut bahwa Allah ﷻ memperingatkan manusia untuk selalu melihat dengan mata dan hati akan keagungan dan kekuasaan-Nya supaya manusia mengetahui cuma Allah ﷻ saja yang berhak untuk disembah. “*Dan apakah mereka*” yakni orang musyrik itu “*tidak memperhatikan*” manusia melihat di “*bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan*” tumbuh-tumbuhan “*yang baik*”. Pernyataan tersebut menunjukkan tanda-tanda kekuasaan Allah ﷻ Yang Mahaperkasa lagi Mahaagung yang telah menciptakan bumi dan menumbuhkan tumbuhan yang baik berupa tanam-tanaman, buah-buahan dan hewan. Oleh karena itu, manusia harus selalu bersyukur atas segala nikmat yang telah diberikan oleh Allah ﷻ salah satunya yaitu terciptanya tumbuhan jintan hitam dan tumbuhan herbal lain agar dapat memberikan manfaat kepada manusia.

Jintan hitam (*Nigella Sativa*) termasuk familia Ranunculaceae ialah salah satu tanaman obat yang umumnya tumbuh di asia barat, timur tengah, dan Konya di Turki. Jintan hitam di India disebut Kalonji atau kalajeera sedangkan di Cina disebut sebagai Hak Jung Chou. Biji jintan hitam biasanya digunakan oleh masyarakat India sebagai bumbu dan pengawet makanan, sementara di Mesir digunakan sebagai bahan karminatif dan penyedap pada roti. Berdasarkan bahasa Latin kuno, jintan hitam disebut Panacea yang berarti “menyembuhkan semua” dan telah dipercaya untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti wasir, hepatitis, diare, demam, batuk, penyakit cacing pita, serta meningkatkan kekebalan tubuh (Al-naggar *et al.*, 2017).

Menurut agama Islam, jintan hitam (*habatussauda*) ini merupakan salah satu bentuk pengobatan herbal ala Rasulullah ﷺ selain madu, minyak zaitun, kurma, air zam-zam, dan obat herbal lain. Sabda Nabi Muhammad ﷺ tentang jintan hitam dalam HR. Al-Bukhari No. 5255 bahwa Aisyah ﷺ meriwayatkan, Rasulullah ﷺ bersabda:

إِنَّ هَذِهِ الْحَبَّةَ السَّوْدَاءَ شِفَاءٌ مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا مِنَ السَّامِ قُلْتُ وَمَا السَّامُ قَالَ  
الْمَوْتُ

*“Sungguh, dalam habbatussauda itu terdapat penyembuhan segala penyakit, kecuali as-saam. Aku (Aisyah) bertanya, ‘apakah as-saam itu?’ Beliau menjawab, ‘Kematian.’”* (HR. Al-Bukhari No. 5255).

Mengikuti sunah Nabi Muhammad ﷺ adalah suatu keharusan bagi umat Islam salah satunya warisan pengobatan Rasulullah ﷺ. Salah satu tanaman yang *اَلْحَبَّةُ السَّوْدَاءُ* (obat untuk segala penyakit) berdasarkan hadis tersebut yaitu *اَلْحَبَّةُ السَّوْدَاءُ* yang berarti “jintan hitam” sedangkan kata *السَّامُ* secara bahasa berarti “beracun” apabila dikaitkan dengan hadits di atas dimana sesuatu yang beracun dapat menyebabkan kematian (maut) yang merupakan takdir dari Allah ﷻ dan tidak bisa diubah. Kebenaran dari habbatussauda sebagai obat segala penyakit harus diyakini, karena yang menyampaikan adalah Rasulullah ﷺ yang bergelar Al-Amin (terpercaya) setelah mendapatkan wahyu dari Yang Maha mengetahui segala sesuatu, yaitu Allah ﷻ. Apabila bukan Rasulullah ﷺ, maka diragukan kebenarannya (Tambusai, 2013). Banyak penelitian ilmiah yang telah membuktikan bahwa jintan hitam mengandung banyak zat yang berfungsi mengatasi berbagai macam penyakit seperti sebagai anti peradangan, anti nyeri, penurun demam, anti mikroba, antihelminik, anti kanker, diuretik, meningkatkan sistem imun,

bronkodilator, hepatoprotektor, anti diare, anti hipertensi, renoprotektor, spasmolitik, hingga antioksidan (Yuniarto & Rakhmawati, 2020).

### 2.6.2 Morfologi Jintan Hitam

Jintan hitam adalah tumbuhan berbunga tahunan setinggi 20-90 cm. Daunnya berbentuk bulat telur, berujung lancip, permukaan daunnya halus, dan ruas daun berbentuk lurus seperti benang. Bunga jintan hitam terdiri dari 5-10 kelopak dengan warna yang bervariasi mulai dari putih, kuning, merah muda, biru pucat hingga ungu pucat. Buahnya berbentuk kapsul besar menggembung dan memiliki 3-7 unit folikel yang berisi biji. Biji jintan hitam berukuran kecil, dikotil, bersudut, berukuran 2-3,5 mm × 1-2 mm, bagian luar berwarna hitam dan bagian dalam berwarna putih, bau aromatik, dan rasa yang pahit (Kazmi *et al.*, 2019). Waktu budidaya jintan hitam biasanya antara bulan November-April dan perkecambahan berlangsung sekitar 10-15 hari setelah benih disebarkan. Waktu berbunga dan berbuah biasanya dari bulan Januari hingga April (Ahmad *et al.*, 2013; Kooti *et al.*, 2016).



**Gambar 2.4 Bunga dan biji jintan hitam**  
**Sumber : Kazmi (2019)**

Klasifikasi tanaman jintan hitam menurut Javed *et al* (2019), sebagai berikut:

Kingdom: Plantae

Divisi: Magnoliophyta

Kelas: Magnoliopsida

Ordo: Ranunculales

Famili: Ranunculaceae

Genus: *Nigella*

Spesies: *Nigella sativa*

### **2.6.3 Aktivitas Farmakologi Biji Jintan Hitam**

#### **2.6.3.1 Kandungan Senyawa Aktif Biji Jintan Hitam**

Jintan hitam secara ilmiah terbukti mengandung beberapa senyawa seperti minyak atsiri (0,40-0,45%), protein (16-20,85%), karbohidrat (31-33,9%), serat (5,50-7,94%), alkaloid, tanin, saponin, besi, kalsium, kalium, magnesium, *zinc*, tembaga (1,79-3,44%), vitamin A dan C, tiamin, niasin, piridoksin, folat, asam lemak tak jenuh, dan asam lemak esensial. Jintan hitam memiliki banyak senyawa aktif yang berguna bagi kesehatan manusia seperti timokuinon, timohidrokuinon, ditimokuinon, *4-terpineol*, *carvacrol*, *carvone*, *t-anethol*, *α-pinene*, *thymol*, *a-hederin*, *limonene*, dan banyak senyawa lain yang ditemukan dalam jumlah kecil (Shafiq *et al.*, 2014). *Thymoquinone* merupakan salah satu senyawa bioaktif utama yang ditemukan dan memiliki potensi sebagai anti diabetes berdasarkan penelitian sebelumnya yang mengungkapkan bahwa *thymoquinone* dapat menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan produksi insulin terhadap tikus (Abdelrazek *et al.*, 2018).

### 2.6.3.2 Efek Farmakologi Biji Jintan Hitam

Manfaat dari jintan hitam itu sendiri yaitu mendorong metabolisme tubuh, meningkatkan sistem pencernaan, menurunkan kadar gula darah, menghilangkan cacing dan parasit dari usus, meredakan bronkitis, batuk, melancarkan menstruasi, meningkatkan ASI, meningkatkan jumlah sperma, memberikan energi, mendorong pertumbuhan rambut, menenangkan sistem saraf, memperlambat rambut rontok, mencegah kerutan, dan penyakit lainnya (Hussain & Hussain, 2016). Secara keseluruhan, jintan hitam dapat dikembangkan menjadi terapi pengobatan yang efektif untuk pasien dislipidemia dan diabetes mellitus (Aisa *et al.*, 2019; Mathur *et al.*, 2011). Senyawa aktif *thymoquinone* memiliki efek antihiperkolesterol dengan menghambat enzim HMG-KoA reduktase. Enzim tersebut merupakan pembatas laju sintesis kolesterol, sehingga dapat mencegah penyakit dislipidemia. Selain itu, jintan hitam menunjukkan sifat antihiperlipidemia dengan merangsang enzim paraoxonase (PON1) yang berfungsi sebagai antioksidan. Enzim PON 1 memiliki sifat pelindung terhadap oksidasi LDL, menetralkan radikal bebas termasuk hidrogen peroksida, dan meningkatkan aktivitas aril esterase yang merupakan indikator protein dari enzim PON1 (Karaçıl Ermumucu & Şanlıer, 2017).

## 2.7 Klabet (*Trigonella foenum*)

### 2.7.1 Deskripsi Klabet

Tumbuhan klabet termasuk tumbuhan golongan Trifolia dan biasanya dibudidayakan di India, Pakistan, dan beberapa negara Timur Tengah. Biji klabet memiliki rasa dan aroma yang kuat sehingga biasanya digunakan sebagai bumbu masakan di India, bahan tepung gandum atau jagung untuk pembuatan roti di

Mesir, dan salah satu makanan pokok utama di Yaman. Tumbuhan klabet telah dipercaya sebagai obat herbal sejak dahulu karena efek karminatif, tonik dan afrodisiaknya. Nama tumbuhan ini berasal dari kata Yunani *trigonou* yang berarti segitiga, karena bentuk daunnya yang berbentuk segitiga. Istilah *foenum-graecum* berarti "jerami Yunani" atau rumput Yunani karena tumbuhan tersebut sering digunakan secara luas di Yunani. (Bahmani *et al.*, 2016; Sarasa *et al.*, 2011).

Klasifikasi tanaman klabet menurut Dash & Mou (2017), sebagai berikut:

Kingdom: Plantae

Divisi: Magnoliophyta

Kelas: Magnoliopsida

Ordo: Fabales

Famili: Leguminosae/Fabaceae

Genus: *Trigonella*

Spesies: *T. foenum-graecum*

Tumbuhan klabet biasanya dibudidayakan sebagai tanaman semi-kering dan tahan terhadap musim dingin dengan suhu yang rendah. Cara membudidayakannya, tumbuhan ini membutuhkan tanah tekstur sedang dengan sistem pengaliran (drainase) yang baik. Kisaran pH yang dapat ditoleransi adalah 5,3-8,2 serta membutuhkan sinar matahari penuh, dan penyiraman terus-menerus selama musim kemarau (Snehlata & Payal, 2012).

### 2.7.2 Morfologi Klabet

Klabet adalah tumbuhan tahunan yang memiliki tinggi sekitar 50 cm. Tumbuhan ini memiliki batang tunggal bengkok, gundul, dan trikoma tersebar. Daunnya berwarna hijau kekuningan yang terdiri dari 3 helai daun berbentuk

bulat telur kecil lonjong dan tersebar dari satu titik dengan panjang 20-25 mm. Bunganya berwarna kuning pucat atau ungu putih dengan diameter 0,8-1,8 cm dan penyerbukannya dibantu oleh serangga. Bunga tersebut biasanya mekar dari bulan Juni-Juli. Buahnya berbentuk polong melengkung dengan panjang 3-11 cm yang berisi 5-20 biji bersudut panjang berukuran 4-6 mm. Biji klabet berukuran pipih kecil (panjang 5 mm), memiliki garis bentuk belah ketupat yang unik, keras, rasanya pahit, aromatik, dan warnanya bervariasi dari kuning kekuningan hingga coklat (Bahmani *et al.*, 2016; Snehlata & Payal, 2012) .



**Gambar 2.5 Tumbuhan dan biji klabet**  
**Sumber : Bahmani (2016)**

### **2.7.3 Aktivitas Farmakologi Biji Klabet**

#### **2.7.3.1 Kandungan Senyawa Aktif Biji Klabet**

Kandungan senyawa aktif klabet secara ilmiah seperti alkaloid (trigonella, *trigocoumarin*, asam nikotinat, trimetil kumarin), flavonoid (*quercetin*, *luteolin* dan *vitexin*), polifenol, aglikon, kaempferol, tricin, dan naringenin (Syed *et al.*, 2020). Tumbuhan klabet adalah sumber vitamin B1, besi, natrium, galaktoman, protein, asam amino, asam lemak, dan serat. Biji fenugreek menyimpan asam amino *4-hydroxyisoleucine* yang bisa meningkatkan sekresi insulin. Alkaloid dengan beberapa senyawa volatil lainnya bertanggung jawab atas rasa pahit dan aroma khas klabet (Chaudhary *et al.*, 2018).

### 2.7.3.2 Efek Farmakologi Biji Klabet

Senyawa flavonoid klabet mampu mengurangi sintesis kolesterol dengan cara menghambat kegiatan enzim *acyltransferase* (ACAT) pada sel HepG2. Enzim ACAT berperan dalam menurunkan esterifikasi kolesterol di usus dan hati, serta menghambat aktivitas enzim HMG-KoA yang akan menurunkan sintesis kolesterol. Senyawa alkaloid dapat mencegah aktivitas enzim lipase pankreas dengan menyerap lemak oleh hati dan tidak dirubah menjadi kolesterol. Sekresi lemak menjadi meningkat dan akan dikeluarkan lewat feses (Ayu dkk., 2017). Selain di atas, manfaat lain dari tumbuhan klabet yaitu sebagai anti bakteri, antidiabetik, anti kanker, antioksidan, anti nyeri, anti jamur, anti fertilitas, meningkatkan sistem imun, hepatoprotektif, nefroprotektif, neuroprotektif, dan antihiperlipidemia (Q. A. Khan *et al.*, 2015; Venkata *et al.*, 2017). Tumbuhan klabet sudah diungkapkan pada hadits Nabi Muhammad ﷺ sebagai pengobatan secara Islami, yaitu:

لَوْ تَعْلَمُ أُمَّتِي مَا لَهَا فِي الْحِلْبَةِ لَا سَتَرْدُوهَا وَلَوْ بَوَزْنِهَا ذَهَبًا

“Jika umatku mengetahui apa yang terkandung dalam hilbah (fenugreek), maka sungguh (mereka akan) membelinya (walaupun) dengan dibayar seberat emas” (Imam Thabrani No. 401).

Berdasarkan hadis tersebut ada kata *الحلبة* secara bahasa berarti “fenugreek” yang merupakan nama lain dari tumbuhan klabet (*Trigonella foenum*). Zaman pengobatan Islam dan Unani, tumbuhan klabet merupakan obat penting sampai Nabi Muhammad ﷺ sandingkan dengan *ذَهَبًا* (الذَّهَب - ذَهَبًا) secara bahasa berarti emas yakni sesuatu yang sangat berharga dan bernilai tinggi. Apabila dikaitkan dengan hadits tersebut berarti tumbuhan klabet sangat berharga dan bernilai bagi

masyarakat pada masanya dikarenakan bermanfaat untuk kesehatan manusia. Rasulullah ﷺ pernah mengunjungi salah satu sahabatnya yaitu Sa'ad bin Abi Waqqass yang telah terjangkit penyakit selama tinggal di Mekah, kemudian meminta dokter untuk memeriksanya. Setelah didiagnosa, Nabi Muhammad ﷺ berkata, "*Dia akan baik-baik saja. Beri dia sup rebusan kurma dan fenugreek (Hulbah)*". Qasim Bin Abdul Rahman dalam buku hadis meriwayatkan Rasulullah ﷺ berkata, "*Dapatkan kesembuhan dari Methi (Hulbah)*" karena terdiri dari 72 khasiat kesehatan (Ansari *et al.*, 2021).

## 2.8 Mencit (*Mus musculus*)

Mencit terdiri dari tiga subspecies utama *M. musculus* dengan distribusi global yang berbeda yaitu: *Mus musculus castaneus*, *Mus musculus domesticus* dan *Mus musculus*. Rentang leluhur untuk *M. musculus* kemungkinan besar ada di India saat ini. Mencit termasuk omnivora dengan memakan biji-bijian hingga serangga. Mencit laboratorium biasanya hidup dan berkembang biak di area kecil karena digunakan manusia untuk penelitian. Reproduksi mencit juga menguntungkan untuk dikembangkan di laboratorium karena waktunya yang singkat dimana kehamilan berlangsung sekitar 3 minggu dan mereka telah matang secara seksual pada usia 6-8 minggu. Jadi, waktu berkembang biak di lab antara 9 dan 11 minggu. Di lab, dengan makanan tak terbatas dan kondisi lingkungan yang baik, betina dapat berkembang biak sepanjang tahun (Phifer-Rixey & Nachman, 2015).

Klasifikasi hewan mencit menurut Narayana *et al* (2018), sebagai berikut:

Kingdom: Animalia

Divisi: Chordata

Kelas: Mammalia

Ordo: Rodentia

Famili: Muridae

Genus: Mus

Spesies: *Mus musculus*



**Gambar 2.6 Mencit (*Mus musculus*)**  
**Sumber : Bowler (2010)**

Adanya hewan mencit patut untuk disyukuri karena merupakan tanda kekuasaan Allah ﷻ yang Maha Sempurna dan Maha Agung untuk menciptakan segala jenis hewan dalam berbagai ukuran, bentuk, warna, dan gerak berbeda.

Pernyataan tersebut tercantum dalam QS. An Nur ayat 45 yang berbunyi:.

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ فَمِنْهُمْ مَّن يَّمْشِي عَلَى بَطْنِهِ وَمِنْهُمْ مَّن يَّمْشِي عَلَى رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَّن يَّمْشِي عَلَى أَرْبَعٍ يَخْلُقُ اللَّهُ مَا يَشَاءُ إِنَّ اللَّهَ عَلَى كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿٤٥﴾

*“Dan Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air, Maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, Sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu” (QS. An-Nur [24]: 45)*

Berdasarkan surah tersebut, kata yang sesuai ialah دَابَّةٌ dalam bahasa arab berarti “binatang” dan يَمْشِي عَلَى أَرْبَعٍ artinya “berjalan dengan empat kaki” ciri-ciri tersebut sesuai dengan hewan mencit yang juga memiliki empat kaki sebagai salah satu ciptaan Allah ﷻ diantara hewan-hewan lain yang ada. Tafsir Al Qurthubi (2008) juga telah menjelaskan bahwa kata دَابَّةٌ adalah setiap hewan di muka bumi ini yang dibentuk dari kata دَبَّ - يَدْبُ - فَهُوَ دَبٌّ. Hewan seperti ular, ikan, cacing, dan lainnya berjalan dengan perutnya. Manusia dan burung berjalan dengan dua kaki. Sementara semua hewan berjalan dengan empat kaki. Semua kaki-kaki itu bergerak sesuai dengan fungsinya. Hikmahnya ialah Allah ﷻ menciptakan perbedaan pada setiap hewan agar manusia berfikir akan adanya Allah ﷻ sebagai Sang Pencipta. Seandainya tidak dibuat oleh Sang Pencipta, maka tidak akan ada perbedaan dan semua bentuknya akan sama.

## 2.9 Metformin

Metformin termasuk golongan biguanida yang dikembangkan dari senyawa kimia galegine, turunan guanidine yang ditemukan di *Galega officinalis* (French lilac). Metformin bekerja dengan cara menurunkan glukosa darah dengan meningkatkan produksi insulin. Zat tersebut tidak menstimulasi sel  $\beta$  pankreas sehingga tidak menyebabkan hipoglikemia dan bertambahnya berat badan. Oleh

karena itu, biasanya metformin dipakai untuk penderita diabetes yang obesitas (Marcedes, 2017).

## 2.10 Streptozotocin (STZ)

STZ [2-deoksi-2-(3-(metil-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose] berasal dari sintesis oleh *Streptomyces achromogenes* untuk menginduksi secara intraperitoneal atau intravena. STZ masuk melalui transporter GLUT-2 sel  $\beta$  pankreas dan menyebabkan alkilasi DNA. Enzim *poly (ADP-ribose) polimerase* (PARP) akan teraktivasi mengakibatkan deplesi NAD<sup>+</sup>, berkurangnya ATP, dan akhirnya menghambat produksi insulin. STZ dapat diberikan dengan satu kali pemberian dosis tinggi atau diberikan berulang dosis rendah selama 5 hari pada mencit atau tikus. Kisaran dosis harian yang diberikan antara 20-40 mg/kg BB pada spesies dan strain tertentu. Dosis tinggi satu kali pemberian tikus biasanya berkisar 100-200 mg/kg BB, sedangkan pada mencit 35-65 mg/kg BB. Penurunan jumlah dan volume pulau langerhans beriringan dengan rendahnya sekresi insulin yang dikeluarkan (Stevani, 2016).

## 2.11 Simvastatin

Simvastatin berasal dari fermentasi jamur *Aspergillus terreus* dan bersifat hidrofobik. Simvastatin biasanya digunakan untuk menghambat pembentukan kolesterol serta meningkatkan produksi reseptor pada sel hati sehingga dapat membersihkan kolesterol jahat dari darah. Simvastatin menargetkan sel hepatosit dan menghambat enzim HMG-KoA reduktase dengan mengubah HMG-KoA menjadi asam mevalonat prekursor kolesterol. Selanjutnya, ketika simvastatin mengikat situs aktif, akan mengubah konformasi enzim dan mencegah HMG-KoA

untuk aktif. Ketika enzim ini dihambat akan menyebabkan penurunan kadar kolesterol. Penurunan kadar kolesterol akan meningkatkan reseptor LDL pada hati karena reseptor tersebut bertanggung jawab untuk mendeteksi penurunan kadar LDL (Cagampan *et al.*, 2018).

## 2.12 *Molecular Docking* (Penambatan Molekuler)

*Molecular docking* merupakan perangkat komputasi (*computer-aided drug design*) untuk mendukung penelitian biologi molekuler dan desain obat. Perangkat tersebut bekerja dengan memahami jenis ikatan dan memperkirakan ikatan afinitas spontan antara ligan dengan reseptor. Nilai dari pengikatan afinitas dibuktikan dengan nilai energi bebas Gibbs (G) (Aziz & Adliani, 2020). Apabila nilai energi bebas Gibbs  $< 0$  berarti ikatan tersebut terjadi secara spontan.

Tujuan *molecular docking* dapat memberikan prediksi struktur kompleks antara ligan dengan reseptor menggunakan metode komputasi. Penambatan molekuler dilakukan melalui dua langkah: pertama dengan mengambil sampel konformasi ligan di sisi aktif protein, kemudian diurutkan konformasi ini melalui fungsi penilaian. Urutan konformasi yang dihasilkan harus menunjukkan nilai yang tinggi untuk mengetahui keberhasilan penambatan molekuler. Mengetahui lokasi *binding site* sebelum proses *docking* dapat meningkatkan efisiensi pengikatan. Informasi tentang hal tersebut dapat diketahui dengan membandingkan protein target dengan keluarga protein yang memiliki fungsi serupa atau dengan protein yang telah dikristalisasi bersama dengan ligan lain. (Meng *et al.*, 2011).

### 2.13 HMG-KoA reduktase Sebagai Reseptor Pada Uji In Silico

Allah ﷻ telah menciptakan benda-benda di langit dan di bumi, seperti tumbuhan, hewan, gunung, lautan, dan ciptaan lain kepada umat manusia. Hal tersebut menunjukkan tanda-tanda akan keagungan dan kekuasaan Allah ﷻ Yang Maha Esa dalam menciptakan segala sesuatu. Allah ﷻ berfirman dalam surah Al-Jaatsiyah ayat 13 yang berbunyi:

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمُوتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ  
لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١٣﴾

*“Dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir”* (QS. Al Jaatsiyah [45]: 13).

Kata utama yang perlu diperhatikan dari firman tersebut ialah سَخَّرَ yang dalam bahasa arab artinya “menundukkan”. Kata tersebut menunjukkan bahwa seluruh ciptaan Allah ﷻ ditundukkan agar dapat bermanfaat untuk kemaslahatan manusia. Tentunya sebagai manusia harus bersyukur kepada Allah ﷻ atas segala nikmatnya. Tafsir Al Qurthubi (2008) dan Ibnu Katsir (2004) menerangkan bahwa Allah ﷻ menyebutkan kekuasaan dan nikmat-Nya yang sempurna dan diberikan kepada hamba-hamba-Nya berupa ciptaan langit dan bumi agar dapat dimanfaatkan manusia. Artinya, semua itu merupakan karunia, kebaikan, dan anugerah dari Allah ﷻ yang patut untuk disyukuri. Seperti terciptanya enzim HMG-KoA reduktase yang ditundukkan oleh Allah ﷻ agar dapat diambil hikmahnya sebagai kunci penurunan total kolesterol untuk manusia pelajari.

HMG-KoA Reduktase adalah enzim kunci dalam biosintesis kolesterol dengan mengkatalisis koenzim A 3-hidroksi-3-metilglutaril menjadi mevalonat. Apabila HMG-KoA reduktase dihambat, maka mevalonat juga terhambat dan tidak membentuk kolesterol. Sisi aktif dari enzim ini dibentuk oleh dua subunit berbeda yang membentuk dimer jika diikat menjadi satu yang terletak di antarmuka monomer-monomer. Domain katalitik tidak berubah bahkan dengan pembentukan tetramer. Sisi aktif ini dibagi menjadi tiga pengikatan yang berbeda: satu untuk HMG, satu untuk CoA dan satu untuk NADPH (Gesto *et al.*, 2020).

Sisi pengikatan KoA ditempatkan dalam domain-L dari satu monomer. ADP dari KoA mengikat di dekat permukaan enzim, dalam *binding pocket* yang dilapisi residu bermuatan positif. Residu yang terlibat dalam *binding pocket* KoA adalah Ser565, Asn567, Arg568, Lys722, Ser865, His866 dan Tyr479 (residu ini dari monomer tetangga). Rantai samping Tyr479 memiliki peran yang sangat penting, karena rantai tersebut berinteraksi dengan basa adenin KoA. Gugus hidroksilnya membuat ikatan hidrogen dengan 3'-fosfat dari bagian ribosa. Partikel NADPH mengikat domain S dari subunit yang berlawanan dimana *binding pocket* HMG-KoA berada. Residu Ser626, Arg627, Phe628, Asp653, Met655, Gly656, Met657, Asn658 dan Val805 berasal dari domain S sedangkan residu Asn870 dan Arg871 dari monomer tetangga. Perubahan konformasi C-terminus enzim NADPH mengarah pada tertutupnya sisi aktif. Terakhir, sisi pengikatan HMG terletak di antarmuka dua monomer. *Binding pocket* ini dibentuk oleh residu Ser684, Asp690, Lys691, Lys692 dan Asp767 dari satu subunit. Glu559, Lys735, Asn755, Leu853 dan His866 yang juga merupakan sisi katalitik enzim (Gesto *et al.*, 2020).

## 2.14 Database Penambatan Molekuler

### 2.14.1 PubChem NCBI

PubChem adalah gudang atau sumbernya informasi tentang zat, struktur senyawa, dan data *BioActivity*. Mayoritas poin/skor data berasal dari *Molecular Libraries Screening Center Network* (MLSCN) di bawah program penelitian *Molecular Libraries Program* (MLP). PubChem merupakan salah satu sumber informasi untuk mempelajari ikatan bebas antar senyawa. PubChem terintegrasi dengan Entrez (mesin telusur utama NCBI). Perangkat lunak tersebut juga memiliki Layanan *BioActivity* (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/assay>) yang menyediakan nilai dari jumlah ikatan bebas senyawa sederhana termasuk protein aktif yang teruji dengan jumlah *BioAssay*. Hasil PubChem biasanya dapat ditampilkan dalam format tabel web dengan interpretasi yang mudah difahami (Canny *et al.*, 2012).

### 2.14.2 Protein Data Bank (PDB)

*Protein Data Bank* (PDB) adalah data yang berisi struktur-struktur makromolekul biologi berbentuk tiga dimensi (3D) yang ditentukan secara eksperimental. Sejak 2003, PDB telah dikelola oleh *Worldwide Protein Data Bank* (wwPDB; [wwpdb.org](http://wwpdb.org)). wwPDB ialah sindikat internasional yang secara kolaboratif mengawasi deposisi, validasi, biokurasi, dan akses terbuka. Arsip PDB dapat menampung koordinat atom 3D sekitar >144.000 model struktural. Model struktural tersebut terdiri dari protein, DNA/RNA, kompleks logam dan molekul kecil dari data eksperimental dan data terkait. Struktur dan data/metadate eksperimental juga disimpan dalam arsip utama PDB menggunakan format data teknik eksperimental yang baru (Rose *et al.*, 2013).

## **2.15 Perangkat Lunak Penambatan Molekuler**

### **2.15.1 AutoDock Vina**

*AutoDock Vina* adalah salah satu software yang valid dan teruji untuk penelitian penemuan obat, penambatan molekuler dan skrining virtual yang dibuat oleh Dr. Oleg Trott. Vina menawarkan layanan peningkatan kinerja serta akurasi agar dapat menghasilkan data yang relevan. Perangkat lunak ini dapat dioperasikan dengan bantuan AutoDockTools (ADT) atau pedoman yang ada (Sandeep *et al.*, 2011).

### **2.15.2 Discovery Studio Visualizer**

*Discovery Studio* adalah software komprehensif untuk menganalisis dan memodelkan struktur molekul terkait penelitian biologi. Perangkat tersebut meliputi fungsi untuk melihat dan mengedit data untuk analisis penelitian. *Discovery Studio Visualizer* ialah software yang dapat dipergunakan untuk membuka data yang dihasilkan oleh software lain. Perangkat tersebut dirancang untuk mengamati dan mengedit struktur molekul, data refleksi sinar-X, skrip, dan data lainnya. Aplikasi ini berjalan di Windows dan Linux serta terintegrasi penuh dengan desktop yang menyediakan akses ke sistem operasi standar seperti file, maupun layanan pencetakan (Sheela *et al.*, 2016).

### **2.15.3 LigPlot**

Program LigPlot ialah perangkat lunak yang berfokus pada interaksi spesifik antara ligan dengan reseptor serta interaksi yang dimediasi oleh molekul air atau residu spesifik. Jenis interaksi lain juga dapat diplot, seperti dimerisasi dan interaksi antar domain tertentu. Tujuan program ini untuk mengambil koordinat 3D dari ligan, menghitung ikatan hidrogen, kemudian menyamakan interaksi ligan

dengan residu protein untuk menghasilkan diagram 2D. Interaksi ikatan hidrogen dan hidrofobik secara otomatis dihitung dengan program HBPLUS2 dengan langkah pemerataan dan optimasi yang dilakukan pada data tersebut (Laskowski & Swindells, 2011).

#### **2.15.4 Lipinski Rule of Five**

Lipinski dan rekan kerja (1997) telah mengembangkan "Aturan Lima" (*Rule of Five*), yang didefinisikan sebagai parameter absorpsi dan permeabilitas. Aturan tersebut bertujuan untuk mengidentifikasi potensi kesalahan dari kandidat obat-obat. Menurut aturan, kandidat obat tersebut bermasalah jika > 5 donor ikatan-hidrogen, 10 akseptor ikatan hidrogen, berat molekul lebih besar dari 500 dan Log P yang dihitung (CLog Logaritma p-dihitung dari koefisien partisi antara noktanol dan air) lebih besar dari 5 (B. Fernandes *et al.*, 2016). Aturan ini dapat digunakan untuk skrining awal obat bermolekul kecil, molekul obat yang tidak memenuhi aturan, mempersempit ruang lingkup skrining obat, menghemat biaya penelitian, serta sebagai panduan untuk obat cadangan klinis (Chen *et al.*, 2020).

#### **2.15.5 PASS Online**

PASS adalah perangkat lunak yang memperkirakan spektrum aktivitas senyawa biologis berbeda berdasarkan strukturnya. Hasil prediksi tergantung pada analisis hubungan aktivitas struktur lebih dari 250.000 zat aktif biologis termasuk obat-obatan, zat obat, timbal dan zat beracun. PASS Online memiliki kemampuan untuk memprediksi lebih dari 4000 jenis aktivitas biologis yang mencakup efek terapeutik, efek toksik, efek samping, interaksi enzim, mekanisme kerja, dan fungsi lain. PASS online memungkinkan penggunaanya untuk mengidentifikasi dan mencatat struktur timbal dari jutaan zat kimia, sehingga dengan mudah

mempersingkat waktu pengembangan kandidat obat tertentu untuk penelitian dan analisis (Basha *et al.*, 2018).

#### **2.15.6 PyMol**

PyMOL merupakan perangkat lunak yang digunakan untuk visualisasi 3D protein, asam nukleat, molekul kecil, maupun kerapatan elektron. Aplikasi ini mampu mengedit molekul, pencarian sinar, dan membuat video. PyMOL dapat menghasilkan video dan gambar makromolekul berkualitas tinggi dengan representasi berbeda dalam bentuk pita, kartun, titik, permukaan, bola, tongkat, dan garis. Saat ini, PyMOL adalah salah satu alat visualisasi makromolekul yang paling banyak digunakan, karena PyMOL ditulis dengan bahasa Python. Python adalah salah satu bahasa pemrograman paling populer, sehingga dapat diperluas ke plugin Python dengan mudah. Fungsi penemuan obat dari PyMOL telah berhasil diterapkan untuk menemukan kandidat obat potensial baru (Yuan *et al.*, 2017).

#### **2.15.7 admetSAR**

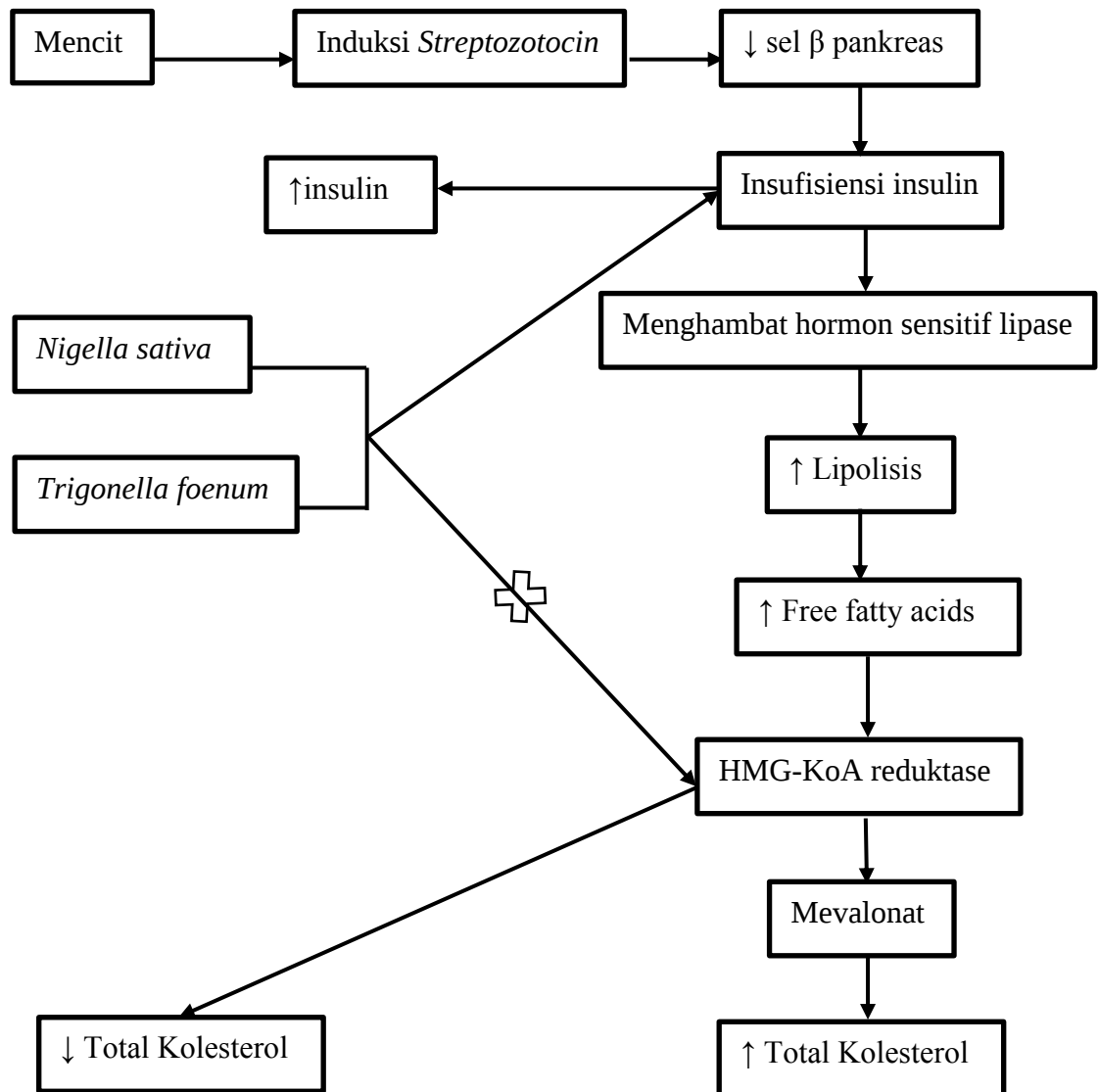
Sifat penyerapan, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas (ADMET) merupakan kunci dalam penemuan/pengembangan obat-obatan, pestisida, bahan tambahan makanan, produk konsumen, dan bahan kimia industri. Informasi ini sangat berguna untuk mencegah bahaya di lingkungan dan manusia. admetSAR adalah open-source database yang terus diperbarui untuk mengumpulkan dan mengelola data ADMET yang tersedia dari literatur-literatur yang diterbitkan. Server web admetSAR terdapat ±210.000 data ADMET untuk ±96.000 senyawa dengan 45 jenis sifat, protein, spesies, atau organisme yang telah diseleksi dengan cermat dari sejumlah besar literatur. Database menyediakan

antarmuka yang mudah digunakan untuk mencari senyawa kimia tertentu, menggunakan nomor CAS, nama umum, atau kesamaan struktur. Selain itu, database mencakup 22 klasifikasi kualitatif dan 5 model regresi kuantitatif dengan akurasi prediksi tinggi, memungkinkan untuk memperkirakan sifat ADMET ekologi/mamalia untuk bahan kimia baru (Cheng *et al.*, 2012).

## **2.16 Ikatan Ligan dan Reseptor**

Nilai ikatan afinitas antara ligan-reseptor diwakili oleh nilai energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ). Nilai energi bebas dihitung dari penjumlahan total energi antarmolekul, total energi internal dan energi bebas torsi dikurangi energi sistem tidak terikat. Konformasi nilai ikatan energi terendah menunjukkan interaksi terbaik antara ligan dan reseptor (Nurmaylindha *et al.*, 2020).

### 2.17 Kerangka Pikiran



Gambar 2.7 Kerangka pikiran

### BAB III METODE PENELITIAN

#### 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimental menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 6 perlakuan dan 5 ulangan. Penentuan besar ulangan pada sampel ditentukan dengan rumus Federer (Biantong & Soekersi, 2017) dengan rumus:

$$(n - 1) (t - 1) \geq 15$$

Keterangan:

$n$  = besar sampel tiap kelompok

$t$  = banyaknya kelompok

$$(n - 1) (t - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) (6 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) 5 \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Setiap kelompok minimal menggunakan 4 ekor mencit sebagai ulangan. Sedangkan pada penelitian ini, peneliti lebih memilih untuk menggunakan 5 ekor mencit setiap kelompoknya dengan jumlah keseluruhan subjek penelitian yaitu 30 ekor mencit. Perlakuan pada setiap kelompok mencit terbagi menjadi normal, positif, negatif, ekstrak biji jintan hitam tunggal, ekstrak biji klabet tunggal, dan kombinasi keduanya yang diinduksi *streptozotocin* kecuali pada perlakuan

negatif. Penelitian kedua yaitu uji *in silico* menggunakan metode deskriptif eksploratif untuk menguji senyawa aktif jintan hitam (*Nigella sativa*) dan klabet (*Trigonella foenum*) sebagai anti kolesterol terhadap penghambatan enzim HMG-KoA reduktase.

### 3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan pada penelitian ini, yaitu:

1. Variabel bebas : Dosis ekstrak dan senyawa aktif ligan jintan hitam (*Nigella sativa*) dan klabet (*Trigonella foenum*).
2. Variabel terikat : Kadar kolesterol total mencit diabetes mellitus, nilai PASS, persentase HIA, nilai *drug-likeness*, nilai energi bebas, dan ikatan ligan dengan reseptor.
3. Variabel kontrol : Jenis kelamin mencit jantan, usia 5-6 bulan, berat badan 30-40 gr, pakan BR1, pakan BR2, minum *ad libitum*, penambatan molekuler, dan reseptor HMG-KoA reduktase.

### 3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan dan Kandang Hewan Coba Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Februari 2021 sampai bulan September 2021.

### 3.4 Populasi Penelitian

Sampel penelitian ini menggunakan mencit (*Mus musculus*) jantan berumur 5-6 bulan dengan berat badan antara 30-40 gram sebanyak 36 ekor.

### 3.5 Alat dan Bahan

#### 3.5.1 Alat

Alat yang digunakan untuk penelitian *in vivo* yaitu, sarung tangan, masker, kandang hewan coba, tempat makan dan minum, tempat maserasi, timbangan analitik, spuit 1cc, alat pencekok oral (*gavage*), labu ukur, kertas saring, pipet tetes, gelas ukur, pengaduk, mikropipet, termometer, spatula, *aluminium foil*, gelas kimia, kertas label, *centrifuge*, *rotary evaporator*, erlenmeyer, botol penyimpanan, *hot plate*, kapas, seperangkat alat bedah, *beaker glass*, strip kadar gula darah *Easy Touch*, tabung reaksi, *vortex*, dan alat tulis

Sedangkan alat yang digunakan untuk penelitian *in silico* menggunakan laptop ASUS K43U dengan *processor* AMD APU E-350/E-450 Dual Core RAM 2 GB dengan sistem operasi Windows 7 dan software offline atau online seperti, *AutoDock Vina*, *Discovery studio*, Open Babel, Ligplot, PASS Online, Pymol, Protein Data Bank, *Lipinski Rule of Five*, dan admetSAR.

#### 3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian *in vivo* yaitu mencit (*Mus musculus*) jantan yang berumur 5-6 bulan berat 30-40 gram dari *Rattus Breeding Center* Jl. Sudimoro Malang, ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*), ekstrak klabet (*Trigonella foenum*), metformin, *buffer* sitrat, tissue, NaOH, *streptozotocin* (STZ)

*SantaCruz Biotech*, NA CMC 0,5%, pakan BR1, pakan BR2, tube, etanol 70%, akuades, alkohol 70%, air minum, dan sekam.

Sedangkan bahan yang digunakan untuk penelitian *in silico* yaitu struktur 3D senyawa aktif jintan hitam yaitu *thymoquinone*, *thymohydroquinone*, *dithymoquinone*, *4-terpineol*, *carvacrol*, *carvone*, *thymol*, dan *limonene* dan struktur 3D senyawa aktif klabet yaitu *4-hydroxyisoleucine*, *quercetin*, *luteolin*, *vitexin*, *diosgenin*, *kaempferol*, *tricin*, *naringenin*, *quercitrin*, *afroside*, *isovitexin*, dan *trigonelline* dan reseptor 3D HMG-KoA reduktase yang diunduh dari *Protein Data Bank*.

### **3.6 Prosedur Penelitian**

#### **3.6.1 Pembuatan Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Biji Klabet (*Trigonella foenum*)**

Sampel biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dan biji klabet (*Trigonella foenum*) dengan berat 500 g digiling dan diayak dengan ukuran 90 mesh hingga halus. Kemudian dimasukkan ke dalam wadah/tempat untuk diekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan ialah maserasi. Sampel biji yang telah halus ditambahkan etanol 70% selama 1×72 jam dan diaduk dengan shaker. Setelah didiamkan selama 1×72 jam dilakukan penyaringan dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* bersuhu 40°C sampai menjadi ekstrak pekat. Hasil pemekatan ekstrak yang dihasilkan dari proses tersebut sebanyak 90 ml (Nugroho, 2017).

### 3.6.2 Pembuatan Sediaan Larutan *Streptozotocin*

Larutan *streptozotocin* (STZ) dibuat dengan cara ditimbang terlebih dahulu sediaan STZ seberat 9,6 mg untuk dosis 45 mg/kg BB dan dosis 12 mg untuk dosis 60 mg/kg BB. Masing-masing sediaan tersebut dilarutkan ke dalam *buffer sitrat* volume 3.2 ml dengan pH 4,5 dan dihomogenkan dengan cara diaduk dan divortex. Larutan yang telah dihomogenkan diukur kembali pHnya apabila  $< 4$  maka larutan tersebut ditambah NaOH sebaliknya jika  $> 4$  maka dimasukkan larutan *buffer sitrat* hingga pH-nya kembali ke 4,5.

### 3.6.3 Pembuatan Larutan Na CMC 0,5%

Larutan Na CMC 0,5 % dibuat dengan melarutkan sediaan CMC 500 mg ke dalam 10 ml akuades panas kemudian diaduk dan dibiarkan hingga berwarna bening dan berbentuk gel. Larutan tersebut diencerkan dengan akuades hingga 100 ml sampai homogen.

### 3.6.4 Pembuatan Larutan Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Biji Klabet (*Trigonella foenum*)

Dosis ekstrak untuk kelompok perlakuan telah ditentukan yaitu ekstrak jintan hitam 200 mg/kg BB dan ekstrak klabet 100 mg/kg BB. Dosis ekstrak jintan hitam 200 mg/kg BB ditimbang sebanyak 17,2 mg sedangkan dosis ekstrak klabet 100 mg/kg BB ditimbang sebanyak 8,6 mg. Kemudian masing-masing ekstrak tersebut dilarutkan dalam larutan Na CMC 0,5% sebanyak 1 ml sampai homogen. Setelah homogen, larutan tersebut dapat disimpan di dalam kulkas dan dapat digunakan saat suhu larutan menjadi suhu ruangan. Volume pemberian ekstrak terhadap setiap hewan coba mencit yaitu 0,3-0,5 ml secara oral.

### 3.6.5 Pembuatan Sediaan Larutan Metformin

Dosis metformin yang digunakan untuk pengobatan pada manusia dengan berat badan 70 kg yaitu 500 mg. Dosis tersebut dikonversi ke dosis mencit menjadi 65 mg/kg BB. Dosis metformin tersebut ditimbang sebanyak 5,6 mg dan dilarutkan dalam 1 ml Na CMC 0,5% hingga homogen.

### 3.6.6 Prosedur Pembuatan Mencit Model Diabetes Mellitus

1. Sebelum dijadikan hewan model DM dan diberikan perlakuan, hewan coba diaklimatisasi terlebih dahulu agar dapat beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang baru. Sebelum diaklimatisasi dilakukan penimbangan berat badan kemudian diberi pakan standar dan air minum secara *ad libitum*. Mencit hewan coba dipelihara pada suhu ruangan 22-25°C dengan kelembaban 65%.
2. Setelah diaklimatisasi, seluruh kelompok perlakuan diukur kadar gula darah setelah mencit dipuasakan selama 12-16 jam dengan tetap diberikan air minum secara *ad libitum*.
3. Hewan uji coba diinduksi *streptozotocin* (STZ) (kecuali kontrol negatif) secara intraperitoneal dengan *multiple dose* yaitu 45 mg/kg BB (sekali sehari pada hari ke-1, ke-2, dan ke-3) dan 60 mg/kg BB (sekali sehari pada hari ke-5 dan ke-7) (Husna dkk., 2019).
4. Kemudian diukur kadar gula darah setelah induksi STZ pada minggu ke-4 setelah dipuasakan selama 12-16 jam menggunakan alat *Easy Touch*. Darah pada ekor mencit ditetaskan di alat strip dan dibiarkan sebentar hingga angkanya muncul di layar. Mencit sudah dapat dikatakan diabetes

mellitus apabila rata-rata glukosa darah puasanya sekitar  $\pm 180\text{-}200$  mg/dl (Fajrin *et al.*, 2017).

### **3.6.7 Pemberian Perlakuan Kombinasi Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) dan Biji Klabet (*Trigonella Foenum*)**

1. Dosis untuk ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan klabet (*Trigonella foenum*) yang diberikan secara oral sebanyak 200 mg/kg BB (100% jintan hitam), 100 mg/kg BB (100% klabet), dan 100 mg/kg BB jintan hitam + 50 mg/kg klabet (50% : 50%).
2. Prosedur pemberian perlakuan dilakukan secara oral kepada hewan coba selama 28 hari sesuai dengan kelompok dan dosis sebagai berikut:
  - a. Kelompok normal (N) (mencit sehat) hanya diberi perlakuan Na CMC 0,5%.
  - b. Kelompok kontrol positif (K+) (DM 2) diberi metformin dengan dosis 65 mg/kg BB + Na CMC 0,5%.
  - c. Kelompok kontrol negatif (K-) (DM 2) hanya diberi perlakuan Na CMC 0,5%.
  - d. Kelompok 100% jintan hitam (P1) (DM 2) diberi perlakuan ekstrak etanol 70% biji jintan hitam dengan dosis 200 mg/kg BB + Na CMC 0,5%.
  - e. Kelompok 100% klabet (P2) (DM 2) diberi perlakuan ekstrak etanol 70% biji klabet dengan dosis 100 mg/kg BB + Na CMC 0,5%.

- f. Kelompok kombinasi jintan hitam dan klabet (P3) (DM 2) diberi perlakuan ekstrak etanol 70% dengan dosis 100 mg/kg BB jintan hitam + 50 mg/kg BB klabet + Na CMC 0,5%.
3. Setelah diberi perlakuan hari terakhir, mencit dipuasakan selama 12-16 jam lalu diukur kadar gula darah setiap minggu selama 28 hari.
4. Setelah pengukuran kadar gula darah minggu ke-4, mencit didislokasikan dan diambil darah pada bagian bawah jantung mencit menggunakan spuit 1 cc. Darah yang didapat akan diukur kadar kolesterol total terhadap seluruh kelompok perlakuan.
5. Sampel darah yang didapat disentrifugasi dengan kecepatan 3000-4000 rpm selama 15 menit. Kemudian serum darahnya diambil dan diletakkan ke tube dan disimpan di dalam freezer dengan suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### **3.6.8 Pengukuran Kadar Kolesterol Total**

1. Pengukuran kadar kolesterol total menggunakan metode CHOD-PAP.
2. Sampel serum yang disimpan di dalam freezer tadi diambil sebanyak 10  $\mu\text{l}$  ke dalam 3 perlakuan yang berbeda, perlakuan pertama diisi reagen enzim sebanyak 1000  $\mu\text{l}$  sebagai blanko, tabung reaksi kedua diisi larutan standar 10  $\mu\text{l}$  dan reagen enzim 1000  $\mu\text{l}$ , dan tabung reaksi ketiga diisi dengan reagen sebanyak 1000  $\mu\text{l}$  dan sampel serum 10  $\mu\text{l}$ .
3. Sampel tersebut dihomogenkan dan diinkubasi selama 5-10 menit pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .
4. Setelah diinkubasi sampel tersebut dimasukkan ke dalam spektrofotometer dan diatur dengan panjang gelombang 500 nm.

5. Kuvet yang berisi larutan standar diperiksa dan dicatat absorbansinya.

Rumus untuk mendapatkan kadar total kolesterol darah yaitu:

$$\text{Kolesterol (mg/dl)} = \frac{\Delta A \text{ Sampel}}{\Delta A \text{ Standar}} \times \text{Konsentrasi larutan standar}$$

### 3.7 Penambatan Molekuler Terhadap Enzim HMG-KoA reduktase

#### 3.7.1 Persiapan Ligan dan Reseptor

Persiapan ligan senyawa aktif jantan hitam yaitu *thymoquinone*, *thymohydroquinone*, *dithymoquinone*, *4-terpineol*, *carvacrol*, *carvone*, *thymol*, dan *limonene* sedangkan senyawa aktif klabet yang dipersiapkan yaitu *4-hydroxyisoleucine*, *quercetin*, *luteolin*, *vitexin*, *diosgenin*, *kaempferol*, *tricin*, *naringenin*, *quercitrin*, *afroside*, *isovitexin*, dan *trigonelline* yang diunduh dari PubChem ([www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)) dengan format (\*.pdb). Reseptor enzim HMG-KoA reduktase diunduh dari RCSB PDB ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)) dengan format (\*.pdb). Senyawa ligan dan reseptor yang telah diunduh terlebih dahulu dioptimasi (dibersihkan) dari molekul yang tidak dibutuhkan menggunakan software offline PyMOL. Setelah dioptimasi, senyawa ligan dan reseptor disimpan dengan format (\*.pdb) dan dapat digunakan untuk penambatan molekuler.

#### 3.7.2 Pengujian Nilai HIA

Pengujian HIA menggunakan web server admetSAR (<http://http://lmmd.ecust.edu.cn/admetsar2/>) dengan dimasukkan struktur ligan dengan format SMILES dari <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

### 3.7.3 Pengujian Lipinski Rule of Five

Ligan senyawa jintan hitam dan klabet dipersiapkan dengan format (\*.pdb), selanjutnya diupload di web server <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>.

### 3.7.4 Pengujian Nilai PASS

SMILE dari senyawa jintan hitam dan klabet untuk uji PASS dapat diunduh dari PubChem. Kemudian dibuka software online PASS (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan dimasukkan SMILE senyawa ligan yang telah dipersiapkan dan ditunggu hasil pengujiannya. Hasil pengujian yang ditampilkan adalah nilai pa dan pi dimana jika nilai  $P_a > P_i$  (aktivitas senyawa baik),  $P_a > 0,7$  (aktivitas senyawa secara eksperimental tinggi, nilai  $0,3 < P_a < 0,7$  (aktivitas senyawa secara eksperimental rendah dan tidak seimbang dengan obat yang sudah dikenal) dan  $P_a < 0,3$  (aktivitas senyawa tersebut sangat rendah) (Pramely & Raj, 2012).

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

Hal yang perlu dilakukan sebelum penambatan molekuler, yaitu *redocking* terlebih dahulu antara ligan alami dan reseptornya. Metode penambatan molekuler diawali dengan perubahan format dari reseptor 3D HMG-KoA reduktase yang awalnya memiliki format (\*.pdb) menjadi format pdbqt melalui software *PyRx*. Senyawa ligan juga perlu diminimasi terlebih dahulu menggunakan *Open Babel*. Setelah format reseptor dan ligan sudah sesuai lalu dimasukkan ke software offline *Autodock Vina* dan diatur *grid box* disesuaikan dengan sisi aktif ligan dan reseptor HMG-KoA reduktase. Hasil penambatan disimpan dengan format (\*.pdb) dan nilai energi bebas disimpan dengan format (\*.csv).

### 3.7.6 Visualisasi Hasil Penambatan Molekuler

Hasil dari penambatan molekuler tersebut divisualisasikan menjadi 2 bentuk yaitu 2D dan 3D dengan software *LigPlot* dan *Discovery Studio Visualizer* untuk mengetahui model interaksi antara senyawa dan residu protein asam amino target dan ikatan hidrogennya.

## 3.8 Analisis Data

### 3.8.1 Perlakuan Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) dan Biji Klabat (*Trigonella Foenum*).

Data hasil penelitian ini berupa kadar kolesterol total dalam serum darah mencit. Data tersebut dianalisis secara statistik diuji normalitas dan homogenitas jika data tersebut terdistribusi normal, varian homogen ( $\alpha = 0,05$ ), dan memenuhi syarat parametrik ( $p \geq 0,05$ ) selanjutnya dapat dianalisis dengan metode *one way ANOVA*. Apabila data tersebut non parametrik ( $p \leq 0,05$ ) maka dianalisis menggunakan metode *Kruskal-Wallis*. Data yang dianalisis jika memiliki perbedaan signifikan dapat diuji lanjut *Duncan* untuk mengetahui perbedaan antar tiap perlakuan. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan program software SPSS (Dwianita dkk, 2017).

### 3.8.2 Penambatan Molekuler Terhadap Enzim HMG-KoA reduktase

Analisis hasil penambatan tersebut meliputi konfirmasi energi bebas ikatan dimana semakin negatif nilainya maka ikatan dan tingkat kestabilannya semakin bagus (Syahputra, 2014). Uji HIA dengan ketentuan nilai tinggi (70-100%), sedang (20-70%), dan rendah (0-10%), nilai *drug-likeness* (*Lipinski rule of five*), prediksi PASS dimana apabila  $pa > pi$  artinya mempunyai aktivitas biologis),  $Pa < 0,3$  artinya aktivitas senyawa rendah) sedangkan  $pa > 0,7$  artinya teruji secara

laboratorium dan aktivitas biologis bagus, dan ikatan hidrogen antara ligan dan reseptor terhadap penghambatan pada enzim HMG-KoA reduktase (Pramesy, 2012).

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Pengaruh Kombinasi Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Klabet (*Trigonella foenum*) Terhadap Total Kolesterol Mencit (*Mus musculus*) Diinduksi Streptozotocin Secara In Vivo**

Hasil uji kadar kolesterol total dari 30 sampel mencit dengan 6 perlakuan berbeda menggunakan metode CHOD-PAP. Prinsip utama dari metode tersebut yaitu kolesterol esterase menghidrolisis ester kolesterol menjadi kolesterol bebas dan asam lemak. Kolesterol dioksidasi oleh kolesterol oksidase membentuk hidrogen peroksida dan cholest-4ene3one. Hidrogen peroksida akan membawa kopling oksidatif fenol dan antipirin untuk membentuk pewarna kuinoneimin berwarna merah. Intensitas warna yang dihasilkan berbanding lurus dengan konsentrasi kolesterol total (Kottagi *et al.*, 2014).

Data total kolesterol tersebut dianalisis statistik menggunakan software SPSS. Hasil nilai signifikansi dari uji normalitas yaitu 0.577 ( $\alpha \geq 0.05$ ) artinya  $H_0$  diterima dan sampel tersebut berdistribusi dengan normal. Kemudian, sampel tersebut diuji homogenitasnya dengan nilai signifikansi 0.926 ( $\alpha \geq 0,05$ ) artinya  $H_0$  diterima dan sampel tersebut memiliki data homogen. Setelah data memenuhi syarat parametrik ( $p \geq 0,05$ ), selanjutnya dapat dianalisis dengan metode *one way ANOVA*. Hasil nilai signifikansi yang didapat yaitu 0.000 ( $p < 0.05$ ) maka  $H_1$  diterima artinya antar perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan terhadap total kolesterol mencit yang diinduksi *streptozotocin*. Data tersebut diuji lanjut Duncan untuk mengetahui pengaruh macam-macam perlakuan dari proses yang sama.

**Tabel 4.2 Hasil duncan  $\alpha$  0.05 total kolesterol mencit pada setiap kelompok perlakuan**

| No | Kelompok Perlakuan                                         | Hasil Duncan $\pm$ SD           |
|----|------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| 1  | Normal                                                     | 84 $\pm$ 13,68 <sup>a</sup>     |
| 2  | P3 (DM 2) (100 mg/kg BB jantan hitam + 50 mg/kg BB klabet) | 106,78 $\pm$ 8,42 <sup>b</sup>  |
| 3  | P2 (DM 2) (klabet 100 mg/kg BB)                            | 109,48 $\pm$ 9,07 <sup>b</sup>  |
| 4  | P1 (DM 2) (jantan hitam 200 mg/kg BB)                      | 113,30 $\pm$ 9,62 <sup>b</sup>  |
| 5  | K+ (DM 2) (metformin)                                      | 120,6 $\pm$ 11,57 <sup>bc</sup> |
| 6  | K- (DM 2) (Na CMC 0,5%)                                    | 130,54 $\pm$ 10,96 <sup>c</sup> |

Berdasarkan hasil uji Duncan Tabel 4.1 bahwa pada perlakuan N dengan hasil 84 mg/dl berbeda nyata dengan seluruh perlakuan. Hasil tersebut menyatakan bahwa mencit perlakuan N (sehat/tidak DM) mempunyai total kolesterol darah yang normal. Hasil tersebut sesuai dengan pernyataan Mu'nisa & Aرسال (2014) bahwa nilai normal total kolesterol pada mencit yaitu 40- 130 mg/dl. Apabila dibawah nilai tersebut disebut hipokolesterolemia sedangkan di atas nilai tersebut disebut dengan hiperkolesterolemia. Hasil uji Duncan pada perlakuan K- dengan nilai 130,54 mg/dl juga memberikan hasil berbeda nyata dengan seluruh perlakuan. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian *streptozotocin* selain dapat meningkatkan kadar gula darah juga memiliki efek menaikkan total kolesterol darah pada mencit secara signifikan dibandingkan dengan perlakuan N (mencit sehat). Menurut Saravanan & Ponmurugan (2012) menyatakan bahwa induksi STZ dapat mengakibatkan kelebihan produksi asam lemak sehingga mendorong perubahan asam lemak menjadi fosfolipid dan menurunkan pembuangan kolesterol yang berlebihan di hati.

Mencit yang diberi dosis STZ tertentu akan menderita penyakit diabetes mellitus dengan defisiensi insulin akibat rusaknya sel beta yang disebabkan oleh STZ. Penyakit tersebut akan meningkatkan mobilisasi lemak. Peningkatan asam lemak bebas menyebabkan tingginya konsentrasi lipid abnormal karena insulin menghambat hormon sensitif lipase. Selama diabetes mellitus, aktivitas enzim ini akan memicu lipolisis dan melepaskan lebih banyak asam lemak bebas ke dalam sirkulasi darah. Kelainan lipid yang paling umum terjadi pada penderita diabetes mellitus adalah hipertrigliseridemia dan hiperkolesterolemia (Al-Logmani & Zari, 2011; Saravanan & Ponmurugan, 2012).

Hasil perlakuan P1 (100% *Nigella sativa*) dengan nilai berurutan 113.3 mg/dl jika dibandingkan dengan K- dan N memiliki hasil berbeda nyata. Hasil tersebut menunjukkan bahwa dosis 200 mg/dl *Nigella sativa* sudah mampu menurunkan total kolesterol darah dibandingkan dengan mencit yang telah diinduksi STZ. Menurut Shafiq *et al* (2014) menyatakan bahwa *Nigella sativa* memiliki senyawa aktif seperti timokuinon (TQ), timohidrokuinon, ditimokuinon, 4-terpineol, carvacrol, carvone, t-anethol,  $\alpha$ -pinene, thymol, a-hederin, limonene, dan banyak senyawa lain yang ditemukan dalam jumlah kecil. Senyawa thymoquinone (TQ) jika dikonsumsi secara rutin dapat mengurangi kolesterol total, LDL, trigliserida, dan zat reaktif asam tiobarbiturat secara signifikan sekaligus meningkatkan konsentrasi HDL. *N. sativa* dapat mengurangi sintesis kolesterol hepatosit dan menurunkan penyerapannya dari usus kecil. Cara kerjanya dengan mengaktifkan reseptor LDL sehingga menurunkan kolesterol intraseluler dan membersihkannya dari sirkulasi darah. Selain itu, komponen

antioksidannya dapat menghambat peroksidasi lipid, yang merupakan faktor kunci dalam proses aterosklerosis (Sabzghabaee *et al.*, 2012).

Sementara itu, pada kelompok perlakuan P2 (100% *Trigonella foenum*) dengan nilai 109,48 mg/dl hasilnya berbeda nyata dengan K- dan tidak berbeda nyata dengan P1 (100% *Nigella sativa*). Hasil tersebut menunjukkan bahwa *Trigonella foenum* juga memiliki potensi yang sama dengan *Nigella sativa* untuk menurunkan total kolesterol dalam darah. Fenugreek menurut Syed *et al* (2020) mengandung alkaloid (trigonella, *trigocoumarin*, asam nikotinat, trimetil kumarin), flavonoid (*quercetin*, *luteolin* dan *vitexin*), polifenol, aglikon, kaempferol, tricin, dan naringenin. Senyawa flavonoid dalam biji fenugreek ternyata memiliki kemampuan sebagai antikolesterol. Menurut Khorshidian *et al* (2016) biji fenugreek adalah sumber makanan yang kaya akan serat. Salah satu serat larut utamanya yaitu galactomannan yang dapat mengurangi penyerapan garam empedu di usus.

Serat galaktomannan terbukti ampuh dalam menurunkan kadar kolesterol dengan cara mengubah kolesterol menjadi asam empedu dan diekskresikan melalui feses. Serat tersebut juga memproduksi asam lemak volatil untuk mencegah sintesis kolesterol di hati dengan cara mengurangi aktivitas HMG-KoA reduktase dan meningkatkan ekskresi sterol netral. Senyawa aktif seperti saponin dapat mempengaruhi metabolisme lipid serta konsentrasi kolesterol darah. Reaksi antara asam empedu dan senyawa saponin ini menyebabkan terbentuknya misel agar diserap oleh saluran pencernaan. Kedua mekanisme tersebut berkontribusi pada penurunan total kolesterol darah (Aher *et al.*, 2016; Venkata *et al.*, 2017)

Tumbuhan *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum* memiliki kemampuan untuk saling melengkapi agar dapat menurunkan total kolesterol plasma darah. Oleh karena itu, tumbuhan tersebut dikombinasikan untuk mengetahui potensinya terhadap total kolesterol darah. Hasil perlakuan kombinasi (P3) dengan nilai 106,78 mg/dl dibandingkan dengan K- dan N menunjukkan hasil berbeda nyata. Sedangkan jika dibandingkan dengan P2 dan P1 tidak berbeda nyata. Hasil tersebut menunjukkan bahwa perlakuan P3 memiliki kemampuan yang mirip dan cukup baik dibandingkan dengan P2 dan P1 dalam menurunkan total kolesterol darah meskipun belum menyerupai hasil dari perlakuan N. Apabila TQ dikombinasikan dengan senyawa bioaktif lainnya seperti sterol dan flavonoid ternyata menghasilkan regulasi sintesis kolesterol yang lebih baik dibandingkan senyawa tunggal dengan cara menghambat ekspresi gen HMG-KoA reduktase, meningkatkan penyerapan LDL dari peredaran darah, menstimulasi sekresi asam empedu, serta mencegah peroksidasi lipid (Hallajzadeh *et al.*, 2020).

Hasil uji efek pemberian dosis jintan hitam dan fenugreek terhadap total kolesterol pada hewan mencit yang diinduksi STZ menunjukkan hasil berpengaruh sehingga dapat menurunkan total kolesterol dibandingkan kontrol negatif. Selanjutnya dapat dilakukan uji *in silico* untuk mengetahui senyawa aktif jintan hitam dan fenugreek apakah yang berperan dalam menurunkan total kolesterol. Tingginya total kolesterol darah pada penderita diabetes juga dikarenakan peningkatan aktivitas enzim HMG-KoA reduktase sebagai jalur biosintesis utama kolesterol. Oleh karena itu melalui proses tersebut melihat apakah hasil *in silico* konsisten dengan hasil *in vivo* (Devi *et al.*, 2018).

Hasil kelompok perlakuan K<sup>+</sup> dengan nilai 120,6 mg/dl memiliki hasil tidak berbeda nyata dengan semua perlakuan kecuali perlakuan N. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa dosis metformin sebagai obat kontrol juga mampu menurunkan total kolesterol darah tetapi tidak sebagus perlakuan P1, P2, dan P3. Metformin menurut van Stee *et al* (2018) biasanya digunakan sebagai pengobatan lini pertama penderita diabetes mellitus tipe 2 karena efek utamanya untuk mengendalikan metabolisme glukosa yang terganggu. Metformin dalam pengobatan antikolesterol mampu menghambat HMGCR makrofag, meskipun menggunakan dosis yang relatif tinggi. Target organ utama dari metformin ialah HMGCR di usus daripada HMGCR hati. Sehingga diperlukan kombinasi antara obat metformin dengan obat lain agar dapat menurunkan total kolesterol darah secara optimal.

#### **4.2 Analisis Senyawa Aktif pada Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Klabet (*Trigonella foenum*) Untuk Penghambatan Enzim HMG-KoA Reduktase Secara In Silico**

Analisis uji *in silico* yang dilakukan melalui empat metode yaitu uji HIA, *drug-likeness*, prediksi PASS, dan penambatan molekuler (*molecular docking*). Metode-metode tersebut bertujuan untuk mengetahui potensi dari setiap senyawa-senyawa aktif yang dimiliki oleh tumbuhan jintan hitam (*Nigella sativa*) dan klabet (*Trigonella foenum*) sebagai obat herbal antikolesterol dengan cara menghambat kerja enzim HMG-KoA reduktase. Uji HIA merupakan uji untuk mengetahui kemampuan senyawa aktif dalam menyerap usus manusia. Informasi tersebut penting dalam penemuan dan pengembangan kandidat obat karena

pemberiannya dilakukan secara oral. Manfaat analisis ini dapat membantu mengidentifikasi kandidat obat, yang kemungkinan besar akan diserap dengan baik dari saluran usus manusia (Antunes *et al.*, 2012).

Uji *drug-likeness* (kemiripan obat) dibuat berdasarkan struktur kimia dan sifat fisikokimia yaitu sifat lipofilisitas, kelarutan, permeabilitas, stabilitas metabolik, dan afinitas. Hal-hal yang perlu diperhatikan dari analisis ini ialah penyerapan usus manusia (HIA), permeabilitas sawar darah-otak (BBB), penghambat enzim sitokrom P450 (CYP), aktivitas sebagai substrat atau penghambat P-gp, potensi obat hepatotoksik, kardiotoxsisitas, dan sitotoksitas. Aturan-aturan tersebut menunjukkan bahwa senyawa yang termasuk dalam kategori tertentu adalah *drug-likeness* (Jia *et al.*, 2020).

Server web yang digunakan untuk uji selanjutnya ialah PASS 2.0 online (*Prediction of Activity Spectra for Substances*). PASS 2.0 menurut Basha *et al* (2018) dapat memperkirakan aktivitas senyawa biologis. Hasil penilaian senyawa aktif terhadap aktivitas enzim HMG-KoA reduktase dapat menggunakan kriteria nilai  $p_a$  (*probability activity*) dan  $p_i$  (*probability inhibition*). Apabila kriteria nilai  $P_a > P_i$  artinya memiliki aktivitas senyawa yang baik,  $P_a > 0,7$  artinya aktivitas senyawa baik dan dipastikan memiliki hasil yang baik apabila dilakukan uji *in vitro*,  $0,3 < P_a < 0,7$  artinya aktivitas senyawa baik tetapi perlu dipastikan lewat uji *in vitro*, dan  $P_a < 0,3$  aktivitas senyawa kurang baik dan dipastikan perlu penelitian *in vitro* lebih banyak lagi (Pramely & Raj, 2012).

Terakhir, metode penambatan molekuler bertujuan untuk memastikan kembali aktivitas biologi senyawa tersebut dalam menghambat HMG-KoA

reduktase dengan memprediksi ikatan ligan dalam *binding site* reseptor yang sesuai. Apabila semakin rendah ikatan afinitasnya maka semakin bagus pula ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor yang ada (Ferreira *et al.*, 2015). Selanjutnya hasil docking dilakukan visualisasi 2D dan 3D untuk mengetahui residu-residu asam amino ligan yang berikatan dengan reseptor enzim HMG-KoA reduktase.

#### 4.2.1 Prediksi Uji HIA (*Human Intestinal Absorption*)

Uji HIA merupakan uji untuk mengetahui kemampuan senyawa aktif dalam menyerap usus manusia. Server web yang digunakan untuk uji HIA ialah admetSAR. admetSAR telah berkembang sebagai sumber informasi komprehensif dan gratis untuk memprediksi sifat kimia ADMET (penyerapan, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas kimia) dalam penemuan dan pengembangan obat (Yang *et al.*, 2019). Dosis pemberian oral menurut Singh (2016) membutuhkan sifat senyawa aktif dengan kemampuan stabil di saluran gastrointestinal, tahan dengan lingkungan asam lambung dengan pH 1-2 (keadaan puasa), pH 3-7 (keadaan makan), dan dekat dengan pH 4,4-6,6 (lingkungan netral) pada usus kecil.

Hasil analisis uji HIA dibagi menjadi tiga kategori yaitu HIA<sup>+</sup> (HIA>0.7%) penyerapan baik, HIA<sup>±</sup> (0.3%<HIA<0.7%) penyerapan sedang, dan HIA<sup>-</sup> (HIA<0.3%) penyerapan buruk. Semua senyawa aktif yang diujikan menunjukkan prediksi penyerapan usus manusia yang baik yaitu HIA>0.7% (Radchenko *et al.*, 2016). Senyawa aktif *thymohydroquinone* (jintan hitam) dan senyawa naringenin (klabet) memiliki hasil prediksi uji HIA tertinggi dengan hasil 0,9962 dan 0,993

melebihi nilai obat kontrol simvastatin yaitu 0,9767. Hasil analisis uji HIA Tabel 4.2 menunjukkan beberapa senyawa aktif yang memiliki kemampuan penyerapan kandidat obat terhadap usus.

**Tabel 4.2 Hasil Uji HIA**

| No                              | Senyawa             | Value | Probability |
|---------------------------------|---------------------|-------|-------------|
| <b>Kontrol</b>                  |                     |       |             |
| 1                               | Simvastatin         | +     | 0,9767      |
| <b><i>Nigella sativa</i></b>    |                     |       |             |
| 2                               | Thymoquinone        | +     | 0,9940      |
| 3                               | Thymohydroquinone   | +     | 0,9962      |
| 4                               | Dithymoquinone      | +     | 0,995       |
| 5                               | 4-Terpineol         | +     | 0,969       |
| 6                               | Carvacrol           | +     | 0,990       |
| 7                               | Carvone             | +     | 0,995       |
| 8                               | Thymol              | +     | 0,990       |
| 9                               | Limonene            | +     | 0,969       |
| <b><i>Trigonella foenum</i></b> |                     |       |             |
| 10                              | 4-Hydroxyisoleucine | +     | 0,8605      |
| 11                              | Quercetin           | +     | 0,988       |
| 12                              | Luteolin            | +     | 0,988       |
| 13                              | Vitexin             | +     | 0,898       |
| 14                              | Diosgenin           | +     | 0,9482      |
| 15                              | Kaempferol          | +     | 0,988       |
| 16                              | Tricin              | +     | 0,988       |
| 17                              | Naringenin          | +     | 0,993       |
| 18                              | Quercitrin          | +     | 0,7952      |
| 19                              | Afroside            | +     | 0,943       |
| 20                              | Isovitexin          | +     | 0,898       |
| 21                              | Trigonelline        | +     | 0,965       |

Jalur pemberian obat yang paling nyaman dan aman ialah melalui oral. Adanya enzim proteolitik di saluran pencernaan membuat mukosa usus menjadi penghalang utama penyerapan obat ke dalam sirkulasi sistemik. Secara biologis, obat dapat melewati dinding usus melalui jalur transeluler dan paraseluler. Jalur transeluler melibatkan penyerapan obat melalui sel, sedangkan jalur paraseluler mengacu pada penyerapan obat antara sel-sel yang berdekatan. Mekanisme absorpsi atau transpor obat bergantung pada karakteristik fisikokimianya serta karakteristik membran biologisnya. Obat dengan sifat lipofilik melintasi membran biologis melalui jalur transelular sedangkan obat hidrofilik cenderung melewati membran secara paraseluler. Faktor fisiologis seperti pengosongan lambung, pergerakan gastrointestinal, pH usus, aliran darah, aliran getah bening, keadaan patologis, interaksi obat, nutrisi, dan disolusi mukus, hal tersebut juga perlu dipertimbangkan saat mengevaluasi penyerapan (Antunes *et al.*, 2012). Semua senyawa memiliki efek yang bagus dalam penyerapan usus, maka diperlukan uji selanjutnya untuk mengetahui senyawa-senyawa yang memiliki kemiripan dengan obat asli (*drug-likeness*).

#### **4.2.2 Prediksi Uji *Drug-Likeness* dengan Aturan *Lipinski Rule of Five***

Semua penemuan dan pengembangan obat dirancang agar dapat diberikan secara oral dengan cara bahan kimia memiliki aktivitas biologis sehingga dapat lulus uji *drug-likeness* kemiripan obat. *Lipinski Rule of Five* memberikan aturan bahwa senyawa seperti obat harus memiliki berat molekul  $<500$  g/mol,  $\log p < 5$  mewakili hidrofobisitasnya, donor ikatan hidrogen tidak lebih dari 5, situs akseptor ikatan hidrogen tidak lebih dari 10, dan refraksi molar (40-130). Apabila

senyawa memenuhi kelima aturan tersebut, maka berpotensi baik terhadap sifat farmakokinetik dan bioavailabilitas dalam proses metabolisme tubuh (Chen *et al.*, 2020). Hasil uji *Lipinski rule of five* tabel 4.3 menunjukkan beberapa senyawa yang memiliki kemampuan absorpsi dan permeabilitas sebagai kandidat mirip obat, namun adapula senyawa aktif yang tidak mempunyai kemampuan tersebut.

**Tabel 4.3 Hasil Uji *Lipinski Rule of Five***

| No                              | Senyawa             | Berat Molekul (Da) | H Donor | H Akseptor | Log p    | Refraksi Molar |
|---------------------------------|---------------------|--------------------|---------|------------|----------|----------------|
| <b>Kontrol</b>                  |                     |                    |         |            |          |                |
| 1                               | Simvastatin         | 418                | 1       | 5          | 4,58559  | 115,45475      |
| <b><i>Nigella sativa</i></b>    |                     |                    |         |            |          |                |
| 2                               | Thymoquinone        | 164                | 0       | 2          | 1,97780  | 46,87199       |
| 3                               | Thymohydroquinone   | 166                | 2       | 2          | 1,86180  | 49,37059       |
| 4                               | Dithymoquinone      | 328                | 0       | 4          | 3,91359  | 93,96398       |
| 5                               | 4- Terpeneol        | 154                | 1       | 1          | 2,59060  | 53,04978       |
| 6                               | Carvacrol           | 150                | 1       | 1          | 2,16160  | 48,49179       |
| 7                               | Carvone             | 150                | 0       | 1          | 2,18871  | 47,65449       |
| 8                               | Thymol              | 150                | 1       | 1          | 2,16160  | 48,49179       |
| 9                               | Limonene            | 136                | 0       | 0          | 2,53251  | 49,19199       |
| <b><i>Trigonella foenum</i></b> |                     |                    |         |            |          |                |
| 10                              | 4-Hydroxyisoleucine | 147                | 3       | 3          | 0,89494  | 38,12279       |
| 11                              | Quercetin           | 302                | 5       | 7          | 0,52426  | 64,36999       |
| 12                              | Luteolin            | 286                | 4       | 6          | 0,83456  | 63,43619       |
| 13                              | Vitexin*            | 432                | 7*      | 10         | 1,46060  | 97,17208       |
| 14                              | Diosgenin*          | 414                | 1       | 3          | 6,24644* | 135,629*       |
| 15                              | Kaempferol          | 286                | 4       | 6          | 0,64607  | 62,82419       |
| 16                              | Tricin              | 330                | 3       | 7          | 1,58536  | 73,54239       |
| 17                              | Naringenin          | 272                | 3       | 5          | 1,17087  | 64,16939       |
| 18                              | Quercitrin*         | 448                | 7*      | 11*        | 1,33130  | 97,91358       |
| 19                              | Afroside*           | 534*               | 2       | 9          | 5,18316* | 143,6820*      |
| 20                              | Isovitexin*         | 432                | 7*      | 10         | 1,63110  | 97,03478       |
| 21                              | Trigonelline        | 137                | 0       | 2          | 0,55085  | 32,38900*      |

Keterangan: \* (tidak memenuhi)

Semua senyawa aktif yang diujikan memiliki berat molekul <500 mg kecuali senyawa afroside dari klabet dengan berat molekul 534. Semakin besar ukuran molekul yang dimiliki akan menghambat difusi pasif melalui membran

lipid bilayer yang padat sehingga tidak dapat menyerap konsentrasi senyawa pada permukaan epitel usus. Aturan selanjutnya yaitu donor ikatan hidrogen tidak boleh melebihi 5 dan akseptor ikatan hidrogen tidak lebih dari 10, salah satu senyawa yang tidak memenuhi aturan tersebut ialah *vitexin*, *quercitrin*, *isovitexin* dengan 7 donor ikatan hidrogen dan *quercitrin* dengan 11 akseptor ikatan hidrogen. Tujuan adanya ikatan hidrogen dapat meningkatkan kelarutan dalam air dan dipecah agar dapat masuk ke dalam membran lipid bilayer. Oleh karena itu, meningkatnya jumlah ikatan hidrogen dapat mengurangi difusi pasif melalui membran bilayer (Di & Kerns, 2016).

Aturan *Lipinski rule of five* yang harus dipenuhi oleh kandidat obat yaitu  $\log p < 5$ . Senyawa yang tidak memenuhi aturan ini ialah diosgenin dan afroside dengan nilai secara berurutan 6.246442 dan 5.183160. Tingginya nilai  $\log P$  dapat meningkatkan pengikatan protein target tetapi juga mengurangi kelarutan dan stabilitas metabolisme.  $\log P$  menurut Kujawski *et al.*, (2012) merupakan parameter utama untuk mengetahui lipofilisitas (hubungan antarmolekul antara zat organik dan pelarut) dan sifat farmakokinetiknya. Lipofilisitas adalah penentu fisikokimia utama yang mempengaruhi bioavailabilitas, permeabilitas, dan toksisitas obat. Koefisien distribusi adalah ukuran seberapa hidrofilik atau hidrofobik suatu zat kimia dalam distribusi obat pada organisme. Obat hidrofobik dengan koefisien distribusi tinggi biasanya didistribusikan ke sel lipid bilayer, sedangkan obat hidrofilik (koefisien distribusi rendah) biasanya disebar ke serum darah (Di & Kerns, 2016).

Syarat terakhir untuk melengkapi uji *Lipinski rule of five* yaitu nilai refraksi molar antara 40-130. Senyawa yang tidak memenuhi syarat tersebut yaitu 4-*hydroxyisoleucine*, diosgenin, afroside, dan *trigonelline* artinya senyawa tidak permeabel untuk membran tertentu dan kurang bertahan di tengah interaksi pelarut yang lemah atau kuat. Refraksi molar adalah parameter sifat sterik yang bergantung pada susunan ruang cincin aromatik dalam senyawa. Penataan ruang pada senyawa penting untuk mempelajari interaksi ligan dengan reseptor. Refraksi molar tidak hanya berhubungan dengan volume molekul tetapi juga dengan gaya tarik menarik antara atom dan molekul dalam interaksi ligan-reseptor. Lipofilisitas molekuler dan refraksi molar adalah hal penting yang sangat mempengaruhi pengikatan reseptor, serapan seluler, dan bioavailabilitas (Khan *et al.*, 2018). Senyawa aktif yang memenuhi syarat uji *Lipinski rule of five* selanjutnya dilakukan uji PASS untuk mengetahui potensi setiap senyawa dalam menghambat HMG-KoA reduktase.

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

Server web yang digunakan untuk uji selanjutnya ialah PASS 2.0 online (*Prediction of Activity Spectra for Substances*). PASS 2.0 menurut Basha *et al* (2018) dapat memperkirakan aktivitas senyawa biologis. Hasil penilaian senyawa aktif terhadap aktivitas enzim HMG-KoA reduktase dapat menggunakan kriteria nilai pa (*probability activity*) dan pi (*probability inhibition*). Apabila kriteria nilai  $Pa > Pi$  artinya memiliki aktivitas senyawa yang baik,  $Pa > 0,7$  artinya aktivitas senyawa baik dan dipastikan memiliki hasil yang baik apabila dilakukan uji in vitro,  $0,3 < Pa < 0,7$  artinya aktivitas senyawa baik tetapi perlu dipastikan lewat uji

in vitro, dan  $P_a < 0,3$  aktivitas senyawa kurang baik dan dipastikan perlu penelitian in vitro lebih banyak lagi (Pramely & Raj, 2012).

**Tabel 4.4 Hasil Prediksi PASS**

| No                | Senyawa             | Cholesterol synthesis inhibitor |       | HMG CoA reductase inhibitor |       |
|-------------------|---------------------|---------------------------------|-------|-----------------------------|-------|
|                   |                     | Pa                              | Pi    | Pa                          | Pi    |
| Kontrol           |                     |                                 |       |                             |       |
| 1                 | Simvastatin         | 0,799                           | 0,000 | 0,885                       | 0,001 |
| Nigella sativa    |                     |                                 |       |                             |       |
| 2                 | Thymoquinone        | 0,249                           | 0,034 | 0,065                       | 0,006 |
| 3                 | Thymohydroquinone   | 0,319                           | 0,019 | 0,061                       | 0,007 |
| 4                 | Dithymoquinone      | 0,240                           | 0,036 | 0,045                       | 0,021 |
| 5                 | 4-terpineol         | 0,278                           | 0,026 | -                           | -     |
| 6                 | Carvacrol           | 0,313                           | 0,020 | 0,052                       | 0,013 |
| 7                 | Carvone             | 0,147                           | 0,071 | -                           | -     |
| 8                 | Thymol              | 0,337                           | 0,017 | 0,055                       | 0,010 |
| 9                 | Limonene            | 0,176                           | 0,057 | -                           | -     |
| Trigonella foenum |                     |                                 |       |                             |       |
| 10                | 4-hydroxyisoleucine | 0,150                           | 0,069 | 0,049                       | 0,015 |
| 11                | Quercetin           | 0,252                           | 0,033 | -                           | -     |
| 12                | Luteolin            | 0,303                           | 0,021 | -                           | -     |
| 15                | Kaempferol          | 0,236                           | 0,037 | -                           | -     |
| 16                | Tricin              | 0,260                           | 0,031 | -                           | -     |
| 17                | Naringenin          | 0,472                           | 0,005 | 0.467                       | -     |
| 21                | Trigonelline        | 0,112                           | 0,095 | 0.017                       | -     |

Hasil uji prediksi PASS dari senyawa aktif terhadap enzim HMG KoA reduktase ditampilkan pada tabel 4.4. Uji prediksi tersebut menggunakan dua aktivitas biologis sebagai acuan yaitu menghambat sintesis kolesterol dan menghambat enzim HMG-KoA reduktase. Kontrol yang digunakan pada uji *in*

*silico* yaitu simvastatin karena merupakan obat antikolesterol terkenal dan sudah beredar di kalangan masyarakat umum. Menurut Cagaman *et al* (2018) simvastatin menargetkan sel hepatosit dan menghambat enzim HMG-KoA reduktase dengan mengubah HMG-KoA menjadi asam mevalonat prekursor kolesterol. Kemudian simvastatin mengikat situs aktif sehingga mengubah konformasi enzim dan mencegah HMG-KoA untuk aktif. Ketika enzim tersebut dihambat akan menyebabkan penurunan kadar kolesterol. Pernyataan tersebut terbukti dengan hasil prediksi simvastatin dengan nilai  $P_a > 0.7$  artinya simvastatin mempunyai aktivitas biologis dan uji lab eksperimental tinggi terhadap penghambatan HMG-KoA reduktase dan sintesis kolesterol.

Senyawa-senyawa aktif yang memiliki prediksi aktivitas biologis berdasarkan uji PASS terhadap penghambatan HMG-KoA reduktase yaitu senyawa dari *Nigella sativa* meliputi *thymoquinone*, *thymohydroquinone*, *dithymoquinone*, *carvacrol* dan *thymol* serta senyawa dari *Trigonella foenum* seperti 4-hydroxyisoleucine. Meskipun seluruh nilai prediksi PASS senyawa aktif tersebut  $P_a < 0,3$  artinya aktivitas biologis masih rendah namun nilai  $P_a > P_i$  yang berarti senyawa aktif tersebut masih memiliki potensi untuk menghambat HMG-KoA reduktase. *Nigella sativa* menurut Farkhondeh *et al.*, (2017) mengandung senyawa utama yaitu timokuinon (30-48%), ditimokuinon, dan timohidrokuinon. Senyawa aktif tersebut memiliki kemampuan untuk mencegah gangguan kardiovaskular melalui peningkatan aktivitas *arylesterase* serta penurunan aktivitas HMG-KoA reduktase. Sedangkan senyawa *carvacrol* (6-12%) dan *thymol* termasuk golongan fenol monoterpenoid. Ressaissi *et al.*, (2017)

menyatakan bahwa senyawa golongan fenolik mempunyai kemampuan untuk mencegah penyakit kardiovaskular melalui penurunan kadar kolesterol. Senyawa tersebut bekerja dengan cara menghambat enzim HMG-KoA reduktase dan mempengaruhi sintesis isoprenoid nonsteroid. Tiga senyawa bioaktif utama klabet menurut Fuller & Stephens (2015) ialah diosgenin, *4-hydroxyisoleucine*, dan jenis serat makanan larut. Pengaruh *4-hydroxyisoleucine* dan serat larut yang diisolasi pada sindrom metabolik dapat menurunkan aktivitas HMG-KoA reduktase.

Prediksi aktivitas biologis selanjutnya yang juga diujikan ialah kemampuan senyawa dalam menghambat sintesis kolesterol. Berdasarkan hasil prediksi PASS, diketahui bahwa semua senyawa aktif yang dimiliki *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum* dengan nilai  $P_a > P_i$  artinya senyawa tersebut memiliki potensi yang baik sebagai obat antikolesterol. Senyawa aktif jintan hitam seperti *4-terpineol*, *carvone*, dan *limonene* serta senyawa aktif klabet meliputi *quercetin*, luteolin, kaempferol, tricetin, naringenin, dan *trigonelline*. Senyawa tersebut diketahui tidak mempunyai aktivitas untuk menghambat HMG-KoA reduktase namun memiliki potensi untuk menghambat sintesis kolesterol.

*4-terpineol*, *limonene*, dan *carvone* dari jintan hitam merupakan kelompok senyawa monoterpen. Kelompok senyawa tersebut menurut Vallianou & Hadzopoulou-Cladaras (2016) menyatakan bahwa senyawa monoterpen dapat menurunkan total kolesterol serum dan kolesterol ester serta tidak memiliki efek toksisitas pada sel hati. Mekanisme antikolesterol yang dimiliki tidak tergantung pada aktivitas HMG-KoA reduktase, namun melalui protein SREBP-1 (*sterol regulatory element binding protein*) dengan mempengaruhi kadar gen MTP

(*microsomal triglyceride transfer protein*) sebagai respons terhadap penurunan kolesterol intraseluler.

Mayoritas senyawa aktif klabet termasuk golongan flavonoid seperti *quercetin*, luteolin, kaempferol, tricin, dan naringenin. Senyawa flavonoid menurut Sikder *et al.*, (2014) merupakan antioksidan kuat sehingga dapat dengan bebas menyumbangkan elektron atau hidrogen untuk menetralkan ROS. Potensi antioksidan yang tinggi dari flavonoid ini dapat menghambat penyerapan kolesterol dari usus, sehingga menurunkan kadar total kolesterol dan lipid di hati. Trigonelin adalah salah satu alkaloid yang memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar insulin, serum TNF $\alpha$ , dan kadar lipid hati (kolesterol total, trigliserida, dan asam lemak bebas) (Yoshinari *et al.*, 2013). Setelah memprediksi potensi senyawa aktif di atas sebagai penghambat sintesis kolesterol dan enzim HMG-KoA reduktase, berikutnya dilakukan penambatan molekuler untuk mengetahui ikatan antara ligan dan reseptor dalam menghambat enzim HMG-KoA reduktase berdasarkan uji-uji sebelumnya.

#### **4.2.4 Prediksi Senyawa Aktif *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum* dalam Menghambat Enzim HMG-KoA Reduktase dengan Penambatan Molekuler (*Molecular Docking*)**

Tahapan penelitian *in silico* selanjutnya setelah melakukan uji HIA, *Lipinski rule of five*, dan PASS ialah penambatan molekuler dengan *AutoDock Vina* di software PyRx. *Docking molekuler* menurut Ferreira *et al.*, (2015) adalah salah satu metode yang paling sering digunakan karena kemampuannya untuk memprediksi ikatan ligan dalam *binding site* reseptor yang sesuai. Prinsip dari

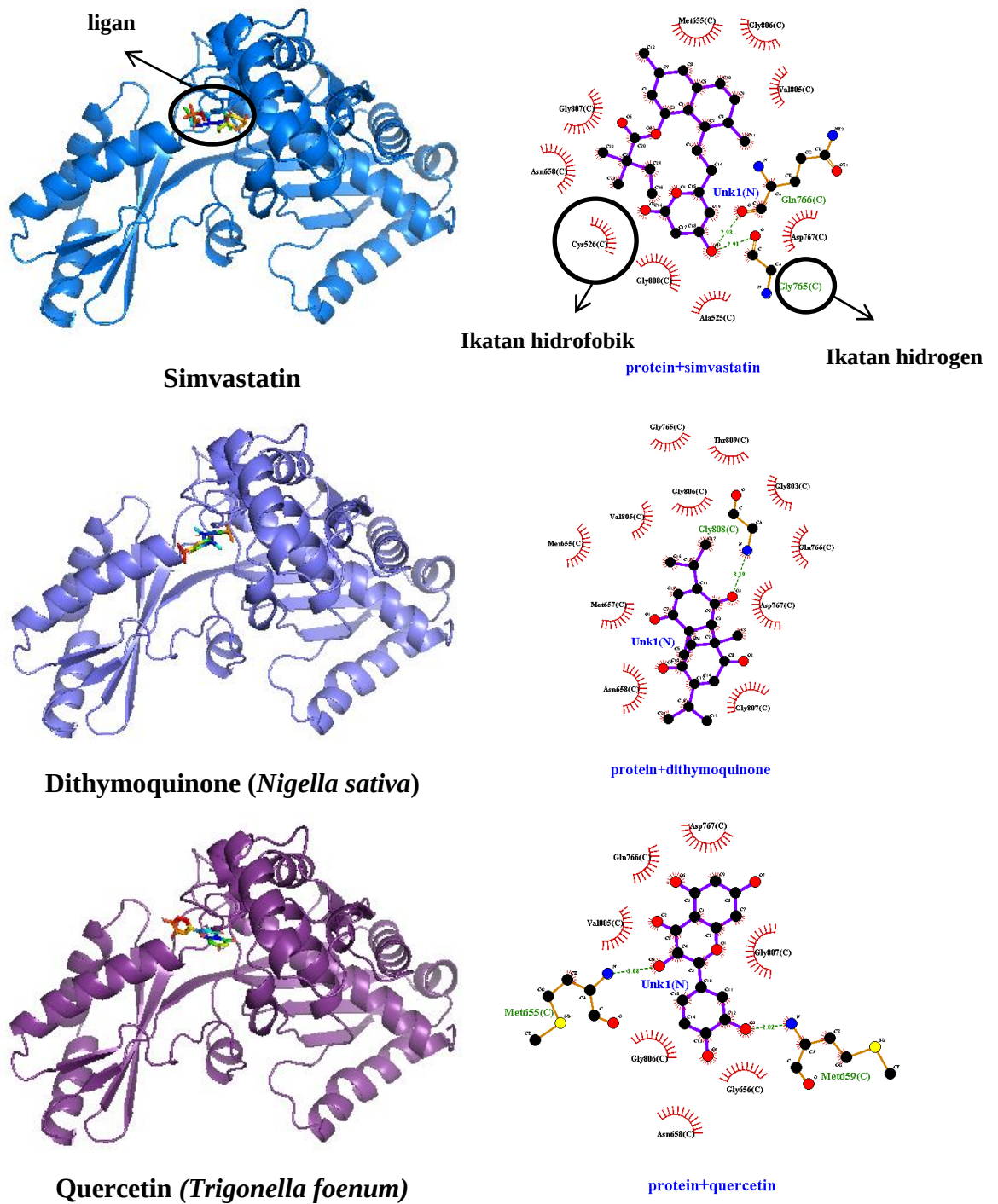
*molekuler docking* ialah memilih prediksi pengikatan antarmolekul dan memberikan peringkat senyawa berdasarkan nilai ikatan afinitas ligan-reseptor. Program docking molekuler mengevaluasi konformasi ligan berdasarkan fungsi penilaian tertentu dan dilakukan berulang-ulang sampai mendapatkan energi paling kecil. Enzim HMG-KoA reduktase (1HW9) dipilih sebagai reseptor yang digunakan karena memiliki resolusi 2.33 Å berarti resolusi tinggi (>1) dan hasil yang didapatkan sangat teratur dan mudah untuk melihat setiap atom dalam peta kerapatan elektron sedangkan struktur resolusi lebih rendah (>3) hanya menunjukkan bentuk dasar rantai protein, dan struktur atom harus disimpulkan.

**Tabel 4.2 Residu asam amino ligan dan reseptor**

| Senyawa                         | Ikatan Afinitas (kcal/mol) | Ikatan Hidrogen                       | Ikatan Hidrofobik                                     |
|---------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| <b>Kontrol</b>                  |                            |                                       |                                                       |
| Simvastatin                     | -6.6                       | Gly808, Gly765, Gln766                | Ala654, Met655                                        |
| <b><i>Nigella sativa</i></b>    |                            |                                       |                                                       |
| Thymoquinone                    | -5.1                       | Asn658                                | Gly806, Gly807, <b>Met655</b>                         |
| Thymohydroquinone               | -5.2                       | <b>Met655</b>                         | Gly806, Gly807, <b>Met655</b>                         |
| Dithymoquinone                  | -5.8                       | Asn658, <b>Gly808</b>                 | <b>Met655</b>                                         |
| 4-terpineol                     | -4.8                       | <b>Gly765</b>                         | <b>Met655</b>                                         |
| Carvacrol                       | -4.9                       | <b>Met655</b> , Gly 807               | Gly806, <b>Met655</b>                                 |
| Carvone                         | -5                         | Asn658                                | <b>Ala654</b> , <b>Met655</b> , Met 659               |
| Thymol                          | -5                         | -                                     | Gly806, Gly807, <b>Met655</b>                         |
| Limonene                        | -4.4                       | -                                     | <b>Ala654</b> , <b>Met655</b> , Met659                |
| <b><i>Trigonella foenum</i></b> |                            |                                       |                                                       |
| 4-hydroxyisoleucine             | -4.8                       | <b>Met655</b> , Gly656, Gly806        | <b>Met655</b>                                         |
| Quercetin                       | -7.1                       | <b>Gly765</b> , Asn658                | Asn658, Gly806, Gly807, <b>Met655</b> , <b>Ala654</b> |
| Luteolin                        | -7.2                       | Asn658, Gly807                        | <b>Met655</b>                                         |
| Kaempferol                      | -7                         | Asn658                                | Asn658, Gly806, Gly807, <b>Met655</b> , <b>Ala654</b> |
| Tricin                          | -6.9                       | Asp767, <b>Gly808</b>                 | <b>Met655</b> , Gly807                                |
| Naringenin                      | -6.8                       | <b>Gly765</b> , Asn658                | <b>Met655</b> , Asn658, Gly807, Gly806, <b>Ala654</b> |
| Trigonelline                    | -5                         | <b>Met655</b> , Gly656, <b>Gly765</b> | <b>Met655</b>                                         |

Keterangan: kata tebal menandakan kemiripan residu asam amino ligan dengan dengan obat kontrol terhadap penghambatan HMG-KoA reduktase

Berdasarkan tabel 4.2 di atas, menunjukkan bahwa senyawa dengan ikatan afinitas terendah terbaik yaitu *dithymoquinone* (-5.8) dari *Nigella sativa* dan *quercetin* (-7.1) dari *Trigonella foenum*. Nilai ikatan afinitas *dithymoquinone* hampir mendekati nilai obat kontrol (-6.6) artinya senyawa tersebut mempunyai aktifitas yang mirip dengan simvastatin untuk menghambat HMG-KoA reduktase. Senyawa *quercetin* justru memiliki ikatan afinitas yang lebih rendah dibandingkan simvastatin, hal tersebut menunjukkan bahwa *quercetin* memiliki potensi yang lebih baik sebagai antikolesterol dibandingkan senyawa lain dalam menghambat enzim HMG-KoA reduktase. Apabila nilai energi bebas Gibbs  $<0$  berarti ikatan tersebut terjadi secara spontan. Semakin rendah nilai ikatan energinya menunjukkan semakin baik interaksi antara ligan dan reseptor. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Chaudhary & Mishra (2016) bahwa rendahnya ikatan energi dapat mentargetkan ikatan antara reseptor dan ligan dengan lebih efektif. Tujuan nilai ikatan afinitas senyawa yang diuji untuk menentukan posisi ligan yang lebih cocok dengan reseptor HMG-KoA reduktase dibandingkan dengan ligan lainnya.



**Gambar 4.1 Visualisasi 2D dan 3D Molecular Docking**  
Sumber : Dokumentasi Pribadi (2021)

Senyawa-senyawa *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum* setelah dilakukan penambatan molekular, tahapan selanjutnya ialah visualisasi 2D dan 3D untuk

mengetahui residu-residu asam amino ligan yang berikatan dengan reseptor enzim HMG-KoA reduktase. Interaksi antara molekul obat kecil dan makromolekul biologis didukung oleh satu atau lebih ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, gaya van der Waals, dan interaksi elektrostatis. Simvastatin berdasarkan gambar 4.2 membentuk ikatan hidrogen dengan residu Gly808, Gly765, dan Gln766. Obat tersebut juga membentuk ikatan hidrofobik dengan residu Ala654 dan Met655 terletak di daerah *binding site* pada visualisasi 3D yang mengungkapkan efek penghambatan enzim HMG-KoA reduktase. Residu tersebut termasuk dari salah satu dari beberapa residu yang mengikat HMG-KoA reduktase menurut Xu *et al.*, (2016) seperti Tyr519, Ser520, Leu521, Val522, Met523, Gly524, Ala525, Cys527, Glu528, Asn529, Val530, Ile531, Gly532, Try533, Met588, Thy589, Arg590, Gly591, Asp653, Ala654, Met655, Gly656, Met657, Asn658, Met659, Ile660, Ser661, Lys662, Gly663, Thy664, Glu665, Cys688, The689, Asp690, Lys691, Lys692, Cys764, Gly765, Gln766, Asn771, Val772, Gly773, Ser774, Glu801, Ile802, Gly803, Thr804, Val805, Gly806, Gly807, Gly808, Thr809, dan Asn810 dimana ada 439 (450-888) asam amino dalam domain katalitik di terminal-C. Residu asam amino seperti Met 655, Asp767, dan Lys691 merupakan situs katalitik HMGCR yang akan memperkuat aktivitas penghambatan di situs aktif HMGCR (Chakraborty & Maneesh, 2020).

Hasil visualisasi 2D dan 3D dari hasil ikatan afinitas terendah terbaik sebelumnya ialah *dithymoquinone* dari *Nigella sativa* membentuk ikatan hidrogen dan hidrofobik dengan residu yang sama seperti simvastatin yaitu residu asam amino Gly808 dan Met655 sedangkan *quercetin* dari *Trigonella foenum* juga

membentuk ikatan hidrogen dan hidrofobik dengan residu yang sama yaitu Gly765, Met655, dan Ala 654. Berdasarkan hasil tersebut, ligan-ligan yang telah diuji dengan ikatan afinitas rendah serta residu asam amino yang setara dengan obat kontrol simvastatin menunjukkan bahwa senyawa ligan tersebut mengikat daerah *binding site* reseptor yang sama. Hasil penelitian Susilowati *et al.*, (2020) juga menunjukkan hasil yang serupa bahwa senyawa *quercetin* memiliki delapan ikatan hidrofobik dan hidrogen yang serupa dengan simvastatin dalam rantai siklik kuersetin A dan B dengan empat ikatan. Oleh karena itu, ligan-ligan tersebut berpotensi untuk menghambat prekursor sintesis kolesterol yaitu HMG-KoA reduktase untuk menurunkan total kolesterol darah.

Hasil dari penelitian tentang potensi antikolesterol dari tumbuhan jintan hitam (*Nigella sativa*) dan klabet (*Trigonella foenum*) yang dilakukan dapat menjadi wujud ikhtiar kepada Allah ﷻ untuk menolong sesama umat manusia sesuai yang tercantum dalam penggalan QS. Al-Ma'idah ayat 2 sebagai berikut:

... وَتَعَاوَنُوا عَلَى الْبِرِّ وَالتَّقْوَىٰ وَلَا تَعَاوَنُوا عَلَى الْإِثْمِ وَالْعُدْوَانِ وَاتَّقُوا اللَّهَ إِنَّ اللَّهَ شَدِيدُ الْعِقَابِ ﴿٢﴾

“... dan tolong-menolonglah kamu dalam (mengerjakan) kebajikan dan takwa, dan jangan tolong-menolong dalam berbuat dosa dan pelanggaran. dan bertakwalah kamu kepada Allah, Sesungguhnya Allah Amat berat siksa-Nya” (QS. Al-Ma'idah [5]: 2).

Kata kunci dari ayat tersebut ialah تَعَاوَنُ – تَعَاوَنُ yang secara bahasa berarti saling menolong, saling membantu, bekerjasama, dan tolong-menolong. Allah ﷻ menyuruh hamba-hambanya yang beriman untuk saling membantu dalam

melakukan kebaikan seperti menolong manusia dengan ilmunya dan menjauhi perbuatan dosa. Sesuai dengan pernyataan tafsir Al Qurthubi (2008) yang memberitahukan bahwa Allah ﷻ menganjurkan untuk saling tolong menolong dalam kebajikan dimana ketakwaan dari Allah ﷻ akan selalu mengiringi umatnya. Setiap ketakwaan ada ridha Allah ﷻ di dalamnya sedangkan kebajikan yang dilakukan ada ridhanya manusia. Apabila kedua hal tersebut disatukan, maka sempurna kebahagiaanya, luaslah nikmatnya, dan pahala besar yang didapatkan. Allah ﷻ juga melarang tolong menolong dalam berbuat dosa hingga merugikan orang lain.

## **BAB V PENUTUP**

### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan yang dapat diambil dari beberapa pembahasan yang telah dijabarkan pada bab-bab sebelumnya ialah sebagai berikut:

1. Pemberian perlakuan kombinasi ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dan biji klabet (*Trigonella foenum-graecum*) mampu mengurangi total kolesterol pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi *streptozotocin* dibandingkan kontrol negatif.
2. Senyawa aktif *dithymoquinone* dari jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan ikatan afinitas -5.8 dan *quercetin* dari klabet (*Trigonella foenum*) dengan ikatan afinitas -7.1 setelah melakukan *molecular docking* memiliki potensi untuk menghambat enzim HMG-KoA reduktase.

### **5.2 Saran**

Saran yang dapat dipetik dari penelitian yang telah dilakukan ialah:

1. Perlunya untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang dosis efektif dari kombinasi jintan hitam (*Nigella sativa*) dan klabet (*Trigonella foenum*) terhadap penurunan total kolesterol.
2. Sebelum melakukan uji *in silico*, alangkah baiknya untuk melakukan skrining fotokimia senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam jintan hitam (*Nigella sativa*) dan klabet (*Trigonella foenum*).

3. Perlunya mempelajari lebih lanjut tentang mekanisme menurunkan total kolesterol selain melalui penghambatan enzim HMG-KoA reduktase.
4. Perlu melakukan penelitian lanjutan in vitro yaitu mengisolasi senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam jintan hitam (*Nigella sativa*) dan klabet (*Trigonella foenum*) sebagai obat antikolesterol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbasnezhad, A., *et al.* (2019). *Nigella sativa* L. Seed Regulated eNOS, VCAM-1 and LOX-1 Genes Expression and Improved Vasoreactivity in Aorta of Diabetic Rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 228, 142–147.
- Abdelrazek, H. M. A., *et al.* (2018). Black Seed Thymoquinone Improved Insulin Secretion, Hepatic Glycogen Storage, and Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Male Wistar Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018.
- Aher, R. R., *et al.* (2016). Therapeutic Importance of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.): A Review. *Journal of Plant Science & Research*, 3(1), 1–4.
- Ahmad, A., *et al.* (2013). A Review on Therapeutic Potential of *Nigella sativa*: A Miracle Herb. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(5), 337–352.
- Aisa, H. A., *et al.* (2019). *Nigella sativa*: A Medicinal and Edible Plant That Ameliorates Diabetes. Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes (2nd ed., Issue January). Elsevier Inc: New York.
- al Cidadapi, I. E. (2016). *Ramuan Herbal ala Thibun Nabawi: "Mengupas pengobatan herbal di dalam Thibun Nabawi"* (Vol. 1). Bandung: Putra Ayu.
- Al-Logmani, A., & Zari, T. (2011). Long-Term Effects of *Nigella sativa* L. Oil on Some Physiological Parameters in Normal and Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal of Diabetes Mellitus*, 01(03), 46–53.
- Al-naggar, R. A., *et al.* (2017). Effect of *Nigella sativa* Supplementation on Human Lipids: Systematic Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(04), 213–219.
- Ali, I. (2003). *Khasiat & Manfaat Kitolod, Penakluk Gangguan pada Mata*. Jakarta: AgroMedia.
- Ansari, S., *et al.* (2021). *Trigonella foenum graecum* (Methi): An Important Botanical Drug of Unani System of Medicine for The Management of Gynecological Disorders. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 11(2-S), 167–174.

- Antunes, F., *et al.* (2012). Models to Predict Intestinal Absorption of Therapeutic Peptides and Proteins. *Current Drug Metabolism*, 14(1), 4–20.
- Ayu, G., dkk. (2017). Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia-Diabetes. *Farmakologika: Jurnal Farmasi*, 14(2), 112–118.
- Aziz, S., & Adliani, N. (2020). Penambatan Molekul Senyawa Turunan Orizanol Terhadap Enzim 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reduktase. *Journal of Science and Applicative Technology*, 4(1), 43–48.
- B. Fernandes, T., *et al.* (2016). Analysis of the Applicability and Use of Lipinski's Rule for Central Nervous System Drugs. *Letters in Drug Design & Discovery*, 13(10), 999–1006.
- Bafadam, S., *et al.* (2021). Cardioprotective Effects of Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum*) Seed Extract in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Tabriz University of Medical Sciences*, 13(1), 28–36.
- Bahmani, M., *et al.* (2016). A Review on Ethnobotanical and Therapeutic Uses of Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L). *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 21(1), 53–62.
- Bali, S., & Utaal, M. S. (2019). Serum Lipids and Lipoproteins: A Brief Review of The Composition, Transport and Physiological Functions. *International Journal of Scientific Reports*, 5(10), 309.
- Basha., *et al.* (2018). PASS: A Computerized Prediction of Biological Activity Spectra for Chemical Substances. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 8(6), 285–285.
- Biantong, D., & Soekersi, H. (2017). Biodistribution of Gadolinium-DOTA-PAMAM Dendrimer Generation 3.0-Trastuzumab in Mice Organs. *American Journal of Clinical Medicine Research*, 5(3), 36–38.
- Bowler, Mark. (2010, 16 Februari). *Albino White Mouse {Mus musculus}*. Diakses pada 20 Desember 2021, dari <https://www.naturepl.com/stock-photo-albino-white-mouse-mus-musculus-image01257536.html>
- Cagampan, D. M., *et al.* (2018). Effect of *Ehretia microphylla* on The Blood

- Cholesterol and Weight of ICR Mice (*Mus musculus*). *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 8(7).
- Canny, S. A., *et al.* (2012). PubChem promiscuity: A Web Resource for Gathering Compound Promiscuity Data From PubChem. *Bioinformatics*, 28(1), 140–141.
- Chakraborty, K., & Maneesh, A. (2020). Marine-Derived Polygalactofucan and Its B-2-Deoxy-Amino-Substituted Glucopyranan Composite Attenuate 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA Reductase: Prospective Natural Anti-Dyslipidemic Leads. *Medicinal Chemistry Research*, 29(2), 281–300.
- Chaudhary, K. K., & Mishra, N. (2016). A Review on Molecular Docking: Novel Tool for Drug Discovery. *JSM Chem*, 4(3), 1029.
- Chaudhary, S., *et al.* (2018). Review on Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) and Its Important Secondary Metabolite Diosgenin. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(1), 22–31.
- Chen, X., *et al.* (2020). Analysis of the Physicochemical Properties of Acaricides Based on Lipinski's Rule of Five. *Journal of Computational Biology*, 27(9), 1397–1406.
- Cheng, F., *et al.* (2012). AdmetSAR: A Comprehensive Source and Free Tool for Assessment of Chemical ADMET Properties. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 52(11), 3099–3105.
- Dash, P. R., & Mou, K. M. (2017). *A Comprehensive Review on Five Medicinal Plants of Bangladesh*. Hamburg: Anchor Academic.
- Devi, V. R., *et al.* (2018). Amelioration of Diabetic Dyslipidemia by GTF – 231 (Gymnemic acid, Trigonelline and Ferulic acid- 2:3:1), A Phytochemical Preparation Studied in High Fat Diet Fed-Low Dose STZ Induced Experimental Type 2 Diabetes in Rats. *Journal of Diabetes and Obesity*, 5(1), 1–9.
- Dewi, N. P., dkk. (2018). Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Ceremai Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Tikus Putih Jantan. *Farmakologika Jurnal Farmasi*, 15(2), 89–97.
- Di, L., & Kerns, E. H. (2016). *Drug-Like Properties: Concepts, Structure, Design*,

*and Methods from ADME to Toxicity Optimization*. Bethesda: Academic Press.

Dwianita, C., dkk. (2017). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak dan Streptozotocin. *Farmakologika Jurnal Farmasi*, 14(2), 83–90.

Ekinci, D. (2012). *Biochemistry*. London: InTech.

Fajrin, F. A., et al. (2017). Optimization of Mice Model of Painful Diabetic Neuropathy (PDN). *Journal of Medical Sciences*, 49(3), 97–105.

Fandinata, S. S., & Ernawati, I. (2020). *Management Terapi Pada Penyakit Degeneratif (Menenal, Mencegah, dan Mengatasi Penyakit Degeneratif Diabetes Mellitus dan Hipertensi*. Gresik: Penerbit Graniti.

Farkhondeh, T., et al. (2017). An Overview on Cardioprotective and Anti-Diabetic Effects of Thymoquinone. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(9), 849–854.

Ferreira, L. G., et al. (2015). Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules* 20(7), 13384-13421.

Fuller, S., & Stephens, J. M. (2015). Diosgenin, 4-Hydroxyisoleucine, and Fiber from Fenugreek: Mechanisms of actions and potential effects on Metabolic Syndrome. *Advances in Nutrition*, 6(2), 189–197.

Gesto, D. S., et al. (2020). An Atomic-Level Perspective of HMG-CoA-Reductase: The Target Enzyme to Treat Hypercholesterolemia. *Molecules*, 25(17).

Hallajzadeh, J., et al. (2020). Effects of *Nigella sativa* on Glycemic Control, Lipid Profiles, and Biomarkers of Inflammatory and Oxidative Stress: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Clinical Trials. *Phytotherapy Research*, 34(10), 2586–2608.

Hamdan, A., et al. (2020). Comment on: Effects of *Nigella sativa* on Type-2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(5).

- Hao, S., *et al.* (2015). Attenuation of Streptozotocin-Induced Lipid Profile Anomalies in the Heart, Brain, and mRNA Expression of HMG-CoA Reductase by Diosgenin in Rats. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 72(3), 741–749.
- Husna, F., dkk. (2019). Model Hewan Coba pada Penelitian Diabetes. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(3), 131–141.
- Hussain, D. A., & Hussain, M. M. (2016). *Nigella sativa* (Black Seed) Is An Effective Herbal Remedy for Every Disease Except Death – A Prophetic Statement Which Modern Scientists Confirm Unanimously: A Review. *Advancement in Medicinal Plant Research*, 2(4).
- Iskandar, R. I., dkk. (2017). Pengaruh Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Mencit Jantan (*Mus musculus*) Galur Swiss Webster. *Media Informasi*, 13(1), 102–107.
- Javed, A., *et al.* (2019). *Nigella sativa* a Potent Healer for Diabetic Wounds and Its Other Pharamcognosal Attributes. *Haya Saudi J Life Sci*, 4(4), 173-179.
- Jia, C. Y., *et al.* (2020). A Drug-Likeness Toolbox Facilitates ADMET Study in Drug Discovery. *Drug Discovery Today*, 25(1), 248–258.
- Jim, E. L. (2014). Metabolisme Lipoprotein. *Jurnal Biomedik (Jbm)*, 5(3).
- Karaçıl Ermumucu, M. Ş., & Şanlıer, N. (2017). Black Cumin (*Nigella sativa*) and Its Active Component of Thymoquinone: Effects on Health. *Journal of Food and Health Science*, 3(4), 170–183.
- Kaur, G., *et al.* (2018). A Nutraceutical Combination of *Cinnamomum cassia* & *Nigella sativa* for Type 1 Diabetes Mellitus. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 9(1), 27–37.
- Kazmi, A., *et al.* (2019). Biotechnological Approaches for Production of Bioactive Secondary Metabolites in *Nigella sativa*: An Up-To-Date Review. *International Journal of Secondary Metabolite*, 6(2), 172–195.
- Khan, Q. A., *et al.* (2015). Hulbah (*Trigonella foenum-Graecum*): A Review. *International Journal of Pharmacognosy*, 2(7), 315–319.
- Khan, T., *et al.* (2018). Computer-Aided Drug Design and virtual screening of Targeted Combinatorial Libraries of Mixed-Ligand Transition Metal

- Complexes of 2-Butanone Thiosemicarbazone. *Computational Biology and Chemistry*, 75, 178–195.
- Khorshidian, N., *et al.* (2016). Fenugreek: Potential Applications as A Functional Food and Nutraceutical. *Nutrition and Food Sciences Research*, 3(1), 5–16.
- Kooti, W., *et al.* (2016). Phytochemistry, Pharmacology, and Therapeutic Uses of Black Seed (*Nigella sativa*). *Chinese Journal of Natural Medicines*, 14(10), 732–745.
- Kottagi, S. S., *et al.* (2014). Evaluation of LDL-Cholesterol/HDL-Cholesterol Ratio as Predictor of Dyslipidemia in Subclinical Hypothyroidism. *Journal of Krishna Institute of Medical Sciences University*, 3(1), 34–40.
- Krisnatuti, D., dkk. (2014). *Diet Sehat untuk Penderita Diabetes Mellitus*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Kujawski, J., *et al.* (2012). The log P Parameter as a Molecular Descriptor in the Computer-aided Drug Design – an Overview. *Computational Methods in Science and Technology*, 18(2), 81–88.
- Laskowski, R. A., & Swindells, M. B. (2011). LigPlot+: Multiple Ligand-Protein Interaction Diagrams for Drug Discovery. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 51(10), 2778–2786.
- Marcedes, A. (2017). Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Daun Gedi Merah dan Daun Semak Bunga Putih Tikus Induksi Streptozotocin. *Farmakologika Jurnal Farmasi*, 14(2).
- Marwat, S. K., *et al.* (2009). Fruit Plant Species Mentioned in The Holy Qura'n and Ahadith and Their Ethnomedicinal Importance. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 5(2).
- Mathur, M. L., *et al.* (2011). Antidiabetic Properties of a Spice Plant *Nigella sativa*. *Journal of Endocrinology and Metabolism*, 1(1), 1–8.
- Meng, X.-Y., *et al.* (2011). Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(2).
- Mu'nisa, E. A., & Arsal, A. F. (2014). Pengaruh Pemberian Minyak Mandar yang Ditambahkan Bubuk Daun Sukun (*Arthocarpus altilis*) terhadap Kadar

- Kolesterol pada Mencit (*Mus musculus*). *Bionature*, 15(2), 90–96.
- Na'i, A., dkk. (2019). Uji Efek Kombinasi EEDS dan DPW terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Tikus Putih Jantan Hiperkolesterolemia-Diabetes. *Farmakologika Jurnal Farmasi*, 16(1), 1–12.
- Narayana, P. S., Varalakshmi, D., Pullaiah, T., & Rao, K. S. (2018). *Research methodology in Zoology*. India: Scientific Publishers.
- Nugroho, A. (2017). *Teknologi Bahan Alam*. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.
- Nurmaylinda, V., et al. (2020). Molecular Docking Analysis of *Leucaena leucocephala* and *Trigonella foenum-graecum* Chemical Constituents on Antidiabetic Macromolecular Targets and Prediction of The Pharmacokinetic Profiles. *AIP Conference Proceedings*, 2243.
- Parhofer, K. G. (2015). Interaction Between Glucose and Lipid Metabolism: More Than Diabetic Dyslipidemia. *Diabetes and Metabolism Journal*, 39(5), 353–362.
- Phifer-Rixey, M., & Nachman, M. W. (2015). The Natural History of Model Organisms: Insights into mammalian biology from the wild house mouse *Mus musculus*. *Elife*, 4, e05959.
- Pramely, R., & Raj, T. L. S. (2012). Prediction of biological activity spectra of A Few Phytoconstituents of *Azadirachta indica* A. Juss. *Journal of Biochemical Technology*, 3(4), 375–379.
- Radchenko, E. V., et al. (2016). Prediction of Human Intestinal Absorption of Drug Compounds. *Russian Chemical Bulletin*, 65(2), 576–580.
- Ramachandran, V., et al. (2014). Antidiabetic and Antihyperlipidemic Activity of Asiatic Acid in Diabetic Rats, Role of HMG CoA: In Vivo and In Silico Approaches. *Phytomedicine*, 21(3), 225–232.
- Ressaissi, A., et al. (2017). Isorhamnetin Derivatives and Piscidic Acid for Hypercholesterolemia: Cholesterol Permeability, HMG-CoA Reductase Inhibition, and Docking Studies. *Archives of Pharmacal Research*, 40(11), 1278–1286.
- Ridgway, N., & McLeod, R. (2008). *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and*

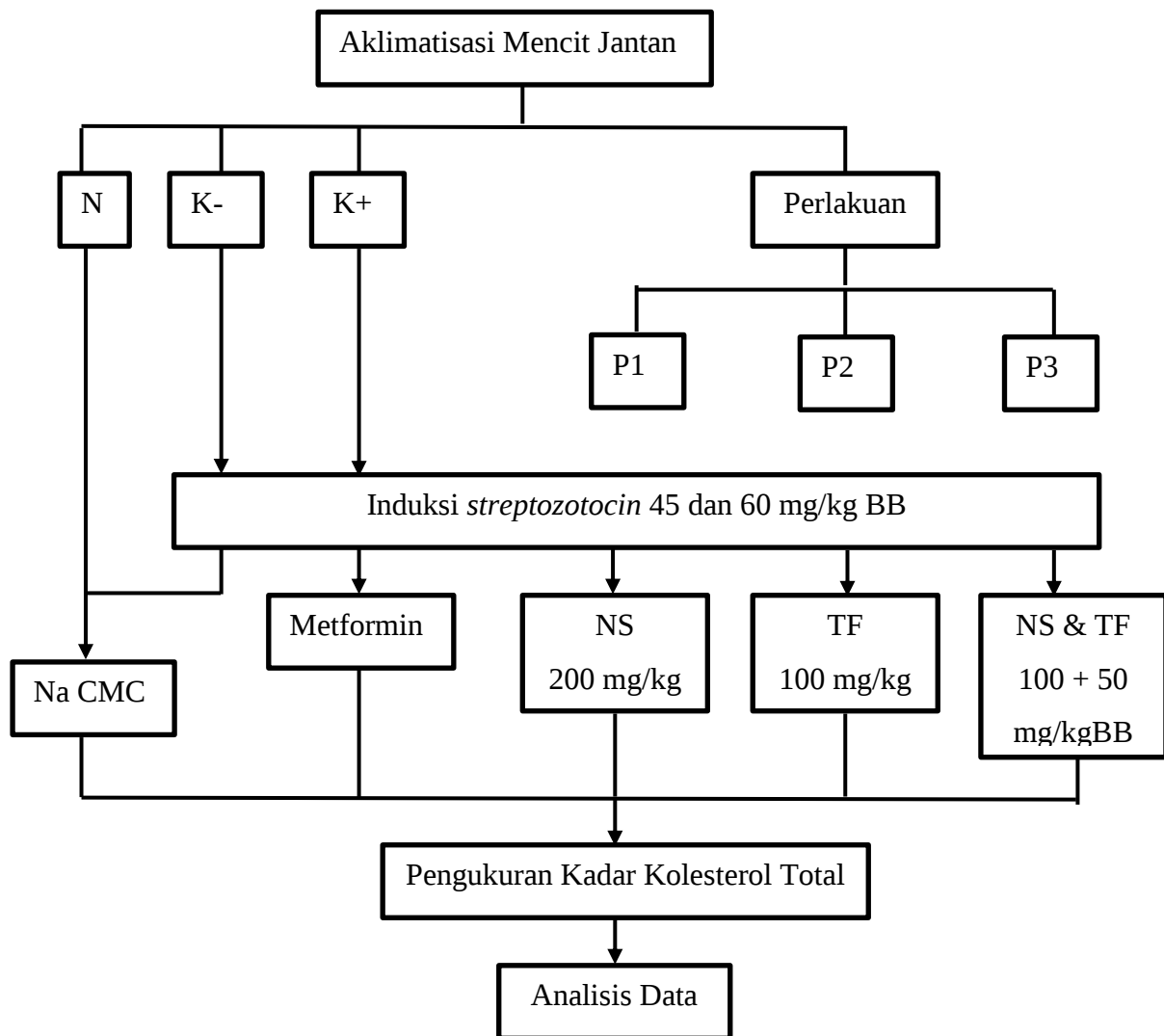
- Membranes, 4th Edition*. New York: Elsevier Science.
- Rose, P. W., *et al.* (2013). The RCSB Protein Data Bank: New Resources for Research and Education. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), 475–482.
- Sabzghabae, A. M., *et al.* (2012). Clinical Evaluation of *Nigella sativa* Seeds for The Treatment of Hyperlipidemia: A Randomized, Placebo Controlled Clinical Trial. *Medicinski Arhiv*, 66(3), 198–200.
- Sandeep, G., *et al.* (2011). AUDocker LE: A GUI for Virtual Screening With AutoDock Vina. *BMC Research Notes*, 4(1), 3–6.
- Sarasa, D., *et al.* (2011). Effects of Aqueous Extract of *Trigonella foenum-Graecum* Seeds on Protein Content of Normal and Alloxan-Induced Diabetic Mice Seeds. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2(3).
- Saravanan, G., & Ponmurugan, P. (2012). Ameliorative Potential of S-allylcysteine: Effect on Lipid Profile and Changes in Tissue Fatty Acid Composition in Experimental Diabetes. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(6), 639–644.
- Shafiq, H., *et al.* (2014). Cardio-Protective and Anti-Cancer Therapeutic Potential of *Nigella sativa*. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 17(12).
- Shari, F. H., *et al.* (2020). Hypolipidemic and Antioxidant effects of Fenugreek-*Nigella sativa* Combination on Diabetic Patients in Iraq. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(6), 911–915.
- Sheela, D. L., *et al.* (2016). In Silico and Wet Lab Studies Reveal the Cholesterol Lowering Efficacy of Lauric Acid, a Medium Chain Fat of Coconut Oil. *Plant Foods for Human Nutrition*, 410–415.
- Sikder, K., *et al.* (2014). The High Antioxidative Power of Quercetin (Aglycone Flavonoid) and Its Glycone (Rutin) Avert High Cholesterol Diet Induced Hepatotoxicity and Inflammation in Swiss Albino Mice. *Food and Function*, 5(6), 1294–1303.
- Singh, D. (2016). Defining Desirable Natural Product Derived Anticancer Drug Space: Optimization of Molecular Physicochemical Properties and ADMET Attributes. *ADMET and DMPK*, 4(2), 98–113.

- Snehlata, H. S., & Payal, D. R. (2012). Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.): An Overview. *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*, 2(4), 169–187.
- Srinivasan, S., & Pari, L. (2013). Antihyperlipidemic Effect of Diosmin: A Citrus Flavonoid on Lipid Metabolism in Experimental Diabetic Rats. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 484–492.
- Staf Pengajar Departemen Farmakologi. (2008). *Kumpulan Kuliah Farmakologi Ed. 2*. Jakarta: EGC.
- Stevani, H. (2016). *Praktikum Farmakologi*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan.
- Sultan, M. T., et al. (2020). *Nigella sativa* Ameliorates Oxidative Stress Induced Adverse Effects in Rodent Modeling Studies: Indices of Serum Chemistry and Hematology. *Food Science and Technology*, 2061, 1–8.
- Sumbono, A. (2016). *Biokimia Pangan Dasar*. Yogyakarta: Deepublish.
- Susilowati, R., et al. (2020). Antihyperlipidemic Effects of Apple Peel Extract in High-Fat Diet-Induced Hyperlipidemic Rats. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 11(3), 128–133.
- Syed, Q. A., et al. (2020). Nutritional and Therapeutic Properties of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): A Review. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 1777–1791.
- Tambusai, M. B. (2013). *Halal-Haram Ruqyah: Tuntunan Syariah Mengatasi Sihir, Gangguan Jin dan Berbagai Penyakit Rohani dan Jasmani*. Jakarta: Pustaka Al-Kautsar.
- Teli, M., & Rajanikant, G. K. (2012). Pharmacophore Generation and Atom-Based 3D-QSAR of N-iso-propyl Pyrrole-Based Derivatives as HMG-CoA Reductase Inhibitors. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 2(1), 25.
- Torequl Islam, M., et al. (2016). Thymoquinone Is Knocking at The Door of Clinical Trial. *International Archives of Medicine*, 9(122).
- Vallianou, I., & Hadzopoulou-Cladaras, M. (2016). Camphene, a Plant Derived Monoterpene, Exerts Its Hypolipidemic Action by Affecting SREBP-1 and MTP Expression. *PLoS ONE*, 11(1), 1–21.
- van Stee, M. F., et al. (2018). Actions of Metformin and Statins on Lipid and

- Glucose Metabolism and Possible Benefit of Combination Therapy. *Cardiovascular Diabetology*, 17(1), 1–22.
- Venkata, K. C. N., *et al.* (2017). A Small Plant With Big Benefits: Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* Linn.) for Disease Prevention and Health Promotion. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(6), 1–26.
- Vitalis, I., *et al.* (2019). Relationship Between LDL and HDL in Diabetes Mellitus. *International Journal of Medical Science and Applied Biosciences*, 4(2).
- Xu, F., *et al.* (2016). The Cholesterol-Lowering Effect of Alisol Acetates Based on HMG-CoA Reductase and Its Molecular Mechanism. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, 11.
- Yang, H., *et al.* (2019). AdmetSAR 2.0: Web-Service for Prediction and Optimization of Chemical ADMET Properties. *Bioinformatics*, 35(6), 1067–1069.
- Yoshinari, O., *et al.* (2013). Trigonelline Ameliorates Oxidative Stress in Type 2 Diabetic Goto-Kakizaki Rats. *Journal of Medicinal Food*, 16(1), 34–41.
- Yuan, S., *et al.* (2017). Using PyMOL as a Platform for Computational Drug Design. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 7(2).
- Zhyvotovska, A., *et al.* (2019). *Dyslipidemia*. London: IntechOpen.

## LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian *In Vivo*



## Lampiran 2. Uji Statistik Menggunakan SPSS

| Perlakuan | Ulangan |       |       |       |       | Rata-rata | SD    |
|-----------|---------|-------|-------|-------|-------|-----------|-------|
|           | 1       | 2     | 3     | 4     | 5     |           |       |
| N         | 105,9   | 72,4  | 90,8  | 83,5  | 67,4  | 84        | 13,68 |
| P1        | 123,7   | 116,4 | 122,5 | 100,8 | 103,1 | 113,30    | 9,62  |
| P2        | 127     | 105,3 | 101,9 | 109,1 | 104,1 | 109,48    | 9,07  |
| P3        | 100,8   | 120,6 | 112   | 97,5  | 103   | 106,78    | 8,42  |
| K-        | 124,2   | 147,6 | 114,7 | 131,4 | 134,8 | 130,54    | 10,96 |
| K+        | 119,7   | 125,5 | 100   | 135,3 | 122,5 | 120,60    | 11,57 |

- Uji Normalitas

| Tests of Normality                                 |                                 |    |       |              |    |      |
|----------------------------------------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
|                                                    | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |       | Shapiro-Wilk |    |      |
|                                                    | Statistic                       | df | Sig.  | Statistic    | df | Sig. |
| Hasil                                              | .110                            | 30 | .200* | .971         | 30 | .577 |
| *. This is a lower bound of the true significance. |                                 |    |       |              |    |      |
| a. Lilliefors Significance Correction              |                                 |    |       |              |    |      |

- Uji Homogenitas

| Test of Homogeneity of Variances |                  |     |     |      |
|----------------------------------|------------------|-----|-----|------|
|                                  | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| Hasil                            | .269             | 5   | 24  | .926 |

- Uji One Way Anova

| ANOVA          |                |    |             |       |      |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Hasil          |                |    |             |       |      |
|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
| Between Groups | 6140.494       | 5  | 1228.099    | 8.583 | .000 |
| Within Groups  | 3434.208       | 24 | 143.092     |       |      |
| Total          | 9574.702       | 29 |             |       |      |

- Uji Duncan

| Hasil                                                  |             |   |                         |         |         |
|--------------------------------------------------------|-------------|---|-------------------------|---------|---------|
|                                                        | Perlakuan   | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |
|                                                        |             |   | 1                       | 2       | 3       |
| Duncan <sup>a</sup>                                    | Perlakuan A | 5 | 84.000                  |         |         |
|                                                        | Perlakuan D | 5 |                         | 106.780 |         |
|                                                        | Perlakuan C | 5 |                         | 109.480 |         |
|                                                        | Perlakuan B | 5 |                         | 113.300 |         |
|                                                        | Perlakuan F | 5 |                         | 120.600 | 120.600 |
|                                                        | Perlakuan E | 5 |                         |         | 130.540 |
|                                                        | Sig.        |   | 1.000                   | .106    | .201    |
| Means for groups in homogeneous subsets are displayed. |             |   |                         |         |         |
| a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.             |             |   |                         |         |         |

### Lampiran 3. Perhitungan Dosis

#### 1. Induksi *Streptozotocin* secara Intraperitoneal

- 45 mg/kg BB

Dosis: 45 mg/kg BB (mencit 20 g)

Volume pemberian buffer sitrat: 0,3 ml

Perhitungan = dosis  $\times$  berat hewan

$$= 45 \text{ mg/kg BB} \times 0,02 \text{ kg BB}$$

$$= 0,9 \text{ mg dalam } 0,3 \text{ ml buffer sitrat}$$

- Dosis 60 mg/kg BB

Dosis: 60 mg/kg BB (mencit 20 g)

Volume pemberian buffer sitrat: 0,3 ml

Perhitungan = dosis  $\times$  berat hewan

$$= 60 \text{ mg/kg BB} \times 0,02 \text{ kg BB}$$

$$= 1,2 \text{ mg dalam } 0,3 \text{ ml buffer sitrat}$$

#### 2. Ekstrak Etanol *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum*

- Dosis Tunggal *Nigella sativa*

200 mg/kg BB tikus (tikus: 200 g)

$$\frac{200}{1000} \times 200 = 40 \text{ mg dikonversi ke dosis mencit}$$

$$40 \times 0,14 = 5,6 \text{ mg / } 20 \text{ g BB mencit}$$

- Dosis Tunggal *Trigonella foenum*

100 mg/kg BB tikus (tikus: 200 g)

$$\frac{200}{1000} \times 100 = 20 \text{ mg dikonversi ke dosis mencit}$$

$$20 \times 0,14 = 2,8 \text{ mg / } 20 \text{ g BB mencit}$$

- Dosis Kombinasi

Dosis Tunggal *Nigella sativa*: 5,6 mg / 20 g BB mencit

$$\frac{50}{100} \times 5,6 \text{ mg} = 2,8 \text{ mg}$$

Dosis Tunggal *Trigonella foenum*: 2,8 mg / 20 g BB mencit

$$\frac{50}{100} \times 2,8 \text{ mg} = 1,4 \text{ mg}$$

Dosis Kombinasi *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum*

$$= 2,8 \text{ gr} + 1,4 \text{ gr}$$

$$= 4,2 \text{ mg} / 20 \text{ g BB mencit}$$

3. Dosis Obat Metformin

Dosis metformin: 500 mg (manusia BB 70 kg)

Konversi dosis manusia  $\rightarrow$  mencit 20 g = 0,0026

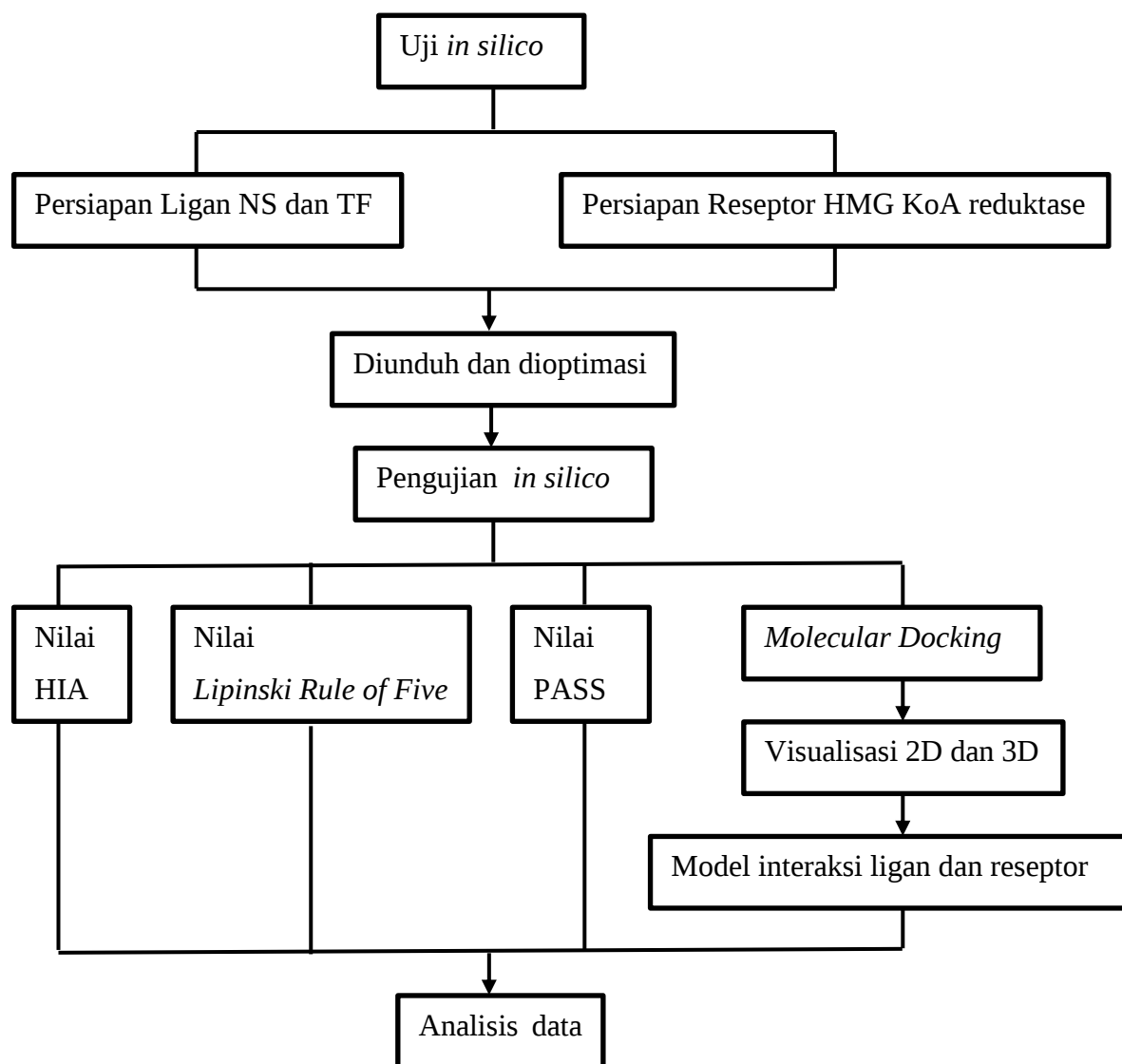
Maka dosis untuk mencit 20 g :  $500 \text{ mg} \times 0,0026 = 1,3 \text{ gram}$

Rata-rata berat mencit  $\pm 35 \text{ g} : \frac{35}{20} \times 1,3 = 2,275 \text{ g}$

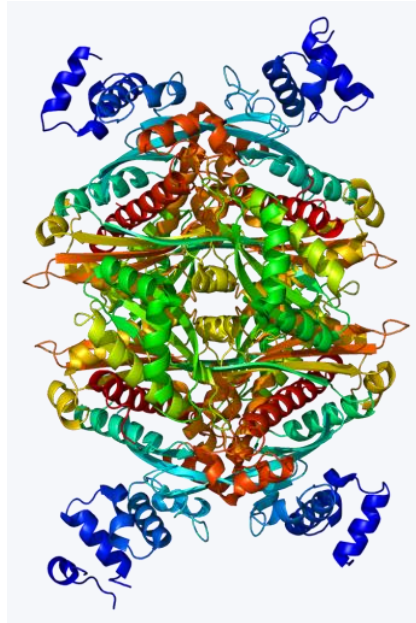
#### Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian



Sumber : Dokumentasi Pribadi (2021)

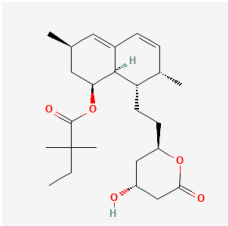
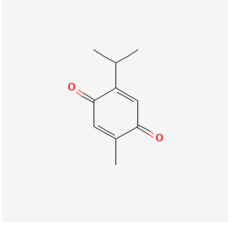
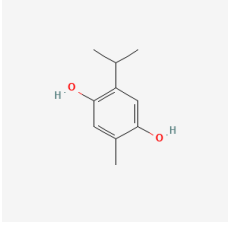
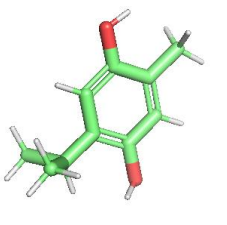
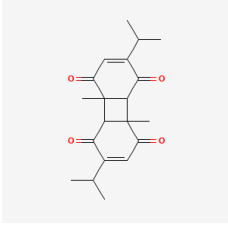
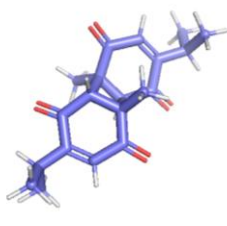
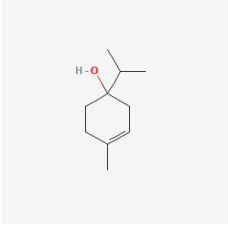
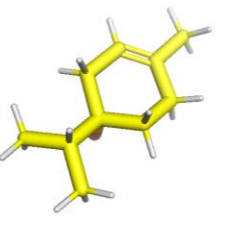
**Lampiran 5.** Alur Penelitian *In Silico*

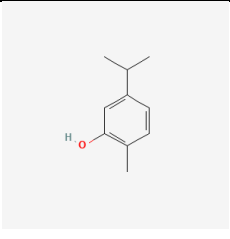
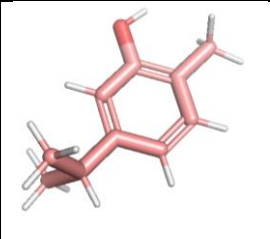
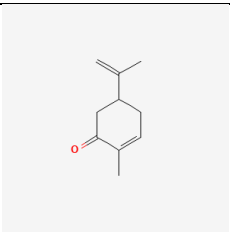
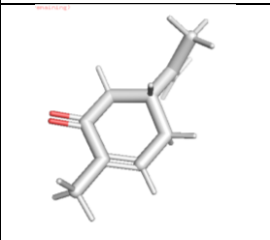
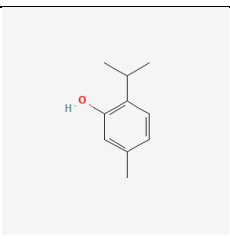
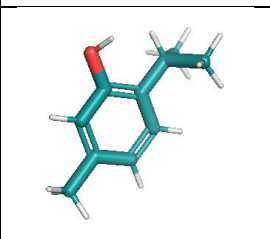
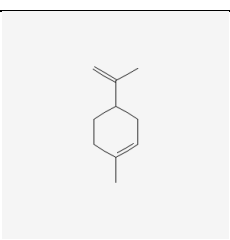
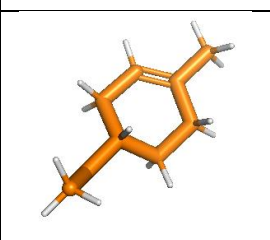
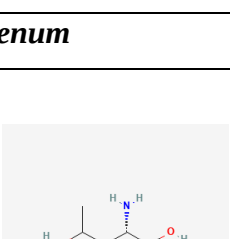
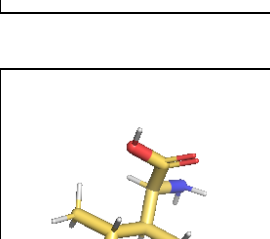
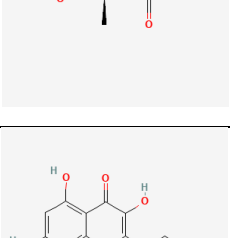
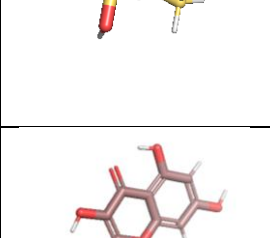
**Lampiran 6.** Struktur 3D Reseptor HMG-KoA Reduktase

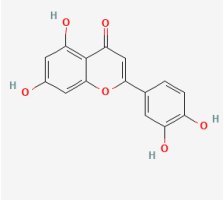
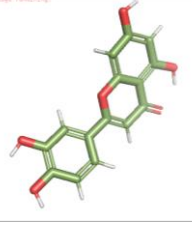
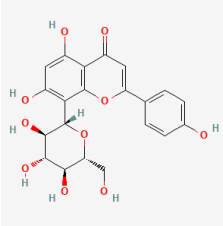
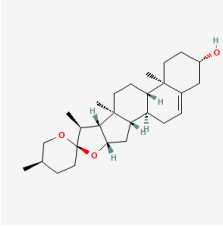
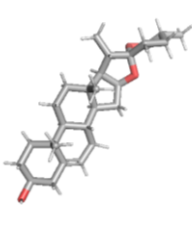
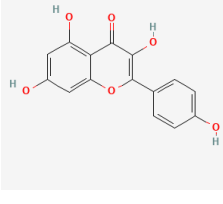
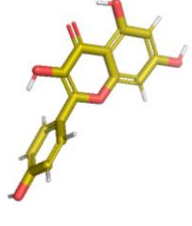
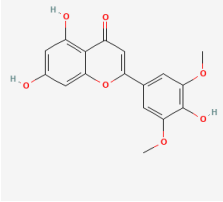


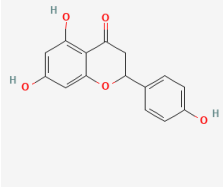
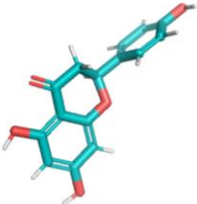
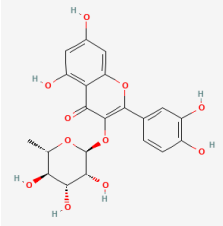
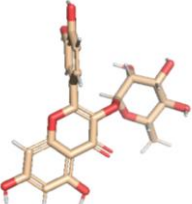
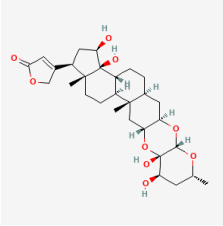
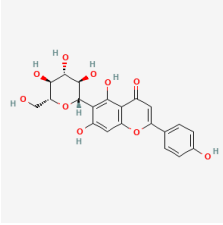
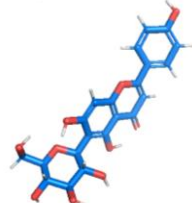
**Sumber : Wikipedia (2021)**

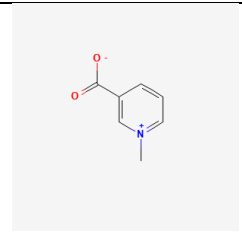
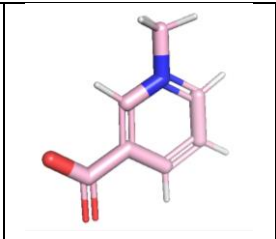
### Lampiran 7. Struktur Ligan

| Senyawa                      | Isomeric SMILES                                                                                    | 2D                                                                                   | 3D                                                                                    |
|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Kontrol</b>               |                                                                                                    |                                                                                      |                                                                                       |
| Simvastatin                  | <chem>CCC(C)(C)C(=O)O[C@H]1C[C@H](C=C2[C@H]1[C@H]([C@H](C=C2)C)CC[C@@H]3C[C@H](CC(=O)O3)O)C</chem> |    |    |
| <b><i>Nigella sativa</i></b> |                                                                                                    |                                                                                      |                                                                                       |
| Thymoquinone                 | <chem>Cc1=Cc(=O)C(=Cc1=O)C(C)</chem>                                                               |   |   |
| Thymohydroquinone            | <chem>Cc1=Cc(=C(C=C1O)C(C)C)O</chem>                                                               |  |  |
| Dithymoquinone               | <chem>Cc(C)C1=Cc(=O)C2(C(C1=O)C3(C2c(=O)C(=Cc3=O)C(C)C)C)C</chem>                                  |  |  |
| 4-Terpineol                  | <chem>Cc1=Ccc(Cc1)(C(C)C)O</chem>                                                                  |  |  |

|                          |                                                              |                                                                                      |                                                                                       |
|--------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Carvacrol                | <chem>Cc1=C(C=C(C=C1)C(C)C)</chem>                           |    |    |
| Carvone                  | <chem>Cc1=Ccc(Cc1=O)C(=C)C</chem>                            |    |    |
| Thymol                   | <chem>Cc1=Cc(=C(C=C1)C(C)C)</chem>                           |   |   |
| Limonene                 | <chem>Cc1=Ccc(Cc1)C(=C)C</chem>                              |  |  |
| <b>Trigonella foenum</b> |                                                              |                                                                                      |                                                                                       |
| 4-Hydroxyisoleucine      | <chem>C[C@H]([C@@H](C(=O)O)N)C(C)</chem>                     |  |  |
| Quercetin                | <chem>C1=Cc(=C(C=C1c2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)</chem> |  |  |

|            |                                                                                                                |                                                                                      |                                                                                       |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Luteolin   | <chem>O=C1C(=C(C=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>                                                       |    |    |
| Vitexin    | <chem>O=C1C(=C(C=C1C2=CC(=O)C3=C(C(=C(C=C3O)O)O)O)O)O</chem>                                                   |    |    |
| Diosgenin  | <chem>C[C@H]1CC[C@@]2([C@H]([C@H]3[C@@H](O2)C[C@@H]4[C@@]3(Cc[C@H]5[C@H]4CC=C6[C@@]5(Cc[C@H](C6)O)C)C)O</chem> |  |  |
| Kaempferol | <chem>O=C1C(=C(C=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>                                                       |  |  |
| Tricin     | <chem>COC1=CC(=CC(=C1OC)OC)C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O</chem>                                                 |  |  |

|            |                                                                                                                                                 |                                                                                      |                                                                                       |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Naringenin | <chem>C1c(Oc2=Cc(=Cc(=C2c1=O)O)O)C3=Cc=C(C=C3)</chem>                                                                                           |    |    |
| Quercitrin | <chem>C[C@H]1[C@@H]([C@H]([C@H]([C@@H](O1)Oc2=C(Oc3=Cc(=Cc(=C3c2=O)O)O)C4=Cc(=C(C=C4)O)O)O)</chem>                                              |    |    |
| Afroside   | <chem>C[C@@H]1c[C@H]([C@]2([C@@H](O1)O[C@@H]3c[C@@H]4cc[C@@H]5[C@@H]([C@]4(C[C@H]3o2)C)Cc[C@]6([C@@]5([C@@H](C[C@@H]6c7=Cc(=O)Oc7)O)C)O)</chem> |  |  |
| Isovitexin | <chem>C1=Cc(=Cc=C1c2=Cc(=O)C3=C(O2)C=C(C(=C3o)[C@H]4[C@@H]([C@H]([C@@H]([C@H](O4)Co)O)O)O)</chem>                                               |  |  |

|              |                                         |                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Trigonelline | <chem>C[N+]1=CC=Cc(=C1)C(=O)[O-]</chem> |  A 2D chemical structure of Trigonelline, which is a pyridinium ring with a methyl group on the nitrogen atom and a carboxylate group (-COO-) at the 3-position. |  A 3D ball-and-stick model of Trigonelline. The pyridinium ring is shown in a perspective view, with the nitrogen atom (blue) and its methyl group (grey) at the top. The carboxylate group (red and white) is at the 3-position. |
|--------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

**Sumber : Dokumentasi Pribadi (2021)**

## Lampiran 8. Uji HIA (*Human Intestinal Absorption*)

1. Dibuka web server admetSAR untuk melakukan uji HIA melalui link <http://lmmmd.ecust.edu.cn/admetsar2/>. Kemudian masukkan *isomeric smiles* dari PDB di menu *Draw molecule* dan klik *Predict*

2. Setelah ditunggu, hasilnya akan muncul di layar seperti ini. Nilainya dapat dilihat di menu *Human Intestinal Absorption*.

Home > predict > Predict result

| Compound List                               |                                                                                                                      | Property             | Value       |
|---------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------|
| compound1                                   | <br>SMILES: <chem>C[N+]1=CC=C(C(=O)[O-])C=C1</chem><br><a href="#">Download the results</a> <a href="#">Optimize</a> | Molecular Weight     | 137.14      |
|                                             |                                                                                                                      | AlogP                | -1.13       |
|                                             |                                                                                                                      | H-Bond Acceptor      | 2           |
|                                             |                                                                                                                      | H-Bond Donor         | 0           |
|                                             |                                                                                                                      | Rotatable Bonds      | 1           |
|                                             |                                                                                                                      | Applicability Domain | In domain   |
| ADMET predicted profile --- Classifications |                                                                                                                      | Value                | Probability |
| Human Intestinal Absorption                 |                                                                                                                      | +                    | 0.9656      |
| Caco-2                                      |                                                                                                                      | +                    | 0.9665      |
| Blood Brain Barrier                         |                                                                                                                      | +                    | 0.9842      |
| Human oral bioavailability                  |                                                                                                                      | +                    | 0.7429      |

## Lampiran 9. Uji drug likeness (Lipinski Rule of Five)

1. Dibuka web server untuk uji Lipinski Rule of Five melalui link

<http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>

**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  Tidak ada file yang dipilih

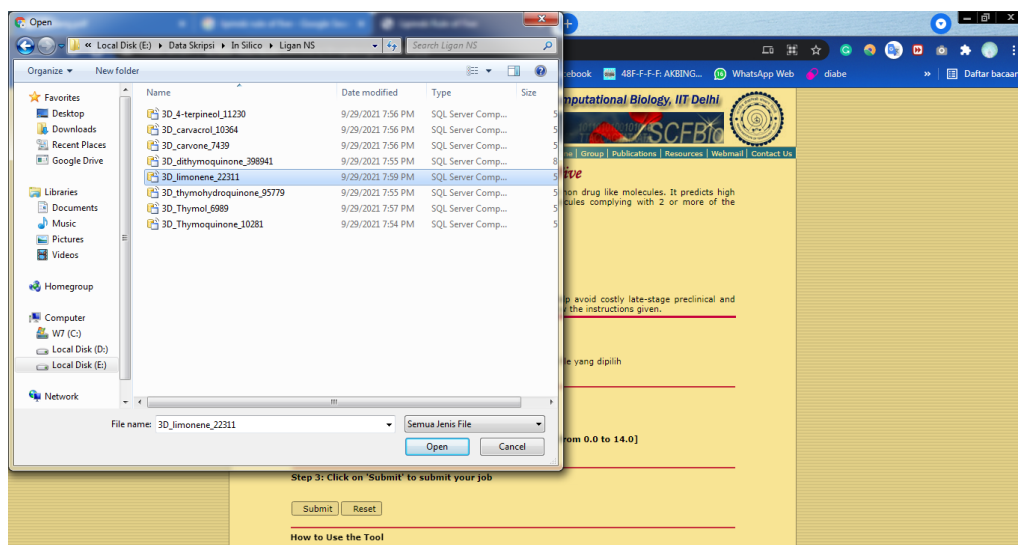
**Step 2 : Input pH Value**

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. Pada menu Input PDB file, dapat memasukkan file dengan format \*.pdb, \*.mol, \*.mol2, \*.xyz, \*.sdf, dan \*.smi



3. Setelah memasukkan file yang diinginkan, kemudian klik menu submit

**Step 1: Input Drug File.**

Input PDB file  3D\_thymohydr...one\_95779.sdf

---

**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**

**OPTION 1:-**

- The input File should be in the following formats[\*.pdb, \*.mol, \*.mol2, \*.xyz, \*.sdf, \*.smi]
- The input file name should not contain whitespace(s).
- Browse and Upload the file.
- Click on Submit.
- If the results were not showing, please recheck you input file format and submit it again.

**OPTION 2:-**

4. Setelah ditunggu, hasilnya akan keluar seperti di layar

**Result**

mass: 166.000000  
 hydrogen bond donor: 2  
 hydrogen bond acceptors: 2  
 LOGP: 2.529620  
 Molar Refractivity: 48.597591

---

**How to Use the Tool**

**OPTION 1:-**

- The input File should be in the following formats[\*.pdb, \*.mol, \*.mol2, \*.xyz, \*.sdf, \*.smi]
- The input file name should not contain whitespace(s).
- Browse and Upload the file.
- Click on Submit.
- If the results were not showing, please recheck you input file format and submit it again.

**OPTION 2:-**

- To draw a chemical structure [Click Here .](#)
- Follow the instructions given.
- Browse and Upload the file.
- Click on Submit.

For Feedback/Queries/Reportings bugs/Suggestions mail us at : abhilash@scfbio-iitd.res.in

**References:**  
 Cite as:  
 Lipinski CA (December 2004). "Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution". *Drug Discovery Today: Technologies* **1** (4): 337â€“341. doi:10.1016/j.ddtec.2004.11.007  
 B. Jayaram, Tanya Singh, Goutam Mukherjee, Abhinav Mathur, Shashank Shekhar, and Vandana Shekhar, "Sanjeevini: a freely accessible web-server for target directed lead molecule discovery", *BMC Bioinformatics*, **2012**, 13, S7. <http://www.biomedcentral.com/1471-2105/13/S17/S7>

© Copyright 2004-2015, Prof B. Jayaram & Co-workers. All rights reserved. | Disclaimer  
 Number of Hits since 4th April 2009: 52903

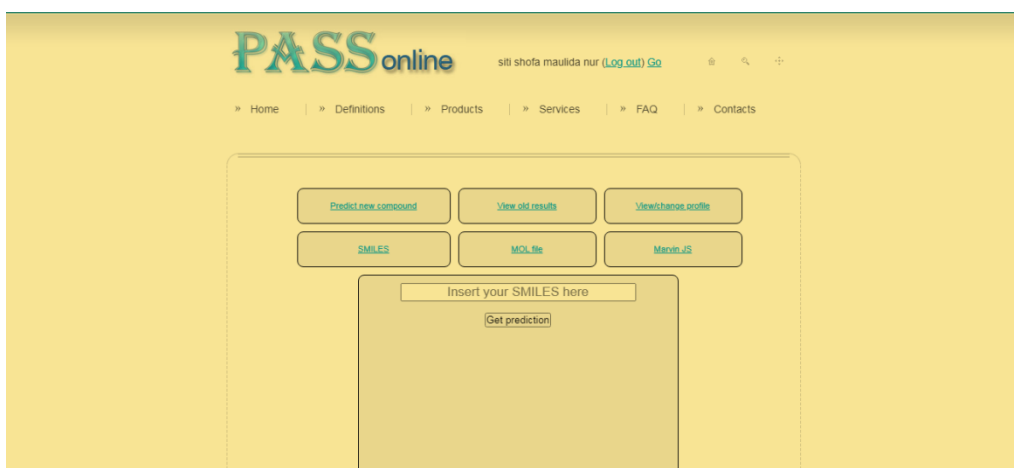
**Sumber : Dokumentasi Pribadi (2021)**

### Lampiran 10. Uji PASS

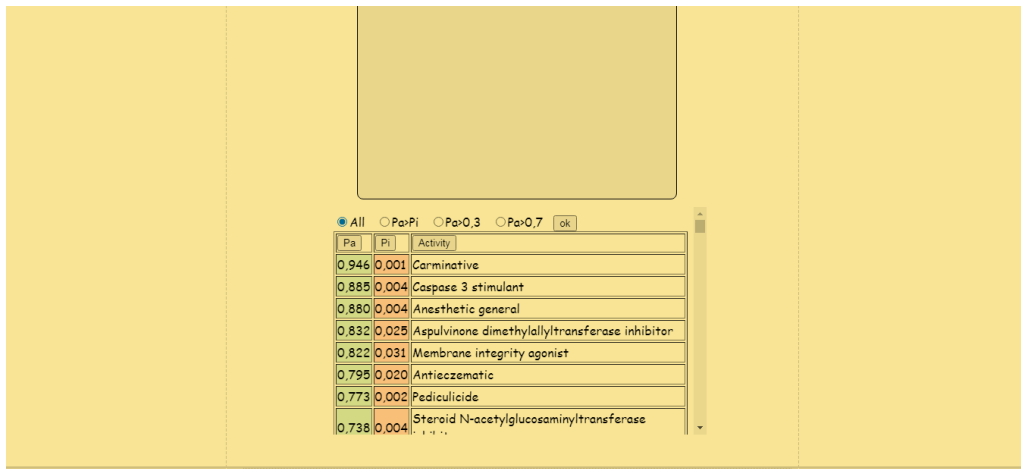
1. Untuk melakukan uji PASS, dibuka web server dengan link <http://way2drug.com/passonline/>. Kemudian klik menu *Go for prediction* dan lakukan log in



2. Selanjutnya jika tampilannya sudah seperti itu klik *Predict new compound* kemudian klik SMILES. Masukkan *isomeric smiles* dari PDB kemudian klik *Get prediction*



3. Setelah ditunggu, hasilnya akan seperti di layar berikut.

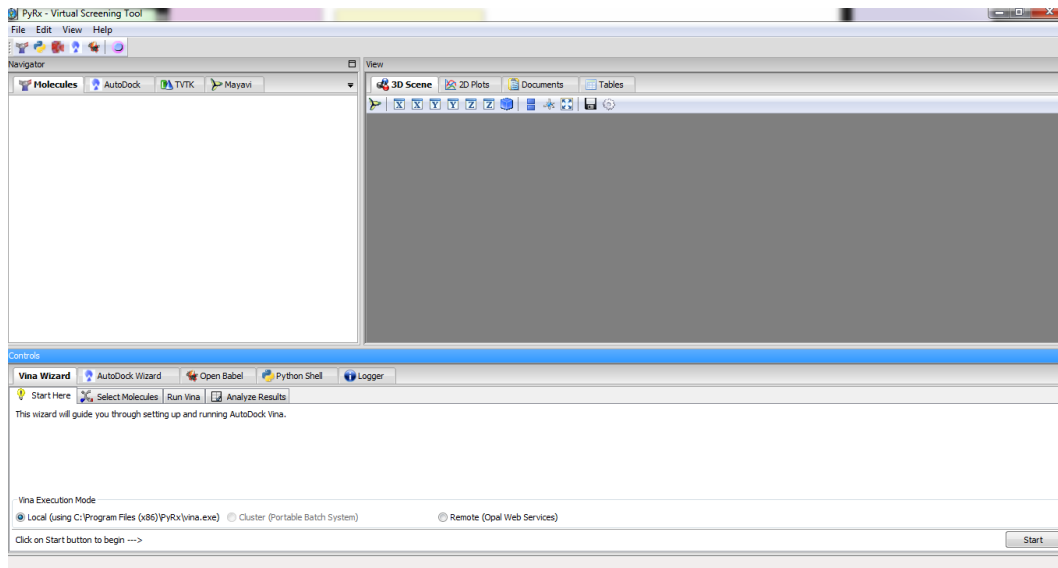


| Pa    | Pi    | Activity                                      |
|-------|-------|-----------------------------------------------|
| 0.946 | 0.001 | Carminative                                   |
| 0.885 | 0.004 | Caspase 3 stimulant                           |
| 0.880 | 0.004 | Anesthetic general                            |
| 0.832 | 0.025 | Aspulinone dimethylallyltransferase inhibitor |
| 0.822 | 0.031 | Membrane integrity agonist                    |
| 0.795 | 0.020 | Antieczematic                                 |
| 0.773 | 0.002 | Pediculicide                                  |
| 0.738 | 0.004 | Steroid N-acetylglucosaminyltransferase       |

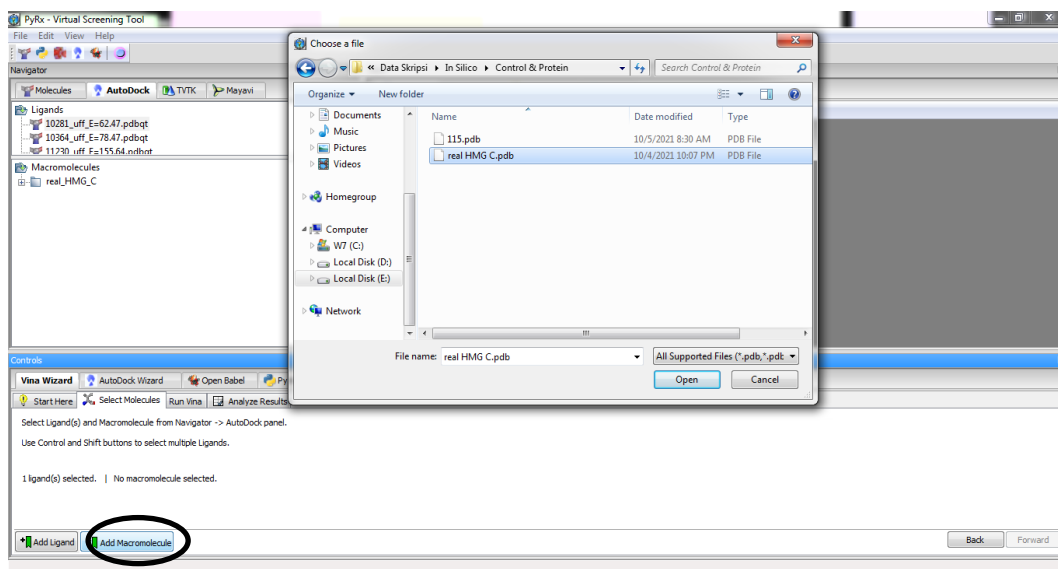
**Sumber : Dokumentasi Pribadi (2021)**

## Lampiran 11. Uji Penambatan Molekular (*Molecular Docking*)

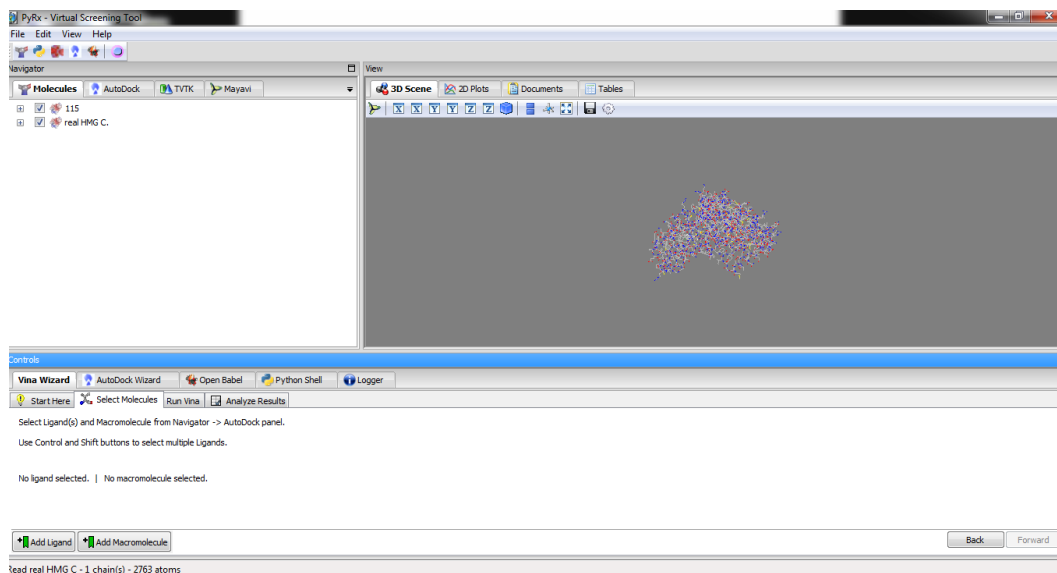
1. Dibuka software PyRx yang telah diunduh untuk melakukan docking.



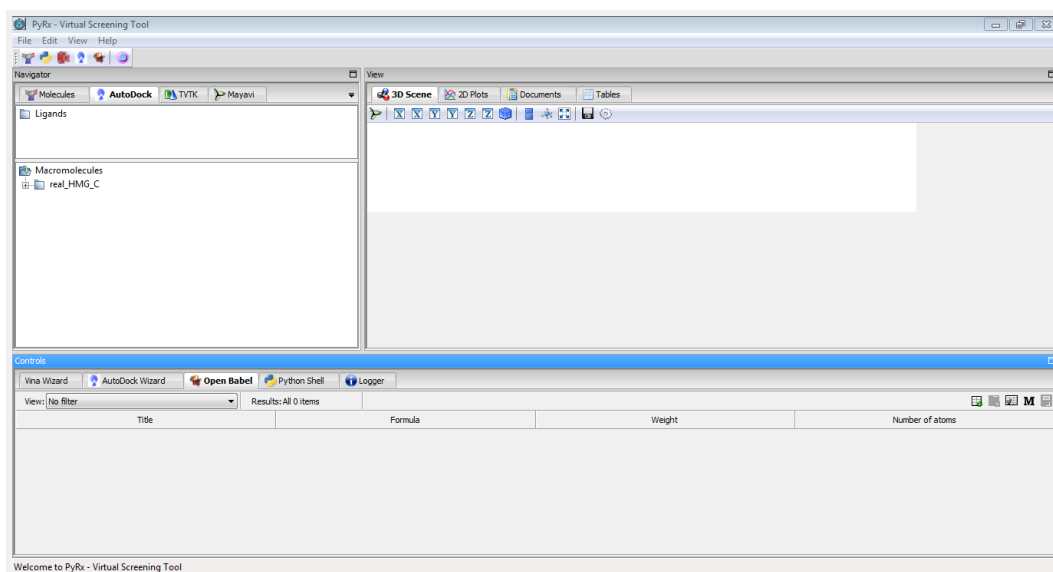
2. Pilih menu *Select Molecules - Add Macromolecule* dan pilih reseptor yang ingin digunakan.



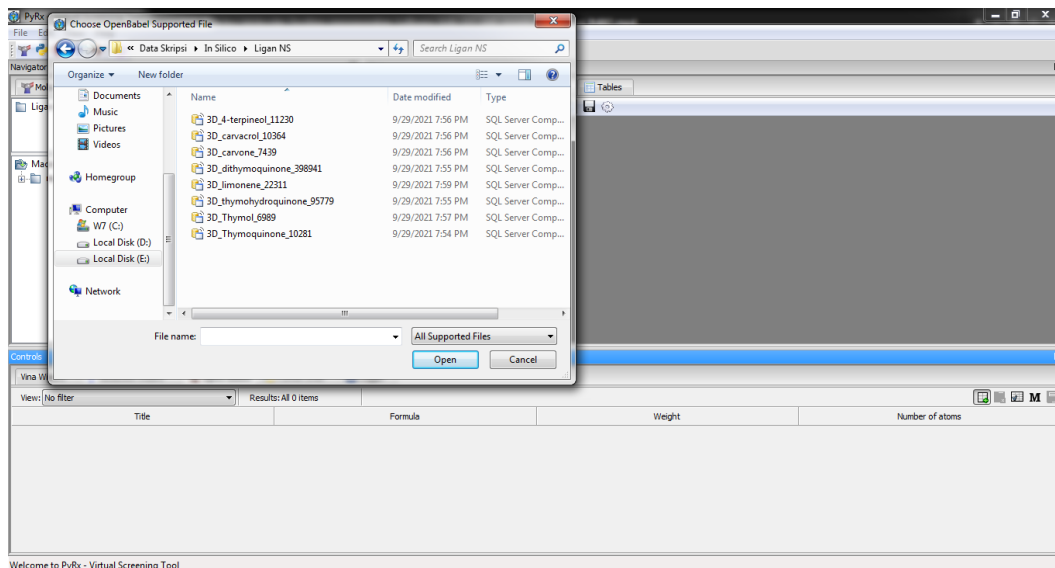
3. Kemudian ditunggu, hingga muncul tampilan seperti berikut



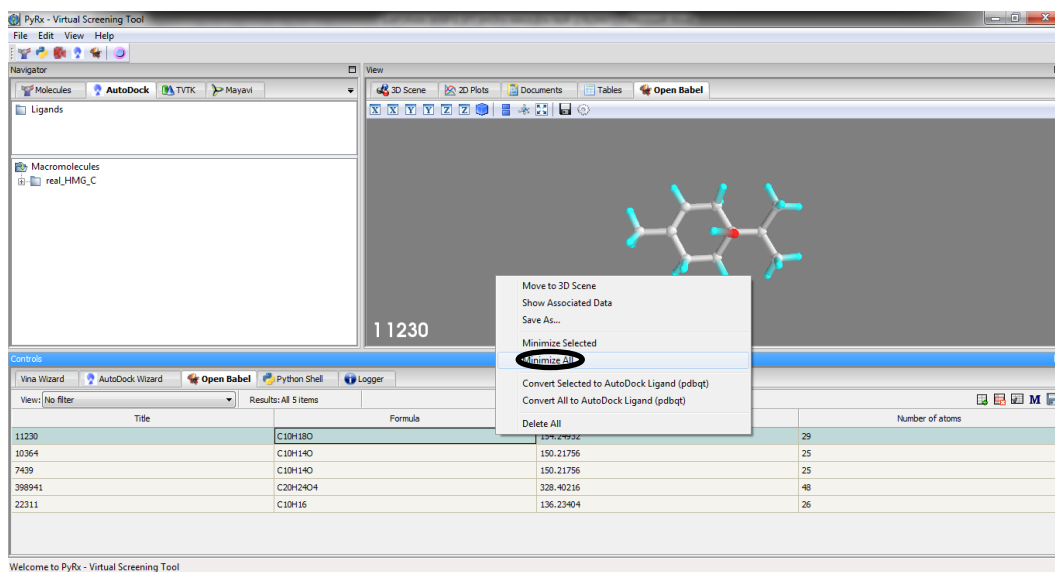
4. Kemudian tekan menu *Open Babel* untuk memasukkan ligan yang diinginkan



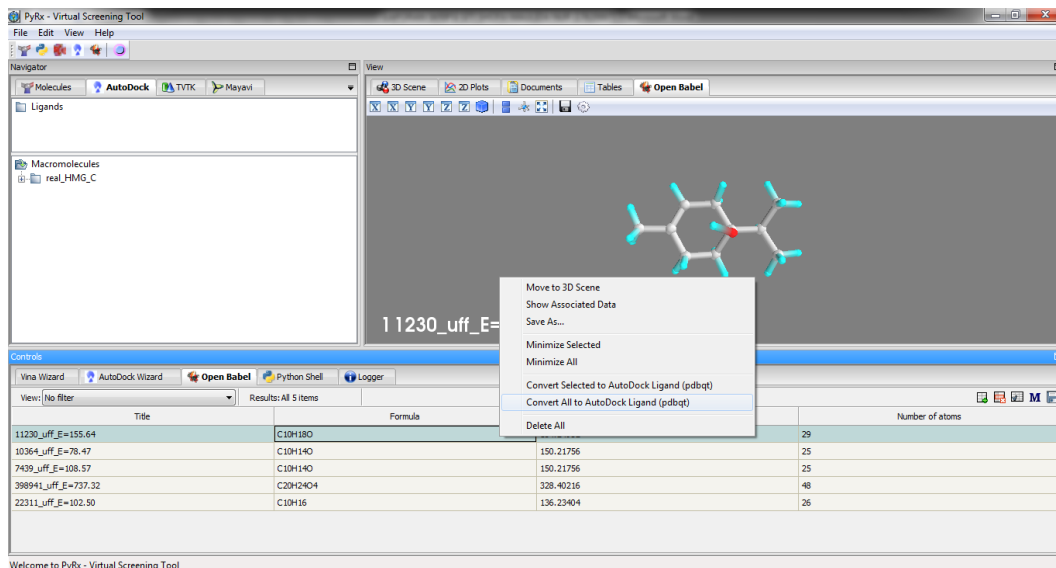
5. Klik *Insert new item* untuk memasukkan ligan dalam format \*.pdb atau \*.sdf



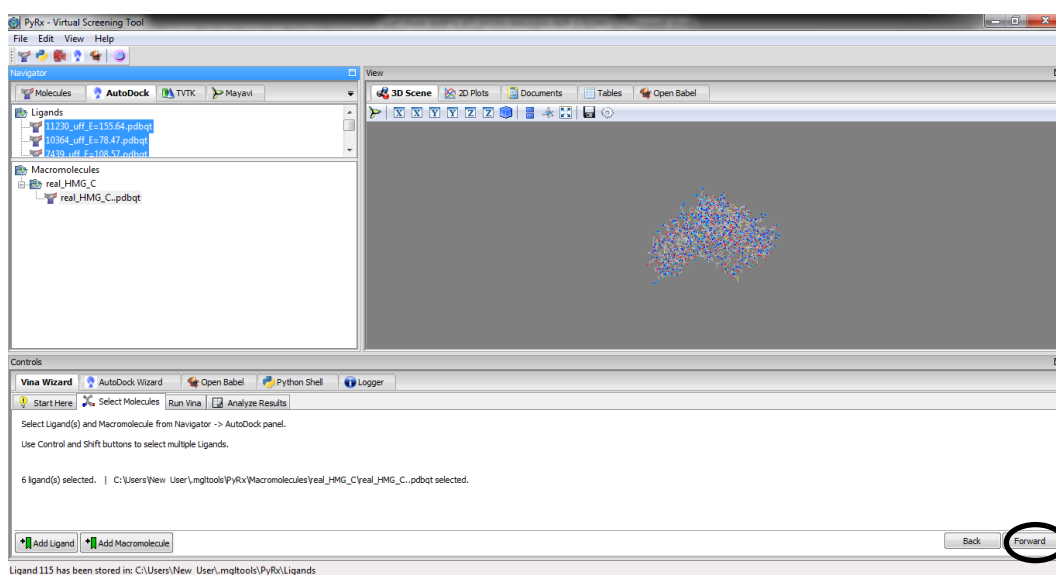
6. Klik kanan salah satu senyawa ligan dan pilih *Minimize All* untuk meminimasi seluruh senyawa ligan



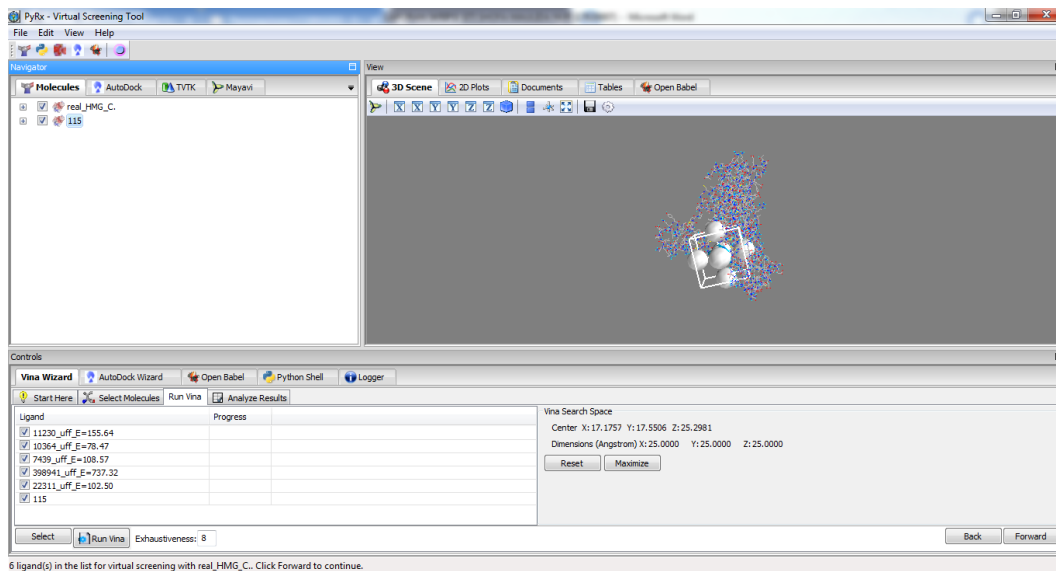
7. Setelah senyawa diminimasi, klik kanan - *Convert All to AutoDock Ligand* (pdbqt)



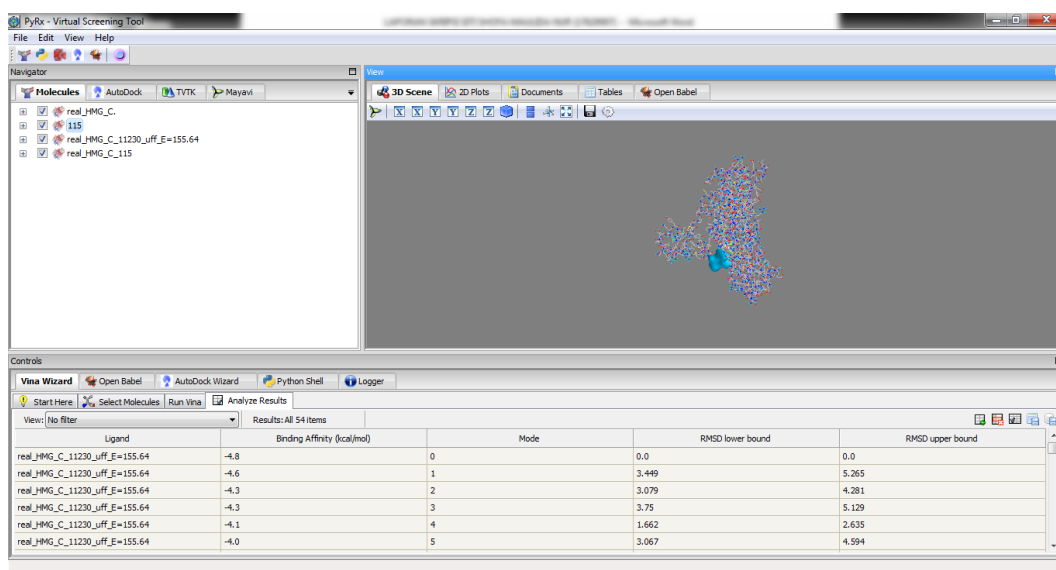
8. Kemudian kembali ke *Select Molecules* dan pilih reseptor dan semua ligan yang ingin didockingkan dan klik Forward



9. Atur gridbox disesuaikan dengan letak ligan aslinya dan kembali klik Forward sehingga proses dockingnya sudah mulai berjalan

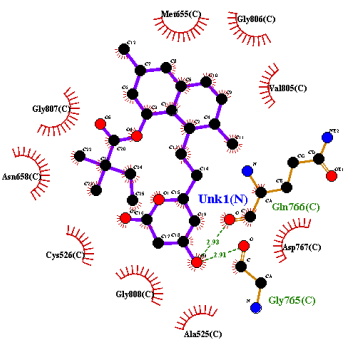
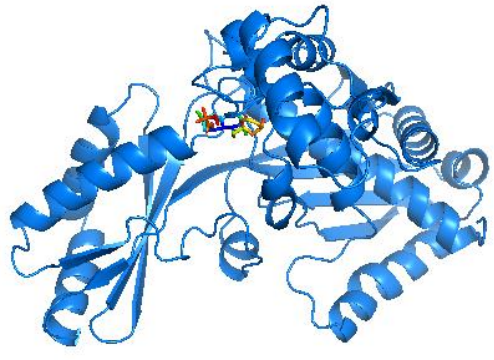
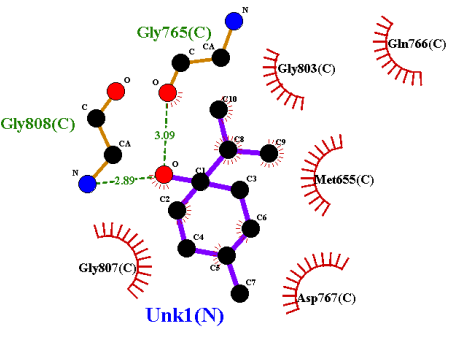
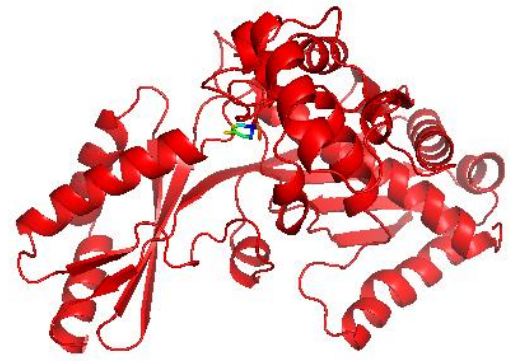
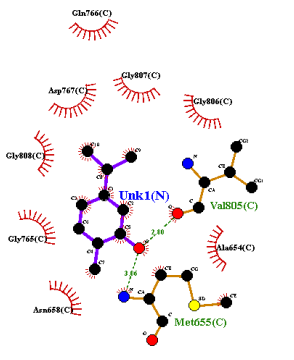
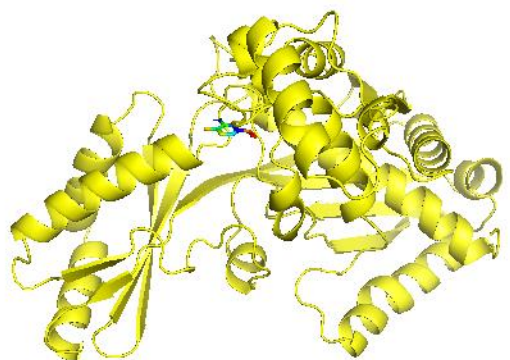


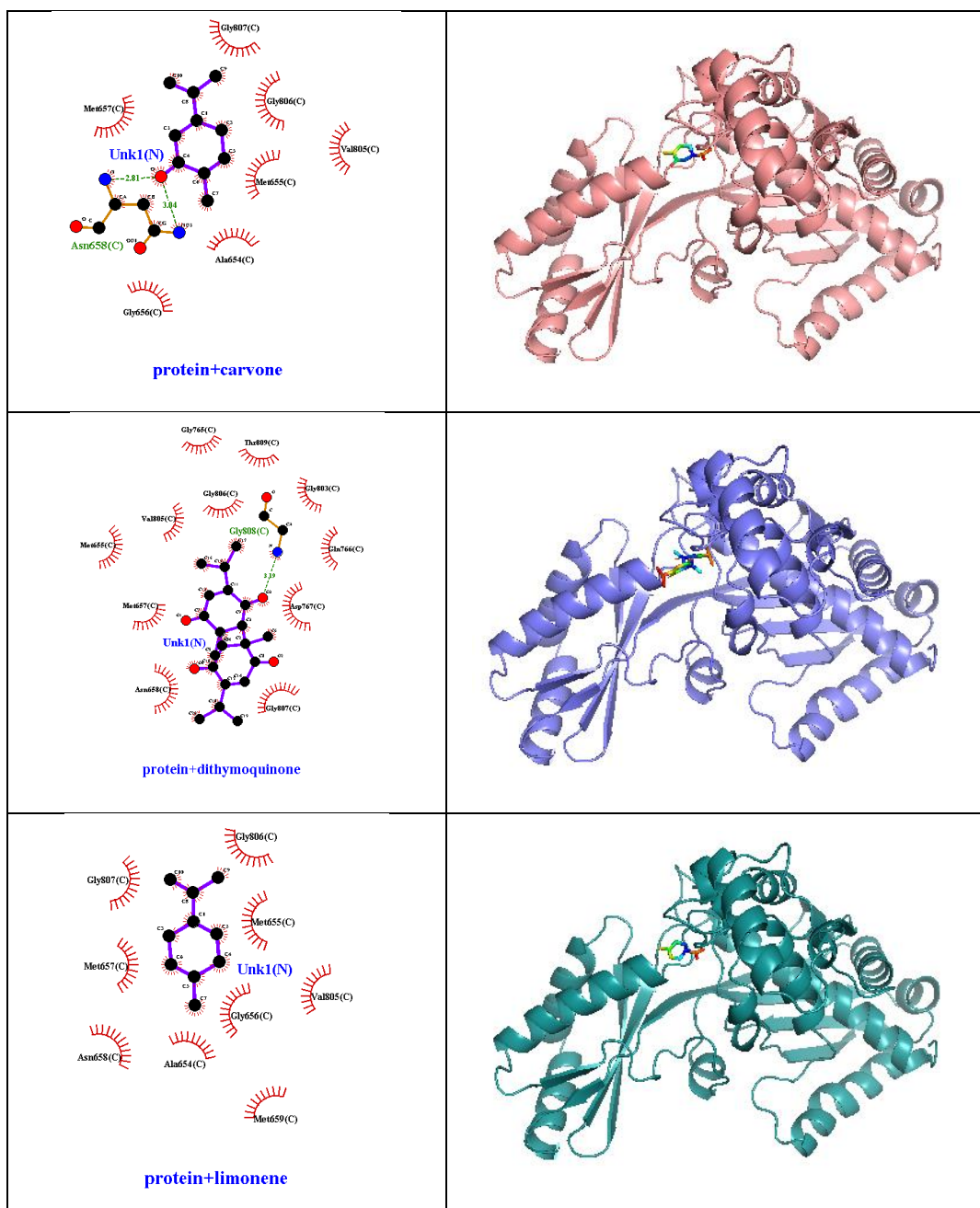
10. Apabila proses docking berhasil, maka hasil yang ditampilkan seperti berikut.

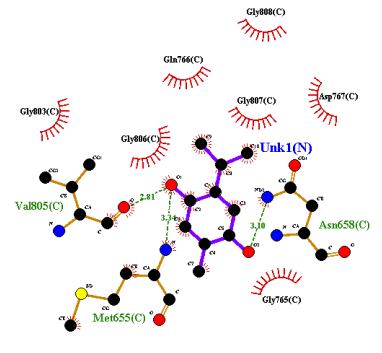
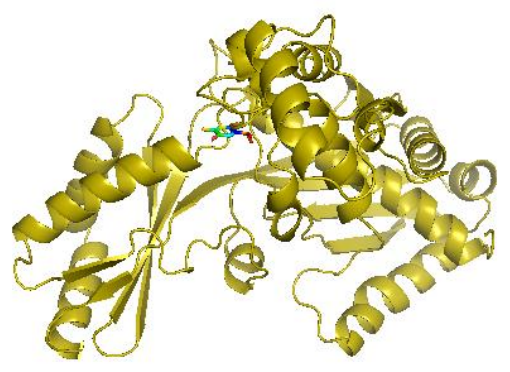
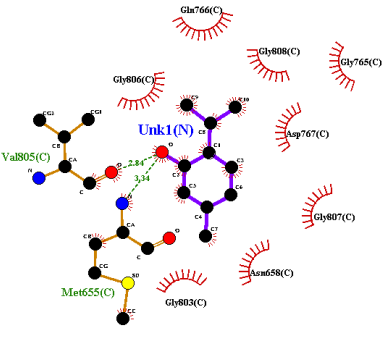
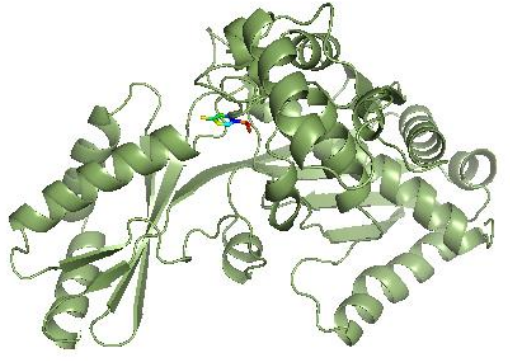
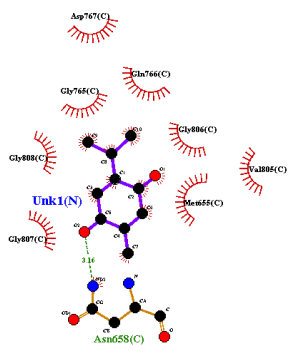
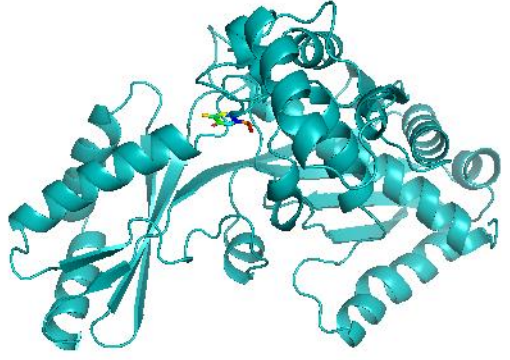


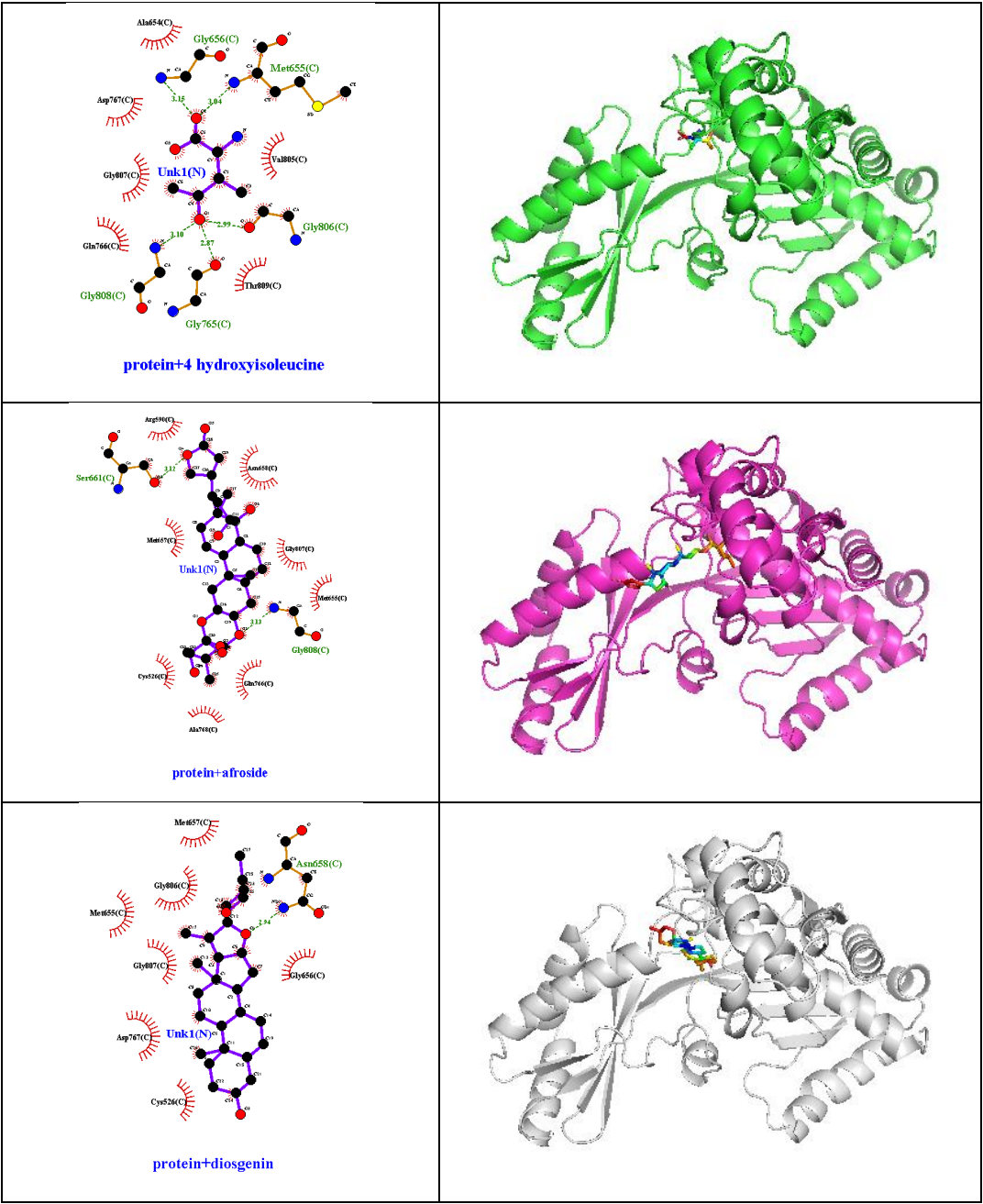
Sumber : Dokumentasi Pribadi (2021)

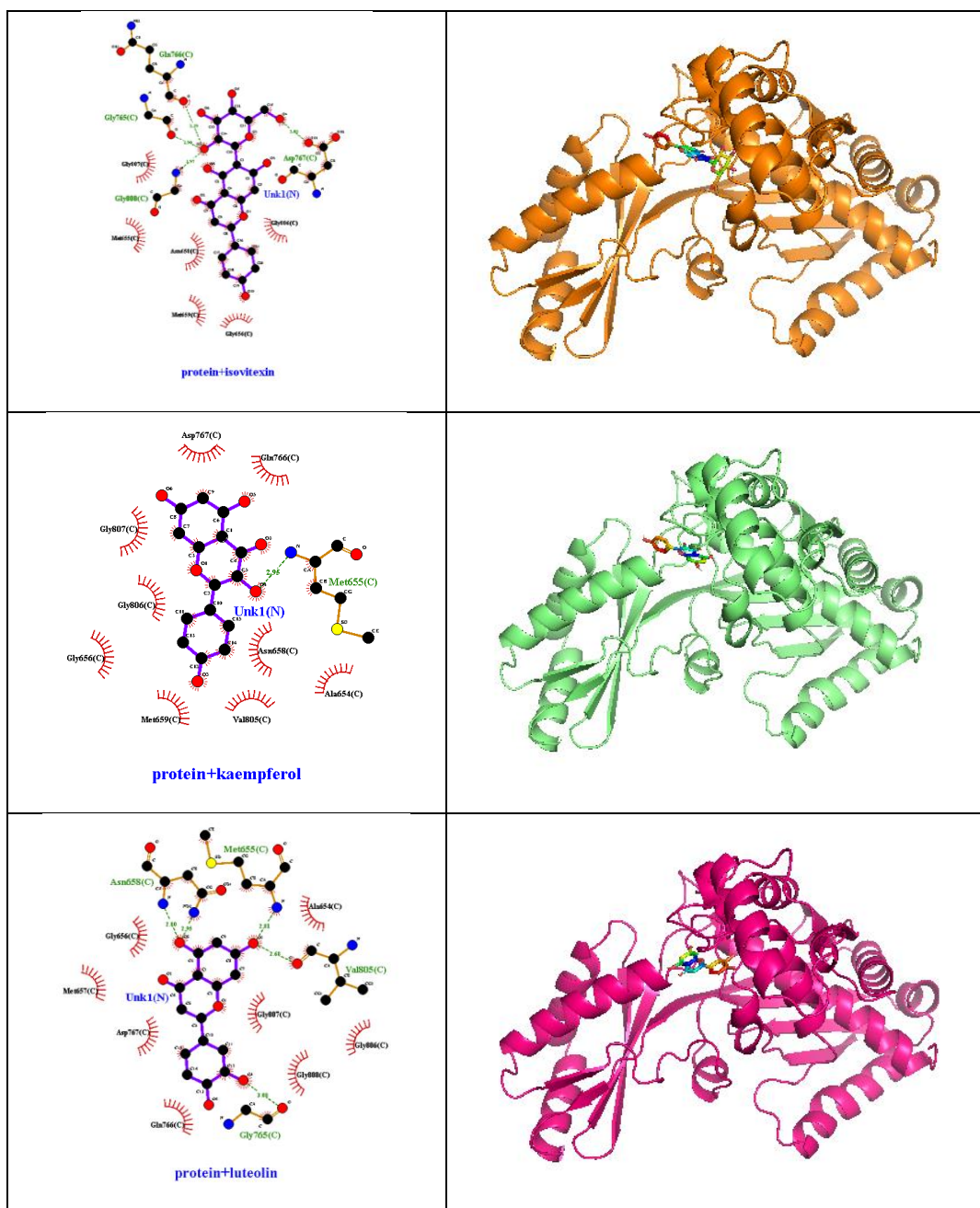
# Lampiran 12. Visualisasi 2D dan 3D Hasil Docking

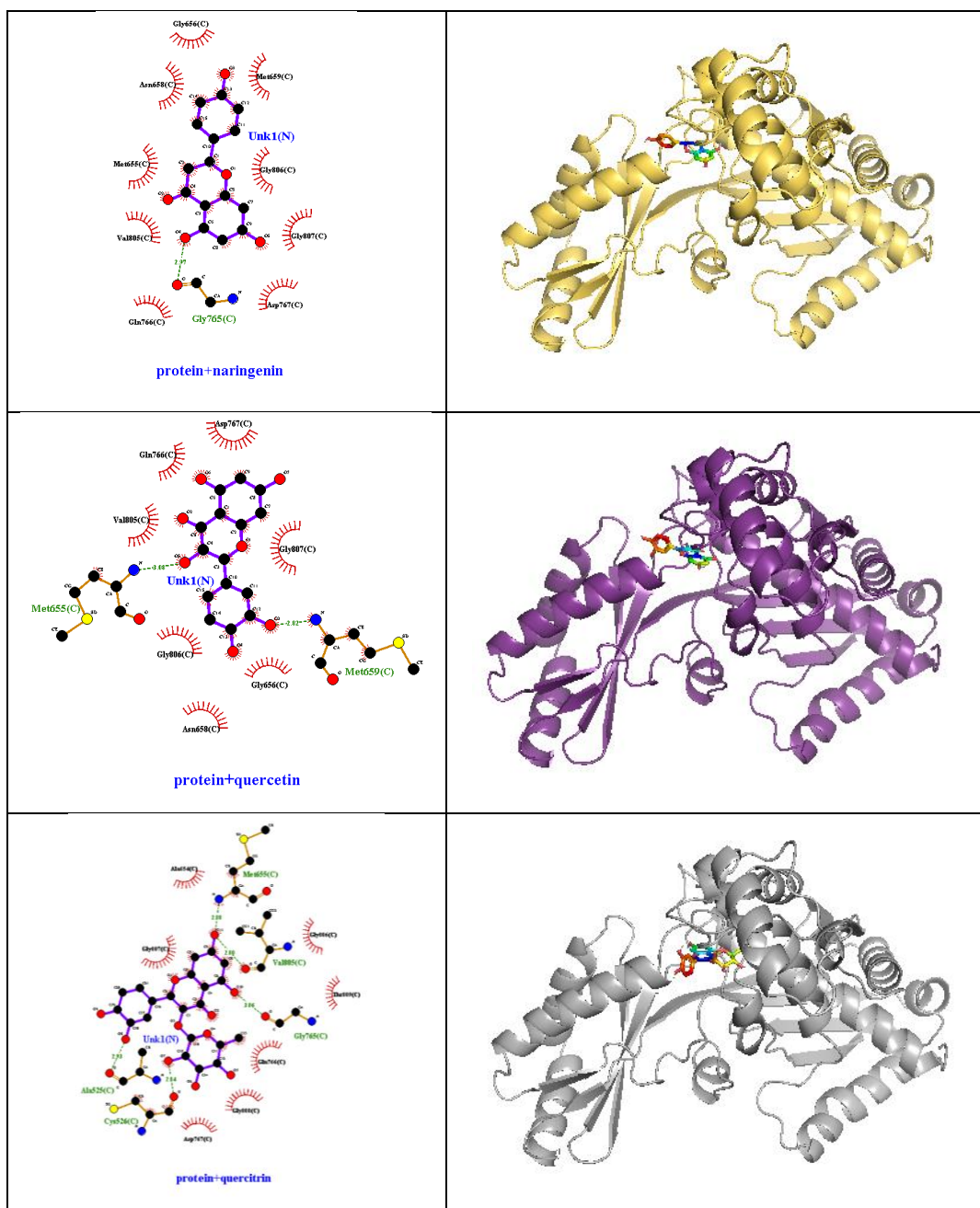
| 2D                                                                                                            | 3D                                                                                   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Kontrol                                                                                                       |                                                                                      |
|  <p>protein+simvastatin</p>  |    |
| <i>Nigella sativa</i>                                                                                         |                                                                                      |
|  <p>protein+4 terpineol</p> |   |
|  <p>protein+carvacrol</p>  |  |

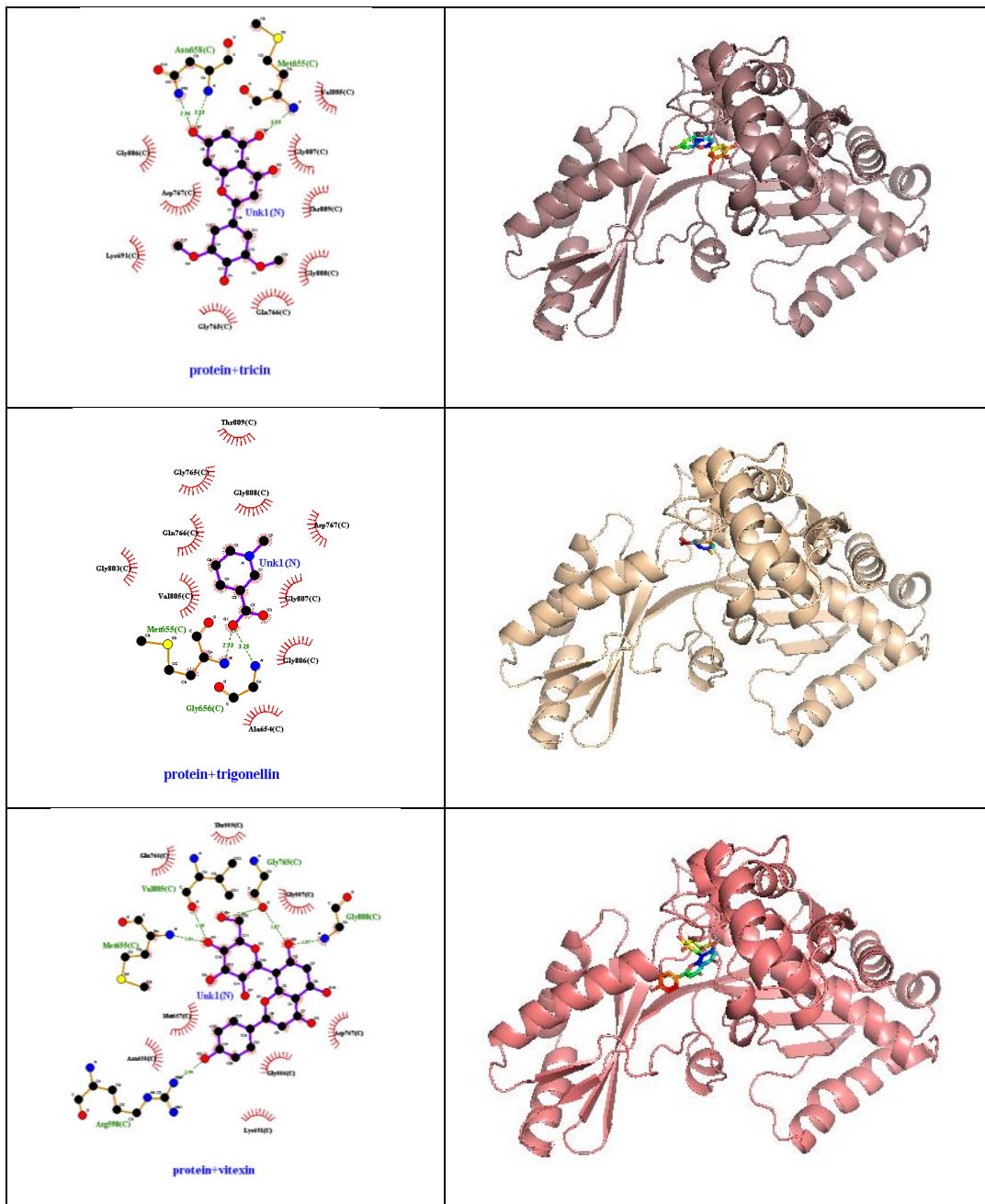


|                                                                                                                    |                                                                                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>protein+thymohydroquinone</p> |    |
|  <p>protein+thymol</p>           |   |
|  <p>protein+thymoquinone</p>    |  |
| <i>Trigonella foenum</i>                                                                                           |                                                                                      |









Sumber : Dokumentasi Pribadi (2021)

**Lampiran 13.** Hasil Ikatan Energi Bebas

| Senyawa               | Model   | Energi bebas | Rmsd/ub | Rmsd/ib |
|-----------------------|---------|--------------|---------|---------|
| Kontrol               |         |              |         |         |
| Simvastatin           | Model 1 | -6.6         | 0       | 0       |
|                       | Model 2 | -6.4         | 1.68    | 1.307   |
|                       | Model 3 | -6.3         | 6.36    | 2.997   |
|                       | Model 4 | -6.1         | 7.384   | 2.531   |
|                       | Model 5 | -6.1         | 6.138   | 2.493   |
|                       | Model 6 | -5.9         | 3.53    | 2.117   |
|                       | Model 7 | -5.9         | 2.516   | 1.624   |
|                       | Model 8 | -5.6         | 6.536   | 2.601   |
|                       | Model 9 | -5.5         | 6.549   | 2.789   |
| <i>Nigella sativa</i> |         |              |         |         |
| 4 Terpineol           | Model 1 | -4.8         | 0       | 0       |
|                       | Model 2 | -4.6         | 5.286   | 3.452   |
|                       | Model 3 | -4.5         | 5.122   | 3.777   |
|                       | Model 4 | -4.3         | 4.253   | 3.084   |
|                       | Model 5 | -4           | 4.145   | 1.151   |
|                       | Model 6 | -4           | 5.39    | 3.85    |
|                       | Model 7 | -4           | 4.66    | 3.111   |
|                       | Model 8 | -3.9         | 3.727   | 2.091   |
|                       | Model 9 | -3.8         | 4.487   | 1.639   |
| Carvacrol             | Model 1 | -4.9         | 0       | 0       |
|                       | Model 2 | -4.9         | 4.079   | 1.273   |
|                       | Model 3 | -4.8         | 2.121   | 1.536   |
|                       | Model 4 | -4.8         | 4.244   | 1.847   |
|                       | Model 5 | -4.7         | 3.555   | 1.674   |
|                       | Model 6 | -4.6         | 3.457   | 2.604   |
|                       | Model 7 | -4.5         | 2.472   | 1.649   |
|                       | Model 8 | -4.3         | 5.11    | 3.285   |

|                   |         |      |       |       |
|-------------------|---------|------|-------|-------|
|                   | Model 9 | -4.2 | 4.945 | 2.89  |
| Carvone           | Model 1 | -5   | 0     | 0     |
|                   | Model 2 | -4.6 | 4.284 | 2.807 |
|                   | Model 3 | -4.6 | 3.536 | 2.343 |
|                   | Model 4 | -4.5 | 4.757 | 2.14  |
|                   | Model 5 | -4.5 | 2.636 | 1.813 |
|                   | Model 6 | -4.4 | 2.469 | 1.323 |
|                   | Model 7 | -4.3 | 5.93  | 3.962 |
|                   | Model 8 | -4.3 | 4.436 | 2.822 |
|                   | Model 9 | -4.3 | 4.594 | 3.009 |
| Dithymoquinone    | Model 1 | -5.8 | 0     | 0     |
|                   | Model 2 | -5.7 | 4.721 | 2.099 |
|                   | Model 3 | -5.7 | 4.05  | 2.025 |
|                   | Model 4 | -5.6 | 2.739 | 2.222 |
|                   | Model 5 | -5.3 | 6.314 | 1.455 |
|                   | Model 6 | -5.3 | 6.168 | 1.987 |
|                   | Model 7 | -5.3 | 4.319 | 3.296 |
|                   | Model 8 | -5.2 | 5.333 | 2.862 |
|                   | Model 9 | -5.1 | 6.546 | 3.808 |
| Limonene          | Model 1 | -4.4 | 0     | 0     |
|                   | Model 2 | -4.3 | 2.554 | 1.14  |
|                   | Model 3 | -4.2 | 5.117 | 2.342 |
|                   | Model 4 | -4.2 | 4.419 | 2.919 |
|                   | Model 5 | -4.2 | 4.64  | 1.031 |
|                   | Model 6 | -4.2 | 5.339 | 2.282 |
|                   | Model 7 | -4.2 | 3.81  | 2.471 |
|                   | Model 8 | -4.1 | 5.082 | 1.364 |
|                   | Model 9 | -4.1 | 5.241 | 3.638 |
| Thymohydroquinone | Model 1 | -5.2 | 0     | 0     |
|                   | Model 2 | -5.1 | 4.625 | 1.134 |

|                          |         |      |       |       |
|--------------------------|---------|------|-------|-------|
|                          | Model 3 | -5.1 | 3.928 | 1.216 |
|                          | Model 4 | -4.9 | 4.051 | 2.181 |
|                          | Model 5 | -4.7 | 2.156 | 1.575 |
|                          | Model 6 | -4.6 | 3.108 | 1.273 |
|                          | Model 7 | -4.6 | 4.003 | 1.992 |
|                          | Model 8 | -4.6 | 4.593 | 2.893 |
|                          | Model 9 | -4.5 | 4.667 | 2.649 |
| Thymol                   | Model 1 | -5   | 0     | 0     |
|                          | Model 2 | -5   | 4.019 | 1.024 |
|                          | Model 3 | -4.7 | 3.396 | 2.348 |
|                          | Model 4 | -4.6 | 1.968 | 1.291 |
|                          | Model 5 | -4.6 | 3.916 | 2.456 |
|                          | Model 6 | -4.5 | 4.512 | 1.837 |
|                          | Model 7 | -4.4 | 3.853 | 2.097 |
|                          | Model 8 | -4.1 | 2.023 | 1.439 |
|                          | Model 9 | -4   | 5.048 | 3.512 |
| Thymoquinone             | Model 1 | -5.1 | 0     | 0     |
|                          | Model 2 | -5.1 | 3.033 | 1.949 |
|                          | Model 3 | -5   | 4.844 | 0.716 |
|                          | Model 4 | -5   | 3.756 | 2.166 |
|                          | Model 5 | -4.9 | 3.996 | 1.907 |
|                          | Model 6 | -4.9 | 3.986 | 1.327 |
|                          | Model 7 | -4.4 | 4.766 | 1.464 |
|                          | Model 8 | -4.4 | 4.294 | 2.527 |
|                          | Model 9 | -4.2 | 4.513 | 2.853 |
| <i>Trigonella foenum</i> |         |      |       |       |
| 4-Hydroxyisoleucine      | Model 1 | -4.8 | 0     | 0     |
|                          | Model 2 | -4.6 | 3.739 | 1.636 |
|                          | Model 3 | -4.2 | 4.22  | 1.809 |
|                          | Model 4 | -4.2 | 2.2   | 1.558 |

|            |         |      |        |        |
|------------|---------|------|--------|--------|
|            | Model 5 | -3.9 | 4.117  | 2.954  |
|            | Model 6 | -3.9 | 4.47   | 2.475  |
|            | Model 7 | -3.8 | 3.206  | 2.433  |
|            | Model 8 | -3.8 | 4.135  | 3.166  |
|            | Model 9 | -3.8 | 3.001  | 2.385  |
| Afroside   | Model 1 | -7   | 0      | 0      |
|            | Model 2 | -6.4 | 10.468 | 1.81   |
|            | Model 3 | -6.3 | 5.918  | 3.896  |
|            | Model 4 | -6.2 | 3.979  | 2.784  |
|            | Model 5 | -6.1 | 10.618 | 2.852  |
|            | Model 6 | -6.1 | 9.436  | 4.947  |
|            | Model 7 | -5.9 | 6.155  | 3.933  |
|            | Model 8 | -5.8 | 10.974 | 7.998  |
|            | Model 9 | -5.8 | 7.719  | 4.215  |
| Diosgenin  | Model 1 | -7.4 | 0      | 0      |
|            | Model 2 | -6.6 | 1.952  | 1.499  |
|            | Model 3 | -6.4 | 9.241  | 1.594  |
|            | Model 4 | -6.4 | 8.377  | 5.593  |
|            | Model 5 | -6.2 | 14.254 | 12.545 |
|            | Model 6 | -6.2 | 9.155  | 2.293  |
|            | Model 7 | -6.1 | 7.229  | 5.333  |
|            | Model 8 | -5.9 | 9.151  | 2.558  |
|            | Model 9 | -5.9 | 9.269  | 1.902  |
| Isovitexin | Model 1 | -7.3 | 0      | 0      |
|            | Model 2 | -7   | 1.35   | 1.084  |
|            | Model 3 | -6.7 | 3.487  | 1.905  |
|            | Model 4 | -6.7 | 2.645  | 1.23   |
|            | Model 5 | -6.6 | 5.181  | 3.01   |
|            | Model 6 | -6.6 | 10.671 | 7.197  |
|            | Model 7 | -6.6 | 9.426  | 2.633  |

|            |         |      |       |       |
|------------|---------|------|-------|-------|
|            | Model 8 | -6.4 | 10.29 | 4.025 |
|            | Model 9 | -6.3 | 6.031 | 4.017 |
| Kaempferol | Model 1 | -7   | 0     | 0     |
|            | Model 2 | -6.7 | 6.886 | 2.179 |
|            | Model 3 | -6.5 | 7.298 | 2.407 |
|            | Model 4 | -6.5 | 6.329 | 2.723 |
|            | Model 5 | -6.4 | 5.963 | 2.622 |
|            | Model 6 | -6.1 | 5.775 | 2.982 |
|            | Model 7 | -6   | 2.199 | 1.438 |
|            | Model 8 | -6   | 7.466 | 3.128 |
|            | Model 9 | -6   | 6.072 | 3.603 |
| Luteolin   | Model 1 | -7.2 | 0     | 0     |
|            | Model 2 | -7   | 6.98  | 2.462 |
|            | Model 3 | -7   | 2.756 | 1.197 |
|            | Model 4 | -6.7 | 6.896 | 1.316 |
|            | Model 5 | -6.6 | 6.744 | 2.194 |
|            | Model 6 | -6.5 | 6.47  | 2.443 |
|            | Model 7 | -6.5 | 5.255 | 3.101 |
|            | Model 8 | -6.5 | 2.496 | 1.816 |
|            | Model 9 | -6.5 | 5.659 | 2.844 |
| Naringenin | Model 1 | -6.8 | 0     | 0     |
|            | Model 2 | -6.7 | 6.954 | 2.179 |
|            | Model 3 | -6.7 | 6.181 | 3.67  |
|            | Model 4 | -6.7 | 7.613 | 3.222 |
|            | Model 5 | -6.6 | 7.492 | 2.469 |
|            | Model 6 | -6.3 | 6.246 | 2.779 |
|            | Model 7 | -6.2 | 5.315 | 2.696 |
|            | Model 8 | -6.2 | 5.982 | 2.865 |
|            | Model 9 | -6.2 | 5.58  | 3.161 |
| Quercetin  | Model 1 | -7.1 | 0     | 0     |

|             |         |      |       |       |
|-------------|---------|------|-------|-------|
|             | Model 2 | -6.7 | 7.133 | 2.139 |
|             | Model 3 | -6.7 | 6.565 | 2.813 |
|             | Model 4 | -6.6 | 7.642 | 2.488 |
|             | Model 5 | -6.4 | 6.269 | 2.766 |
|             | Model 6 | -6.4 | 5.925 | 3.069 |
|             | Model 7 | -6.3 | 7.744 | 3.147 |
|             | Model 8 | -6.2 | 5.75  | 3.496 |
|             | Model 9 | -6.1 | 5.851 | 3.662 |
| Quercitrin  | Model 1 | -7.2 | 0     | 0     |
|             | Model 2 | -6.9 | 2.125 | 1.135 |
|             | Model 3 | -6.8 | 5.03  | 2.087 |
|             | Model 4 | -6.7 | 4.835 | 1.556 |
|             | Model 5 | -6.7 | 4.795 | 1.494 |
|             | Model 6 | -6.5 | 1.69  | 1.16  |
|             | Model 7 | -6.2 | 6.151 | 2.674 |
|             | Model 8 | -6   | 5.276 | 2.401 |
|             | Model 9 | -6   | 6.158 | 1.693 |
| Tricin      | Model 1 | -6.9 | 0     | 0     |
|             | Model 2 | -6.9 | 2.652 | 0.258 |
|             | Model 3 | -6.8 | 7.832 | 1.493 |
|             | Model 4 | -6.7 | 7.509 | 1.324 |
|             | Model 5 | -6.5 | 2.733 | 1.464 |
|             | Model 6 | -6.5 | 3.841 | 1.533 |
|             | Model 7 | -6.5 | 3.864 | 1.842 |
|             | Model 8 | -6.5 | 3.5   | 1.895 |
|             | Model 9 | -6.3 | 2.758 | 1.308 |
| Trigonellin | Model 1 | -5   | 0     | 0     |
|             | Model 2 | -4.6 | 2.137 | 0.969 |
|             | Model 3 | -4.6 | 3.877 | 2.727 |
|             | Model 4 | -4.5 | 4.206 | 2.836 |

|         |         |      |       |       |
|---------|---------|------|-------|-------|
|         | Model 5 | -4.4 | 2.469 | 1.983 |
|         | Model 6 | -4.2 | 4.193 | 2.932 |
|         | Model 7 | -4.1 | 3.064 | 2.147 |
|         | Model 8 | -3.9 | 3.006 | 2.093 |
|         | Model 9 | -3.8 | 4.03  | 3.089 |
| Vitexin | Model 1 | -7.5 | 0     | 0     |
|         | Model 2 | -7.5 | 6.841 | 2.513 |
|         | Model 3 | -7.4 | 6.682 | 2.87  |
|         | Model 4 | -7.3 | 7.233 | 1.933 |
|         | Model 5 | -7.3 | 6.448 | 1.792 |
|         | Model 6 | -7.2 | 7.249 | 2.102 |
|         | Model 7 | -6.8 | 6.671 | 1.696 |
|         | Model 8 | -6.7 | 5.6   | 1.706 |
|         | Model 9 | -6.4 | 6.375 | 3.173 |



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

Jl. Gajayana 50 Malang 65144 Telp./ Fax. (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 : Siti Shofa Maulida Nur  
 Nim : 17620007  
 Program Studi : Biologi  
 Pembimbing : Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si  
 Judul Skripsi : Pengaruh Kombinasi Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Klabet (*Trigonella foenum*) Terhadap Total Kolesterol Mencit (*Mus musculus*) Diinduksi *Streptozotocin* Serta Penghambatan Enzim HMG-Koa Reduktase

| No. | Tanggal          | Uraian Konsultasi                  | TTD Pembimbing |
|-----|------------------|------------------------------------|----------------|
| 1.  | 14 Januari 2021  | Konsultasi Judul Penelitian        | 1.             |
| 2.  | 27 Januari 2021  | Konsultasi Rancangan Penelitian I  | 2.             |
| 3.  | 12 Februari 2021 | Konsultasi Rancangan Penelitian II | 3.             |
| 4.  | 16 April 2021    | Konsultasi BAB I                   | 4.             |
| 5.  | 16 April 2021    | Konsultasi BAB II                  | 5.             |
| 6.  | 16 April 2021    | Konsultasi BAB III                 | 6.             |
| 7.  | 04 Mei 2021      | Revisi BAB I, II, III              | 7.             |
| 8.  | 06 Mei 2021      | Acc Proposal                       | 8.             |
| 9.  | 19 November 2021 | Konsultasi BAB IV dan BAB V        | 9.             |
| 10. | 24 November 2021 | Revisi BAB IV dan BAB V            | 10.            |
| 11. | 29 November 2021 | Acc Laporan Skripsi                | 11.            |

Pembimbing Skripsi,

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



Malang, 29 November 2021  
 Ketua Program Studi Biologi

**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P**  
 NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana 50 Malang 65144 Telp / Fax. (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 : Siti Shofa Maulida Nur  
Nim : 17620007  
Program Studi : Biologi  
Pembimbing : Mujahidin Ahmad, M.Sc  
Judul Skripsi : Pengaruh Kombinasi Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Dan Klabet (*Trigonella foenum*) Terhadap Total Kolesterol Mencit (*Mus musculus*) Diinduksi *Streptozotocin* Serta Penghambatan Enzim HMG-Koa Reduktase

| No. | Tanggal          | Uraian Konsultasi                          | TTD Pembimbing |
|-----|------------------|--------------------------------------------|----------------|
| 1.  | 24 April 2021    | Konsultasi Integrasi Ayat BAB I dan BAB II | 1.             |
| 2.  | 4 Mei 2021       | Revisi Integrasi Ayat BAB I dan BAB II     | 2.             |
| 3.  | 5 Mei 2021       | Acc Proposal                               | 3.             |
| 4.  | 19 November 2021 | Konsultasi Integrasi Ayat BAB IV           | 4.             |
| 5.  | 22 November 2021 | Konsultasi Integrasi Ayat BAB IV           | 5.             |
| 6.  | 24 November 2021 | Acc Laporan Skripsi                        | 6.             |

Pembimbing Skripsi,

**Mujahidin Ahmad, M.Sc**  
NIP. 19860512 201903 1 002



Malang, 29 November 2021  
Ketua Program Studi Biologi

**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P**  
NIP. 19741018 200312 2 002



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)

#### Form Checklist Plagiasi

Nama : Siti Shofa Maulida Nur  
NIM : 17620007  
Judul : Pengaruh Kombinasi Ekstrak Jintan Hitam  
(*Nigella sativa*) dan Klabet (*Trigonella Foenum*)  
Terhadap Total Kolesterol Mencit (*Mus  
musculus*) Diinduksi Streptozotocin serta  
Penghambatan Enzim HMG-Koa Reduktase

| N<br>o | Tim Cek Plagiasi                            | Tgl Cek                | Skor<br>Plagiasi | TTD |
|--------|---------------------------------------------|------------------------|------------------|-----|
| 1      | Azizatur Rohmah, M.Sc                       |                        |                  |     |
| 2      | Berry Fakhry Hanifa, M.Sc                   | 30<br>November<br>2021 | 18 %             |     |
| 3      | Bayu Agung Prahardika, M.Si                 |                        |                  |     |
| 4      | Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc              |                        |                  |     |
| 5      | Maharani Retna Duhita, M.Sc.,<br>PhD.Med.Sc |                        |                  |     |

Mengetahui

Ketua Program Studi Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.

NIP. 19741018 200312 2 002

12/22/2021

[https://siakad.uin-malang.ac.id/jurusan/print\\_jurnal\\_bimbingan\\_tugas\\_akhir.php?c](https://siakad.uin-malang.ac.id/jurusan/print_jurnal_bimbingan_tugas_akhir.php?c)

**KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG**

Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon  
(0341)551354, Fax. (0341) 572533  
Website: <http://www.uin-malang.ac.id>  
Email: [info@uin-malang.ac.id](mailto:info@uin-malang.ac.id)

**JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/ TESIS/ DISERTASI**

**IDENTITAS MAHASISWA**

NIM : 17620007  
Nama : SITI SHOFA MAULIDA NUR  
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI  
Jurusan : BIOLOGI  
Dosen Pembimbing 1 : Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI, M.Si  
Dosen Pembimbing 2 : MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc  
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi :

Pengaruh Kombinasi Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Klabat (*Trigonella Foenum*) Terhadap Total Kolesterol Mencit (*Mus musculus*) Diinduksi Streptozotocin serta Penghambatan Enzim HMG-Koa Reduktase

**IDENTITAS BIMBINGAN**

| No | Tanggal Bimbingan | Nama Pembimbing                  | Deskripsi Bimbingan                | Tahun Akademik  | Status          |
|----|-------------------|----------------------------------|------------------------------------|-----------------|-----------------|
| 1  | 2021-01-14        | Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI, M.Si | Konsultasi Judul Penelitian        | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |
| 2  | 2021-01-27        | Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI, M.Si | Konsultasi Rancangan Penelitian I  | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |
| 3  | 2021-04-16        | Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI, M.Si | Konsultasi Rancangan Penelitian II | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |
| 4  | 2021-04-16        | Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI, M.Si | Konsultasi BAB I                   | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |
| 5  | 2021-04-16        | Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI, M.Si | Konsultasi BAB II                  | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |
| 6  | 2021-04-16        | Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI, M.Si | Konsultasi BAB III                 | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |

2/22/2021

[https://siakad.uin-malang.ac.id/jurusan/print\\_jurnal\\_bimbingan\\_tugas\\_akhir.php?c](https://siakad.uin-malang.ac.id/jurusan/print_jurnal_bimbingan_tugas_akhir.php?c)

|    |            |                                  |                                             |                 |                 |
|----|------------|----------------------------------|---------------------------------------------|-----------------|-----------------|
| 7  | 2021-04-24 | MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc            | Konsultasi Integrasi Ayat BAB I dan BAB II  | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |
| 8  | 2021-05-04 | Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI, M.Si | Revisi BAB I, BAB II, dan BAB III           | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |
| 9  | 2021-05-04 | MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc            | Revisi Integrasi Ayat BAB I dan BAB II      | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |
| 10 | 2021-05-05 | MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc            | ACC Proposal                                | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |
| 11 | 2021-05-06 | Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI, M.Si | ACC Proposal                                | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |
| 12 | 2021-11-19 | Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI, M.Si | Konsultasi BAB IV dan BAB V                 | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |
| 13 | 2021-11-19 | MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc            | Konsultasi Integrasi Ayat BAB IV            | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |
| 14 | 2021-11-22 | MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc            | Revisi dan Konsultasi Integrasi Ayat BAB IV | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |
| 15 | 2021-11-24 | Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI, M.Si | Revisi BAB IV dan BAB V                     | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |
| 16 | 2021-11-24 | MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc            | ACC Laporan Skripsi                         | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |
| 17 | 2021-11-29 | Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI, M.Si | ACC Laporan Skripsi                         | 2020/2021 Genap | Sudah Dikoreksi |

Telah disetujui  
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Malang : 22 Desember 2021

Dosen Pembimbing 1

Dosen Pembimbing 2

Prof Dr. RETNO SUSILOWATI, M.Si

MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc



Kajur / Kaprodi