

**STUDI *IN VIVO* DAN *IN SILICO* PENGARUH EKSTRAK BENALU  
MANGGA DAN KOMBINASI EKSTRAK BENALU TEH DAN BENALU  
MANGGA TERHADAP KADAR SUPEROXIDE DISMUTASE DAN  
MALONDIALDEHYDE SERUM TIKUS HIPERTENSI**

**SITI QURROTUL AINI  
NIM. 210602210006**



**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2023**

**STUDI *IN VIVO* DAN *IN SILICO* PENGARUH EKSTRAK BENALU  
MANGGA DAN KOMBINASI EKSTRAK BENALU TEH DAN BENALU  
MANGGA TERHADAP KADAR SUPEROXIDE DISMUTASE DAN  
MALONDIALDEHYDE SERUM TIKUS HIPERTENSI**

**TESIS**

**Oleh:  
SITI QURROTUL AINI  
NIM. 210602210006**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Magister Sains (M.Si)**

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2023**

**STUDI *IN VIVO* DAN *IN SILICO* PENGARUH EKSTRAK BENALU MANGGA DAN KOMBINASI EKSTRAK BENALU TEH DAN BENALU MANGGA TERHADAP KADAR SUPEROXIDE DISMUTASE DAN MALONDIALDEHYDE SERUM TIKUS HIPERTENSI**

**TESIS**

Oleh:  
**SITI QURROTUL AINI**  
**NIM. 210602210006**

**Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji**  
**Tanggal 21 Juni 2023**

**Dosen Pembimbing I**



**Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchatromah, M.Si**  
**NIP. 197109192000032001**

**Dosen Pembimbing II**



**Dr. Nour Athiroh A. S, S.SI., M.Kes**  
**NIP. 1969071722005012001**

**Mengetahui,**

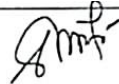
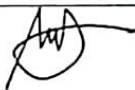

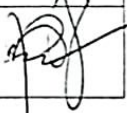
**Wali Program Studi Magister Biologi,**  


**Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchatromah, M.Si**  
**NIP. 197109192000032001**

**STUDI *IN VIVO* DAN *IN SILICO* PENGARUH EKSTRAK BENALU  
MANGGA DAN KOMBINASI EKSTRAK BENALU TEH DAN BENALU  
MANGGA TERHADAP KADAR SUPEROXIDE DISMUTASE DAN  
MALONDIALDEHYDE SERUM TIKUS HIPERTENSI**

**TESIS**

**Oleh:  
SITI QURROTUL AINI  
NIM. 210602210006**

<b>Penguji Utama</b>	<b>Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si NIP. 196711131994022001</b>	
<b>Ketua Penguji</b>	<b>Dr. Zainabur Rahmah, M.Si NIDT. 19810207201701012122</b>	
<b>Sekretaris Penguji</b>	<b>Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchatromah, M.Si NIP. 197109192000032001</b>	
<b>Anggota Penguji</b>	<b>Dr. Nour Athiroh A. S, S.SI., M.Kes NIP. 1969071722005012001</b>	

Mengesahkan,

No. 100/2021 Studi Magister Biologi  
Maulana Malik Ibrahim Malang



**Prof. Dr. Bayyinatul Muchatromah, M.Si  
NIP. 197109192000032001**

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Siti Qurrotul Aini

NPM : 210602210006

Program Studi : Magister Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Studi *In Vivo* dan *In Silico* Pengaruh Ekstrak Benalu Mangga dan Kombinasi Ekstrak Benalu Teh dan Benalu Mangga Terhadap Kadar Superoxide Dismutase dan Malondialdehyde Serum Tikus Hipertensi

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

Malang,  
yang membuat pernyataan



Siti Qurrotul Aini  
NIM. 210602210006

## **PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS**

Tesis 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.

## MOTTO

لَا يُكَلِّفُ اللَّهُ نَفْسًا إِلَّا وُسْعَهَا

*“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”*  
Al-Baqarah: 286

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

*“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”*  
Al-Insyirah: 5

خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمْ لِلنَّاسِ

*“Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia”*  
(HR. Ahmad)

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum warahmatullaahi wabarakaatuh*

*Alhamdulillah* kepada kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan berkat, rahmat dan hidayah-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan naskah proposal saya dengan judul " Studi *In Vivo* dan *In Silico* Pengaruh Ekstrak Benalu Mangga dan Kombinasi Ekstrak Benalu Teh dan Benalu Mangga Terhadap Kadar Superoxide Dismutase dan Malondialdehyde Serum Tikus Hipertensi.

Keberhasilan penulisan tesis ini tidak lepas dari bimbingan, arahan dan bantuan dari berbagai pihak. Bantuan yang diberikan baik berupa pikiran, motivasi, tenaga, maupun do'a. Karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M.A., selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan seluruh jajarannya.
2. Dr. Sri Harini, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan seluruh jajarannya.
3. Prof. Dr. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Ketua Program Studi Magister Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus sebagai Dosen Pembimbing I.
4. Dr. Nour Athiroh Abdoes Sjakoer, S.Si., M.Kes selaku Dosen Pembimbing II Program Studi Magister Biologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd selaku dosen wali dari Program Studi Magister Biologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Komisi Kelaiakan Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah memberikan izin penelitian, sesuai dengan surat Kelaiakan Etik Penelitian dengan Nomor: 006/LE.001/IV/03/2020.
7. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengampu mata kuliah yang selama ini telah mengajarkan pengetahuan dan banyak hal bermanfaat lainnya selama perkuliahan, beserta seluruh laboran dan staf Program Studi Magister Biologi.
8. Kedua orang tua, suami, adik-adikku tercinta yang tiada hentinya selalu mendoakan dan memberikan support.
9. Seluruh teman-teman yang tiada hentinya memberikan support dan bantuannya.

Semoga Allah memberi balasan atas bantuan dan pemikirannya. Sebagai akhir kata, penulis berharap skripsi ini memberikan manfaat bagi penulis dan khususnya bagi para pembaca. *Aamiin Yaa Rabbal 'Aalamiin*

*Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Malang, 25 Februari 2023

Penulis

viii



**Studi *In Vivo* dan *In Silico* Pengaruh Ekstrak Benalu Mangga dan Kombinasi Ekstrak Benalu Teh dan Benalu Mangga terhadap Kadar Superoxide Dismutase dan Malondialdehyde Serum Tikus Hipertensi**

Siti Qurrotul Aini, Bayyinatul Muchtaromah, Nour Athiroh Abdoes Sjafoer

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

**ABSTRAK**

Hipertensi adalah gangguan sistem peredaran darah yang menyebabkan kenaikan tekanan darah diatas nilai normal. Salah satu penyebab hipertensi adalah stress oksidasi yaitu meningkatnya radikal bebas yang ditandai dengan MDA dan mengurangi antioksidan endogen seperti SOD. Benalu teh dan benalu mangga memiliki senyawa aktif utama flavonoid yang berpotensi sebagai antihipertensi, dan antioksidan, sehingga dapat mengurangi terbentuknya radikal bebas. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak benalu mangga (EBM) dan kombinasi ekstrak benalu teh dan benalu mangga (EBTBM) terhadap kadar SOD dan MDA serum pada tikus hipertensi, dan untuk mengetahui potensi dalam mengaktifkan Nrf2 dan menghambat enzim COX 2. Penelitian ini menggunakan RAL dengan 8 perlakuan. Perlakuan yang digunakan yaitu K- (tikus normal), K+ (tikus hipertensi), P1 (EBM 50 mg/kgBB), P2 (EBM 100 mg/kgBB), P3 (EBM 200 mg/kgBB), P4 (EBTBM 50 mg/kgBB), P5 (EBTBM 100 mg/kgBB), dan P6 (EBTBM 200 mg/kgBB). Hewan coba adalah tikus putih galur wistar berumur 6-8 minggu. Data dianalisis menggunakan *One Way Anova* dan DMRT. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan EBTBM 50 mg/kgBB memiliki hasil paling baik dalam meningkatkan kadar SOD serum dan menurunkan kadar MDA serum. Hasil *in silico* senyawa morin berpotensi sangat baik dalam mengaktifkan Nrf2 karena nilai *binding affinity* -10.4, memiliki interaksi dengan Nrf2 melalui ikatan hidrogen yang sama dengan yang terjadi pada native ligand dan Nrf2, yaitu Val465. Senyawa luteolin berpotensi sangat baik dalam menghambat COX 2, karena memiliki nilai *binding affinity* -9.4, memiliki interaksi dengan COX 2 melalui ikatan hidrogen yang sama dengan yang terjadi pada native ligand dan COX 2, yaitu Cys32 dan Gly121.

Kata kunci: Benalu mangga, Benalu teh, COX 2, Flavonoid, Hipertensi, *In silico*, MDA, Nrf2, SOD.

# **In Vivo and In Silico Studies Effect of Mango Mistletoe Extract and Combination of Tea and Mango Mistletoe Extract on Superoxide Dismutase and Malondialdehyde Serum Levels of Hypertensive Rats**

Siti Qurrotul Aini, Bayyinatul Muchtaromah, Nour Athiroh Abdoes Sjakoe

## **ABSTRACT**

Departement of Magister Biology, Faculty of Science and Technology, Islamic State University of Maulana Malik Ibrahim Malang

Hypertension is a circulatory system disorder that causes an increase in blood pressure above normal values. One of the causes of hypertension is oxidative stress, namely increased free radicals characterized by MDA and reduced endogenous antioxidants such as SOD. The tea parasite and mango parasite have the main active compound flavonoids which have the potential as antihypertensives and antioxidants, so they can reduce the formation of free radicals. The purpose of this study was to determine the effect of mango parasite extract (EBM) and a combination of tea parasite extract and mango parasite (ETBBM) on serum SOD and MDA levels in hypertensive rats and to determine their potential to activate Nrf2 and inhibit COX 2 enzymes. This study used RAL with 8 treatments. The treatments used were K- (normal rats), K+ (hypertensive rats), P1 (EBM 50 mg/kgBW), P2 (EBM 100 mg/kgBW), P3 (EBM 200 mg/kgBW), P4 (EBTBM 50 mg/kgBW), P5 (EBTBM 100 mg/kgBW), and P6 (EBTBM 200 mg/kgBW). The experimental animals were white Wistar rats aged 6-8 weeks. Data were analyzed using One Way Anova and DMRT. The results showed that the 50 mg/kgBB EBTBM treatment had the best results in increasing serum SOD levels and decreasing serum MDA levels. The *in silico* results of the morin compound has the potential to be very good at activating Nrf2 because the binding affinity value is -10.4, it has interactions with Nrf2 through the same hydrogen bonding as that which occurs with the native ligand and Nrf2, namely Val465. The luteolin compound has the potential to be very good at inhibiting COX 2 because it has a binding affinity value of -9.4, and has interactions with COX 2 through the same hydrogen bonding that occurs with native ligands and COX 2, namely Cys32 and Gly121.

Keywords: Mango parasite, tea parasite, COX 2, Flavonoids, Hypertension, In silico, MDA, Nrf2, SOD.

## في دراسات فيفو وفي سيليكو تأثير مستخلص المانجو ميستلتو ومزيج من مستخلص الشاي والمانجو الهذال على مستويات مصل سوبروكسيد ديسموتاز ومالونديالدهيد للفئران التي تعاني من ارتفاع ضغط الدم

سيدي قرط العيني ، بيناتول المشرومة ، نور أثيروه عبده سجاكور

برنامج دراسة الماجستير في علم الأحياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا ، جامعة الولاية الإسلامية مولانا مالك إبراهيم مالانج

### خلاصة

ارتفاع ضغط الدم هو اضطراب في الدورة الدموية يؤدي إلى ارتفاع ضغط الدم فوق القيم الطبيعية. أحد وتقليل MDA أسباب ارتفاع ضغط الدم هو الإجهاد التأكسدي ، أي زيادة الجذور الحرة التي تتميز بـ يحتوي طفيلي الشاي وطفيلي المانجو على مركبات الفلافونويد SOD. مضادات الأكسدة الذاتية مثل الرئيسية النشطة والتي لها القدرة على أن تكون مضادات ارتفاع ضغط الدم ومضادات الأكسدة ، لذلك يمكن أن تقلل من تكوين الجذور الحرة. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد تأثير مستخلص طفيلي المانجو و SOD على مستويات مصل (EBTBM) ومزيج من مستخلص طفيلي الشاي وطفيلي المانجو (EBM) COX-2 وتنشيط Nrf2 في الفئران المصابة بارتفاع ضغط الدم ، وتحديد مدى قدرتها على تنشيط MDA (الجرذان) K- مع 8 علاجات. كانت المعالجات المستخدمة هي RAL إنزيمات. استخدمت هذه الدراسة P2 ، (BB مجم /كجم من EBM 50) ، P1 ، (الجرذان المصابة بارتفاع ضغط الدم) + K ، (العادية مجم /كجم EBTBM 50) ، P4 ، (BB مجم /كجم EBM 200) ، P3 ، (BB مجم /كجم EBM 100) كانت (EBTBM 200 mg /kgBB) ، P6 و ، (EBTBM 100 mg / kgBB) ، P5 ، (kgBB). حيوانات التجربة عبارة عن فئران ويستار بيضاء تتراوح أعمارهم بين 6-8 أسابيع. تم تحليل البيانات كان EBTBM أظهرت النتائج أن العلاج 50 مجم /كجم من DMRT و Anova باستخدام طريقة واحدة في الدم. النتائج في السيليكو MDA في الدم وخفض مستويات SOD له أفضل النتائج في زيادة مستويات لأن قيمة تقارب الربط هي -10.4 ، Nrf2 لمركب المورين لديها القدرة على أن تكون جيدة جدًا في تنشيط ، Nrf2 من خلال نفس الرابطة الهيدروجينية التي تحدث مع الترابط الأصلي و Nrf2 لها تفاعلات مع لأنه يحتوي ، COX 2 مركب اللوتولين لديه القدرة على أن يكون جيدًا جدًا في تثبيط Val465. وبالتحديد من خلال نفس الرابطة الهيدروجينية التي COX 2 على قيمة تقارب ملزمة تبلغ -9.4 ، وله تفاعلات مع Gly121 و Cys32 وبالتحديد ، COX 2 تحدث مع الروابط الأصلية و

الكلمات المفتاحية: طفيلي المانجو ، طفيلي الشاي ، COX 2 ، الفلافونويد ، ارتفاع ضغط الدم ، في السيليكو ، MDA، Nrf2، SOD.

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>LEMBAR JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN</b> .....	<b>v</b>
<b>PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS</b> .....	<b>vi</b>
<b>MOTTO</b> .....	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>x</b>
<b>خلاصة</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvii</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>xviii</b>
<b>BAB I</b> .....	<b>1</b>
<b>PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1    Latar Belakang.....	1
1.2    Rumusan Masalah .....	10
1.3    Tujuan.....	11
1.4    Manfaat Penelitian.....	11
1.5    Hipotesis .....	12
1.6    Batasan Masalah.....	12
<b>BAB II</b> .....	<b>13</b>
<b>TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>13</b>
2.1    Benalu Mangga ( <i>Dendrophthoe pentandra</i> ) .....	13
2.1.1    Deskripsi dan Morfologi .....	13
2.1.2    Klasifikasi Benalu Mangga.....	14
2.1.3    Efektifitas Farmakologis Benalu Mangga.....	14
2.2    Benalu Teh ( <i>Scurrula atropurpurea</i> (Bl.). Dans).....	16
2.2.1    Deskripsi dan Morfologi .....	16

2.2.2	Klasifikasi Benalu Teh.....	17
2.2.3	Efektifitas Farmakologis Benalu Teh.....	17
2.3	Hipertensi .....	19
2.3.1	Definisi Hipertensi .....	19
2.3.2	Klasifikasi Hipertensi.....	19
2.3.3	Faktor-Faktor Penyebab Hipertensi .....	20
2.3.4	Peran Stress Oksidatif dalam Patogenesis Hipertensi.....	20
2.3.5	Peran DOCA-garam dalam Patogenesis Hipertensi.....	23
2.4	Radikal Bebas.....	28
2.5	Peroksidasi Lipid.....	29
2.6	<i>Malondialdehyde</i> (MDA).....	30
2.7	Enzim Siklooksigenase (COX).....	32
2.8	Antioksidan.....	34
2.9	Nrf2 ( <i>The nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i> ) Sebagai Aktivasi Transkripsi Gen Antioksidan.....	36
2.10	Kajian <i>Superoxide dismutase</i> (SOD).....	37
2.11	Flavonoid.....	39
2.12	Tinjauan Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	40
2.12.1	Klasifikasi .....	42
2.13	Pendekatan Bioinformatika .....	43
2.13.1	Uji PASS (Prediksi Bioaktivitas Senyawa Aktif) .....	43
2.13.2	Analisis ( <i>Drug likeness</i> ) Berdasarkan Aturan Lipinski .....	44
2.13.3	Prediksi ADMET .....	45
2.13.4	<i>Molecular Docking</i> .....	45
2.13.5	Aplikasi Penunjang .....	47
2.14	Kerangka Konseptual .....	49
2.15	Uraian Kerangka Konseptual .....	50
<b>BAB III</b>	.....	<b>53</b>
<b>METODE PENELITIAN</b>	.....	<b>53</b>
3.1	Rancangan Penelitian Uji <i>In Vivo</i> .....	53
3.2	Variabel Penelitian Uji <i>In Vivo</i> .....	53
3.3	Sampel Penelitian .....	54

3.4	Waktu dan Tempat Penelitian .....	54
3.5	Alat dan Bahan .....	54
3.5.1	Pembuatan Simplisia.....	55
3.5.2	Proses Ekstraksi .....	55
3.5.3	Persiapan Hewan Coba .....	56
3.5.4	Pembagian Kelompok Sampel .....	56
3.5.5	Pembuatan Tikus Model Hipertensi dengan DOCA-Garam.....	57
3.5.6	Prosedur Pemberian Terapi .....	59
3.5.7	Pengukuran Tekanan Darah Pada Tikus .....	59
3.5.8	Pembedahan .....	60
3.5.9	Pengukuran <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) .....	61
3.5.10	Pengukuran Malondialdehyde (MDA).....	61
3.5.11	Analisis Data .....	62
3.6	Rancangan Penelitian Uji <i>In Silico</i> .....	62
3.7	Variabel Penelitian Uji <i>In Silico</i> .....	63
3.8	Prosedur Penelitian Uji <i>In Silico</i> .....	63
3.8.1	Uji PASS (Prediksi Bioaktivitas Senyawa Aktif) .....	63
3.8.2	Analisis <i>Drug likeness</i> Menggunakan SwissADME.....	63
3.8.3	Prediksi ADMET .....	64
3.8.4	Preparasi Ligan dan Protein Target.....	64
3.8.5	Validasi Metode Molecular Docking .....	65
3.8.6	Penambatan Ligan pada Protein Target .....	65
3.8.7	Analisis Data .....	65
<b>BAB IV .....</b>		<b>67</b>
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>67</b>
4.1	Pengaruh Ekstrak Benalu Mangga (EBM) dan Kombinasi Ekstrak Benalu Teh dan Benalu Mangga (EBTBM) terhadap Kadar SOD Serum.....	67
4.2	Pengaruh Ekstrak Benalu Mangga (EBM) dan Kombinasi Ekstrak Benalu Teh dan Benalu Mangga (EBTBM) terhadap Kadar MDA Serum.....	72
4.3	Uji <i>In Silico</i> Senyawa Aktif Benalu Teh dan Benalu Mangga.....	79
4.3.1	Uji PASS (Prediksi Bioaktivitas Senyawa Aktif) .....	79
4.3.2	Uji <i>Drug likeness</i> Menggunakan SwissADME.....	85

4.3.3	Prediksi ADMET .....	88
4.3.4	<i>Molecular Docking</i> .....	94
<b>BAB V</b>	.....	<b>117</b>
<b>KESIMPULAN</b>	.....	<b>117</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	.....	<b>119</b>
<b>LAMPIRAN</b>	.....	<b>129</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2. 1</b> Morfologi <i>Dendrophthoe pentandra</i> L. miq.....	14
<b>Gambar 2. 2</b> Struktur kimia kuersetin, kaempferol, myricetin, morin, luteolin, dan rutin .....	15
<b>Gambar 2. 3</b> Morfologi benalu teh ( <i>Scurrula atropurpurea</i> (Bl). Dans.) .....	17
<b>Gambar 2. 4</b> Lingkungan berpengaruh terhadap kejadian hipertensi.....	23
<b>Gambar 2. 5</b> Model Tikus Hipertensi .....	24
<b>Gambar 2. 6</b> Proses peroksidasi lipid .....	30
<b>Gambar 2. 7</b> Proses pembentukan <i>malondialdehyde</i> (MDA).....	31
<b>Gambar 2. 8</b> Struktur kimia pengukuran kadar <i>malondialdehyde</i> (MDA) dengan uji TBA.....	32
<b>Gambar 2. 9</b> Peran Nrf2 terhadap stress oksidatif. ....	37
<b>Gambar 2. 10</b> Mekanisme antioksidan endogen sebagai pertahanan tubuh. ....	38
<b>Gambar 2. 11</b> Proses pemecahan ROS (R') oleh flavonoid .....	40
<b>Gambar 2. 12</b> Tikus galur wistar ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	42
<b>Gambar 2. 13</b> Bagan Kerangka Konsep Penelitian .....	49
<b>Gambar 4. 1</b> Rerata persentase kadar SOD serum dan notasi DMRT.....	69
<b>Gambar 4. 2</b> Rerata persentase kadar MDA serum .....	76



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2. 1</b> Klasifikasi hipertensi .....	19
<b>Tabel 4. 1</b> Rerata persentase kadar SOD serum .....	67
<b>Tabel 4. 2</b> Rerata persentase kadar MDA serum.....	74
<b>Tabel 4. 3</b> Prediksi bioaktivitas senyawa aktif benalu teh dan benalu mangga melalui software PASS Online.....	79
<b>Tabel 4. 4</b> Prediksi bioaktivitas senyawa aktif benalu teh dan benalu mangga menggunakan prediktor swissADME .....	86
<b>Tabel 4. 5</b> Prediksi farmakokinetika pada senyawa uji .....	88
<b>Tabel 4. 6</b> Tingkat kelas toksisitas berdasarkan Globally Harmonized System (GHS).....	93
<b>Tabel 4. 7</b> Visualisasi 2D interaksi ikatan asam amino pada senyawa uji terhadap reseptor nrf2 .....	94
<b>Tabel 4. 8</b> Visualisasi 2D interaksi ikatan asam amino pada senyawa uji terhadap reseptor COX 2. ....	110

## LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b> Analisis SPSS .....	129
<b>Lampiran 2.</b> Berat badan (BB) tikus pada minggu ke 1-3.....	131
<b>Lampiran 3.</b> Berat (gram) pakan tikus per hari (pagi dan sore) .....	132
<b>Lampiran 4.</b> Kebutuhan air minum (ml) tikus per hari (pagi dan sore).....	133
<b>Lampiran 5.</b> Perhitungan dosis DOCA.....	135
<b>Lampiran 6.</b> Perhitungan NaCl untuk minum dan sonde .....	136
<b>Lampiran 7.</b> Perhitungan dosis ekstrak benalu mangga (EBM).....	137
<b>Lampiran 8.</b> Perhitungan dosis kombinasi ekstrak benalu teh dan benalu mangga (EBTBM) .....	138
<b>Lampiran 9.</b> Tabel rerata tensi tikus .....	138
<b>Lampiran 10.</b> Tabel SOD serum.....	139
<b>Lampiran 11.</b> Tabel MDA serum .....	140

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Hipertensi merupakan salah satu jenis penyakit kardiovaskular yang ditandai dengan terjadinya peningkatan tekanan darah. Seseorang dikatakan hipertensi apabila selama dua kali pengukuran secara berturut-turut menunjukkan tekanan darah sistolik berkisar antara 140-159 mmHg dan tekanan darah diastolik berkisar antara 90-99 mmHg (Fitri, 2015). Tekanan darah sistolik adalah tekanan darah pada saat jantung memompa darah ke seluruh tubuh (fase ejeksi), sedangkan tekanan darah diastolik adalah tekanan darah pada saat jantung istirahat (dalam hal ini ventrikel diisi oleh sejumlah darah dari atrium) (Kadir, 2018).

Penyakit hipertensi penting untuk ditangani melihat data dari WHO sekitar 972 juta orang atau 26,4% di seluruh dunia, orang yang mengidap hipertensi. Kemungkinan angka ini akan meningkat menjadi 29,2% di tahun 2025. Dari 972 juta pengidap hipertensi, 333 juta berada di negara maju dan 639 sisanya berada di negara berkembang, termasuk Indonesia (Jiang *et al.*, 2016).

Berdasarkan data Departemen Kesehatan Indonesia, prevalensi hipertensi di Indonesia mencapai 31,7% dan populasi pada usia 18 tahun ke atas 5,6%. Sekitar 60% penderita hipertensi berakhir pada stroke, sedangkan sisanya mengakibatkan penyakit jantung, gagal ginjal, dan kebutaan (Yonata & Pratama, 2016).

Penyakit hipertensi seringkali tidak menimbulkan gejala atau disebut sebagai *The Silent Disease* atau penyakit tersembunyi. Jika hal ini tidak cepat

ditangani maka akan menimbulkan terjadinya komplikasi seperti stroke, gagal ginjal, gagal jantung, hingga kebutaan (Sundari, 2015). Diantara penyebab terjadinya penyakit hipertensi adalah stress oksidatif. Stress oksidatif sendiri merupakan proses yang terjadi di dalam sel terdapat peningkatan jumlah *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan respon antioksidan yang rendah terhadap agresi sel serta memainkan peran penting terhadap perkembangan suatu penyakit (Hatai & Banerjee, 2019).

Stress oksidatif menunjukkan keterlibatannya dalam penyakit hipertensi yaitu dari berbagai sistem organ dan hormon pengatur melalui peningkatan ROS dengan ditandai terjadinya disfungsi endotel yang menyebabkan menurunnya kadar NO (*Nitric Oxide*). Hilangnya aktivasi NO sintase menyebabkan vasokonstriksi (Tanase *et al.*, 2022). NO merupakan vasodilator yang berfungsi sebagai regulator aliran dan tekanan darah, mencegah agregasi dan adhesi platelet (Tain & Hsu, 2022). Stress oksidatif yang tidak terkontrol juga dapat menimbulkan terjadinya kerusakan pada sel, jaringan, dan organ. Selain itu, stress oksidatif juga dapat menimbulkan kerusakan langsung pada lipid dan akan mudah teroksidasi (peroksidasi lipid) (Ayala *et al.*, 2014).

Peroksidasi lipid dapat digambarkan sebagai proses ROS menyerang lipid yang mengandung ikatan rangkap karbon-karbon terutama asam lemak tak jenuh ganda atau PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acids*) membentuk hidroperoksida. Peroksidasi lipid secara enzimatik diperantarai oleh enzim, salah satunya seperti siklooksigenase (COX). Peroksidasi lipid menghasilkan berbagai macam produk salah satunya *malondialdehyde* (MDA) (Ayala *et al.*, 2014). Kadar konsentrasi

pada MDA digunakan sebagai indikator kerusakan oksidatif pada keberadaan radikal bebas dalam tubuh (Dianti dkk., 2017).

Senyawa antioksidan yang berasal dari dalam tubuh yaitu seperti *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), dan *glutathione peroxidase* (GPx). Namun, yang menjadi pertahanan tubuh pertama dalam mengatasi stres oksidatif adalah SOD, sehingga keberadaan SOD sangat penting di dalam tubuh untuk mencegah atau mengurangi adanya stress oksidatif dan menunjukkan manfaat untuk pencegahan hipertensi (Dianti dkk., 2017).

Pengobatan penyakit hipertensi pada umumnya membutuhkan waktu yang panjang. Oleh karena itu, diperlukan alternatif lain dalam menangani penyakit hipertensi dengan menyeimbangkan antioksidan tubuh yaitu mengkonsumsi antioksidan dari makanan (antioksidan eksogen), sehingga hal ini akan mengurangi stress oksidatif (Widiasari, 2018). WHO merekomendasikan untuk menggunakan obat tradisional karena dinilai lebih aman daripada penggunaan obat modern atau obat sintetis (Widiasari, 2018).

Beberapa obat tradisional yang menjadi sumber antioksidan eksogen contohnya yaitu seperti benalu teh (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans) dan benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*). Tumbuhan ini merupakan tumbuhan yang bersifat parasit, tetapi dalam berbagai penelitian yang telah dilakukan kedua benalu tersebut memiliki potensi sebagai tumbuhan obat (Suroyya *et al.*, 2021). Tumbuhan obat merupakan jenis tumbuhan yang diketahui mempunyai khasiat dalam membantu memelihara kesehatan (Ziraluo, 2020).

Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam Al-Qur'an Surat Al-Imran (3): ayat 191.

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

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

Diantara makna surat Al-Imran ayat 191 terdapat kata رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia) yakni Engkau tidak menciptakan ini dengan sia-sia atau main-main akan tetapi Engkau menciptakannya sebagai bukti atas hikmah dan kekuasaan-Mu, dan untuk Engkau jadikan bumi sebagai tempat menguji hamba-hamba-Mu agar terlihat siapa diantara mereka yang mentaati-Mu dan siapa yang bermaksiat kepada-Mu. سُبْحَانَكَ (Maha Suci Engkau) yakni Engkau Maha Suci dari apa yang tidak layak untuk-Mu. (Zubdatut Tafsir)

Dari arti ayat tersebut telah jelas bahwa apa yang Allah ciptakan di muka bumi ini semuanya memiliki manfaat dan fungsi masing-masing baik yang dianggap tidak berguna, berbahaya, dan parasit (pengganggu) contohnya seperti tumbuhan benalu teh dan benalu mangga yang memiliki berbagai manfaat untuk kesehatan, penyembuh berbagai macam penyakit, dan optimalisasi fungsi organ tubuh.

Benalu teh dan benalu mangga merupakan jenis benalu yang termasuk dalam suku Loranthaceae. Pada benalu mangga berdasarkan analisis fitokimia terdapat berbagai macam kandungan yakni flavonoid, kuersetin, tanin, glikosida, saponin, serta inulin. Pada benalu teh juga terdapat senyawa golongan flavonoid, fenol, rutin, tanin, dan meso-inositol (Nurfaat, 2016).

Senyawa flavonoid merupakan suatu senyawa yang menjadi marker aktif

atau paling utama sebagai antioksidan dari famili Loranthaceae. Senyawa flavonoid memiliki turunan seperti kuersetin, kaempferol, rutin, myricetin, luteolin, morin (Nurfaat, 2016; Sembiring dkk., 2016).

Beberapa penelitian terakhir telah terfokus pada efek kardiovaskular protektif khususnya efek antihipertensi telah diteliti secara luas. Penelitian yang dilakukan oleh Athiroh (2000 dan 2009) secara *in vitro* telah terbukti bahwa senyawa flavonoid pada benalu teh memiliki kemampuan untuk menurunkan kontraktilitas pembuluh darah arteri ekor tikus melalui kultur sel. Sedangkan secara *in vivo* telah terbukti bahwa pemberian ekstrak metanol benalu teh dengan dosis 50, 100, dan 200mg/kgBB dapat meningkatnya kadar NO pada tikus hipertensi. Hal ini, dapat disimpulkan bahwa pemberian benalu teh dapat memodulasi kadar NO pada tikus hipertensi (Athiroh *et al.*, 2014).

Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Athiroh & Wahyuningsih (2017) mengungkapkan bahwa penelitian uji toksisitas terhadap stres oksidatif pada benalu teh menunjukkan bahwa aktivitas SOD mengalami peningkatan sekaligus menurunkan kadar MDA yang merupakan penanda stress oksidatif setelah pemberian ekstrak benalu teh dengan dosis 1000, 2000, dan 4000 mg/kgBB pada tikus, sehingga dalam hal ini benalu teh mampu mengurangi stres oksidatif. Hal tersebut selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Lestari dkk., (2020) menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak metanolik benalu teh dan benalu mangga pada tikus betina tidak menimbulkan sifat toksik pada profil lipid.

Kombinasi daun benalu teh dan daun benalu mangga berpotensi sebagai obat-obatan untuk menyembuhkan berbagai penyakit seperti antikanker dan antihipertensi. Masing-masing benalu terdapat senyawa aktif salah satunya

flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan dapat menurunkan kolesterol total, trigliserida, LDL dan meningkatkan kadar HDL. Antioksidan dapat membantu memecah terjadinya proses oksidasi lemak yang apabila terjadi oksidasi lemak, maka kolesterol menjadi mudah melewati dinding arteri dan menyumbatnya. Antioksidan dapat mencegah kerusakan sel-sel atau jaringan pembuluh darah. Pada saat bersamaan, antioksidan akan meningkatkan kolesterol baik HDL, yang mencegah penyakit jantung dan pembuluh darah (Lestari dkk., 2020).

Senyawa flavonoid diketahui dapat meningkatkan potensi antioksidan endogen salah satunya seperti SOD melalui jalur Nrf2-ARE. Nrf2 memainkan peran penting dan utama dalam mengatur respon antioksidan adaptif seluler dan sebagai pertahanan sel dalam mengatasi stress oksidatif dan berpotensi sebagai ACE Inhibitor. ACE dapat diketahui memegang peran penting dalam pembentukan angiotensin II yang merupakan salah satu penyebab hipertensi (Sjakoer *et al.*, 2021).

SOD yang diaktifkan dapat menangkap radikal bebas dengan mendonorkan elektron sehingga menghasilkan produk yang lebih stabil serta menghambat reaksi berantai radikal bebas dan dapat menurunkan aktivitas peroksidasi lipid (menurunkan kadar MDA) (Saxena *et al.*, 2013; Plaza *et al.*, 2014).

Pengujian benalu teh serta benalu mangga dilakukan secara *in vivo* dan *in silico*. Penelitian secara *in vivo* dalam penelitian ini menggunakan hewan coba seperti tikus. Hal ini dikarenakan sistem faal pada tikus memiliki kemiripan dengan manusia, tersedia dalam jumlah banyak, harga ekonomis. Tikus yang sering digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar. Pemilihan



hewan coba berupa tikus wistar berjenis kelamin jantan dilakukan atas pertimbangan yaitu dikarenakan pada penelitian ini terfokus untuk menjadikan hewan uji mencapai kondisi hipertensi (Nugroho dkk., 2018).

Menurut Liu dan Ely (2011) mengemukakan bahwa jenis kelamin jantan mempunyai daya tahan tubuh yang lebih kuat, memiliki sistem hormonal yang lebih stabil, dan memiliki tekanan darah yang lebih tinggi serta lebih mudah mengalami peningkatan tekanan darah daripada betina.

Upaya untuk memahami patogenesis dan untuk mempelajari pengobatan serta pencegahan penyakit hipertensi, maka perlu mengembangkan model hewan kondisi hipertensi. Salah satu cara model hewan hipertensi dengan pemberian *Deoxycorticosterone acetate* (DOCA)-garam (Sjakoer & Permatasari, 2011).

DOCA-garam akan menyebabkan retensi natrium dan air dalam tubuh sampai terjadi diuresis dan peningkatan tekanan pada ginjal. Apabila ginjal mengalami gangguan maka, ginjal akan mensekresikan renin yang bekerja pada protein angiotensinogen untuk melepaskan angiotensin I menjadi angiotensin II oleh ACE di endotel paru. Angiotensin II bekerja di ginjal dengan meningkatkan retensi  $\text{Na}^+$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  juga merangsang peningkatan Anti Diuretik Hormon (ADH) sehingga urin yang diproduksi berkurang, akibatnya volume cairan intravaskular menjadi semakin meningkat (Sjakoer & Permatasari, 2011). DOCA-garam lebih tepat dijadikan model hipertensi hewan coba karena lebih cepat meningkatkan tekanan darah yaitu jarang terjadi kerusakan organ yang fatal, pada DOCA-garam kadar renin rendah (Sjakoer & Permatasari, 2011).

Pengembangan obat dari bahan alam diharapkan menjadi salah satu solusi dalam pemilihan terapi antihipertensi, bahan alam sendiri lebih sedikit

menimbulkan efek samping bagi penderitanya. Pemberian kombinasi ekstrak benalu teh dan ekstrak benalu mangga menggunakan perbandingan 3:1, hal ini dikarenakan berdasarkan uji skrining pada kedua benalu tersebut didapatkan senyawa aktif flavonoid kuersetin yang lebih tinggi pada mangga dibandingkan dengan benalu teh, dan perbandingan 3:1 terbukti memberikan efek yang paling baik dalam menurunkan tekanan darah pada tikus (Athiroh dkk., 2021).

Tujuan dalam mengkombinasikan kedua benalu tersebut dengan harapan kedua benalu dapat bersinergis sehingga menghasilkan efek antioksidan yang lebih maksimal, hal ini dapat menangkal ataupun mengurangi jumlah radikal bebas di dalam tubuh dan meningkatkan kadar SOD dan penurunan kadar MDA.

Metode *in silico* merupakan suatu pendekatan yang dilakukan dengan bantuan komputer untuk memprediksi kandungan senyawa kimia bahan aktif pada tumbuhan tertentu berpotensi sebagai antihipertensi (Setiawan & Istyastono, 2015). Metode *in silico* memiliki kelebihan yaitu lebih murah, mendapatkan hasil yang lebih cepat, meminimalisir waktu dan tenaga (Li *et al.*, 2017).

Beberapa metode *in silico* yang digunakan untuk pengembangan kandidat obat baru adalah uji PASS *prediction*, analisis sifat mirip obat (*drug likeness*), prediksi ADMET, dan *molecular docking* (Nusantoro, 2020). Uji PASS *prediction* bertujuan untuk memprediksi aktivitas biologis dari benalu teh dan benalu mangga sebagai antioksidan dan kardioprotektif, evaluasi sifat mirip obat secara umum dilakukan berdasarkan aturan Lipinski (*rule of five*) untuk melihat obat tersebut dapat digunakan secara oral atau tidak. Aturan Lipinski merupakan aturan yang dibuat untuk menentukan molekul atau senyawa yang dilihat dari sifat permeabilitas dan absorpsinya (Maftucha dkk., 2022).

Prediksi ADMET dapat memberikan informasi mengenai karakteristik farmakokinetik dan farmakodinamik dari sebuah molekul obat dengan memperlihatkan berbagai profil absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas (Nusantoro, 2020). Metode *molecular docking* dapat memberikan pemodelan struktur dan memprediksi suatu aktivitas dalam tubuh, selain itu juga dapat memberikan gambaran peristiwa interaksi suatu molekul ligan dengan protein yang menjadi target aksinya pada uji secara *in vivo* (Pratama dkk., 2016).

Penemuan atau pengembangan obat baru pada saat ini lebih mudah dilakukan oleh para peneliti, hal ini karena adanya kemajuan teknologi komputer. Allah SWT memberikan akal pada manusia untuk selalu berpikir dan memahami pengetahuan baru. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam Al-qur'an surah Al-Ankabut ayat 43:

وَتِلْكَ الْأَمْثَلُ نَضْرِبُهَا لِلنَّاسِ ۖ وَمَا يَعْقِلُهَا إِلَّا الْعُلَمَاءُ

Artinya: “Dan perumpamaan-perumpamaan ini Kami buat untuk manusia; dan tiada yang memahaminya kecuali orang-orang yang berilmu”.

Makna dari ayat tersebut menurut Tafsir al-Jalalain adalah (Dan perumpamaan-perumpamaan ini) yang ada dalam al-qur'an (Kami buat) Kami jadikan (untuk manusia; dan tiada yang memahaminya) yang mengerti akan perumpamaan-perumpamaan ini kecuali orang-orang yang berilmu yakni, orang-orang yang berpikir. Ilmu pengetahuan dan teknologi dalam islam dipandang sebagai kebutuhan manusia, atribut keimanannya serta sebagai bagian pelaksanaan kewajiban manusia sebagai makhluk yang berakal (Muslimin, 2014).

Kemajuan dari ilmu pengetahuan dan teknologi pada saat ini dapat dijadikan peluang dalam pengembangan perancangan obat, karena untuk mengetahui aktivitas dari suatu tanaman membutuhkan waktu yang cukup lama,

biaya mahal, dan membutuhkan energi besar, maka dalam pengembangan atau penemuan obat baru dari tanaman ini dapat dilakukan dengan cara komputasi atau disebut dengan *in silico* (Siswodihardjo *et al.*, 2017). Tetapi, penggunaan studi *in silico* bersamaan dengan studi lain yaitu *in vitro* maupun *in vivo* dapat lebih memperkuat atau mempertegas hasil penelitian (Sliwoski *et al.*, 2014).

Proses docking dilakukan dengan menggunakan senyawa turunan flavonoid seperti quercetin, kaempferol, rutin, morin, luteolin, dan myricetin sebagai ligandnya dan Nrf2 (*The nuclear factor erythroid 2-related factor 2*) serta siklooksigenase 2 (COX 2) merupakan protein atau resptornya. Hasil proses docking ini bertujuan untuk melihat seberapa besar potensi senyawa turunan flavonoid pada benalu teh dan benalu mangga dalam mengaktifkan Nrf2 yang merupakan pengatur respon transkripsi gen antioksidan dan memainkan peran penting dalam pencegahan beberapa penyakit, termasuk hipertensi (Ferron *et al.*, 2019), dan menghambat pembentukan MDA melalui jalur peroksidasi enzimatis, enzim yang diamati sebagai reseptor adalah enzim siklooksigenase 2 (COX 2). Enzim COX 2 dipilih untuk diamati secara *in silico* pada penelitian ini karena enzim tersebut mendorong dihasilkannya MDA pada proses peroksidasi enzimatis dengan cara mengkatalis reaksi oksigen dengan berbagai jenis asam lemak tak jenuh menghasilkan biomolekul aktif yang dinamakan endoperoksida (PGG, PGH). Endoperoksida yang dihasilkan ini selanjutnya akan diubah secara enzimatis hingga terbentuk produk akhir yaitu MDA (Ayala *et al.*, 2014).

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah dalam penelitian ini diantaranya:

1. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak benalu mangga (EBM) dan kombinasi ekstrak benalu teh dan benalu mangga (EBTBM) terhadap kadar SOD dan MDA serum pada tikus hipertensi?
2. Apakah senyawa aktif benalu teh dan benalu mangga berpotensi dalam mengaktifkan Nrf2 dan menghambat enzim COX 2 secara *in silico*?

### **1.3 Tujuan**

Tujuan dalam penelitian ini, yaitu:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak benalu mangga (EBM) dan kombinasi ekstrak benalu teh dan benalu mangga (EBTBM) terhadap kadar SOD dan MDA serum pada tikus hipertensi.
2. Untuk mengetahui senyawa aktif benalu teh dan benalu mangga yang berpotensi mengaktifkan Nrf2 dan menghambat enzim COX 2 secara *in silico*.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini memberikan manfaat diantaranya:

1. Menjadi bahan informasi pemanfaatan benalu teh dan benalu mangga secara luas khususnya untuk pengembangan pencarian kandidat obat antihipertensi.
2. Menjadi sumber informasi mengenai potensi ekstrak benalu teh dan ekstrak benalu mangga terhadap kadar SOD dan MDA serum tikus hipertensi.
3. Menjadi bahan informasi untuk pembaca terkait potensi dan manfaat ekstrak benalu teh dan ekstrak benalu mangga sebagai bahan baku obat herbal.

## 1.5 Hipotesis

Hipotesis untuk penelitian ini adalah:

1. Pemberian ekstrak benalu mangga (EBM) dan kombinasi ekstrak benalu teh dan benalu mangga (EBTBM) dapat mempengaruhi kadar SOD dan MDA serum tikus hipertensi.
2. Senyawa dari benalu teh dan benalu mangga berpotensi dalam mengaktifkan Nrf2 untuk mengatur gen antioksidan dalam meningkatkan kadar SOD dan berpotensi menghambat enzim COX 2 dalam menurunkan kadar MDA secara *in silico*.

## 1.6 Batasan Masalah

Penelitian ini memiliki batasan masalah diantaranya:

1. Benalu teh (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans) dan benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq) dengan perbandingan 3:1, 3 untuk benalu mangga dan 1 untuk benalu teh. Benalu teh dan benalu mangga tersebut diperoleh dari pasar kepanjen Kota Malang, Jawa Timur.
2. Pembuatan tikus model hipertensi menggunakan DOCA dengan dosis 15mg/kgBB. Dosis DOCA yang diberikan pada tikus disesuaikan dengan berat badan, sedangkan pemberian garam selain diminumkan juga diberikan dengan cara disonde sebanyak 2 cc pertikus.
3. Pendekatan bioinformatika yaitu melalui uji PASS *prediction*, analisis *drug likeness*, prediksi ADMET, dan proses *molecular docking* dengan menggunakan senyawa aktif (ligand) yaitu kuersetin, kaempferol, rutin, myricetin, luteolin, morin. Protein yang digunakan yaitu Nrf2 dan COX 2.

## **BAB II**

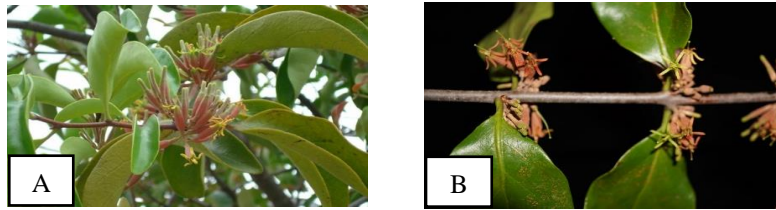
### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*)**

##### **2.1.1 Deskripsi dan Morfologi**

Benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) merupakan salah satu jenis benalu yang termasuk dalam suku Loranthaceae. Benalu mangga bersifat hemiparasit atau setengah parasit, karena benalu memiliki zat klorofil untuk proses asimilasi dan hanya untuk memperoleh makanan dari inangnya dengan membentuk akar penghisap yang dapat menyerap makanan dari pohon inangnya (Lekal & Watuguly, 2017).

Morfologi dari benalu mangga ini yaitu struktur tegak, bercabang banyak, memiliki tinggi 0,5-1,5 m. Daun berhadapan, bentuk bervariasi dari jorong lanset sampai sedikit bundar, panjang daun sekitar 6-13 cm dengan lebar 3-8 cm, ujung pada daun tumpul-meruncing, daun memiliki pertulangan menyirip, panjang tangkai daun 5-20 mm. Bunganya bertandan dengan 6-12 bunga, panjang sumbu perbungaan sekitar 10-35 mm, 1 braktea pada bagian pangkal, mahkota bunga dibagian bawah saling berpautan, menggembung, panjang 13-26 mm, biseksual, mahkota bunga 5 merus, bagian ujungnya menggada, mula-mula berwarna hijau kemudian berubah menjadi hijau kekuningan sampai kuning-oranye atau merah oranye (Haryanta dan Susilo, 2020).



**Gambar 2. 1** Morfologi *Dendrophthoe pentandra* L. miq (Haryanta dan Susilo, 2020).

A: Tanaman benalu mangga, B: Bunga benalu mangga, C: Batang benalu mangga, D: Daun benalu mangga.

### 2.1.2 Klasifikasi Benalu Mangga

Menurut Permatasari & Umarudin (2019) klasifikasi tanaman benalu mangga adalah sebagai berikut:

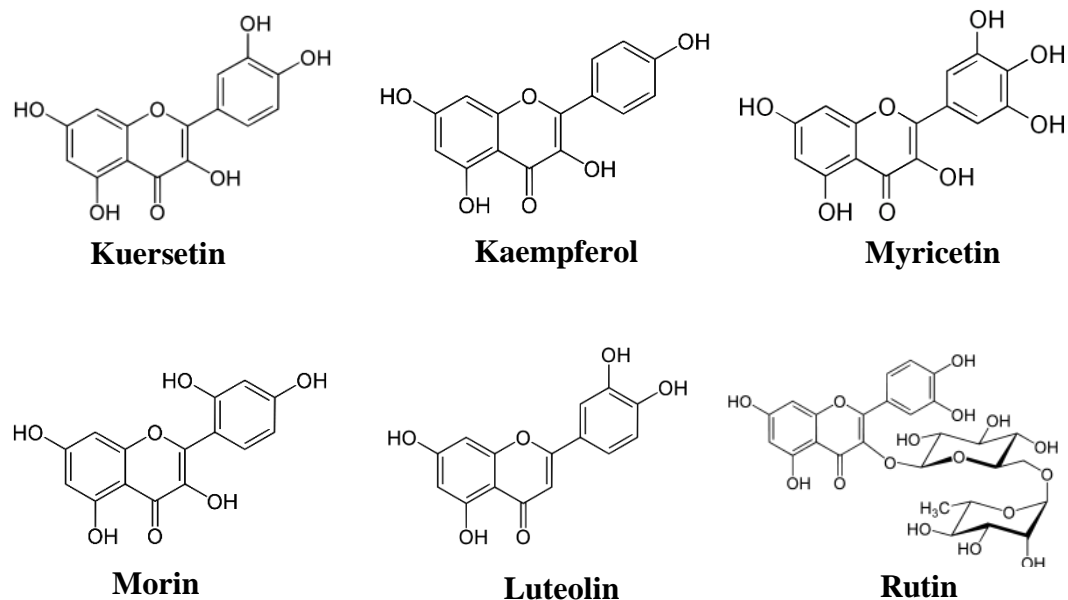
Kingdom : Plantae  
 Divisi : Magnoliophyta  
 Classis : Magnoliopsida  
 Ordo : Santalales  
 Familia : Loranthaceae  
 Genus : *Dendrophthoe*  
 Species : *Dendrophthoe pentandra* L. miq

### 2.1.3 Efektifitas Farmakologis Benalu Mangga

Benalu mangga merupakan tumbuhan yang sudah dikenal sejak lama dan dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit termasuk kanker (Kurniasih dkk., 2015), antiradang, pereda sakit (analgesik), antivirus, (Nurfaat, 2016), antiplasmodium (Faiqoh dkk., 2013) antikanker kolon (Wicaksono and Permana, 2013), diabetes, hipertensi, batuk, maag, infeksi kulit, diuretik, dan cacar (Artanti dkk., 2012).



Telah diketahui bahwa kandungan kimia yang terdapat dalam benalu mangga adalah flavonoid, tanin, asam amino, karbohidrat, alkaloid, triterpenoid, dan saponin (Fitrilia *et al.*, 2015). Penelitian lain menyebutkan bahwa di dalam ekstrak methanol 90% daun benalu mangga yang dianalisis menggunakan LC-MS mengandung senyawa golongan glikosida flavonol, yakni kuersetin yang aktif sebagai antioksidan. Selain itu, terdapat turunan flavonoid lainnya seperti kaempferol, myricetin, rutin, morin, dan luteolin (Zainuddin & ain, 2015).



**Gambar 2. 2** Struktur kimia kuersetin, kaempferol, myricetin, morin, luteolin, dan rutin (Widyasari dkk., 2019; Horizon dkk., 2015; Noer dkk., 2019).

Pada benalu mangga telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang dapat melawan dan menetralkan radikal bebas, sehingga oksidasi pada sel dapat terhambat dan mengurangi resiko kerusakan sel. Kuersetin merupakan senyawa flavonoid utama yang terdapat pada benalu (Permatasari & Umarudin, 2019).

Kadar kuersetin pada benalu mangga sebesar 39,8mg/g, sedangkan benalu teh hanya 9,6 mg/g (Endharti *et al.*, 2018). Kuersetin dapat mengikat radikal

bebas, sehingga dapat mencegah atau mengurangi dampak dari radikal bebas itu sendiri (Endharti *et al.*, 2018).

Menurut Abeng dkk (2021) mengatakan bahwa senyawa flavonoid yaitu kuersetin memiliki efek vasodilator, antiplatelet dan menurunkan hipertensi. Flavonoid dapat melebarkan pembuluh darah dan mengurangi tekanan pada dinding-dinding arteriol, sehingga tekanan darah dapat diturunkan ke level awal.

Senyawa aktif selain flavonoid kuersetin, pada benalu mangga juga terdapat senyawa aktif seperti rutin yang memiliki peran penting sebagai neuroprotektif, kardioprotektif, dan antikarsinogenik (Elinda dkk., 2019). Rutin juga memiliki aktivitas antioksidan sehingga memainkan peran utama dalam mengurangi stres oksidatif yang terkait dengan hipertensi (Ganga *et al.*, 2019). Menurut Suryasaputra dkk., (2019) rutin, myricetin, dan luteolin berpotensi sebagai inhibitor siklooksigenase yang berperan penting dalam terbentuknya MDA yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid.

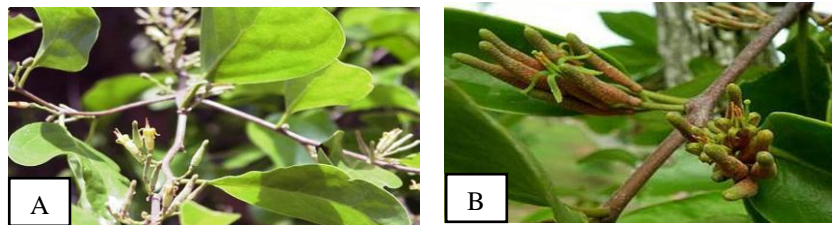
## **2.2 Benalu Teh (*Scurrula atropurpurea* (Bl.). Dans)**

### **2.2.1 Deskripsi dan Morfologi**

Benalu teh (*Scurrula atropurpurea* (Bl.). Dans) merupakan tumbuhan semiparasit yang hidup pada cabang tanaman teh yang termasuk dalam suku Loranthaceae. Benalu sudah banyak digunakan untuk mencegah dan mengobati berbagai macam penyakit medis (Hikmah dkk., 2017).

Morfologi benalu teh menurut Departemen Kesehatan RI (2006) benalu teh adalah tanaman yang bersifat parasit obligat dengan mempunyai batang yang menggantung, silindris, berkayu, memiliki bintik-bintik dan warnanya coklat. Morfologi daun dari benalu teh ini yaitu tunggal, bentuknya lonjong, berhadapan,

ujungnya berbentuk runcing, mempunyai pangkal yang bentuknya membulat, rata, panjang daun 5-9 cm, lebar daun  $\pm$  2-4 cm, warna permukaan atas daun hijau, sedangkan warna permukaan bawah daun coklat. Bunga dari benalu teh bersifat majemuk, bunga terdiri 4-6, bunga berbentuk payung.



**Gambar 2. 3** Morfologi benalu teh (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans.) (Hutabarat dkk., 2020).

A: Tumbuhan benalu teh, B: batang benalu teh, C: bunga benalu teh.

### 2.2.2 Klasifikasi Benalu Teh

Klasifikasi tanaman benalu teh menurut Departemen Kesehatan RI (2006) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Santalales

Famili : Loranthaceae

Genus : *Scurrula*

Spesies : *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans.

### 2.2.3 Efektifitas Farmakologis Benalu Teh

Menurut Ohashi *et al.*, (2003) benalu teh pada umumnya mengandung flavonoid (terdiri dari *quercetin*, *chalcone*, dan turunan *flavon*), terpen (misalnya *beta-amyrin*, *betulinic acid*, *oleanic acid*, *beta-sitosterol*, *stigmasterol*, *ursolic acid*, *lupeol*, dan kombinasi ester), *amine* (misalnya; *acetylcholine*, *choline*,

*histamine*, GABA dan *tyramine*), serta *viscotoxins* A2, A3 benalu teh juga mengandung komponen fenolic termasuk *caffeic* dan *myristic acid*, *lectins*, *fatty acids*, *sugars*, *tannins*.

Pemakaian bahan herbal alami untuk menangani penyakit dipercaya dapat membantu memberikan efek kesembuhan dengan memanfaatkan metabolit sekunder yang dihasilkan seperti, flavonoid (Endharti *et al.*, 2018). Flavonoid seperti kuersetin, kaempferol, rutin, myricetin, dan luteolin yang dimiliki oleh benalu teh memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi dan antikanker, antihipertensi (Dahlia dkk., 2016).

Menurut Murphy *et al.*, (2003) kandungan flavonoid dalam benalu teh berperan sebagai antioksidan alami yang dapat menghambat oksidasi sel dengan mereduksi serta menangkap oksigen aktif dan radikal superoksida. Flavonoid dalam hal ini kuersetin berpotensi sebagai antihipertensi dengan cara menghambat *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE). ACE inhibitor menyebabkan pembuluh darah melebar, sehingga darah lebih banyak mengalir ke jantung dan mengakibatkan penurunan tekanan darah (Putri, 2020).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Athiroh & Wahyuningsih (2017) mengatakan bahwa pemberian ekstrak metanol benalu teh berpengaruh terhadap perbaikan stres oksidatif melalui peningkatan kadar SOD dan menurunkan konsentrasi kadar MDA serum pada tikus hipertensi (Athiroh & Wahyuningsih, 2017). Hal ini dapat terjadi karena flavonoid pada benalu teh dalam hal ini quercetin mampu bekerja langsung pada otot polos pembuluh arteri dengan menstimulir atau mengaktivasi *Endothelium Derived Relaxing Factor* (EDRF) sehingga menyebabkan vasodilatasi.

## 2.3 Hipertensi

### 2.3.1 Definisi Hipertensi

Tekanan darah tinggi (hipertensi) adalah gangguan sistem peredaran darah yang menyebabkan kenaikan tekanan darah diatas nilai normal (Anam, 2016). Seseorang dikatakan terkena hipertensi apabila tekanan darah sistolik  $\geq 140$ mmHg dan tekanan darah diastolik  $\geq 90$ mmHg dengan 2 kali pengukuran dalam waktu yang berbeda. Waktu yang paling baik saat melakukan tekanan darah adalah saat istirahat dan dalam keadaan duduk atau berbaring (Anam, 2016).

### 2.3.2 Klasifikasi Hipertensi

Menurut *The Joint National Committee on Prevention* (JNC) hipertensi adalah suatu sindrom atau kumpulan gejala kardiovaskuler yang progresif, sebagai akibat dari kondisi lain yang kompleks dan saling berhubungan. Untuk mengetahui seseorang itu menderita penyakit hipertensi atau tidak, haruslah ada suatu standar nilai ukur dari tekanan darah. Klasifikasi hipertensi terbagi menjadi beberapa kelompok yaitu: kelompok normal, prahipertensi, hipertensi derajat 1 dan derajat 2 (Sylvestris, 2014). Adapun klasifikasi hipertensi menurut JNC VII (2003) dapat dilihat pada Tabel 2.1.

**Tabel 2. 1** Klasifikasi hipertensi

<b>Kategori</b>	<b>Sistolik</b>	<b>Diastolik</b>
Normal	< 120	< 80
Prehipertensi	120 – 139	80 – 89
Hipertensi stadium 1	140 – 159	90 – 99
Hipertensi stadium 2	$\geq 160$	$\geq 100$

### **2.3.3 Faktor-Faktor Penyebab Hipertensi**

Hipertensi dapat dikelompokkan menjadi 2 jenis yaitu:

#### 1) Hipertensi Primer

Hipertensi primer artinya hipertensi yang belum diketahui penyebabnya dengan jelas. Berbagai faktor diduga turut berperan sebagai penyebab hipertensi primer, seperti bertambahnya usia, stres psikologis, pola konsumsi yang tidak sehat seperti mengonsumsi garam yang berlebih, kegemukan, kurang gerak badan, dan heriditas (keturunan). Sekitar 90% pasien hipertensi termasuk dalam kategori ini (Anggara & Prayitno, 2013).

#### 2) Hipertensi Sekunder

Penyebab hipertensi sekunder yang telah di ketahui umumnya berupa penyakit atau kerusakan organ yang berhubungan dengan cairan tubuh, misalnya ginjal yang tidak berfungsi dan terganggunya keseimbangan hormon yang merupakan faktor pengatur tekanan darah (Susilo dan Wulandari, 2011).

### **2.3.4 Peran Stress Oksidatif dalam Patogenesis Hipertensi**

Beberapa organ seperti jantung, ginjal, otak, dan pembuluh darah merupakan organ utama yang terlibat dalam pengaturan tekanan darah. Pada sistem kardiovaskular tekanan darah dapat ditentukan oleh curah jantung dan resistensi pembuluh darah. Sel endotel merupakan konstituen penting pembuluh darah yang memainkan peran dan kunci dalam homeostasis kardiovaskular. Peningkatan tekanan darah bisa diakibatkan oleh adanya stres oksidatif yang meningkatkan aktivitas NADPH (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate*) oksidase. NADPH oksidase meningkatkan produksi ROS yang dapat bereaksi dengan NO sehingga terjadilah penurunan bioavailabilitas NO yang berakibat

pada gangguan vasodilatasi. Gangguan vasodilatasi juga dapat disebabkan oleh induksi berlebih pada Angiotensin II karena akumulasi radikal bebas.

Disfungsi endotel ditandai dengan berkurangnya vasodilatasi, pengaturan protrombotik, dan keadaan proinflamasi, yang bersama-sama terlibat dalam patofisiologi hipertensi. Stress oksidatif tidak hanya mengganggu keseimbangan antara vasodilator dan vasokonstriktor tetapi juga pada akhirnya menyebabkan disfungsi pembuluh darah, kelainan pembuluh darah, aterosklerosis, dan kekakuan arteri (Tain & Hsu, 2022).

Pada sistem ginjal beberapa bukti jelas menunjukkan bahwa stres oksidatif ginjal merupakan faktor kunci dalam perkembangan hipertensi. Peningkatan ROS di ginjal telah ditemukan pada berbagai model hipertensi, seperti tikus hipertensi SHR, tikus hipertensi garam-DOCA, tikus sensitif garam Dahl. Ginjal mengendalikan tekanan darah, jika tekanan darah meningkat, ginjal akan menambah pengeluaran garam dan air, dan akan menyebabkan berkurangnya volume darah dan mengembalikan tekanan darah ke normal. Jika tekanan darah menurun, ginjal akan mengurangi pembuangan garam dan air, sehingga volume darah bertambah dan tekanan darah kembali normal. Ginjal juga bisa meningkatkan tekanan darah dengan menghasilkan enzim yang disebut renin, yang memicu pembentukan hormon angiotensin, yang selanjutnya akan memicu pelepasan hormon aldosteron (Sjakoer & Permatasari, 2011).

Pada system saraf pusat bila tekanan darah terlalu tinggi, reseptor khusus yang disebut baroreseptor akan diaktifkan. Baroreseptor mengirimkan sinyal ke medula oblongata di batang otak. Dari media dikirimkan sinyal melalui susunan saraf otonom yang menyebabkan (a) pelambatan jantung, (b) pengurangan

kekuatan kontraksi jantung, (3) dilatasi arteriol, dan (d) dilatasi vena besar. Kesemuanya bekerja bersama untuk menurunkan tekanan arteri ke arah normal. Efek sebaliknya terjadi bila tekanan terlalu rendah baroreseptor menghilangkan rangsangannya (Sjakoer & Permatasari, 2011).

Sistem saraf simpatis merupakan bagian dari sistem saraf otonom, untuk sementara waktu akan meningkatkan tekanan darah selama respon reaksi fisik tubuh terhadap ancaman dari luar. Disamping itu juga meningkatkan kecepatan dan kekuatan denyut jantung, juga mempersempit sebagian besar arteri, tetapi memperlebar arteri di daerah tertentu (misalnya otot rangka, yang memerlukan pasokan darah yang lebih banyak). Ada kalanya mengurangi pembuangan air dan garam oleh ginjal, sehingga akan meningkatkan volume darah dalam tubuh (Sjakoer & Permatasari, 2011).

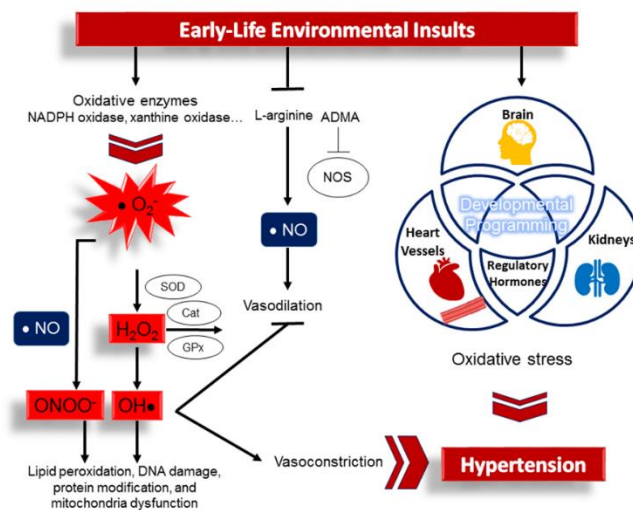
Beberapa hormon memainkan peranan penting dalam pengaturan tekanan, tetapi yang terpenting adalah sistem hormon renin angiotensin dari ginjal. Sistem renin angiotensin aldosteron (RAAS) adalah sistem hormon yang mengatur tekanan darah dan keseimbangan cairan dan elektrolit, serta resistensi pembuluh darah sistemik (Tain & Hsu, 2022).

Apabila ginjal mengalami gangguan maka, ginjal akan mensekresikan renin yang bekerja pada protein angiotensinogen untuk melepaskan angiotensin I menjadi angiotensin II oleh ACE di endotel paru. Angiotensin II merupakan vasokonstriktor kuat pembuluh darah dan dapat merangsang sekresi hormon aldosteron dari korteks adrenal. Aldosteron menyebabkan tubulus ginjal meningkatkan reabsorpsi natrium sekaligus menyebabkan ekskresi kalium. Hal ini



meningkatkan volume cairan ekstraseluler dalam tubuh, yang juga meningkatkan tekanan darah (Tain & Hsu, 2022).

Stres oksidatif adalah suatu kondisi di mana ROS mendominasi sistem antioksidan, sehingga menyebabkan cedera seluler dalam bentuk kerusakan DNA, lipid, dan protein. Selama perkembangan, stres oksidatif memicu pemrograman perkembangan organ utama yang terlibat dalam pengaturan tekanan darah (yaitu, jantung, ginjal, otak, dan pembuluh darah) dan hormon pengatur, yang menyebabkan hipertensi di kemudian hari (Tain & Hsu, 2022).

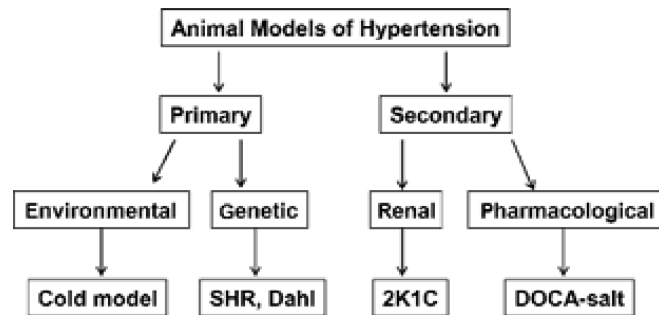


**Gambar 2. 4** Lingkungan berpengaruh terhadap kejadian hipertensi (Tain & Hsu, 2022).

### 2.3.5 Peran DOCA-garam dalam Patogenesis Hipertensi

Berdasarkan etiologi hipertensi yaitu terdiri dari primer dan sekunder. DOCA-garam menjadi salah satu model hipertensi sekunder karena pengaruh endokrin (hormon). *Deoxycorticosterone* merupakan hormon steroid yang dihasilkan oleh kelenjar adrenal yang memiliki aktivitas sebagai mineralokortikoid dan bertindak sebagai prekursor aldosteron atau hormon yang berperan dalam menjaga konsentrasi natrium dan kalium normal dalam darah dan

berperan dalam mengendalikan volume darah serta tekanan darah. Mineralokortikoid yang berlebih mengakibatkan terjadinya hipertensi (Sjakoer & Permatasari, 2011).



**Gambar 2. 5** Model Tikus Hipertensi (Sjakoer & Permatasari, 2011).

*Deoxycorticosterone* adalah hormon steroid yang dihasilkan oleh kelenjar adrenal. Jalur utama untuk produksi aldosteron yaitu pada zona glomerulosa adrenal. Pemberian suntikan *deoxycorticosterone* tidak menyebabkan ekskresi kalium bila asupan natrium rendah (Don and Lo, 2007).

*Deoxycorticosterone* secara kualitatif mempunyai kemiripan dengan aldosteron, serta merupakan hormon steroid yang berperan penting pada ginjal. Untuk mengatur volume cairan ekstraseluler, aldosteron akan mengurangi ekskresi NaCl (garam) dengan cara mereabsorpsinya dari tubulus ginjal. Naiknya konsentrasi NaCl akan diencerkan kembali dengan cara meningkatkan volume cairan ekstraseluler yang pada gilirannya akan meningkatkan volume dan tekanan darah (Sjakoer & Permatasari, 2011).

Aldosteron diketahui berpengaruh dalam pengaturan tekanan darah melalui *Renin Angiotencin Aldosterone System* (RAAS) yang memainkan peran penting dalam mengontrol tekanan darah. Renin adalah enzim yang diproduksi oleh sel spesifik pada ginjal, yang akan berinteraksi dengan aldosteron dan

senyawa lainnya yang membantu pengaturan regulasi natrium dan potassium dalam darah serta jumlah cairan dalam tubuh dan juga tekanan darah (Noviyanti, 2015).

Apabila terjadi gangguan pada ginjal, maka ginjal akan banyak mensekresikan sejumlah besar renin, selanjutnya oleh hormon renin (diproduksi oleh ginjal) angiotensinogen akan diubah menjadi angiotensin I, oleh *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) angiotensin I diubah menjadi angiotensin II. Angiotensin II inilah yang memiliki peran penting dalam meningkatkan tekanan darah melalui dua aksi utama (Noviyanti, 2015).

Secara fisik, garam adalah benda padatan berwarna putih berbentuk kristal yang merupakan kumpulan senyawa dengan bagian terbesar Natrium Chlorida (>80%) serta senyawa lainnya seperti Magnesium Chlorida, Magnesium Sulfat, Calcium Chlorida, dan lain-lain. Garam mempunyai sifat atau karakteristik higroskopis yang berarti mudah menyerap air, *bulk density* (tingkat kepadatan) sebesar 0,8 - 0,9 dan titik lebur pada tingkat suhu 801°C (Hasni dkk., 2021).

Pemberian DOCA yang disertai dengan NaCl 2% akan memberikan garam tambahan yang akan memfasilitasi proses retensi natrium dalam tubuh. Deoxycorticosterone tersebut akan berefek terjadinya retensi natrium pada ginjal dan peningkatan penyerapan natrium di saluran cerna. Peningkatan kadar natrium yang diretensi maka selanjutnya secara tidak langsung akan meningkatkan retensi air agar tidak terjadi keadaan hipertonik intravaskuler. Peningkatan retensi natrium dan air akan meningkatkan jumlah ECF (*Extra Cellular Fluid*) terutama Intravascular Fluid, akibatnya tekanan hidrostatik di dalam pembuluh darah akan meningkat, dampaknya adalah peningkatan tekanan darah. Peningkatan ECF akan

menyebabkan jantung memompa darah lebih banyak dalam sekali kuncupnya, dampaknya adalah semakin meningkatnya tekanan darah dan peningkatan beban jantung dalam memompa darah ke seluruh tubuh.

Penelitian yang dilakukan oleh Xu *et al.*, (2017) di Cina dengan memperoleh hasil bahwa asupan garam dapat mengakibatkan penyakit hipertensi karena kandungan natriumnya. Asupan natrium yang berlebihan dapat menyebabkan pelepasan hormon natriuretik yang berlebihan. Ketika terlalu banyak air keluar dari tubuh, volume darah dan tekanan darah akan turun. Sel ginjal akan mengeluarkan reninase, dan renin mengaktifkan protein yang disebut angiotensinogen di dalam darah dalam bentuk aktif angiotensin. Angiotensin mengkonstriksi diameter pembuluh darah, sehingga meningkatkan tekanan darah.

Hal tersebut juga didukung oleh Sjakoe & Permatasari (2011) bahwa garam memiliki hubungan yang sebanding dengan timbulnya hipertensi. Semakin banyak jumlah garam dalam tubuh, maka akan terjadi peningkatan volume plasma, curah jantung, dan tekanan darah. Disamping itu, konsumsi garam dalam jumlah yang tinggi dapat mengecilkan diameter arteri, sehingga mengakibatkan jantung akan memompa darah lebih banyak dalam sekali kuncupnya, dampaknya adalah semakin meningkatnya tekanan darah dan peningkatan beban jantung dalam memompa darah ke seluruh tubuh dan ke paru-paru. Oleh karena itu, pembatasan konsumsi makanan dan minuman sesuai dengan porsi yang dianjurkan harus dilakukan untuk mengurangi faktor resiko hipertensi. Anjuran tersebut secara implisit terkandung dalam firman Allah pada QS: Al-A'raf [7]: 31 yang berbunyi:

يٰۤاٰدَمُ خُذْ وَاٰزِيۡنَكَمۡ عِنۡدَ كُلِّ مَسۡجِدٍ وَكُلُوۡا وَاشۡرَبُوۡا وَلَا تُسۡرِفُوۡا اِنَّهٗ لَا يُحِبُّ الْمُسۡرِفِيۡنَ ۝۳۱

Artinya: “*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)*”.

Diantara makna Surat Al-A’raf ayat 31 terdapat kalimat “*وَكُلُوا وَاشْرَبُوا وَلَا تُسْرِفُوا*” yang dapat diartikan, makan dan minumlah dan janganlah berlebih-lebihan. Tafsir kalimat tersebut dianjurkan untuk memakan makanan yang diharamkan, enak, memberikan manfaat dan mengandung gizi yang baik, serta jangan berlebihan dalam makan dan minum atau dalam hal apapun, karena sesungguhnya Allah SWT tidak menyukai serta tidak memberikan rahmat bagi orang-orang yang selalu berlebihan (Shihab, 2002). Seperti halnya dengan mengkonsumsi garam dapat mengakibatkan penyakit hipertensi karena kandungan natriumnya. Akibat hal tersebut penyakit ini biasanya tidak terdiagnosis selama beberapa tahun dan menjadi penyakit kronis hingga muncul komplikasi dari penyakit tersebut (WHO, 2016).

Hal-hal yang mendukung pemaparan DOCA-garam yaitu model tikus hipertensi DOCA-garam (hipertensi sekunder) mudah untuk dilakukan karena tidak melalui rekayasa genetik (hipertensi primer), lebih cepat meningkatkan tekanan darah yaitu setelah 1 bulan pemaparan atau pada minggu ke 8 terjadi kenaikan tekanan darah, jarang terjadi kerusakan organ yang fatal, pada DOCA-garam kadar renin rendah Sjaokoer & Permatasari (2011).

Sebelum DOCA diberikan pada hewan uji, serbuk DOCA terlebih dahulu dilarutkan menggunakan minyak jagung. Menurut Murray *et al* (2006) mengatakan bahwa penggunaan minyak jagung dalam melarutkan DOCA karena DOCA merupakan hormon steroid yang larut dalam lemak, sehingga perlu

pengangkut, waktu paruh (*half-life*) lebih lama, dapat masuk ke dalam sel dan reseptor berada di dalam sel target.

DOCA yang diberikan kepada hewan coba dilakukan secara subkutan dan dilakukan sebanyak 2 kali dalam seminggu selama 28 hari. Hal ini merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Nisa, dkk (2013), yaitu pemberian DOCA 10mg/KgBB dilakukan 2 kali dalam seminggu dan perlakuan tersebut dilakukan selama 6 minggu. Namun, dalam penelitian kali ini akan dilakukan peningkatan dosis DOCA yaitu menjadi 15 mg/KgBB diinjeksikan sebanyak 2 kali dalam seminggu, sehingga hanya memerlukan waktu selama 4 minggu. Dosis DOCA yang diberikan pada tikus disesuaikan dengan berat badan, sehingga dosis DOCA yang diberikan pada setiap tikus berbeda-beda. DOCA diberikan pada perlakuan selain kontrol negatif (K-). Pemberian DOCA-garam ini bertujuan agar hewan coba mengalami tekanan darah tinggi atau hipertensi.

#### **2.4 Radikal Bebas**

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Untuk mencapai kestabilannya, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul yang bersifat reaktif di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron, sehingga disebut juga sebagai *Reactive Oxygen Species* (ROS). Mekanismenya dapat dengan donasi, meski umumnya dengan “mencuri” dari sel tubuh lain (Ardhie, 2011).

Radikal bebas terbagi menjadi dua macam berdasarkan sumbernya yaitu eksogen (luar tubuh) dan endogen (dalam tubuh). Radikal bebas eksogen misalnya karena faktor lingkungan seperti radiasi, sinar UV, polusi, asap rokok, makanan,

minuman, ozon, dan pestisida. Sedangkan radikal bebas endogen misalnya terbentuk dengan adanya reaksi enzimatik fisiologis pada metabolisme sel (Tanase *et al.*, 2022).

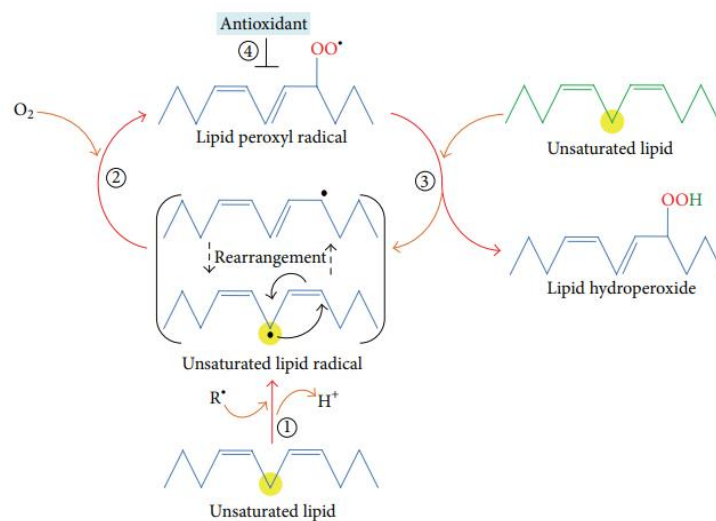
Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan, yaitu jika produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) melebihi kapasitas antioksidan disebut dengan stress oksidatif. Stress oksidatif di dalam tubuh akan menimbulkan kerusakan oksidatif yang dimulai dari tingkat sel, jaringan, hingga organ organ tubuh yang nantinya akan menyebabkan berbagai macam penyakit. Selain itu, stress oksidatif juga dapat menimbulkan kerusakan langsung pada lipid dan akan mudah teroksidasi (peroksidasi lipid) (Ayala *et al.*, 2014).

## **2.5 Peroksidasi Lipid**

Peroksidasi lipid dapat digambarkan sebagai proses ROS menyerang lipid yang mengandung ikatan rangkap karbon-karbon terutama asam lemak tak jenuh ganda atau PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acids*) membentuk hidroperoksida. Peroksidasi lipid dapat secara enzimatik diperantarai oleh enzim oleh enzim seperti, siklooksigenase, lipoksigenase, dan sitokrom P450. Sedangkan peroksidasi lipid secara non-enzimatik diperantarai oleh reaksi berantai radikal bebas. Peroksidasi lipid menghasilkan produk utama yaitu lipid heroperoksida (LOOH) dan produk sekunder yaitu MDA, propanal, heksanal, dan 4-hidroksinonenal (Ayala *et al.*, 2014).

Proses keseluruhan peroksidasi lipid terdiri dari tiga langkah, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Langkah pertama dalam inisiasi peroksidasi lipid, prooxidants seperti hidroksil radikal abstrak allylic hydrogen membentuk karbon-centered lipid radical ( $L^{\bullet}$ ). Radikal lipid ( $L^{\bullet}$ ) dengan cepat bereaksi

dengan oksigen membentuk radikal peroksida lipid ( $\text{LOO}^\bullet$ ) yang mengabstraksikan hidrogen dari molekul lipid lain dan menghasilkan  $\text{L}^\bullet$  baru (meneruskan reaksi berantai) dan lipid hidroperoksida ( $\text{LOOH}$ ) pada fase propagasi. Dalam reaksi terminasi, antioksidan menyumbangkan atom hidrogen ke spesies  $\text{LOO}$  dan membentuk radikal yang bereaksi dengan  $\text{LOO}$  lain membentuk produk nonradikal. Setelah peroksidasi lipid dimulai, propagasi reaksi berantai akan terjadi sampai produk terminasi diproduksi (Gambar 2.6) (Ayala *et al.*, 2014).



**Gambar 2. 6** Proses peroksidasi lipid (Ayala *et al.*, 2014).

## 2.6 Malondialdehyde (MDA)

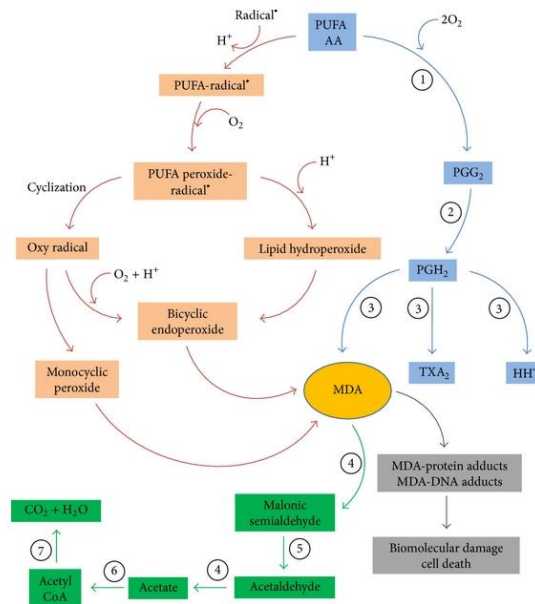
MDA adalah produk akhir yang dihasilkan oleh dekomposisi dari asam arakidonat dan PUFA (*Poliunsaturated Fatty Acid*) yang lebih besar, melalui proses enzimatik dan non-enzimatik. Proses enzimatik MDA dihasilkan melalui sintesis tromboksan A2, sedangkan pada proses non-enzimatik MDA dapat dihasilkan melalui peroksidasi lipid (Ayala *et al.*, 2014).

Prosesnya terbentuknya MDA diawali dari asam arakhidonat atau asam lemak tak jenuh berukuran besar menghasilkan prostaglandin G2 akibat dikatalis



oleh enzim siklooksigenase, selanjutnya terbentuk prostaglandin H<sub>2</sub> akibat prostasiklin peroxidase dan akan membentuk TXA<sub>2</sub> dan 12-l-hydroxy-5,8,10-*heptadecatrienoic acid* (HHT), serta produk sampingannya adalah malondialdehid. Sedangkan pembentukan MDA non enzimatis karena adanya peroksidasi lipid dan *bicyclic* endoperoksida (jalur merah) (Ayala *et al.*, 2014).

Satu MDA yang terbentuk dapat dimetabolisme secara enzimatik (jalur hijau). Enzim yang merupakan kunci dalam pembentukan dan metabolisme MDA: siklooksigenase (1), prostasiklin hidroperoksida (2), tromboksan sintase (3), aldehida dehydrogenase (4), dekarboksilase (5), asetil KoA sintase (6), dan siklus asam trikarboksilat (7) (Gambar 2.7) (Ayala *et al.*, 2014).

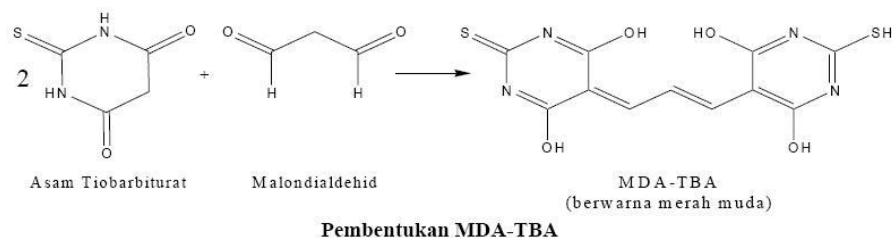


**Gambar 2. 7** Proses pembentukan malondialdehid (MDA) (Ayala *et al.*, 2014).

Hingga saat ini MDA adalah penanda stres oksidatif yang merupakan hasil peroksidasi lipid *in vivo* yang paling stabil. MDA telah digunakan secara luas sebagai penanda klinis peroksidasi lipid dan menjelaskan peningkatan stres oksidatif pada sejumlah penyakit. MDA ditemukan di hampir semua cairan

biologis, namun yang paling umum digunakan sebagai sampel penelitian adalah darah dan urin karena paling mudah didapatkan, paling tidak invasif dan memberikan hasil yang sama akurat dari indeks stress oksidatif (Situmorang & Zulham, 2020).

Pengukuran pada kadar MDA dapat dilakukan dengan menggunakan metode *Thiobarbituric Acid-reactive Substance* (TBARS). Prinsip dasar pada pengukuran dengan menggunakan metode TBARS adalah pengukuran kadar MDA yang paling sederhana dan sering digunakan dalam penelitian. Reaksi pada satu molekul MDA dan dua molekul TBA akan menghasilkan sebuah produk akhir yang stabil berupa MDA-TBA *adduct*. Reaksi tersebut akan berada pada pH antara 2-3 dan menghasilkan warna pink-kromogen yang dapat dipantau secara spektrofotometrik dengan panjang gelombang ( $\lambda$ ) antara 532-535 nm. Proses pengukuran dengan reaksi TBA dengan menggunakan metode kolorimetri dan spektrofotometer merupakan pengukuran untuk menghasilkan kadar MDA yang paling sering dilakukan dalam penelitian. Kadar MDA dapat diamati baik di plasma, jaringan dan juga urin (Singh *et al.*, 2014).



**Gambar 2. 8** Struktur kimia pengukuran kadar *malondialdehyde* (MDA) dengan uji TBA (Situmorang & Zulham, 2020).

## 2.7 Enzim Siklooksigenase (COX)

Enzim siklooksigenase (COX) adalah enzim yang berperan dalam proses inflamasi dan diekspresikan oleh platelet. Selain itu, enzim siklooksigenase

mendorong dihasilkannya MDA pada proses peroksidasi enzimatis dengan cara mengkatalis reaksi oksigen dengan berbagai jenis asam lemak tak jenuh menghasilkan biomolekul aktif yang dinamakan endoperoksida (PGG, PGH<sub>2</sub>). Endoperoksida yang dihasilkan ini selanjutnya akan diubah secara enzimatis hingga terbentuk produk akhir yaitu MDA (Ayala *et al.*, 2014).

Enzim ini memiliki dua bentuk (isoform) yaitu siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX 2). COX-1 dan COX 2 memiliki distribusi jaringan dan fungsi regulasi yang berbeda. COX-1 merupakan enzim konstitutif yang mengkatalisis pembentukan prostanoide regulatoris pada berbagai jaringan, terutama pada selaput lendir traktus gastrointestinal, ginjal, platelet dan epitel pembuluh darah. Bertolak belakang dengan COX-1, COX 2 tidak konstitutif tetapi dapat diinduksi, antara lain bila ada stimuli radang, mitogenesis atau onkogenesis. Kedua isoform COX hampir identik dalam struktur, tetapi memiliki perbedaan penting dalam substrat dan selektif inhibitor dan lokasi-lokasi intraseluler. Setelah stimulasi tersebut kemudian terbentuk prostanoide yang merupakan mediator nyeri dan radang (Chen *et al.*, 2021).

Penemuan ini mengarah kepada hipotesis, bahwa COX-1 mengkatalisis pembentukan prostaglandin “baik” yang bertanggung jawab menjalankan fungsi-fungsi regulasi fisiologis atau berperan untuk memelihara fungsi homeostasis tubuh, sedangkan COX 2 mengkatalisis pembentukan prostaglandin jahat yang menyebabkan reaksi inflamasi dan berperan penting pada penyakit kardiovaskular termasuk hipertensi (Khan *et al.*, 2019).

Hubungan COX 2 pada penyakit kardiovaskular salah satunya yaitu hipertensi karena COX 2 memegang peranan penting dalam pembentukan renin di

ginjal, karena COX 2 yang akan mengubah asam arakidonat (AA) menjadi prostaglandin (PGE) di sel macula densa ginjal. Prostaglandin yang dibentuk di sel macula akan berinteraksi dengan reseptor PGE di sel *juxtaglomerular* sehingga menyebabkan cAMP meningkat dan renin akan dalam aktivasi sistem renin angiotensin aldosteron, sehingga tekanan darah akan mengalami peningkatan (Weng *et al.*, 2013).

Jika ekspresi COX 2 di hambat, maka prostaglandin tidak terbentuk sehingga tidak ada yang mengaktifkan cAMP di sel *juxtaglomerular*. Jika cAMP tidak teraktivasi, maka proses selanjutnya tidak akan berjalan, dengan kata lain tidak akan ada renin yang dibentuk, sehingga sistem renin angiotensin-aldosteron tidak teraktivasi sehingga tekanan darah tidak akan mengalami peningkatan (Weng *et al.*, 2013).

## **2.8 Antioksidan**

Antioksidan sangat diperlukan oleh tubuh tubuh dan sangat bermanfaat bagi kesehatan yaitu untuk melindungi tubuh dari kerusakan yang disebabkan oleh adanya radikal bebas (Islam *et al.*, 2016). Antioksidan di dalam tubuh berfungsi sebagai pendonor elektron untuk radikal bebas, sehingga menjadi elektron bebas dalam radikal bebas menjadi berpasangan dan menghentikan kerusakan dalam tubuh (Rao & Moller, 2011).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi antioksidan eksogen yaitu yang didapat dari luar tubuh/makanan seperti: buah-buahan, rempah-rempah, dedaunan, biji-bijian, dan sayur-sayuran (Rahmi, 2017). Pada umumnya aktivitas antioksidan disebabkan karena tumbuhan tersebut mengandung senyawa metabolit sekunder atau senyawa aktif, sedangkan antioksidan endogen yaitu

seperti: *Superoksida Dismutase (SOD)*, *katalase (Cat)*, dan *glutathione peroxidase (Gpx)* (Werdhasari, 2014).

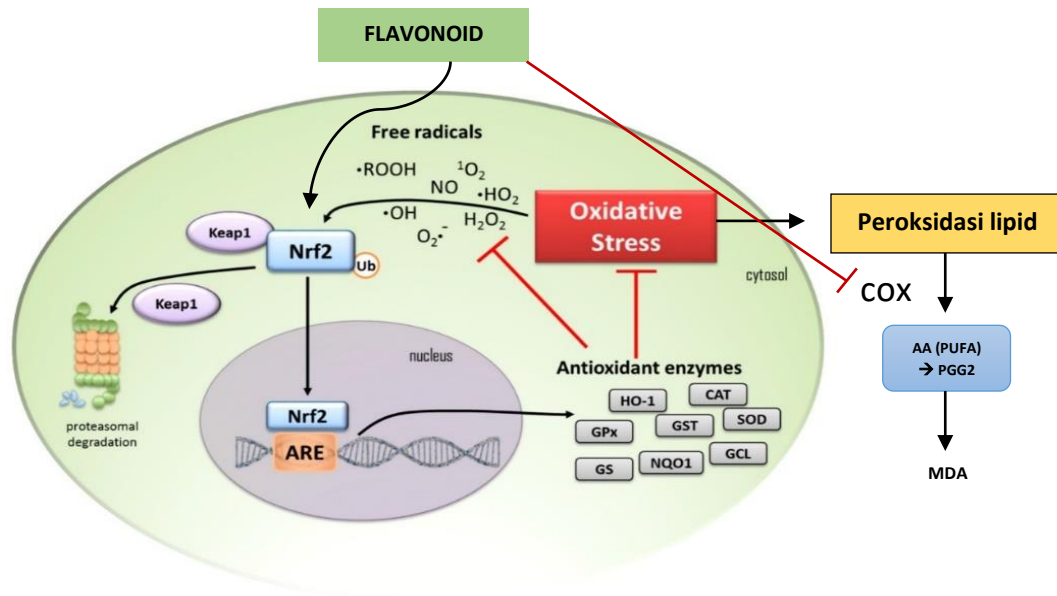
Menurut Wahjuni (2015) menyatakan bahwa berdasarkan kinerjanya, antioksidan dibagi ke dalam tiga golongan yaitu:

- 1) Antioksidan primer, merupakan antioksidan enzimatis atau juga bisa disebut dengan antioksidan yang berbentuk enzim. Antioksidan tersebut adalah SOD, CAT, dan GPx yang memiliki fungsi utama sebagai penetralan ROS dan mampu menghambat pembentukan radikal bebas yaitu dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi), kemudian berubah menjadi produk yang lebih stabil. SOD akan menetralkan radikal bebas oksigen atau superoksid menjadi  $H_2O_2$ , sedangkan  $H_2O_2$  dinetralkan oleh enzim katalase dengan cara diuraikan menjadi air dan oksigen. Fungsi dari GPx seperti halnya katalase yaitu menguraikan  $H_2O_2$  menjadi air ( $H_2O$ ) dan oksigen ( $O_2$ ).
- 2) Antioksidan sekunder, merupakan antioksidan non-enzimatis berupa komponen nutrisi dari buah-buahan dan sayuran memiliki fungsi dalam mencegah pembentukan radikal bebas dan menangkal radikal bebas (*free radical scavenger*), sehingga kerusakan sel terjadi tidak terlalu parah.
- 3) Antioksidan tersier, meliputi enzim metionin sulfasida reduktase protease, tranferase, *DNA repair enzymes* dan lipase yang memiliki fungsi dalam memperbaiki kerusakan pada jaringan tubuh yang disebabkan radikal bebas. Proses metilasi merupakan suatu proses dalam memperbaiki kerusakan terhadap DNA, mekanismenya yaitu terbentuknya suatu *sadenosylmetionin* yang berasal dari asam amino metionin yang bereaksi dengan ATP.

## **2.9 Nrf2 (*The nuclear factor erythroid 2-related factor 2*) Sebagai Aktivasi Transkripsi Gen Antioksidan**

Nrf2 memainkan peran penting dan utama dalam mengatur respon antioksidan adaptif seluler dan sebagai pertahanan sel dalam mengatasi stress oksidatif. Nrf2 tidak memiliki fungsi antioksidan tetapi memberikan efek antioksidan dengan mengaktifkan transkripsi gen antioksidan (Tanase *et al.*, 2022). Nrf2 juga berperan penting dalam mencegah terjadinya perkembangan kardiovaskular dengan mengurangi atau menghambat stress oksidatif, disfungsi mitokondria, dan peradangan (Donia & Khamis, 2021).

Pada sel yang mengalami stres oksidatif juga akan muncul respon berupa mekanisme pertahanan yang dimediasi terutama oleh faktor transkripsi nrf2. Pada keadaan basal, nrf2 dihambat oleh regulator negatif Keap1 (*Kelch ECH associating protein 1*) sehingga Nrf2 akan terdegradasi. Ketika sel mengalami stres oksidatif, terjadi perubahan ikatan antara Nrf2 dan Keap1 sehingga Nrf2 terlepas dan terakumulasi di dalam sitoplasma. Senyawa flavonoid juga memiliki peran penting untuk mengaktifkan aktivitas Nrf2 yang terakumulasi di dalam sitoplasma akan mudah mengalami translokasi ke dalam nukleus untuk menjalankan perannya sebagai faktor transkripsi pada ekspresi gen yang bergantung ARE (*antioxidant responsive element*) dan akan mengekspresikan sejumlah gen antioksidan seperti HO-1, CAT, GPx, GST, SOD, GS, NQO1, dan GCL (Ferron *et al.*, 2019).



**Gambar 2. 9** Peran Nrf2 terhadap stress oksidatif (Ferron *et al.*, 2019).

## 2.10 Kajian *Superoxide dismutase* (SOD)

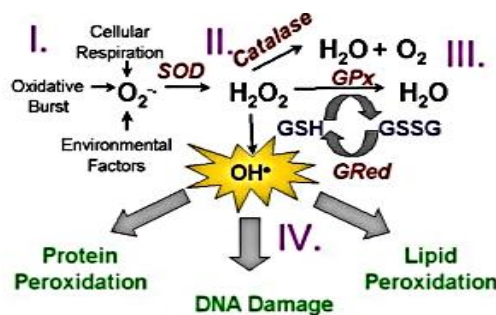
*Superoxide dismutase* (SOD) merupakan antioksidan endogen lini pertama yang utama dan yang paling kuat dalam melakukan detoksifikasi ROS atau berperan dalam melindungi dan mendegradasi sel dari paparan radikal bebas (Dianti dkk., 2017). Aktivitas SOD tertinggi ditemukan di hati, kelenjar adrenalin, ginjal, darah, limfa, pankreas, otak, paru-paru, lambung, usus, ovarium, dan timus (Murray *et al.*, 2009).

Mekanisme pertahanan yang diperankan oleh antioksidan endogen yaitu enzim SOD akan mengubah radikal superoksida ( $O_2^{\cdot-}$ ) yang dihasilkan dari respirasi serta yang berasal dari lingkungan, menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), yang masih bersifat reaktif. SOD terdapat di dalam sitosol dan mitokondria. Peroksida dikatalisis oleh enzim katalase dan GPx (Werdhasari, 2014).

Katalase mampu menggunakan satu molekul  $H_2O_2$  sebagai substrat elektron donor dan satu molekul  $H_2O_2$  menjadi substrat elektron akseptor, sehingga 2 molekul  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . Di dalam eritrosit dan jaringan

lain, enzim GPx mengkatalisis destruksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan lipid hidroperoksida dengan menggunakan glutation tereduksi (GSH), melindungi lipid membran dan hemoglobin dari serangan oksidasi oleh H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sehingga mencegah terjadinya hemolisis yang disebabkan oleh serangan peroksida. GSH akan dioksidasi menjadi GS-SG (Werdhasari, 2014).

Agar GSH terus tersedia untuk membantu kerja enzim GPx, maka GS-SG ini harus direduksi lagi menjadi GSH. Fungsi ini diperankan oleh enzim glutation reduktase (GRed) (Werdhasari, 2014). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang tidak dikonversi menjadi H<sub>2</sub>O, dapat membentuk radikal hidroksil reaktif (OH<sup>•</sup>) apabila bereaksi dengan ion logam transisi (Fe<sup>2+</sup>/Cu<sup>+</sup>). OH<sup>•</sup> bersifat lebih reaktif dan berbahaya karena dapat menyebabkan kerusakan sel melalui peroksidasi lipid, protein dan DNA. Pada tubuh sendiri tidak mempunyai enzim yang dapat mengubah OH<sup>•</sup> menjadi molekul yang aman bagi sel. Tubuh manusia dapat menetralkan radikal bebas bila jumlahnya tidak berlebihan, dengan mekanisme pertahanan antioksidan endogen. Bila antioksidan endogen tidak mencukupi, tubuh membutuhkan antioksidan dari luar (Werdhasari, 2014).



**Gambar 2. 10** Mekanisme antioksidan endogen sebagai pertahanan tubuh (Werdhasari, 2014).



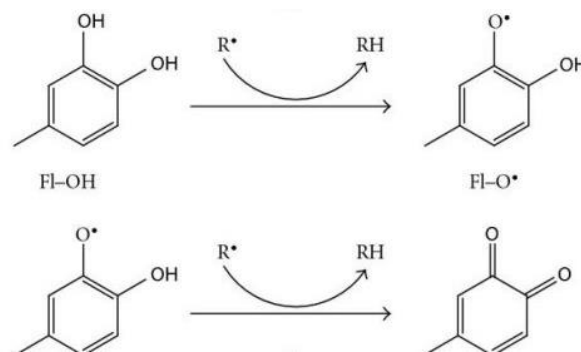
## 2.11 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok polifenol dan diklasifikasikan berdasarkan struktur kimia serta biosintesisnya (Seleem *et al.*, 2017). Struktur dasar flavonoid terdiri dari dua gugus aromatik yang digabungkan oleh jembatan karbon (C6-C3-C6). Flavonoid diklasifikasikan sebagai flavon, flavanone, flavonol, katekin, flavanol, kalkon dan antosianin (Panche *et al.*, 2016). Penelitian ini menggunakan senyawa yang merupakan kelompok dari flavon dan flavonol turunan dari flavonoid. Pembagian kelompok flavonoid didasarkan pada perbedaan struktur terutama pada substitusi karbon pada gugus aromatik sentral dengan beragamnya aktivitas farmakologi yang ditimbulkan (Wang *et al.*, 2018).

Penelitian terkait aktivitas farmakologi dari flavonoid yaitu erat kaitannya dengan antihipertensi. Flavonoid mempengaruhi kerja dari ACE yang akan menghambat perubahan angiotensin I menjadi angiotensin II sehingga menghambat pengeluaran aldosteron. Aldosteron akan mempengaruhi ginjal untuk menahan natrium dan air, apabila pengeluaran aldosteron dihambat maka lebih banyak air dikeluarkan dari tubuh dan tekanan darah akan turun. Selain itu, flavonoid erta kaitannya dengan antioksidan karena memiliki kemampuan untuk mengurangi, menghambat, maupun mencegah radikal bebas (Oktaviana *et al.*, 2021).

Menurut (Sangeetha *et al.*, 2016) gugus hidroksil diyakini yang paling berperan dalam proses pemecahan radikal bebas karena dapat melakukan proses donor hidrogen. Hal ini juga didukung oleh penelitian lain yang menyatakan bahwa gugus hidroksi pada flavonoid memiliki reaktivitas yang tinggi sebagai donor hidrogen akan menstabilkan radikal bebas. Kapasitas flavonoid sebagai

antioksidan secara *in vitro* telah dibuktikan dengan banyak studi penunjang bertahun-tahun kebelakang dan dianggap potensial untuk dilakukan pengembangan pada industri obat maupun makanan. Pada (gambar 2.10) menunjukkan proses pemecahan ROS yang melibatkan gugus hidroksi pada cincin aromatik B yang mendonorkan hidrogen dan elektron kepada gugus radikal hidroksil, peroksil dan peroksinitrat menjadi tidak berbahaya (Panche *et al.*, 2016).



**Gambar 2. 11** Proses pemecahan ROS ( $R^{\bullet}$ ) oleh flavonoid (Kumar and Pandey, 2013).

## 2.12 Tinjauan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Allah SWT menciptakan berbagai jenis makhluk hidup baik manusia, tumbuhan ataupun hewan. Makhluk hidup yang diciptakannya memiliki bentuk, ukuran, sifat, dan ciri fisiologi yang berbeda-beda. Perbedaan-perbedaan tersebut menjadikan makhluk hidup dapat dikelompokkan berdasarkan ciri mendasarnya. Sebagaimana Allah SWT menjelaskan dalam QS: An-Nur [24]: 45 sebagai berikut:

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ بَطْنِهِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ سَائِجِرَةٍ وَمِنْهُمْ مَّن يُرِيدُ  
 ٤٥  
 رَجُلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ اِثْنَيْنِ وَإِنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ

Artinya:” 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)”.

Allah SWT menciptakan berbagai jenis hewan seperti dalam Surat An-Nur ayat 45. Menurut Ibnu Katsir (2003), Allah SWT mengungkapkan kebesarannya dalam menciptakan makhluknya yang memiliki berbagai macam bentuk, yang Ia ciptakan dari air. Diantara makna Surat An-Nur ayat 45 terdapat kata “ وَمِنْهُمْ مَنْ ” *وَمِنْهُمْ مَنْ* “sedangkan sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki”, menurut tafsir Ibnu Katsir (2003), ayat tersebut menjelaskan hewan ternak dan hewan lain yang memiliki empat kaki. Kemudian disebutkan dalam ayat selanjutnya yang bermakna apa yang Ia kehendaki pasti ada, sedangkan apa yang tidak Ia kehendaki pasti tidak ada. Pada makna tersebut dijelaskan kelompok hewan yang memiliki empat kaki sebagai alat geraknya, sebagaimana tikus putih galur wistar yang termasuk dalam kelompok hewan berkaki empat.

Hewan coba sangat diperlukan dalam penelitian *in vivo* khususnya dalam bidang biomedik terutama untuk kajian imunologi, onkologi, fisiologi, patologi, toksikologi, farmakologi, dan neurosains (Ikechukwu *et al.*, 2012). Serangkaian percobaan menggunakan hewan model harus dilakukan terlebih dahulu sebelum diaplikasikan kepada manusia atau primata lainnya. Anggota Rodentia salah satunya seperti tikus (*Rattus norvegicus*) sering dijadikan hewan model karena memiliki sistem faal atau kelengkapan organ, metabolisme biokimianya, sistem reproduksinya, kebutuhan nutrisi, pernafasan, ekskresi dan peredaran darahnya menyerupai manusia (Nugroho dkk., 2018).

Kriteria dalam menentukan tikus putih untuk hewan percobaan antara lain: kontrol kesehatan, kontrol pakan, umur, bobot badan, jenis kelamin, silsilah genetik, recording perkawinan, jenis (strain). Menurut BPOM RI (2014)

menyatakan bahwa tikus putih yang digunakan dalam melakukan penelitian adalah berat badannya minimal 120gram dan rentang umurnya 6-8 minggu.

Tikus putih jenis kelamin betina tidak dianjurkan dalam penelitian. Hal ini dikarenakan kondisi hormonal pada tikus tersebut sangat berfluktuasi pada usia yang beranjak dewasa, dengan itu tikus akan memberikan respon yang sangat berbeda dan dapat berpengaruh pada hasil percobaan yang dilakukan dalam penelitian (Bredo and Odo, 2011).

### 2.12.1 Klasifikasi

Menurut Suckow *et al* (2006) klasifikasi tikus putih galur wistar adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia  
Filum : Chordata  
Kelas : Mamalia  
Ordo : Rodentia  
Famili : Muridae  
Sub-famili : Murinae  
Genus : Rattus  
Spesies : *Rattus norvegicus*



**Gambar 2. 12** Tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) (Fauziyah, 2016).

### 2.13 Pendekatan Bioinformatika

Pendekatan yang dilakukan dengan bantuan komputer untuk menggambarkan eksperimen dan untuk mengetahui interaksi antara suatu senyawa dengan molekul target dalam mendesain atau menemukan obat disebut juga dengan metode *in silico* (Setiawan & Istyastono, 2015).

Metode *in silico* memiliki kelebihan yaitu lebih murah dan mendapatkan hasil yang lebih cepat dan dapat dikembangkan dalam berbagai bidang ilmu yang berkenaan dengan penggunaan senyawa kimia seperti biomedik khususnya farmasi dalam upaya menemukan obat baru (Li *et al.*, 2017). Uji *in silico* mempunyai beberapa kegunaan antara lain memprediksi, memberi hipotesis, memberi penemuan baru atau kemajuan baru dalam pengobatan dan terapi (Hardjono, 2013).

Beberapa metode *in silico* yang digunakan untuk pengembangan kandidat obat baru adalah analisis sifat mirip obat (*drug likeness*), prediksi ADME, dan *molecular docking* (Nusantoro, 2020).

Penggunaan studi *in silico* bersamaan dengan studi lain akan dapat lebih memperkuat hasil penelitian. Studi *in silico* dapat menjadi metode penapisan senyawa yang tidak diperlukan dalam tahapan *in vitro* maupun *in vivo*. Hal ini akan lebih mengurangi terjadinya bias antara hasil *in silico* dengan metode lain yang bersifat prediksi (Sliwoski *et al.*, 2014).

#### 2.13.1 Uji PASS (Prediksi Bioaktivitas Senyawa Aktif)

Uji PASS dilakukan untuk mengetahui potensi aktivitas antioksidan sekaligus sebagai kardioprotektif (antihipertensi) dari senyawa bioaktif tanaman benalu teh dan benalu mangga. Hasil uji PASS menunjukkan nilai Pa (*Potential*

*Activity*) dan *Pi (Potential Inhibitory)*, kemudian dilakukan analisis (Sjakoer *et al.*, 2021).

Nilai  $Pa > 0,7$  menunjukkan senyawa memiliki potensi yang tinggi untuk menjadi senyawa bioaktif di uji eksperimen *in vitro* dan atau *in vivo* dan sekaligus memiliki tingkat kemiripan yang tinggi dengan senyawa obat dengan bioaktivitas yang sama. Nilai  $0,5 < Pa < 0,7$  menunjukkan bahwa senyawa memiliki potensi yang tinggi untuk menjadi senyawa bioaktif di uji eksperimen *in vitro* dan atau *in vivo* dan sekaligus berpotensi dalam pengembangan senyawa obat yang baru dengan bioaktivitas sama. Dan nilai  $Pa < 0,5$  menunjukkan bahwa senyawa memiliki potensi yang rendah untuk menjadi senyawa bioaktif di uji eksperimen *in vitro* dan atau *in vivo* dan sekaligus memiliki potensi yang rendah untuk dikembangkan menjadi senyawa obat. Pada penelitian ini dilakukan skrining senyawa yang memiliki nilai  $Pa < 0,5$  (Sjakoer *et al.*, 2021).

### **2.13.2 Analisis (*Drug likeness*) Berdasarkan Aturan Lipinski**

Analisis *drug likeness* digunakan untuk melihat suatu obat dapat digunakan secara oral menggunakan aturan lipinski. Aturan Lipinski merupakan aturan yang dibuat untuk memudahkan dalam menentukan suatu molekul atau senyawa dengan mengidentifikasi obat dengan melihat sifat permeabilitas dan absorpsinya (Maftucha dkk., 2022).

Senyawa Obat diharapkan mampu mencapai target agar senyawa aktif yang terdapat dalam obat dapat berinteraksi dengan baik dalam tubuh. Dalam aturannya dikatakan bahwa obat yang memenuhi kelima aturan dapat mencapai target bila diberikan secara oral. Akan tetapi, apabila ada obat yang tidak

memenuhi salah satu aturan tersebut sebaiknya pemberian dengan melalui injeksi karena diduga akan membahayakan tubuh manusia (Maftucha dkk., 2022).

Syarat yang harus dipenuhi oleh suatu ligan berdasarkan aturan Lipinski yaitu: (a) berat molekul  $\leq 500$  Da, (b) nilai LogP  $\leq 5$ , (c) ikatan hidrogen akseptor  $\leq 10$ , (d) ikatan hidrogen donor  $\leq 5$  (Maftucha dkk., 2022).

### **2.13.3 Prediksi ADMET**

Prediksi ADMET merupakan uji bioinformatika pengembangan obat baru terkait dengan farmakokinetik dan farmakodinamik molekul obat. Prediksi ADMET memperlihatkan berbagai profil absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas yang meliputi absorpsi pada usus manusia (*Human Intestinal Absorption*, HIA), *Water Solubility* (Log S), VDss, distribusi sawar darah otak (*Blood Brain Barrier*, BBB), *CYP2D6 substrate*, *Total Clearance*, *Renal OCT2 Substrate*, *AMES Toxicity*, LD50 (Daina et al., 2017).

### **2.13.4 Molecular Docking**

*Molecular docking* merupakan suatu pembelajaran komputasi yang digunakan untuk mencari pola interaksi yang paling tepat dan melibatkan antara dua molekul, yaitu reseptor dan ligan atau obat (Setiawan & Irawan, 2017).

Tujuan dari docking adalah untuk mencapai konformasi protein dan ligan yang optimal. Docking membantu dalam mempelajari obat atau ligan yang berinteraksi dengan reseptor atau protein dengan mengidentifikasi situs aktif yang cocok pada protein, mendapatkan geometri terbaik dari kompleks ligan-reseptor (Setiawan & Irawan, 2017).

Terdapat tiga ikatan reseptor-ligan yang terbentuk dalam *molecular docking* yaitu:

1. Ikatan hidrogen merupakan suatu interaksi elektrostatik antara gugus donor yang bersifat asam lemah dengan atom dari suatu reseptor yang membentuk pasangan elektron bebas. Ikatan hidrogen ini terbentuk diantara sesama molekul internal (dalam polipeptida) atau antara molekul internal dengan air. Ikatan ini merupakan ikatan utama yang menjaga kestabilan protein (Setiawan & Irawan, 2017).
2. Ikatan hidrofobik disebabkan karena adanya suatu gaya sehingga senyawa non polar mengatur dirinya sedemikian rupa untuk meminimalkan kontak dengan air atau senyawa amphipatik, membentuk struktur seperti misel di dalam air. Protein yang membentuk misel sebagian besar rantai sampingnya yang bersifat non polar akan menjauhi kontak dengan air, maka adanya interaksi hidrofobik dapat mendukung kestabilan suatu protein (Setiawan & Irawan, 2017).
3. Ikatan pada elektrostatik yaitu ikatan ion dan ikatan van der Waals. Ikatan ion merupakan ikatan yang terjadi ketika dua gugus protein yang memiliki muatan berlawanan (pasangan ion) saling berinteraksi. Ikatan ion merupakan ikatan yang kuat tetapi dalam menstabilkan struktur suatu protein tidak terlalu berperan banyak. Hal ini disebabkan karena pasangan ion yang tersembunyi (unsolvated) tidak banyak ditemukan pada protein dan pasangan ion di bagian luar (Setiawan & Irawan, 2017).

Ikatan van der Waals merupakan ikatan yang terjadi karena adanya interaksi elektrostatik diantara dipol-dipol. Ikatan ini khas untuk molekul yang bersifat nonpolar dan bertanggung jawab pada berbagai macam interaksi atom-atom yang berdekatan. Interaksi yang penting dalam pengikatan protein



diantaranya adalah interaksi dipol permanen, antara gugus karboksil, dan gugus anida. Walaupun ikatan van der Waals lemah, namun terjadi dalam jumlah besar sehingga memiliki peran yang penting untuk menentukan stabilitas protein (Setiawan & Irawan, 2017).

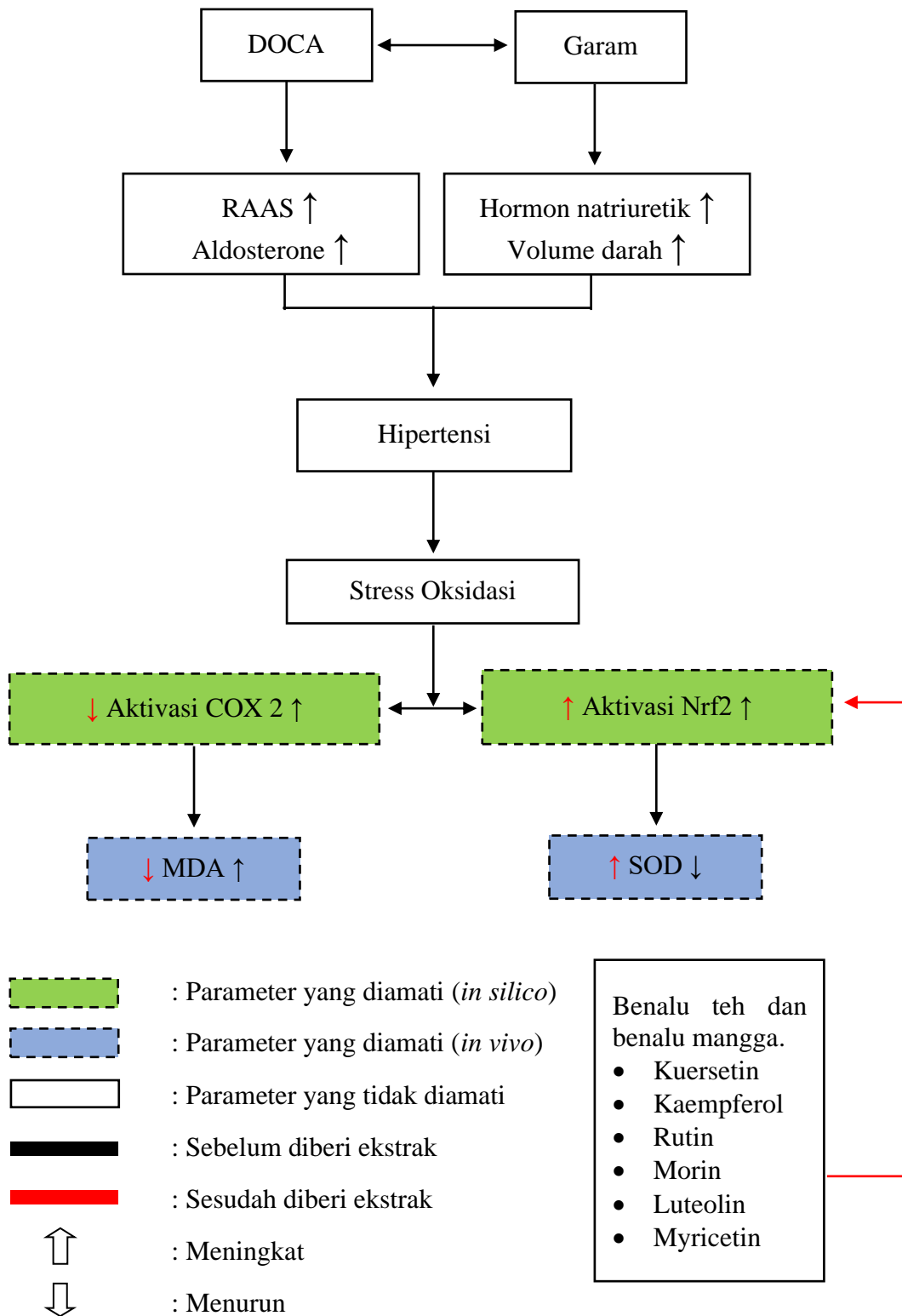
### 2.13.5 Aplikasi Penunjang

1. *Protein Data Bank* (PDB) merupakan suatu basis data struktur tiga dimensi seperti protein, DNA, dan molekul biologis kompleks lainnya yang telah dipublikasi dan ditentukan secara eksperimen dengan kristalografi sinar-X, spektroskopi NMR atau yang terbaru melalui mikroskopi elektron kriogenik, kemudian diunggah oleh para ahli biologi dan biokimiawan dari seluruh dunia. Sumber utama untuk data struktur protein terdapat pada PDB yang tersedia dalam situs web <http://www.pdb.org/>. Situs ini dibuat oleh *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics* (RCSB), dan dapat dinyatakan sebagai arsip data struktural tunggal di dunia.
2. PubChem adalah tempat penyimpanan informasi tentang molekul kimia dan aktivitasnya tentang penelitian biologi yang terdiri dari tiga bagian yaitu: substansi, ikatan, dan bioassay (Hähnke *et al.*, 2018). Layanan standarisasi struktur PubChem dapat diakses sebagai sumber daya publik (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/standardize>) (Hähnke *et al.*, 2018).
3. PyRx-Autodock Vina merupakan salah satu metode yang terdapat di program PyRx yang memiliki peran dalam melakukan *molecular docking* dan *virtual screening* senyawa. Autodock Vina digunakan untuk memprediksi konformasi ikatan maupun afinitas senyawa ligan dengan targetnya dalam hal ini reseptor (Muchtaridi *et al.*, 2018). Autodock Vina memiliki keunggulan yaitu dapat

melakukan docking secara cepat dan otomatis untuk menghemat waktu penambatan senyawa terhadap target (Saputri *dkk.*, 2016).

4. *BIOVIA Discovery Studio* adalah sebuah perangkat lunak komputer yang bisa digunakan dalam permodelan kimia, penentuan afinitas suatu molekul, skrining pharmacophore, dan prediksi rasional design antibodi. Penelitian ini menggunakan perangkat discovery studio untuk menghilangkan molekul air dan ligan asli dan kemudian protein disimpan dalam format PDB serta melihat interaksi ligan uji dengan reseptor target secara 2D dan 3D (Dassault Systemes, 2016).
5. *SwissADME* suatu aplikasi online yang dikenal sebagai *physicochemical descriptor* yang sering digunakan untuk melihat aktivitas dari suatu senyawa berdasarkan strukturnya. *SwissADME* memiliki keunggulan untuk memprediksi aktivitasnya berdasarkan sifat fisikokimia dan dapat memprediksi sifat dari senyawa yang ditinjau dari aspek farmakokinetik maupun farmakodinamikanya (Daina *et al.*, 2017).

## 2.14 Kerangka Konseptual



**Gambar 2. 13** Bagan Kerangka Konsep Penelitian

### 2.15 Uraian Kerangka Konseptual

DOCA merupakan perkusor hormon mineralokortikoid korteks adrenal yang memiliki efek analog dengan hormon mineralokortikoid aldosteron. Pemberian DOCA yang disertai dengan garam akan memberikan garam tambahan yang akan memfasilitasi proses retensi elektrolit natrium dan air dalam tubuh sampai terjadi diuresis dan peningkatan tekanan pada ginjal. Selain itu, pemberian DOCA akan meningkatkan *aldosterone* di dalam plasma, selanjutnya *aldosterone* akan mengaktivasi enzim NADP(H) oksidase sehingga memicu terjadinya stress oksidatif (Sjakoer & Permatasari, 2011).

Pada kondisi stress oksidatif, maka akan menyebabkan terjadinya tekanan darah tinggi dan menurunnya pertahanan antioksidan endogen (SOD), serta peningkatan peroksidasi lipid, sehingga dapat meningkat pula produk akhir dari preroksidasi lipid (MDA). (Sjakoer & Permatasari, 2011). MDA digunakan sebagai penanda stress oksidatif, jadi apabila terjadi peningkatan stress oksidatif, maka kadar MDA di dalam tubuh juga akan mengalami peningkatan (Situmorang & Zulham, 2020).

Tumbuhan benalu teh dan benalu mangga digunakan dalam penelitian ini karena memiliki banyak manfaat dalam menyembuhkan berbagai macam penyakit termasuk sebagai antioksidan, antihipertensi, dan diuretik (Artanti dkk., 2012; Nurfaat, 2016). Berdasarkan analisis fitokimianya, ekstrak daun benalu teh dan benalu mangga memiliki senyawa flavonoid, tanin, asam amino, karbohidrat, alkaloid, triterpenoid, dan saponin (Fitrilia *et al.*, 2015). Tetapi senyawa utama dalam famili loranthaceae adalah golongan flavonoid seperti kuersetin,

kaempferol, rutin, myricetin, luteolin, laurifoline (Nurfaat, 2016; Zainuddin & ain, 2015; Ohashi *et al.*, 2003).

Senyawa morin dapat meningkatkan ekspresi Nrf2 sehingga memberikan efek antioksidan dengan mengaktifkan transkripsi gen antioksidan endogen seperti (SOD) (Donia & Khamis, 2021). Senyawa luteolin dapat menurunkan aktivitas enzim COX 2, sehingga hal ini dapat mengurangi terbentuknya MDA (Hasan *et al.*, 2014).

Hal ini dapat terjadi karena senyawa yang ada pada kedua benalu tersebut diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan biologis yang dapat mendonorkan ion hidrogen pada radikal bebas sehingga molekulnya menjadi lebih stabil dan dapat meningkatkan aktivitas nrf2 yang berperan penting dan utama dalam mengatur respon antioksidan adaptif seluler dan sebagai pertahanan sel dalam mengatasi stress oksidatif (Demando dkk., 2019).

Penggunaan tanaman herbal juga dapat dianalisis potensinya melalui pendekatan bioinformatika (*in silico*) untuk mengembangkan kandidat obat oral baru. Pendekatan tersebut dilakukan melalui analisis kemiripan obat, prediksi ADME, dan *molecular docking* (Daina *et al.*, 2017). Evaluasi sifat mirip obat secara umum dilakukan berdasarkan aturan Lipinski (*rule of five*) untuk melihat suatu obat dapat digunakan secara oral atau tidak. Penggunaan studi *in vivo* bersamaan dengan studi *in silico* akan dapat lebih memperkuat hasil penelitian (Maftucha dkk., 2022).

Prediksi ADME dapat memberikan informasi mengenai karakteristik farmakokinetik dan farmakodinamik dari sebuah molekul obat dan memperlihatkan berbagai profil absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi.

(Nusantoro & Fadlan, 2020). *Molecular docking* membantu mempelajari interaksi antara senyawa obat dengan protein melalui pengidentifikasian situs aktif yang cocok pada protein dan menjadi dasar untuk penemuan obat secara simulasi komputasi (Setiawan & Irawan, 2017). Penggunaan studi *in silico* bersamaan dengan studi lain seperti *in vivo* dapat lebih memperkuat atau mempertegas hasil penelitian (Sliwoski *et al.*, 2014).

Hasil yang diharapkan dari proses docking ini adalah informasi tentang seberapa besar potensi senyawa yang terdapat pada benalu teh serta benalu mangga dalam mengaktifkan nrf2 (*The nuclear factor erythroid 2-related factor 2*) untuk mengatur gen antioksidan (Ferron *et al.*, 2019).

Proses docking ini juga melihat seberapa besar potensi senyawa yang terdapat pada benalu teh serta benalu mangga dalam menghambat pembentukan MDA melalui jalur peroksidasi enzimatik, enzim yang diamati sebagai reseptor adalah enzim siklooksigenase. Enzim siklooksigenase dipilih untuk diamati secara *in silico* pada penelitian ini karena enzim siklooksigenase mendorong dihasilkannya MDA (Ayala *et al.*, 2014).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian Uji *In Vivo***

Uji *in vivo* dilakukan secara eksperimental dengan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada delapan perlakuan dan lima ulangan. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) galur wistar berjenis kelamin jantan yang bertujuan untuk mengetahui efektivitas pemberian ekstrak benalu mangga (EBM) dengan pemberian kombinasi ekstrak benalu teh dan benalu mangga (EBTBM) terhadap peningkatan kadar SOD serum dan penurunan MDA serum pada tikus hipertensi yang dipapar DOCA-garam.

#### **3.2 Variabel Penelitian Uji *In Vivo***

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

- a. Variabel bebas
  - Uji *in vivo*: dosis ekstrak benalu mangga dan kombinasi ekstrak benalu teh dan benalu mangga.
- b. Variabel terikat
  - Uji *in vivo*: kadar *superoxide dismutase* (SOD) serum dan kadar *malondialdehyde* (MDA) serum.
- c. Variabel kontrol
  - Uji *in vivo*: tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jenis kelamin jantan berumur kurang lebih sekitar 6-8 minggu ( $\pm$  2 bulan). Berat badan berkisar antara 100-200 gram yang diaklimatisasi selama tujuh hari dan diberi minum serta diberi makan dengan susu pap. Teknik pemberian ekstrak benalu mangga dan kombinasi benalu teh dan benalu mangga

dilakukan secara oral. Teknik penginduksian DOCA secara sub kutan, sedangkan pemberian NaCl secara oral dan diminumkan.

### **3.3 Sampel Penelitian**

Hewan coba dalam penelitian ini menggunakan tikus putih galur wistar dengan jenis kelamin jantan yang berumur kurang lebih sekitar 6-8 minggu ( $\pm 2$  bulan) yang dalam keadaan sehat serta berat badan berkisar antara 100-200gram. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang.

Pengelompokan hewan coba tikus didasarkan pada rumus *Federer*. Subyek penelitian dibagi menjadi 8 perlakuan dan 5 ulangan, jadi total secara keseluruhan sampel tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 40 sampel.

### **3.4 Waktu dan Tempat Penelitian**

Dalam melakukan penelitian ini dilaksanakan pada januari-mei 2022. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang, pemeliharaan tikus di Laboratorium Ekologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang, pengujian variabel penelitian dilaksanakan di Laboratorium Faal, Histopatologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Uji kadar air pada benalu teh dan benalu mangga dilaksanakan di Balai Matera Medika Batu Malang.

### **3.5 Alat dan Bahan**

#### **a. Uji *In Vivo***

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu berupa kandang hewan uji berukuran 40x30 cm dengan penutup berupa anyaman kawat, timbangan digital,



botol minum, tempat makan, sekam, tissue, masker, *handscone*, buras, spidol warna, alat sonde, botol, kertas saring (Whatmann), corong, gelas ukur, erlenmeyer (IWAKI), blender (Miyako), oven (Heraeus), batang pengaduk, kulkas, *beaker glass* (IWAKI), botol aqua, galon air, pipet tetes, aluminium foil, vortex (BioRad), *sputit onemed*, papan bedah, alat sectio, tabung eppendorf (Falcon), tempat sampah, jarum untuk fiksasi tikus, kertas label, voplet, sentrifus (Heraeus Labofuge 200), pengait jaringan, alat pengukur tekanan darah non invasif (CODA®).Prosedur Penelitian Uji *In Vivo*

### **3.5.1 Pembuatan Simplisia**

Sampel daun benalu teh dan benalu mangga yang akan digunakan dalam penelitian ini didapatkan di Kecamatan Kepanjen, Kabupaten Malang. Daun yang dipilih yaitu daun yang bagus atau tidak busuk serta tidak berjamur. Kemudian daun yang telah diseleksi selanjutnya di oven pada suhu 50-60°C selama  $\pm$  3 jam sampai daun benalu benar-benar kering, lalu disortir kembali untuk dibuang tangkainya. Proses selanjutnya yaitu dilakukan penghancuran atau pemblenderan pada daun benalu teh dan benalu mangga agar menjadi bubuk halus (simplisia). Kemudian benalu yang sudah diblender dilakukan pengayakan dan penimbangan (Athiroh & Sulistyowati, 2015).

### **3.5.2 Proses Ekstraksi**

Daun benalu teh dan benalu mangga ini dilakukan proses ekstraksi menggunakan metode maserasi. Awal dari proses ekstraksi ini yaitu setelah terbentuknya simplisia dari kedua benalu kemudian ditimbang sebanyak 100 gram. Lalu, dimasukkan ke dalam botol plastik yang berukuran 1,5L yang berisi larutan metanol 90% sebanyak 1L dan simplisia, kemudian dilakukan pengocokan

(*shake*) selama 60 menit atau satu jam agar larutan tersebut homogen. Setelah dikocok kemudian didiamkan dan diendapkan selama 24 jam, harapannya agar zat aktif yang terkandung di dalam daun benalu teh dan benalu mangga tersebut dapat ditarik oleh pelarut metanol. Proses ini dilakukan sebanyak tiga kali dan setiap akan dilakukan pengocokan pelarut diganti (remaserasi).

Setelah 3 kali pengulangan maka hasilnya akan terbentuk dua lapisan, pada lapisan atas disebut dengan supernatant dan lapisan bawah disebut dengan natant. Pada bagian supernatant merupakan kandungan zat aktif dari benalu teh dan benalu mangga, supernatant inilah yang akan digunakan dan di lanjutkan pada tahap selanjutnya yaitu tahapan ekstraksi dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C. Hasil ekstrak kental ditempatkan pada Erlenmeyer 250 ml dan disimpan di lemari pendingin (Muchtaramah *et al.*, 2021).

### **3.5.3 Persiapan Hewan Coba**

Penelitian ini dilaksanakan setelah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (*Ethical Clearence*) dengan nomor: 006/LE.001/IV/03/2020. Hewan uji tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) jenis kelamin jantan ini dilakukan aklimatisasi di Laboratorium Ekologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang selama 7 hari yang diberi makan dan minum.

Kemudian setelah dilakukan aklimatisasi, hewan coba ditimbang berat badannya untuk dijadikan sebagai berat badan pra-kondisi. Menurut BPOM (2014) monitoring berat badan pada hewan uji dilakukan seminggu setelah proses aklimatisasi sebelum diberikan sediaan uji.

### **3.5.4 Pembagian Kelompok Sampel**

Pembagian kelompok sampel untuk terapi ekstrak daun benalu mangga

- a) K-: tikus sehat tanpa diberi DOCA-garam, EBM dan EBTBM.
- b) K+: tikus diberi DOCA-garam tanpa diberi EBM dan EBTBM.
- c) P1: tikus diberi DOCA-garam dan diberi EBM dengan dosis 50 mg/kgBB.
- d) P2: tikus diberi DOCA-garam dan diberi EBM dengan dosis 100 mg/kgBB.
- e) P3: tikus diberi DOCA-garam dan diberi EBM dengan dosis 200 mg/kgBB.
- f) P4: tikus diberi DOCA-garam dan diberi EBTBM dengan dosis 50 mg/kgBB.
- g) P5: tikus diberi DOCA-garam dan diberi EBTBM dengan dosis 100 mg/kgBB.
- h) P6: tikus diberi DOCA-garam dan diberi EBTBM dengan dosis 200 mg/kgBB.

### **3.5.5 Pembuatan Tikus Model Hipertensi dengan DOCA-Garam**

Sebelum hewan coba diberi DOCA-garam dilakukan tensi terlebih dahulu untuk mengetahui tensi awal dari hewan uji sebelum pemberian perlakuan untuk membuat hewan uji hipertensi yang nantinya akan digunakan sebagai perbandingan tensi hewan uji sebelum dan sesudah perlakuan. Setelah dilakukan tensi, selanjutnya yaitu pemberian minum garam atau NaCl. Pemberian minum diberikan pada perlakuan selain kontrol negatif (K-), NaCl selain diminumkan juga diberikan dengan cara disonde sebanyak 4cc pertikus selama 28 hari.

Selain diberikan NaCl, hewan coba juga diberikan DOCA yang dilakukan secara sub kutan dan dilakukan sebanyak 2 kali dalam seminggu selama 28 hari. Serbuk DOCA terlebih dahulu dilarutkan menggunakan minyak jagung dan dihomogenkan dengan *vortex mixer* untuk memudahkan pelarutan dengan cepat.

Dosis DOCA yang diberikan pada tikus disesuaikan dengan berat badan, sehingga dosis DOCA yang diberikan pada setiap tikus berbeda-beda. DOCA diberikan pada perlakuan selain kontrol negatif (K-). Pemberian DOCA-garam ini bertujuan agar hewan coba mengalami tekanan darah tinggi atau hipertensi.

Untuk mengetahui takaran dosis yang diberikan kepada tikus untuk membuat hipertensi, dapat dilakukan perhitungan sebagai berikut:

a) Perhitungan Dosis DOCA

$$\text{Ulangan } n = \frac{\text{Berat badan tikus}}{1000} \times 15 \text{ mg}$$

Jadi, 
$$\text{Ulangan } 1 = \frac{185}{1000} \times 15 \text{ mg} = 2,78 \text{ mg}$$

(kebutuhan DOCA tiap ekor tikus dengan berat badan 185 gr selama sehari).

$\Sigma$  = jumlah hasil perhitungan dosis DOCA pada semua ulangan, kemudian dihitung rata-ratanya.

Kemudian DOCA yang telah dihitung rata-ratanya dilarutkan dengan minyak jagung (injeksi secara *sub cutan* volume 0.5 cc), dengan perhitungan minyak jagung sebagai berikut:

$$\text{Ulangan ke } - n = \frac{\left(\frac{\text{Berat badan tikus}}{1000} \times 15 \text{ mg}\right)}{\text{Rata-rata perhitungan dosis DOCA}} \times 0.5 \text{ cc}$$

$\Sigma$  = jumlah hasil total perhitungan dosis minyak wijen pada semua ulangan.

b) Pembuatan NaCl

- Perhitungan pembuatan NaCl untuk Air Minum

$$200 \text{ mg} / 50 \text{ cc} / \text{ tikus} / \text{ hari}$$

Sehingga, cara penghitungannya sebagai berikut, jika untuk 24 ekor maka:

$$200 \text{ mg} \times 40 \text{ ekor} = 8.000 \text{ mg} \text{ ----- } 50 \text{ cc} \times 40 \text{ ekor} = 2.000 \text{ cc/hari}$$

Karena perlakuan diberikan selama 28 hari maka:

$$8.000 \text{ mg} \times 28 \text{ hari} = 224.000 \text{ mg} \text{ ----- } 2.000 \text{ cc} \times 28 \text{ hari} = 56.000 \text{ cc}$$

Jadi, pemberian NaCl untuk air minum pada tikus dalam 28 hari membutuhkan:

Berat zat terlarut (NaCl) : 224.000 mg NaCl

Volume pelarut (akuades) : 56.000 cc air

- Perhitungan pembuatan NaCl untuk Penyondean

Penyondean dilakukan 2× sehari yaitu pagi dan sore, karena penyondean memerlukan 2 cc/sonde maka dibutuhkan 4 cc/hari

Sehingga, perhitungan untuk 24 ekor tikus sebagai berikut:

$800 \text{ mg} / 4\text{cc} / \text{tikus} / \text{hari}$
--

Berat zat terlarut (NaCl) :  $800 \text{ mg NaCl} \times 40 \text{ ekor} = 32.000 \text{ mg}$

Volume pelarut (Aquades) :  $4\text{cc} \times 40 \text{ ekor} = 160 \text{ cc}$

### 3.5.6 Prosedur Pemberian Terapi

Tikus yang telah diberi perlakuan induksi DOCA-garam selama 14 hari, kemudian diberikan terapi EBM dan kombinasi EBTBM serta diberi DOCA-garam bersamaan dengan terapi tersebut dengan cara disonde melalui oral sebanyak 5x dalam seminggu selama 14 hari dengan menggunakan alat sonde khusus untuk tikus yang sesuai dengan dosis dan volume yang telah dihitung.

Pemberian EBM dan kombinasi EBTBM diberikan kepada tikus sebanyak 50 mg/KgBB, 100 mg/KgBB, dan 200 mg/KgBB. Kombinasi ekstrak benalu teh dan benalu mangga dengan perbandingan 3:1, 3 untuk benalu mangga dan 1 untuk benalu teh.

### 3.5.7 Pengukuran Tekanan Darah Pada Tikus

Pengukuran tekanan darah pada hewan coba menggunakan metode *tail-cuff auto-pickup* tanpa anestesi yang dilakukan di Laboratorium FAAL Universitas

Brawijaya Malang. Pengukuran tekanan darah awal pada hewan coba dilakukan sebelum perlakuan (pra-perlakuan), pengukuran kedua dilakukan setelah pemberian DOCA-Garam selama 14 hari, kemudian pengukuran ketiga dilakukan setelah pemberian ekstrak benalu mangga (EBM) serta kombinasi ekstrak benalu teh dan benalu mangga (EBTBM) + DOCA-garam selama 14 hari.

Alat yang digunakan dalam mengukur tensi darah pada hewan coba yaitu pengukur darah non invasif CODA® dengan manset ekor yang disebut *cuff* terdapat *Volume Pressure Recorder (VPR) cuff* dan *occlusion cuff*. *Animal holders* merupakan tempat khusus untuk restrain tikus. Sebelum diukur tensi darah pada tikus, hal yang harus dilakukan terlebih dahulu yakni tikus diletakan di *animal holder* dan tikus sebelumnya dihangatkan dengan menggunakan *warming pad* sampai suhu tubuh tikus kembali ke suhu yang optimal.

Manset ekor yang dipasang diekor tikus kemudian akan mengembang dan menekan ekor yang dialiri oleh darah yang akan mendeteksi denyut pada ekor tikus tersebut. Denyut yang terdeteksi pada ekor tikus merupakan tekanan darah sistolik dan diastolik yang terdapat pada hewan tikus. Pengukuran tekanan darah pada hewan uji coba tikus dilakukan sebanyak lima belas kali ulangan dan kemudian diambil hasil nilai rata-ratanya pada pengukuran tekanan darah tersebut (Nugroho, dkk. 2018).

### **3.5.8 Pembedahan**

Proses pembedahan dilakukan untuk mengambil organ jantung yang kemudian diambil sel darahnya (*Phlebotomy*) dari vena sebagai sampel parameter yang akan diukur dan diuji lebih lanjut. Proses pertama yang dilakukan sebelum pembedahan ini adalah dengan menginjeksi tikus menggunakan ketamine 10%,

setelah itu menunggu hingga tikus tidak sadarkan diri, lalu dilakukan pembedahan dengan alat *sectio* dan alat bedah lainnya. Organ jantung diambil kemudian sel darah pada jantung diambil dengan spuit (*Phlebotomy*) kemudian diletakkan dalam *tube vacutainer*. Setiap *tube vacutainer* diberi label sesuai nama tikus kelompok perlakuan. Setelah itu dilakukan analisis kadar SOD serum dan MDA serum (Athiroh & Wahyuningsih, 2017).

### **3.5.9 Pengukuran *Superoxide Dismutase* (SOD)**

Pengukuran kadar SOD menggunakan campuran Xantine 100  $\mu$ l + Xantine Oksigen (XO) 100  $\mu$ l + NBT 100  $\mu$ l + PBS 1600  $\mu$ l + sampel serum 100  $\mu$ l. kemudian dilakukan proses inkubasi selama 30 menit pada suhu 30°C. Kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Hasil dari proses sentrifugasi diambil supernatannya kemudian diukur secara spektrofotometri UV (1700 Pharma Sec) dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu) pada panjang gelombang  $\lambda$  maksimum (580) nm (Sjakoer and Sulistyowati, 2013; Mustofa dkk., 2013; Athiroh dkk., 2014).

### **3.5.10 Pengukuran Malondialdehyde (MDA)**

Konsentrasi kadar MDA dilakukan mengikuti teknik asam tiobarbiturat dengan cara serum diambil sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan TCA 40%. Selanjutnya ditambahkan 200  $\mu$ l HCl 1N, 0,5 mL akuades dan 100 ml Nathio 1%. Larutan dipanaskan pada suhu 100-C selama 25 menit. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm. Absorbansi dibaca dengan menggunakan spektrofotometer (UV 1700 Pharma Sec) dan UV Vis (Shimadzu) pada panjang gelombang 532 nm (Athiroh & Wahyuningsih, 2017).

### 3.5.11 Analisis Data

Hasil data yang didapat berupa rata-rata persentase dari penghitungan tensi, kadar SOD dan MDA serum yang kemudian masing-masing diuji normalitas menggunakan uji *Kolmogorov-smirnov*. Bilangan *sig.* lebih dari 0,05 menunjukkan data berasal dari populasi yang berdistribusi normal. Apabila data tidak berdistribusi normal maka dilakukan transformasi (Sukestiyarno & Agoestanto, 2017), namun apabila data diketahui berdistribusi normal dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan *Lavene test*. Jika nilai *sig.* yang didapatkan lebih dari 0,05 maka semua kelompok data memiliki varians yang homogen (Payadnya & Jayantika, 2018).

Data yang normal dan homogen kemudian diuji dengan analisis parametrik menggunakan uji *one way analysis of variance* (ANOVA) dengan taraf signifikansi 5%. Analisis ANOVA digunakan untuk uji hipotesis dengan menguji perbedaan rerata antar kelompok. Jika nilai *sig.* yang didapatkan kurang dari 0,05 maka dinyatakan H<sub>0</sub> ditolak, sebaliknya jika nilai *sig.* lebih dari 0,05 maka dinyatakan H<sub>0</sub> diterima (Payadnya & Jayantika, 2018). Jika data percobaan diketahui signifikan (H<sub>0</sub> ditolak) maka pengujian dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) dengan taraf signifikansi 5% untuk melihat kelompok mana yang berbeda secara signifikan. Analisis data pada penelitian ini dilakukan menggunakan program spss 25.

### 3.6 Rancangan Penelitian Uji *In Silico*

Uji *in silico* pada penelitian ini termasuk dalam jenis penelitian *pre-experimental design* dengan berbasis komputer.



### 3.7 Variabel Penelitian Uji *In Silico*

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

a. Variabel bebas

- Uji *in silico*: ligan yang digunakan yaitu senyawa aktif pada daun benalu teh (*Scurrula artopurpurea* (BL.) Dans) dan daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra* L. miq) yaitu kuersetin, kaempferol, rutin, myricetin, luteolin, morin.

b. Variabel terikat

- Uji *in silico*: analisis *druglikeness*, nilai uji *lipinski rule of live* (prediksi ADME), SWISS ADME, dan hasil *molecular docking* senyawa aktif pada daun benalu teh (*Scurrula artopurpurea* (BL.) Dans) dan daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra* L. miq).

c. Variabel kontrol

- Uji *in silico*: analisis *druglikeness*, nilai uji *lipinski rule of live* (prediksi ADME), SWISS ADME, dan 1 *molecular docking*.

### 3.8 Prosedur Penelitian Uji *In Silico*

#### 3.8.1 Uji PASS (Prediksi Bioaktivitas Senyawa Aktif)

Tahap awal melalui SMILES untuk mencari senyawa aktif dari benalu teh dan benalu mangga di laman <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>. Selanjutnya ligan SMILES dimasukkan dalam PASS Online dan dilakukan prediksi aktivitas (Get Prediction) pada laman <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/>.

#### 3.8.2 Analisis *Drug likeness* Menggunakan SwissADME

Senyawa uji dari benalu teh dan benalu mangga yang didapatkan dari hasil LCMS penelitian sebelumnya. Senyawa target dari kedua benalu tersebut

diprediksi memiliki aktivitas biologis menggunakan website PASSOnline <http://www.way2drug.com/passonline/>. Kemudian dilakukan analisis probabilitas senyawa target sebagai kandidat obat melalui website SwissADME <http://www.swissadme.ch/> untuk mendapatkan pengetahuan mendalam berdasarkan hukum Lipinski dan farmakokinetik termasuk penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi dari senyawa target yang diamati. Kemudian diseleksi senyawa yang memenuhi hukum Lipinski (Nusantoro & Fadlan, 2020).

### **3.8.3 Prediksi ADMET**

Senyawa uji dari benalu teh dan benalu mangga seperti kuersetin, kaempferol, rutin, myricetin, luteolin, dan morin dipelajari lebih lanjut untuk mengetahui profil penyerapan, distribusi, metabolisme, ekskresi, toksisitas (ADMET) dengan perangkat *pkCSM online tool* <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/>. Analisis yang dilakukan dengan memasukkan struktur dalam format SMILES dan menghasilkan data deskriptor.

### **3.8.4 Preparasi Ligan dan Protein Target**

Preparasi protein target berupa struktur 3 dimensi seperti Nrf2 (PDB: 1X2R) dan enzim COX 2 (PDB: 3LN1) diperoleh dari website <http://www.rcsb.org/> dan senyawa uji dari benalu teh dan benalu mangga seperti kuersetin, kaempferol, rutin, myricetin, luteolin, dan morin dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *Biovia Discovery Studio Visualizer v21.1.0.20298*. Protein target dihilangkan molekul air (H<sub>2</sub>O) dan ligand alaminya dan disimpan dalam format *pdb*.

### 3.8.5 Validasi Metode Molecular Docking

Validasi dilakukan dengan redocking yaitu mendockingkan kembali *native ligand* dengan protein target berupa Nrf2 (PDB: 1X2R) dan enzim COX 2 (PDB: 3LN1) yang sebelumnya sudah dihilangkan *native ligandnya* dengan aplikasi PyRx dan *Biovia Discovery Studio Visualizer* v21.1.0.20298. Parameter validasi metode *molecular docking* adalah nilai RMSD dari hasil docking.

### 3.8.6 Penambatan Ligan pada Protein Target

Senyawa uji yang akan digunakan ditambatkan pada protein target menggunakan *Software* PyRx. Hasil yang diperoleh dari proses penambatan senyawa uji pada protein target ini adalah nilai energi ikatan ( $\Delta G$ ) yang menunjukkan kekuatan ikatan antara ligand dengan protein target. Semakin kecil nilai energi ikatan, maka ikatan yang terbentuk semakin kuat dan stabil. Visualisasi hasil penambatan molekul dilakukan dengan menggunakan software *Biovia Discovery Studio Visualizer* untuk menentukan ikatan hidrogen dan residu asam amino.

### 3.8.7 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan berdasarkan data hasil uji sifat fisikokimia dan *molecular docking* terhadap senyawa yang berpotensi sebagai bahan obat. Pada uji sifat fisikokimia, parameter uji berdasarkan terpenuhinya Hukum Lipinski yang meliputi berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (LogP), jumlah ikatan antar atom yang berotasi (Torsion), *Hydrogen Bond Accptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD) (Syahputra dkk., 2014).

Analisis data yang dilakukan berdasarkan nilai RMSD, nilai afinitas, ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi elektrostatik, dan interaksi residu

asam amino. Semua pengujian dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Analisis dijabarkan secara deskriptif untuk mengetahui perbedaan nilai afinitas dan interaksi residu asam amino antar senyawa uji (Candra & Made, 2021).

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Pengaruh Ekstrak Benalu Mangga (EBM) dan Kombinasi Ekstrak Benalu Teh dan Benalu Mangga (EBTBM) terhadap Kadar SOD Serum

Ekstrak benalu mangga (EBM) dan kombinasi ekstrak benalu teh dan benalu mangga (EBTBM) yang diberikan kepada tikus hipertensi selama 14 hari bertujuan untuk melihat pengaruh EBM dan kombinasi EBTBM terhadap kadar SOD serum pada tikus hipertensi. Hasil pengamatan persentase SOD serum ketika diuji normalitas dengan *Kolmogorov-smirnov* dengan nilai yaitu  $p=0.349$  ( $p>0.05$ ), hal tersebut menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan *Lavene test* dengan nilai yaitu  $p=0.150$  ( $p>0.05$ ), hal tersebut menunjukkan bahwa data homogen yang artinya asumsi uji homogenitas pada data tersebut terpenuhi, sehingga memenuhi asumsi dasar untuk syarat pengujian *One Way Anova*. Berdasarkan hasil uji *One Way Anova* data rerata persentase jumlah kadar SOD serum memiliki nilai  $p=0.000$  ( $p<0.05$ ), sehingga hipotesis nol ( $H_0$ ) ditolak dan hipotesis satu ( $H_1$ ) diterima (Lampiran 1). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian EBM dan EBTBM berpengaruh terhadap kadar SOD serum. Untuk mengetahui perbedaan diantara perlakuan maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Duncan. Hasil uji lanjut Duncan dapat dilihat melalui tabel 4.1.

**Tabel 4. 1** Rerata persentase kadar SOD serum

No.	Perlakuan	N	Rerata $\pm$ SD
1	K-	5	15.0 $\pm$ 0.58 <sup>bc</sup>
2	K+	5	13.7 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup>
3	P1	5	15.2 $\pm$ 0.28 <sup>bc</sup>
4	P2	5	15.3 $\pm$ 0.21 <sup>bc</sup>

5	P3	5	14.9 ± 0.29 <sup>b</sup>
6	P4	5	16.5 ± 0.30 <sup>e</sup>
7	P5	5	15.5 ± 0.50 <sup>cd</sup>
8	P6	5	16.0 ± 0.32 <sup>de</sup>

**Keterangan:**

K- : tanpa diberi DOCA-garam, EBM dan EBTBM.

K+ : diberi DOCA-garam tanpa diberi EBM dan EBTBM.

P1 : diberi DOCA-garam dan diberi EBM dengan dosis 50 mg/kgBB.

P2 : diberi DOCA-garam dan diberi EBM dengan dosis 100 mg/kgBB.

P3 : diberi DOCA-garam dan diberi EBM dengan dosis 200 mg/kgBB.

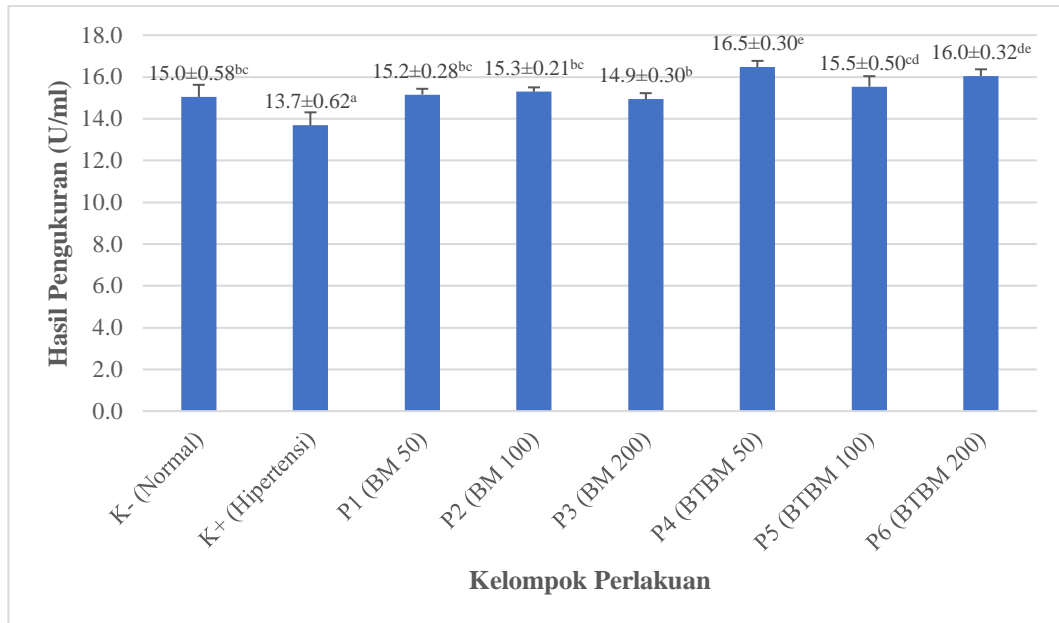
P4 : diberi DOCA-garam dan diberi EBTBM dengan dosis 50 mg/kgBB.

P5 : diberi DOCA-garam dan diberi EBTBM dengan dosis 100 mg/kgBB.

P6 : diberi DOCA-garam dan diberi EBTBM dengan dosis 200 mg/kgBB.

Berdasarkan hasil uji ANOVA ( $p < 0,05$ ), secara signifikan semua perlakuan seperti P1, P2, P3, P4, P5, dan P6 berbeda nyata dengan kontrol.

Berdasarkan hasil analisis kadar *superoxide dismutase* (SOD) menggunakan SPSS menunjukkan bahwa pemberian EBM dan EBTBM dengan dosis yang berbeda mampu meningkatkan kadar SOD serum pada tikus hipertensi. Berdasarkan tabel di atas, rerata kadar SOD pada kelompok kontrol positif (K+) yaitu kelompok tikus hipertensi dengan jumlah rerata kadar SOD  $13.7 \pm 0.62$  u/ml berbeda secara signifikan dengan semua kelompok perlakuan (K-, P1, P2, P3, P4, P5, dan P6) dengan rerata jumlah SOD terkecil dibandingkan dengan kelompok dan perlakuan yang lain. Perlakuan 4 dengan rerata jumlah SOD  $16.5 \pm 0.30$  u/ml terlihat tidak berbeda signifikan dengan P6, namun berbeda secara signifikan dengan kelompok dan semua perlakuan yang lain (K-, K+, P1, P2, P3, dan P5) yang memiliki rerata jumlah SOD tertinggi dibanding perlakuan lainnya.



**Gambar 4. 1** Rerata persentase kadar SOD serum dan notasi DMRT

**Keterangan:**

- K- : tanpa diberi DOCA-garam, EBM dan EBTBM.
- K+ : diberi DOCA-garam tanpa diberi EBM dan EBTBM.
- P1 : diberi DOCA-garam dan diberi EBM dengan dosis 50 mg/kgBB.
- P2 : diberi DOCA-garam dan diberi EBM dengan dosis 100 mg/kgBB.
- P3 : diberi DOCA-garam dan diberi EBM dengan dosis 200 mg/kgBB.
- P4 : diberi DOCA-garam dan diberi EBTBM dengan dosis 50 mg/kgBB.
- P5 : diberi DOCA-garam dan diberi EBTBM dengan dosis 100 mg/kgBB.
- P6 : diberi DOCA-garam dan diberi EBTBM dengan dosis 200 mg/kgBB.

Rerata kadar SOD serum menunjukkan sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas yang ada di dalam tubuh. SOD serum dipilih karena menurut Dianti dkk., (2017) mengungkapkan bahwa SOD merupakan antioksidan endogen yang menjadi pertahanan tubuh pertama dalam mengatasi stres oksidatif, sehingga keberadaan SOD sangat penting di dalam tubuh untuk mencegah atau mengurangi adanya stress oksidatif dan menunjukkan manfaat untuk pencegahan hipertensi.

Rerata SOD serum pada kontrol positif (K+) yaitu tikus yang diinduksi DOCA-garam tanpa diberi EBM dan EBTBM memiliki nilai rerata terendah jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Hal ini dapat dikatakan bahwa DOCA-garam mampu meningkatkan tekanan darah yang dapat menurunkan

aktivitas atau kadar SOD serum. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Pestana *et al.*, (2020) mengungkapkan pemberian DOCA-garam terbukti memperburuk hipertensi dan meningkatkan stress oksidatif dengan peningkatan ekspresi atau aktivitas turunan dari ROS seperti anion superoksida ( $O_2^-$ ). Apabila jumlah radikal bebas yang terus meningkat akan meningkatkan pula pemakaian enzim antioksidan intraseluler SOD, sehingga aktivitas dan kandungan antioksidan intraseluler menurun, hal ini akan meningkatkan kadar MDA (Sjakoer & Sulistyowati, 2013; Athiroh & Wahyuningsih 2017; Aini dkk., 2021; Suroyya *et al.*, 2021; Lestari dkk., 2023).

Pemberian EBM dengan dosis 50, 100, dan 200 mg/kgBB dan pemberian EBTBM dengan dosis 50, 100, dan 200 mg/kgBB sebagai antioksidan eksogen yang dapat meningkatkan rerata persentase kadar SOD serum pada tikus hipertensi. Peningkatan SOD serum pada tikus hipertensi ini dikaitkan dengan kandungan senyawa yang terdapat pada EBM dan kombinasi dari EBTBM.

Menurut Fitrilia *et al.*, (2015) telah diketahui bahwa kandungan kimia yang terdapat dalam benalu mangga adalah flavonoid, tanin, asam amino, karbohidrat, alkaloid, triterpenoid, dan saponin, sedangkan pada ekstrak benalu teh terdapat 16 senyawa bioaktif yang terdiri dari dua santin, dua monoterpen glikosida dari glikosida flavonol, enam senyawa asam lemak, empat flavon dan satu glikosida lignan yang berfungsi sebagai antioksidan (Suroyya *et al.*, 2021).

Hal ini sesuai dengan penelitian Athiroh & Wahyuningsih (2017) mengatakan bahwa pemberian ekstrak metanol benalu teh dosis 1000, 2000, dan 4000 mg/kgBB tidak menimbulkan sifat toksik dan berpengaruh terhadap perbaikan stres oksidatif melalui peningkatan kadar SOD dan penurunan kadar



MDA serum. Selain itu, kombinasi benalu teh (*Scurrula atropurpurea*) (BI.) Dans. dan benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) terbukti aman dan tidak menimbulkan sifat toksik terhadap organ ginjal, dan profil lipid tikus wistar betina serta memiliki aktivitas antihipertensi (Anjani dkk., 2021; Lestari dkk., 2020).

Menurut Athiroh dan Wahyuningsih (2017) senyawa kuersetin yang merupakan turunan dari flavonoid yang terdapat pada benalu mangga memiliki aktivitas sebagai antioksidan, hal ini dikarenakan pada senyawa kuersetin dapat menyumbangkan atau melepaskan ion hidrogen pada radikal bebas peroksi agar lebih stabil dan mampu mencegah terjadinya oksidasi pada fase propagasi maupun inisiasi. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Abeng dkk (2021) mengatakan bahwa senyawa flavonoid memiliki efek vasodilator, antiplatelet dan menurunkan hipertensi. Flavonoid dapat melebarkan pembuluh darah dan mengurangi tekanan pada dinding-dinding arteriol, sehingga tekanan darah dapat diturunkan ke level awal.

Pemberian perlakuan yang terbaik dalam meningkatkan SOD serum pada tikus hipertensi yaitu pada perlakuan 4 (pemberian EBTBM dosis 50 mg/kgBB). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang mengatakan bahwa pemberian ekstrak metanolik benalu teh dan benalu mangga dosis 50 mg/kgBB dapat menurunkan jumlah nekrosis pada sel otak pada tikus hipertensi. Hal ini dapat terjadi karena benalu teh dan benalu mangga sama-sama memiliki kandungan antioksidan yang tinggi sehingga hal ini dapat mengurangi stress oksidasi dengan cara mengurai beberapa jenis ROS seperti anion superoksida ( $O_2^-$ ) menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) (Oktaviana *et al.*, 2021).

Kandungan senyawa yang terdapat pada benalu mangga dan benalu teh tersebut menjadikan benalu mangga dan benalu teh berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai tumbuhan herbal dalam mengatasi radikal bebas dan penyakit seperti hipertensi. Hal tersebut menjadi karunia yang Allah berikan untuk menjamin bahwa setiap penyakit yang datang, Allah SWT pasti menyediakan pula penawarnya, seperti yang diriwayatkan oleh Rasulullah SAW yang tertuang dalam hadist Imam Bukhari sebagai berikut:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: “Tidaklah Allah menurunkan suatu penyakit, melainkan akan menurunkan pula obat untuk penyakit tersebut” (HR Al-Bukhari no. 5354).

Secara bahasa kata شِفَاءٌ artinya obat atau penawar. Menurut Al-Qayyim (2010) Allah SWT menciptakan obat untuk menyembuhkan segala jenis penyakit, sehingga manusia sebagai makhluk yang berakal diperintahkan untuk terus menggali informasi berbagai macam bahan yang memiliki potensi dalam penyembuhan, sekaligus Allah SWT memerintahkan untuk melakukan pengobatan ketika sakit sebagai bentuk rasa tawakal. Dalam hal ini, maka untuk meningkatkan antioksidan endogen seperti SOD dapat dilakukan dengan usaha mengkonsumsi tumbuhan herbal, yang kaya akan senyawa-senyawa yang dapat meningkatkan antioksidan endogen dan mengurangi jumlah radikal bebas yang ada di dalam tubuh, seperti tumbuhan benalu teh dan benalu mangga.

#### **4.2 Pengaruh Ekstrak Benalu Mangga (EBM) dan Kombinasi Ekstrak Benalu Teh dan Benalu Mangga (EBTBM) terhadap Kadar MDA Serum**

Ekstrak benalu mangga (EBM) dan kombinasi ekstrak benalu teh dan benalu mangga (EBTBM) yang diberikan kepada tikus hipertensi selama 14 hari yang bertujuan untuk melihat pengaruh EBM dan kombinasi EBTBM terhadap

kadar MDA serum pada tikus hipertensi. Pengukuran kadar MDA serum pada penelitian ini dilakukan untuk menunjukkan adanya peningkatan radikal bebas di dalam tubuh (Spirlandeli *et al.*, 2014). Menurut Pratama & Busman (2020) berbagai penyakit salah satunya seperti hipertensi disebabkan oleh adanya radikal bebas yang tinggi. Radikal bebas ini sangat berbahaya karena dapat menyebabkan kerusakan dalam sel dan meningkatkan jumlah peroksida lipid yakni MDA. MDA merupakan suatu radikal bebas yang dihasilkan dari metabolit peroksida lipid dan sering digunakan sebagai biomarker biologis untuk mengetahui adanya stress oksidatif. Stress oksidatif kondisi inilah yang menyebabkan terjadinya disfungsi endotel pada hipertensi (Shofia dkk., 2013).

Hasil pengamatan persentase MDA serum ketika diuji normalitas dengan *Kolmogorov-smirnov* dengan nilai yaitu  $p=0.456$  ( $p>0.05$ ), hal tersebut menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan *Lavene test* yang memiliki nilai yaitu  $p=0.170$  ( $p>0.05$ ), hal tersebut menunjukkan bahwa data homogen yang artinya asumsi uji homogenitas pada data tersebut terpenuhi, sehingga memenuhi asumsi dasar untuk syarat pengujian *One Way Anova*. Berdasarkan hasil uji *One Way Anova* data rerata persentase jumlah kadar SOD serum memiliki nilai  $p=0.000$  ( $p<0.05$ ), sehingga hipotesa nol ( $H_0$ ) ditolak dan hipotesa satu ( $H_1$ ) diterima (Lampiran 1). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian EBM dan EBTBM mempengaruhi kadar MDA serum. Untuk mengetahui perbedaan diantara perlakuan maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Duncan. Hasil uji lanjut Duncan dapat dilihat pada tabel 4.2

**Tabel 4. 2** Rerata persentase kadar MDA serum.

No	Perlakuan	N	Rerata ± SD
1	K-	5	578 ± 16.13 <sup>d</sup>
2	K+	5	804 ± 80.98 <sup>e</sup>
3	P1	5	498 ± 28.11 <sup>bc</sup>
4	P2	5	458 ± 43.35 <sup>b</sup>
5	P3	5	486 ± 33.27 <sup>bc</sup>
6	P4	5	360 ± 23.61 <sup>a</sup>
7	P5	5	375 ± 37.71 <sup>a</sup>
8	P6	5	533 ± 44.78 <sup>cd</sup>

**Keterangan:**

K- : tanpa diberi DOCA-garam, EBM dan EBTBM.

K+ : diberi DOCA-garam tanpa diberi EBM dan EBTBM.

P1 : diberi DOCA-garam dan diberi EBM dengan dosis 50 mg/kgBB.

P2 : diberi DOCA-garam dan diberi EBM dengan dosis 100 mg/kgBB.

P3 : diberi DOCA-garam dan diberi EBM dengan dosis 200 mg/kgBB.

P4 : diberi DOCA-garam dan diberi EBTBM dengan dosis 50 mg/kgBB.

P5 : diberi DOCA-garam dan diberi EBTBM dengan dosis 100 mg/kgBB.

P6 : diberi DOCA-garam dan diberi EBTBM dengan dosis 200 mg/kgBB.

Berdasarkan hasil uji ANOVA ( $p < 0,05$ ), secara signifikan semua perlakuan seperti P1, P2, P3, P4, P5, dan P6 berbeda nyata dengan kontrol.

Rerata persentase kadar MDA serum yang tertinggi (Tabel 4.2) diantara semua kelompok perlakuan terdapat pada kelompok K+ yaitu kelompok tikus yang diinduksi DOCA-garam tanpa diberi EBM dan EBTBM dengan rerata jumlah MDA serum  $804.7 \pm 80.98$  u/ml berbeda secara signifikan dengan semua kelompok perlakuan K-, P1, P2, P3, P4, P5, dan P6. Rerata persentase kadar MDA serum yang terendah diantara semua perlakuan terdapat pada perlakuan 4 (pemberian EBTBM dosis 50 mg/kgBB) dengan rerata jumlah MDA serum  $360.9 \pm 23.61$  u/ml menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok perlakuan K-, K+, P1, P2, P3, dan P6, namun tidak berbeda signifikan dengan P5.

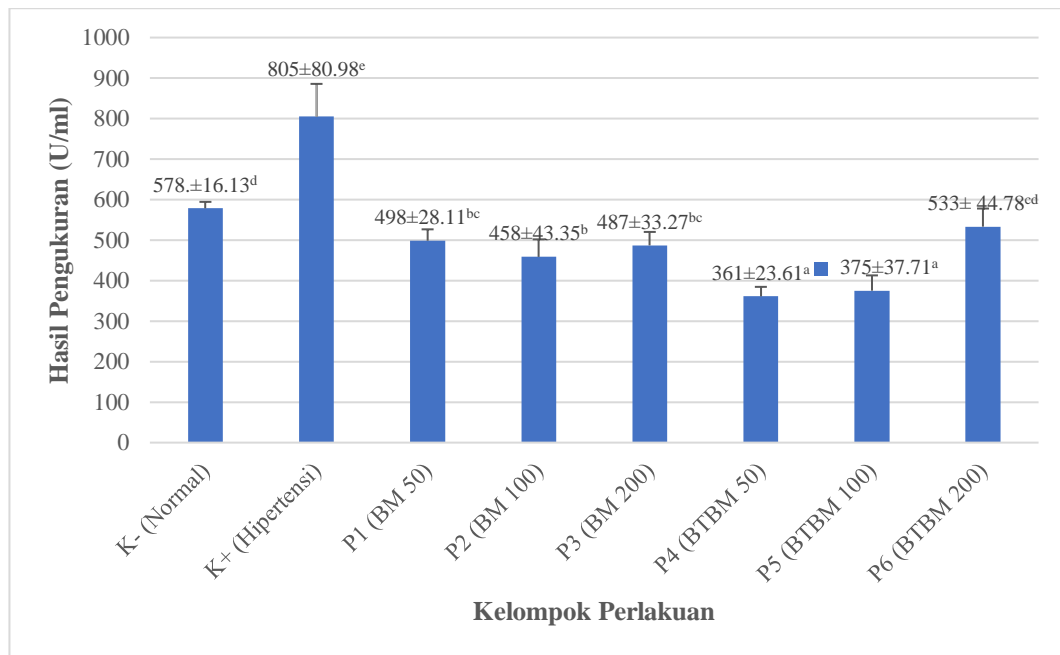
Hasil pada K+ menurut uji DMRT merupakan rerata persentase kadar MDA serum yang tertinggi diantara semua perlakuan. Hal tersebut menunjukkan

bahwa terjadi peningkatan kadar MDA serum pada saat keadaan hipertensi akibat diinduksi DOCA-garam secara terus menerus selama 28 hari, sehingga hal ini menyebabkan hewan coba mengalami stress oksidatif yang meningkatkan jumlah radikal bebas yang di tandai dengan kadar MDA yang semakin tinggi di dalam tubuh. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Athiroh dan Permatasari (2011) yang mengungkapkan bahwa penginduksian DOCA-garam akan meningkatkan aldosterone, aldosterone mengaktifasi NAD(P)H oksidase sehingga menyebabkan stress oksidatif. Kondisi demikian akan meningkatkan pembentukan radikal bebas seperti anion superoksida ( $O_2^-$ ) yang dapat merusak berbagai sel, jaringan dan organ di dalam tubuh serta dapat menimbulkan kerusakan langsung pada lipid yang akan mudah teroksidasi (peroksidasi lipid) yang nantinya akan menghasilkan produk utama salah satunya yaitu MDA (Ayala *et al.*, 2014).

Menurut Pestana *et al.*, (2020) mengungkapkan DOCA dapat menstimulasi terjadinya proses fisiologis sesuai dengan fungsi hormon aldosteron yaitu retensi elektrolit natrium dan air. Mekanisme pemberian DOCA yang akan di serap oleh tubuh yaitu DOCA yang dilarutkan dengan minyak jagung diinduksikan secara subkutan pada tikus akan diserap perlahan-lahan masuk ke sirkulasi darah sistemik. Selanjutnya DOCA bekerja sebagai mineralokortikoid dan bertindak sebagai prekursor aldosteron. Hormon aldosteron yang telah terstimulasi akan mengakibatkan retensi elektrolit natrium dan air. Model eksperimental dari hipertensi yang bergantung pada mineralokortikoid seperti DOCA-garam menunjukkan terjadinya stress oksidatif yang dibuktikan dengan peningkatan aktivitas NADPH oksidase (NOX), peningkatan produksi ROS vaskular, dan

peningkatan TBARS yang merupakan pendeteksi produk sampingan dari peroksidasi lipid seperti MDA.

Menurut Hutapea *et al.*, (2014) mengungkapkan bahwa senyawa yang terbukti memperburuk hipertensi adalah turunan dari ROS yaitu seperti anion superoksida ( $O_2^-$ ), hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), dan radikal hidroksil ( $OH^\cdot$ ) dapat menginaktivkan NO melalui proses reaksi yang cepat dan membentuk peroksinitrit. Disamping itu pula peningkatan anion superoksida akan menurunkan  $BH_4$ , dan ketersediaan NO akan menurun sehingga akan mengakibatkan terjadinya disfungsi endotel.



**Gambar 4. 2** Rerata persentase kadar MDA serum

**Keterangan:**

- K- : tanpa diberi DOCA-garam, EBM dan EBTBM.
- K+ : diberi DOCA-garam tanpa diberi EBM dan EBTBM.
- P1 : diberi DOCA-garam dan diberi EBM dengan dosis 50 mg/kgBB.
- P2 : diberi DOCA-garam dan diberi EBM dengan dosis 100 mg/kgBB.
- P3 : diberi DOCA-garam dan diberi EBM dengan dosis 200 mg/kgBB.
- P4 : diberi DOCA-garam dan diberi EBTBM dengan dosis 50 mg/kgBB.
- P5 : diberi DOCA-garam dan diberi EBTBM dengan dosis 100 mg/kgBB.
- P6 : diberi DOCA-garam dan diberi EBTBM dengan dosis 200 mg/kgBB.

Notasi DMRT rerata persentase kadar MDA serum pada tabel 4.2 memperlihatkan bahwa P1, P2, P3, P4, P5, dan P6 menunjukkan terjadi penurunan kadar MDA serum jika dibandingkan K+ yang merupakan kelompok tikus hipertensi. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian EBM dan EBTBM dengan dosis yang berbeda dapat menurunkan rerata persentase kadar MDA serum. Penurunan kadar MDA serum ini dikaitkan dengan kandungan senyawa yang terdapat pada benalu mangga maupun benalu teh.

Menurut Nurfaat (2016) yang mengatakan bahwa benalu mangga terdapat berbagai macam kandungan yakni flavonoid, kuersetin, tanin, glikosida, saponin, serta inulin (Nurfaat, 2016; Sembiring dkk., 2016). Pada benalu teh terdapat senyawa-senyawa metabolit sekunder yaitu flavanoid, saponin, tannin, alkaloid, glikosida, dan inulin berpotensi sebagai antioksidan dan antihipertensi (Roikhana dkk., 2022).

Aksi antoksidan pada benalu mangga dan benalu teh yaitu senyawa aktif pada kedua benalu tersebut bekerja dengan menangkap radikal bebas hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan menurunkan ion ferri yang dapat membentuk radikal hidroksil ( $OH^\cdot$ ) dengan reaksi feton. Dengan adanya antioksidan seperti SOD, katalase, dan glutathion peroxidase, radikal hidroksil ( $OH^\cdot$ ) akan diubah menjadi air ( $H_2O$ ) sehingga antioksidan dapat menurunkan ROS pada keadaan hipertensi yang ditandai dengan penurunan proses peroksidasi lipid (Roikhana dkk., 2022).

Hasil penurunan rerata persentase kadar MDA serum yang paling baik yaitu ditunjukkan pada perlakuan 4 (pemberian EBTBM dosis 50 mg/kgBB). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nabila dkk., (2022) yang mengungkapkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak benalu teh dan benalu

mangga pada dosis 50 mg/kgBB dapat menurunkan kadar MDA paru pada tikus hipertensi. Penelitian tersebut memberikan bukti bahwa pengobatan dengan menggunakan benalu mangga dan benalu teh mendukung dalam menangkal ataupun mengurangi radikal bebas dan menghambat proses peroksidasi lipid yang ada di dalam tubuh, sehingga hal tersebut juga dapat menghambat pula terbentuknya MDA. Selain itu, penelitian tersebut juga dapat menjadi relevansi terapeutik dalam menghentikan perkembangan hipertensi.

Benalu mangga dan benalu teh merupakan tanaman yang bersifat parasit atau penggagu, tetapi di sisi lain benalu mangga memiliki potensi sebagai tumbuhan obat yang dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti hipertensi dan memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam Al-Qur'an Surat Al-Imran (3): ayat 191.

رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya: "Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Mahasuci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka." (QS Al-Imran (3): 191).

Diantara makna surat Al-Imran ayat 191 terdapat kata *رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا* (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia) yakni Engkau tidak menciptakan ini dengan sia-sia atau main-main akan tetapi Engkau menciptakannya sebagai bukti atas hikmah dan kekuasaan-Mu, dan untuk Engkau jadikan bumi sebagai tempat menguji hamba-hamba-Mu agar terlihat siapa diantara mereka yang mentaati-Mu dan siapa yang bermaksiat kepada-Mu. *سُبْحَانَكَ* (Maha Suci Engkau) yakni Engkau Maha Suci dari apa yang tidak layak untuk-Mu. (Zubdatut Tafsir).

Dari arti ayat tersebut telah jelas bahwa apa yang Allah ciptakan di muka bumi ini semuanya memiliki manfaat dan fungsi masing-masing baik yang



dianggap tidak berguna, berbahaya, dan parasit (pengganggu) contohnya seperti benalu mangga yang memiliki berbagai manfaat untuk kesehatan, penyembuh berbagai macam penyakit, dan optimalisasi fungsi organ tubuh.

### 4.3 Uji *In Silico* Senyawa Aktif Benalu Teh dan Benalu Mangga

#### 4.3.1 Uji PASS (Prediksi Bioaktivitas Senyawa Aktif)

Analisis senyawa bioaktif dari benalu teh dan benalu mangga diprediksi aktivitasnya sebagai antioksidan sekaligus sebagai kardioprotektif (antihipertensi) berdasarkan struktur kimianya secara *in silico* menggunakan software PASS Online. Berdasarkan uji PASS senyawa bioaktif turunan dari flavonoid pada benalu teh dan benalu mangga dapat dilihat pada (Tabel 4.3).

**Tabel 4. 3** Prediksi bioaktivitas senyawa aktif benalu teh dan benalu mangga melalui software PASS Online

Senyawa Utama	Sifat Prediksi Bioaktivitas Utama	Pa*	Pi
Quercetin (CID_5280343)	NADPH oxidase inhibitor	0.928	0.002
	Antioxidant	0.872	0.003
	Vasodilator	0.472	0.025
	Free Radical Scavenger	0.811	0.003
	Lipid peroxidase inhibitor	0.788	0.004
	Cardioprotectant	0.833	0.003
Kaempferol (CID_5280863)	NADPH oxidase inhibitor	0.889	0.002
	Antioxidant	0.856	0.003
	Vasodilator	0.502	0.021
	Free Radical Scavenger	0.771	0.003
	Lipid peroxidase inhibitor	0.783	0.004
	Cardioprotectant	0.814	0.003
Rutin (CID_5280805)	NADPH oxidase inhibitor	0.850	0.002
	Antioxidant	0.923	0.003
	Vasodilator	0.740	0.006

	Free Radical Scavenger	0.988	0.001
	Lipid peroxidase inhibitor	0.987	0.001
	Cardioprotectant	0.988	0.001
Luteolin (CID_5280445)	NADPH oxidase inhibitor	0.858	0.002
	Antioxidant	0.775	0.004
	Vasodilator	0.495	0.022
	Free Radical Scavenger	0.775	0.003
	Lipid peroxidase inhibitor	0.740	0.004
	Cardioprotectant	0.756	0.004
Morin (CID_5281670)	NADPH oxidase inhibitor	0.890	0.002
	Antioxidant	0.850	0.003
	Vasodilator	0.508	0.021
	Free Radical Scavenger	0.759	0.003
	Lipid peroxidase inhibitor	0.783	0.004
	Cardioprotectant	0.814	0.003
Myricetin (CID_5281672)	NADPH oxidase inhibitor	0.939	0.001
	Antioxidant	0.924	0.003
	Vasodilator	0.562	0.016
	Free Radical Scavenger	0.832	0.002
	Lipid peroxidase inhibitor	0.836	0.003
	Cardioprotectant	0.886	0.003

**Keterangan:** Pa\* (*Potential Activity*), Pi (*Potential Inactive*). Hasil prediksi PASS diinterpretasikan sebagai berikut:

- (i) Hanya aktivitas dengan  $Pa > Pi$  yang dianggap mungkin untuk senyawa tertentu.
- (ii) Jika  $Pa > 0,7$  ada kemungkinan besar untuk menemukan aktivitas yang tinggi secara eksperimental.
- (iii) Jika  $Pa > 0,5$  tetapi kurang dari 0,7 peluang untuk menemukan aktivitas rendah secara eksperimental, tetapi senyawanya mungkin berbeda dengan agen farmasi yang diketahui.
- (iv) Jika  $Pa < 0,5$  peluang untuk menemukan aktivitas secara eksperimental rendah, namun peluang untuk menemukan entitas kimia baru tinggi.

Hasil prediksi PASS ditunjukkan dengan nilai Pa (*Probable activity*) dan Pi (*Probable inactivity*). Nilai Pa merupakan estimasi kemungkinan suatu

senyawa untuk aktif melakukan aktivitas biologis (*antiulcerative*) dalam eksperimen laboratorium, sedangkan nilai  $P_i$  merupakan kebalikannya. Apabila suatu senyawa memiliki  $P_a$  lebih besar daripada  $P_i$  ( $P_a > P_i$ ), maka dapat diperkirakan bahwa senyawa tersebut berpotensi memiliki aktivitas biologis yang diharapkan. Semakin besar nilai  $P_a$  maka semakin besar kemungkinan yang dimiliki senyawa tersebut sebagai penghambat NADPH oksidase, antioksidan, vasodilator, pemusnah radikal bebas, penghambat peroksidasi lipid, dan kardioprotektif dalam eksperimen laboratorium (Fakih *et al.*, 2022).

Berdasarkan prediksi PASS menunjukkan bahwa senyawa kuersetin kaempferol, rutin, luteolin, morin, dan myricetin memiliki aktivitas penghambat NADPH oksidase yang tinggi dalam skala *in silico* dan laboratorium dan memiliki tingkat kemiripan yang tinggi dengan senyawa obat pada bioaktivitas yang sama karena memiliki nilai  $P_a$  lebih dari 0,7 ( $P_a > 0,7$ ). Hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Lestari dkk., (2023) mengungkapkan bahwa secara *in vivo* senyawa flavonoid ini memiliki aktivitas sebagai penghambat NADPH oksidase, sehingga hal ini dapat mencegah reaksi redoks yang dapat menghasilkan radikal bebas. NADPH oksidase jika tidak dihambat akan menghasilkan radikal superoksida ( $O_2^-$ ). Superoksida akan diubah menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Hidrogen ini dalam tahap propagasi akan diubah menjadi radikal hidroksil ( $OH^-$ ). Radikal hidroksil inilah yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lemak pada membran sel sehingga sel mengalami kerusakan (Tain & Hsu, 2022).

Berdasarkan prediksi PASS menunjukkan bahwa senyawa kuersetin kaempferol, rutin, luteolin, morin, dan myricetin memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dalam skala *in silico* dan laboratorium dan memiliki tingkat kemiripan

yang tinggi dengan senyawa obat pada bioaktivitas yang sama karena memiliki nilai  $P_a$  lebih dari 0,7 ( $P_a > 0,7$ ). Hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Kamal (2013) mengatakan antioksidan berperan penting dalam melindungi dan mendegradasi sel dari paparan radikal bebas yaitu stress oksidatif dan ROS. Setiap peningkatan stress oksidatif akan menghasilkan peningkatan yang nyata dalam perkembangan penyakit kardiovaskular dan komplikasinya seperti hipertensi. Adanya aktivitas antioksidan biologis akan dapat mendonorkan elektron pada radikal bebas sehingga molekulnya menjadi lebih stabil dan dapat meningkatkan aktivitas nrf2 yang berperan penting dan utama dalam mengatur respon antioksidan adaptif seluler dan sebagai pertahanan sel dalam mengatasi stress oksidatif (Demando dkk., 2019).

Berdasarkan prediksi PASS menunjukkan bahwa aktivitas sebagai vasodilator pada senyawa kuersetin dan luteolin cenderung memiliki nilai rendah yaitu nilai  $P_a$  kurang dari 0,5 ( $P_a < 0,5$ ) menunjukkan bahwa senyawa memiliki aktivitas biologis yang rendah dalam uji skala *in silico* dan laboratorium, namun peluang untuk menemukan entitas kimia baru tinggi. Sedangkan, senyawa kaempferol, morin, dan myricetin memiliki aktivitas sebagai vasodilator lebih tinggi dari senyawa kuersetin dan luteolin yaitu Nilai  $P_a$  lebih dari 0,5 tetapi kurang dari 0,7 ( $0,5 < P_a < 0,7$ ) menunjukkan bahwa senyawa memiliki aktivitas biologis yang sedang dalam skala *in silico* dan laboratorium serta memiliki potensi untuk pengembangan senyawa obat yang baru dengan bioaktivitas yang bersangkutan. Pada senyawa rutin memiliki aktivitas vasodilator yang tinggi dalam skala *in silico* dan laboratorium dan memiliki tingkat kemiripan yang tinggi dengan senyawa obat pada bioaktivitas yang sama karena memiliki nilai  $P_a$  lebih

dari 0,7 ( $P_a > 0,7$ ). Hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Sjakoe dan Permatasari (2012) mengungkapkan bahwa secara *in vivo* mekanisme kerja dari flavonoid sebagai vasodilator karena peran otot polos dan endotel pembuluh darah. Organ target pada pengobatan hipertensi yaitu pada pembuluh darah (sistem vaskular). Flavonoid benalu teh dalam hal ini quercetin mampu bekerja langsung pada otot polos pembuluh arteri dengan menstimulir atau mengaktivasi *Endothelium Derived Relaxing Factor* (EDRF) sehingga menyebabkan vasodilatasi.

Berdasarkan prediksi PASS menunjukkan bahwa senyawa kuersetin kaempferol, rutin, luteolin, morin, dan myricetin memiliki aktivitas *free radical scavenger* yang tinggi dalam skala *in silico* dan laboratorium dan memiliki tingkat kemiripan yang tinggi dengan senyawa obat pada bioaktivitas yang sama karena memiliki nilai  $P_a$  lebih dari 0,7 ( $P_a > 0,7$ ). Hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Kamilatussaniah dkk., (2015) mengungkapkan bahwa senyawa flavonoid pada benalu teh dan benalu mangga berperan dalam menangkap dan menangkal radikal bebas (*scavenger*). Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan terjadi secara langsung maupun tidak langsung. Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan secara langsung terjadi dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralsir efek toksik dari radikal bebas, sedangkan mekanisme secara tidak langsung yaitu dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme salah satunya melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2) yang merupakan gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen seperti gen SOD.

Berdasarkan prediksi PASS menunjukkan bahwa senyawa kuersetin kaempferol, rutin, luteolin, morin, dan myricetin memiliki aktivitas menghambat peroksidasi lipid yang tinggi dalam skala *in silico* dan laboratorium dan memiliki tingkat kemiripan yang tinggi dengan senyawa obat pada bioaktivitas yang sama karena memiliki nilai Pa lebih dari 0,7 ( $Pa > 0,7$ ). Hal ini selaras dengan penelitian lainnya yang mengatakan senyawa flavonoid pada benalu teh dan benalu mangga memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang dapat mencegah atau menghilangkan radikal bebas terutama dalam sel tubuh dengan mendonorkan elektron sehingga menghasilkan produk yang lebih stabil serta menghambat reaksi berantai radikal bebas dan dapat menurunkan aktivitas peroksidasi lipid (menurunkan kadar MDA) (Saxena *et al.*, 2013; Plaza *et al.*, 2014). Selain itu, menurut Suryasaputra dkk., (2019) rutin, myricetin, dan luteolin berpotensi sebagai inhibitor siklooksigenase yang berperan penting dalam terbentuknya MDA yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid.

Berdasarkan prediksi PASS menunjukkan bahwa senyawa kuersetin kaempferol, rutin, luteolin, morin, dan myricetin memiliki aktivitas sebagai kardioprotektif yang tinggi dalam skala *in silico* dan laboratorium dan memiliki tingkat kemiripan yang tinggi dengan senyawa obat pada bioaktivitas yang sama karena memiliki nilai Pa lebih dari 0,7 ( $Pa > 0,7$ ). Hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Khaki *et al.*, (2011) mengungkapkan bahwa turunan senyawa flavonoid dapat memodulasi tekanan darah dengan mengembalikan fungsi endotel, secara langsung dapat mempengaruhi kadar NO, atau secara tidak langsung melalui jalur lain. Hubungan antara hipertensi dan disfungsi endotel

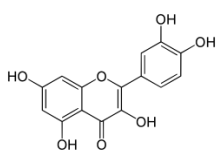
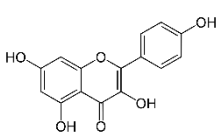
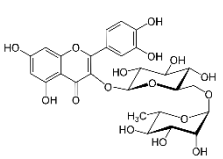
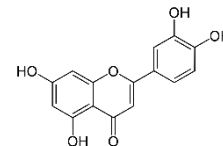
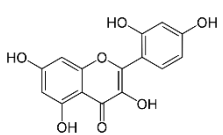
berkontribusi terhadap perkembangan aterosklerosis dan komplikasi kesehatan lainnya dari penyakit kardiovaskular.

Hal ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki kemiripan dengan struktur senyawa yang selama ini telah teruji secara eksperimental dapat menghambat NADPH oksidase, antioksidan, penangkal radikal bebas, menghambat peroksidasi lipid, dan kardioprotektif. Senyawa-senyawa tersebut memiliki nilai  $P_a$  yang sangat tinggi yaitu  $P_a$  lebih dari 0,7 ( $P_a > 0,7$ ) yang artinya senyawa-senyawa tersebut memiliki kemungkinan yang cukup kuat dalam menghambat NADPH oksidase, antioksidan, pemusnah radikal bebas, menghambat peroksidasi lipid, dan kardioprotektif, dan ada yang memiliki kemungkinan rendah sebagai vasodilator. Akan tetapi, hal ini bukan berarti bahwa senyawa tersebut secara pasti memiliki aktivitas biologis yang rendah sebagai vasodilator atau sebagai pelebaran pembuluh darah. Oleh karena itu, perlu dilakukan *molecular docking* untuk mengkonfirmasi hasil dari PASS (Fakih *et al.*, 2021).

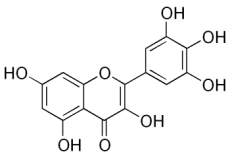
#### **4.3.2 Uji *Drug likeness* Menggunakan SwissADME**

Evaluasi sifat mirip obat secara umum dilakukan berdasarkan aturan Lipinski (*rule of five*). Suatu senyawa dikatakan memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi suatu kandidat obat per oral jika memenuhi kriteria Lipinski. Kriteria Lipinski menentukan kemampuan absorpsi dan permeabilitas suatu senyawa. Kriteria Lipinski antara lain berat molekul ( $\leq 500$  Da),  $\log P$  ( $\leq 5$ ), donor ikatan hidrogen ( $\leq 5$ ), akseptor ikatan hidrogen ( $\leq 10$ ) (Lipinski *et al.*, 2012). Hasil Analisa kandungan senyawa kimia dalam daun benalu teh dan benalu mangga tertera pada (Tabel 4.4).

**Tabel 4. 4** Prediksi bioaktivitas senyawa aktif benalu teh dan benalu mangga menggunakan prediktor swissADME

Senyawa	CID	Aturan Lima Lipinski	
		Parameter	Nilai
 <b>Quercetin</b> (C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub> )	5280343	Berat Molekul ( $\leq 500$ Da) Log P ( $\leq 5$ ) Donor ikatan hidrogen ( $\leq 5$ ) Akseptor ikatan hidrogen ( $\leq 10$ )	302.24 g/mol 1.23 5 7
 <b>Kaempferol</b> (C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub> )	5280863	Berat Molekul ( $\leq 500$ Da) Log P ( $\leq 5$ ) Donor ikatan hidrogen ( $\leq 5$ ) Akseptor ikatan hidrogen ( $\leq 10$ )	286.24 g/mol 1.58 4 6
 <b>Rutin</b> (C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub> )	5280805	Berat Molekul ( $\leq 500$ Da) Log P ( $\leq 5$ ) Donor ikatan hidrogen ( $\leq 5$ ) Akseptor ikatan hidrogen ( $\leq 10$ )	610.52 g/mol -1.29 10 16
 <b>Luteolin</b> (C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub> )	5280445	Berat Molekul ( $\leq 500$ Da) Log P ( $\leq 5$ ) Donor ikatan hidrogen ( $\leq 5$ ) Akseptor ikatan hidrogen ( $\leq 10$ )	286.24 g/mol 1.73 4 6
 <b>Morin</b> (C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub> )	5281670	Berat Molekul ( $\leq 500$ Da) Log P ( $\leq 5$ ) Donor ikatan hidrogen ( $\leq 5$ ) Akseptor ikatan hidrogen ( $\leq 10$ )	302.24 g/mol 1.20 5 7



 <p>Myricetin (C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>8</sub>)</p>	5281672	Berat Molekul ( $\leq 500$ Da) Log P ( $\leq 5$ ) Donor ikatan hidrogen ( $\leq 5$ ) Akseptor ikatan hidrogen ( $\leq 10$ )	318.24 g/mol 0.79 6 8
--	---------	--	--------------------------------

Hasil penilaian hukum Lipinski menunjukkan bahwa senyawa seperti kuersetin, kaempferol, luteolin, morin dan myricetin memiliki berat molekul kurang dari 500 ( $\leq 500$ ) g/mol atau Dalton. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut dapat diabsorpsi dengan baik dan memiliki permeabilitas yang tinggi pada saluran intestinal, sedangkan pada senyawa rutin memiliki nilai berat molekul lebih dari 500 ( $>500$ ) g/mol atau Dalton. Hal ini menunjukkan bahwa pada senyawa rutin memiliki absorpsi dan permeabilitas yang rendah pada saluran intestinal, jadi semakin besar berta molekul pada suatu senyawa maka semakin sulit untuk diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah.

Nilai log P mempengaruhi kemampuan suatu senyawa dalam menembus membrane plasma, proses distribusi dan afinitas terhadap protein plasma sehingga nilai Log P dapat mempengaruhi bioavailabilitas suatu senyawa obat. Penyebab paling sering dari rendahnya bioavailabilitas obat rute per oral adalah permeabilitas yang rendah. Nilai Log P yang optimal untuk suatu kandidat obat adalah  $\log P \leq 5$  (Lipinski *et al.*, 2012; Czynski, 2019). Nilai log P yang memenuhi kriteria hukum Lipinski yaitu kuersetin, kaempferol, luteolin, morin, dan myricetin yaitu nilai  $\log P \leq 5$ . Sedangkan pada senyawa rutin memiliki nilai log P yang terlalu negative yaitu  $\log P -1.29$ . Nilai Log P yang lebih besar yaitu lebih dari 5 ( $>5$ ) akan menyebabkan senyawa obat akan cenderung memiliki tingkat

toksistas yang tinggi karena akan tertahan lebih lama pada lipid bilayer dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektivitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang. Nilai Log P yang terlalu negatif juga baik karena jika molekul tersebut tidak dapat melewati membran lipid bilayer (Kilo dkk., 2019).

Nilai donor ikatan hidrogen dan nilai akseptor ikatan hidrogen yang memenuhi hukum Lipinski yaitu pada senyawa kuersetin, kaempferol, luteolin, dan morin. Jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen mendeskripsikan semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi. Secara umum aturan Lipinski menggambarkan solubilitas senyawa tertentu untuk menembus membran sel oleh difusi pasif. Nilai Donor ikatan hidrogen (<5) Akseptor ikatan hidrogen (<10) yang optimal untuk suatu kandidat obat (Lipinski *et al.*, 2012; Syahputra dkk., 2011).

### 4.3.3 Prediksi ADMET

Prediksi ADMET atau farmakokinetika suatu senyawa obat dapat dilakukan menggunakan perangkat lunak yakni web pkCSM yang merupakan perangkat lunak yang digunakan untuk memprediksi sifat fisikokimia, absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi serta toksistas suatu senyawa dengan memasukkan kode SMILES (Nusantoro & Fadlan, 2020). Hasil prediksi absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksistas pada senyawa uji yang terkandung dalam daun benalu teh dan benalu mangga ditunjukkan pada tabel 4.5.

**Tabel 4. 5** Prediksi farmakokinetika pada senyawa uji

ADMET	Quercetin	Kaempferol	Rutin	Luteolin	Morin	Myricetin
<b>Absorpsi</b>						
Absorpsi pada Usus Manusia (HIA)	77.207	74.29	23.446	81.13	75.408	65.93

Water solubility	-2.925	-3.04	-2.892	-3.094	-2.978	-2.915
<b>Distribusi</b>						
VDss	1.559	1.274	1.663	1.153	1.229	1.317
BBB permeability	-1.098	-0.939	-1.899	-0.907	-1.18	-1.493
<b>Metabolisme</b>						
CYP2D6 substrate	No	No	No	No	No	No
CYP2D6 inhibitor	No	No	No	No	No	No
<b>Ekskresi</b>						
Total Clearance	0.407	0.477	-0.369	0.495	0.486	0.422
Renal OCT2 Substrate	No	No	No	No	No	No
<b>Toksitas</b>						
AMES Toxicity	No	No	No	No	No	No
LD50 (mol/kg)	2.471	2.449	2.491	2.455	2.413	2.497

Hasil dari prediksi pkCSM menunjukkan bahwa senyawa yang memiliki nilai profil absorpsi pada saluran intestinal yang baik adalah luteolin (81.13%). Sedangkan quercetin (77.207%), kaempferol (74.29%), morin (75.408%), dan myricetin (65.93%) yang memiliki profil absorpsi intestinal yang cukup baik. Senyawa rutin memiliki nilai profil absorpsi pada saluran intestinal yang sangat rendah yaitu (23.446%). Absorpsi pada intestinal dikatakan baik jika memiliki nilai prosentase >80% dan dikatakan kurang baik jika prosentasenya <30%. Jadi, *Human Intestinal Absorption* (HIA) merujuk ke usus untuk penyerapan obat dari larutan yang diberikan secara oral untuk dapat menimbulkan efek farmakologis yang diinginkan, maka obat harus dapat diabsorpsi dengan baik (Pires *et al.*, 2015). Usus merupakan tempat yang paling utama untuk proses penyerapan obat yang pemberiannya secara oral, apabila zat yang diserap melebihi 30%, maka zat

tersebut memiliki nilai absorpsi yang baik, sehingga senyawa tersebut sedikit diserap di usus dan optimal bekerja pada lumen usus.

Kelarutan dalam air ( $\log S$ ) mencerminkan kelarutan molekul dalam air pada 25°C. Obat yang larut dalam lemak kurang baik diabsorpsi dibandingkan obat yang larut dalam air, terutama jika obat tersebut bersifat enteral. Senyawa dengan nilai *water solubility* <-6 menunjukkan kelarutan yang rendah. Hasil dari prediksi pkCSM menunjukkan bahwa semua senyawa uji memiliki nilai *water solubility* <-6, hal ini menunjukkan bahwa pada semua senyawa uji memiliki kelarutan yang rendah (Abdullah dkk., 2021).

Parameter distribusi yang dianalisa adalah volume distribusi (VD<sub>ss</sub>) dan kemampuan permabilitas darah ke otak (BBB). VD<sub>ss</sub> adalah volume yang diperlukan oleh dosis obat untuk dapat didistribusikan secara homogen dan seimbang pada plasma darah. Berdasarkan prediksi pkCSM, VD<sub>ss</sub> dikatakan rendah jika memiliki nilai <-0,15 Log L/kg dan dikatakan tinggi jika nilai VD<sub>ss</sub> > 0,45 Log L/kg (Pires *et al.*, 2015).

Hasil dari prediksi pkCSM menunjukkan bahwa semua senyawa memiliki VD<sub>ss</sub> tinggi yaitu pada senyawa quercetin, kaempferol, rutin, luteolin, morin, dan myricetin. Semakin tinggi VD<sub>ss</sub>, semakin banyak obat yang didistribusikan di jaringan daripada di plasma, sehingga obat dapat dilarutkan dalam volume besar dan volume distribusi juga akan besar. Semakin rendah VD<sub>ss</sub>, semakin banyak obat yang didistribusikan di plasma daripada jaringan. Sebagian besar obat dalam plasma akan berada dalam keseimbangan antara keadaan tidak terikat atau terikat pada protein serum. Efikasi obat pemberi dapat dipengaruhi oleh sejauh mana obat itu mengikat protein dalam darah, karena semakin banyak obat yang terikat,

semakin kurang efisien yang dapat dilaluinya membran sel atau membran difusi (Abdullah dkk., 2021).

Kemampuan obat untuk menembus sawar darah otak (*Blood Brain Barrier*) merupakan parameter penting yang perlu dipertimbangkan untuk membantu mengurangi efek samping dan toksisitas atau untuk meningkatkan khasiat obat yang aktivitas farmakologisnya ada di dalam otak. Otak manusia dilindungi dari senyawa eksogen melalui sawar darah otak. Permeabilitas otak-darah diukur secara *in vivo* pada model hewan sebagai logBB, yaitu rasio logaritmik konsentrasi pada otak terhadap plasma (Pires, 2018). Senyawa dikatakan mampu menembus sawar darah otak dengan baik bila mempunyai nilai  $\text{Log BB} > 0.3$ , dan tidak dapat terdistribusi dengan baik bila  $\text{log BB} < -1$  (Krihariyani dkk., 2020). Dari tabel 4.5 dapat dilihat bahwa nilai log BB senyawa hasil dari prediksi pkCSM yaitu senyawa kaempferol (-0.939), dan luteolin (-0.907) yang berarti lebih besar dari -1, sehingga dapat diprediksi bahwa kedua senyawa tersebut mampu menembus sawar darah otak, sedangkan senyawa quercetin (-1.098), rutin (-1.899), morin (-1.18), dan myricetin (-1.493) yang berarti lebih kecil dari -1, sehingga senyawa-senyawa tersebut tidak dapat terdistribusi dengan baik.

Hasil prediksi metabolisme, semua senyawa tidak mengaktifkan maupun menghambat enzim CYP2D6. Fungsi enzim tersebut dapat mendetoksifikasi senyawa yang ada pada hati. Senyawa tersebut mampu mengaktifkan dan menghambat enzim tersebut yang memiliki kemampuan dalam menghambat kinerja dari sitokrom P450. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan senyawa quercetin, kaempferol, rutin, luteolin, morin, dan myricetin tidak mengalami

metabolisme pada hati sehingga tidak memiliki sifat hepatotoksik. Bila senyawa dikelompokkan pada senyawa hepatotoksik jika senyawa tersebut mempengaruhi kerja fisiologis atau patologis pada hati yang menyebabkan terganggunya fungsi hati (Abdullah dkk., 2021).

Langkah selanjutnya yaitu memprediksi senyawa yang di diserap oleh hepatic, biliar dan ginjal yang diukur dengan ekskresi total (CL<sub>tot</sub>) yang merupakan bagian dari prediski nilai ekskresi *total clearance* (Pires *et al.*, 2015). Suatu ekskresi senyawa dikatakan baik, apabila berat molekulnya kecil dan hidrofilik. Bila berat molekul tinggi yang memiliki sifat hidrophopik maka senyawa yang diekskresikan semakin kecil dapat berpotensi menyebabkan toksisitas (Krihariyani dkk., 2020). Berdasarkan pada tabel 4.5 dapat dilihat bahwa kedua senyawa aktif seperti quercetin (0.407), kaempferol (0.477), rutin (-0.369), luteolin (0.495), morin (0.486), dan myricetin (0.422). Berdasarkan nilai tersebut dapat diprediski bahwa senyawa rutin memiliki nilai terendah dalam tingkat ekskresi senyawa, sedangkan senyawa lainnya seperti quercetin, kaempferol, luteolin, morin, dan myricetin memiliki nilai ekskresi cepat, sehingga senyawa tersebut tidak menyebabkan keracunan pada tubuh.

*Organic cation transporter 2* (OCT2) adalah transporter pada ginjal yang berperan penting dalam perpindahan dan clearance obat-obatan dan senyawa endogen di ginjal. Substrat OCT2 juga memiliki potensi interaksi yang merugikan jika diberikan bersama inhibitor OCT2. Penilaian calon potensial untuk ditransport oleh OCT2 memberikan informasi yang berguna mengenai tidak hanya clearance tetapi potensi kontraindikasi. Dari tabel 4.5 dapat dilihat bahwa semua senyawa tidak mempengaruhi substrate OCT2, sehingga dapat diprediski

senyawa turunan tersebut bukan merupakan substrate OCT2 (Abdullah dkk., 2021).

Menentukan toksisitas senyawa dapat dilakukan dengan uji *Ames Toxicity*. Uji *Ames Toxicity* merupakan metode yang digunakan secara umum untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri. Hasil uji positif menunjukkan bahwa senyawa tersebut bersifat mutagenik dan dapat bertindak sebagai karsinogen yaitu zat yang menyebabkan kanker (Hebert *et al.*, 2015). Dari tabel 4.5 dapat dilihat bahwa semua senyawa uji tidak menimbulkan efek mutagenik atau tidak menyebabkan kanker.

Tolak ukur yang digunakan untuk penentuan toksisitas adalah *Lethal dose* ( $LD_{50}$ ) mol/kg.  $LD_{50}$  merupakan pemberian suatu bahan atau senyawa yang dapat menimbulkan kematian 50% pada kelompok hewan coba (Kesuma dkk., 2018).

**Tabel 4. 6** Tingkat kelas toksisitas berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS)

<b>Tingkatan</b>	<b>Kategori</b>	<b>Nilai <math>LD_{50}</math></b>
Kelas 1	Fatal jika tertelan	$\leq 5\text{mg/kg}$
Kelas 2	Fatal jika tertelan	$(5 < LD_{50} \leq 50 \text{ mg/kg})$
Kelas 3	Toksik jika tertelan	$(50 < LD_{50} \leq 300 \text{ mg/kg})$
Kelas 4	Berbahaya jika tertelan	$(300 < LD_{50} \leq 2000 \text{ mg/kg})$
Kelas 5	Kemungkinan bisa berbahaya jika tertelan	$(2000 < LD_{50} \leq 5000 \text{ mg/kg})$
Kelas 6	Tidak beracun	$(LD_{50} > 5000 \text{ mg/kg})$

Berdasarkan hasil dari tabel 4.6 dapat dilihat bahwa semua senyawa uji memiliki nilai  $LD_{50}$  yaitu quercetin (2.471), kaempferol (2.449), rutin (2.491), luteolin (2.455), morin (2.413), dan myricetin (2.497). hal ini menunjukkan bahwa semua senyawa uji termasuk dalam kategori tingkat toksisitas yang relatif rendah karena tergolong kelas 5 ( $2000 < LD_{50} \leq 5000 \text{ mg/kg}$ ) (El-Din *et al.*, 2016).

Menurut penelitian lain mengatakan pemberian benalu teh dengan dosis 1000, 2000, dan 4000 mg/kgBB tidak menimbulkan toksik pada tikus hipertensi dan dapat memperbaiki stress oksidatif, sehingga terjadi peningkatan kadar SOD serum dan penurunan kadar MDA serum (Athiroh & Wahyuningsih, 2017). Hal ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Lestari dkk., (2020) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak metanolik benalu teh dan benalu mangga aman pada tikus betina dan tidak menimbulkan sifat yang toksik pada profil lipid.

#### 4.3.4 Molecular Docking

Proses Docking dilakukan dengan menggunakan aplikasi PyRx dan pengamatan interaksi kimia antara senyawa uji dan protein target Nrf2 dengan menggunakan software *Biovia Discovery Studio Visualizer*. Hasil visualisasi interaksi kimia antara senyawa uji dan protein target Nrf2 dapat dilihat pada tabel 4.7

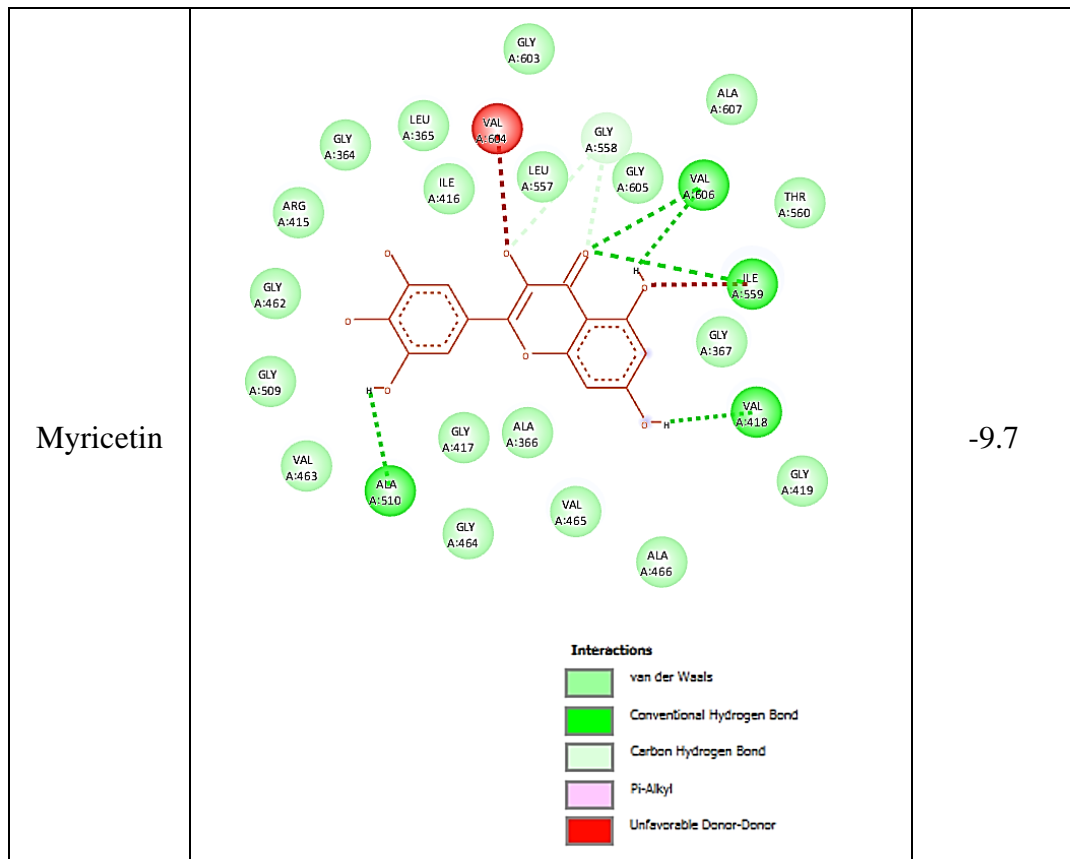
**Tabel 4. 7** Visualisasi 2D interaksi ikatan asam amino pada senyawa uji terhadap reseptor nrf2

Ligan	Interaksi	Binding Affinity kkal/mol
Ligan Alami		-8.0



<p>Quercetin</p>		<p>-9.7</p>
<p>Kaempferol</p>		<p>-9.8</p>
<p>Rutin</p>		<p>-9.2</p>

<p>Luteolin</p>		<p>-9.5</p>
<p>Morin</p>		<p>-10.4</p>



Hasil docking yang bagus diantaranya dapat dianalisis dengan melihat nilai nilai RMSD dan *binding affinity* atau energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ). Nilai RMSD adalah jarak penyimpangan dari posisi ikatan *native ligand* dengan protein setelah didockingkan terhadap posisi ikatan *native ligand* yang sebenarnya. Nilai RMSD ini dapat disebut pula dengan jarak ikatan (Mangat *et al.*, 2022). Nilai RMSD yang diperoleh pada penelitian ini adalah  $<3\text{\AA}$  yang berarti bahwa metode *molecular docking* yang digunakan telah tervalidasi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rastini dkk., (2019) yang mengatakan bahwa RMSD yang dapat diterima atau dapat dinyatakan valid adalah  $\leq 3,0\text{\AA}$ .

Selain nilai RMSD terdapat nilai *binding affinity* yang merupakan ukuran kemampuan obat untuk berikatan dengan reseptor, nilai terendah (nilainya semakin negatif) menunjukkan tingkat kestabilan ikatan ligand dan reseptor yang

baik, sehingga ligan lebih mudah berikatan dengan reseptornya (Abdillah, Ilmah and Mahardhika, 2017). Perbedaan energi ikatan diantara ligan dikarenakan terdapat perbedaan pengikatan ligan terhadap asam amino pada protein reseptor, sehingga konformasi tersebut dapat mempengaruhi stabilitas keadaan geometri molekul (Arwansyah dkk., 2014).

Hasil docking menunjukkan bahwa ligan alami dan semua senyawa yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperti quercetin, kaempferol, rutin, luteolin, morin, dan myricetin memiliki nilai *binding affinity* berturut-turut -8.0, -9.7, -9.8, -9.2, -9.5, -10.4, dan -9.7 kkal/mol. Suatu ikatan dapat dikatakan kuat atau mudah berikatan dengan reseptornya apabila nilai *binding affinity* <-7,3 kkal/mol sehingga hal ini dapat disimpulkan bahwa ligan alami memiliki ikatan yang kuat untuk berikatan dengan sisi aktif Nrf2, tetapi semua senyawa uji memiliki ikatan yang lebih kuat dari ligan alami dan berpotensi untuk berikatan dengan sisi aktif nrf2 yang bertindak sebagai aktivator gen antioksidan yang lebih baik sehingga memiliki potensi yang baik atau kuat dalam menstimulasi kerja enzim nrf2. Hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Sjakoe *et al.*, (2021) yaitu senyawa flavonoid pada benalu teh dan benalu mangga diketahui dapat meningkatkan potensi antioksidan endogen salah satunya seperti SOD melalui jalur Nrf2-ARE. Nrf2 memainkan peran penting dan utama dalam mengatur respon antioksidan adaptif seluler dan sebagai pertahanan sel dalam mengatasi stress oksidatif dan berpotensi sebagai ACE Inhibitor. ACE dapat diketahui memegang peran penting dalam pembentukan angiotensin II yang merupakan salah satu penyebab hipertensi. Antioksidan endogen seperti SOD yang diaktifkan dapat menangkap radikal bebas dengan mendonorkan elektron sehingga

menghasilkan produk yang lebih stabil serta menghambat reaksi berantai radikal bebas dan dapat menurunkan aktivitas peroksidasi lipid (menurunkan kadar MDA) (Saxena *et al.*, 2013; Plaza *et al.*, 2014).

Hasil dari visualisasi penambatan molekul dari 6 senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak benalu teh dan benalu mangga ditunjukkan pada Tabel 4.7 Terdapat beberapa interaksi kimia yang terjadi antara senyawa uji dan protein target antara lain yaitu seperti ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi elektrostatik dan interaksi lainnya. Ikatan hidrogen dapat berupa ikatan hidrogen konvensional, ikatan karbon hidrogen, dan ikatan pi-donor. Interaksi hidrofobik dapat berupa pi-sigma, pi-alkil, alkil, pi-pi T-shaped, dan pi-pi stacked. Interaksi elektrostatik dapat berupa jembatan garam, pi-kation, dan pi-anion, sedangkan interaksi lainnya yaitu interaksi halogen dan pi-lone pair. Selain ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatik juga memiliki peran dalam mempengaruhi stabilitas ligan terhadap reseptor. Interaksi hidrofobik merupakan interaksi yang bersifat menghindari lingkungan air dan cenderung berkelompok di sebelah dalam struktur globular dari protein (Damayanti *et al.*, 2021).

Kompleks ikatan serta residu asam amino pada interaksi antara senyawa *native ligand* dengan reseptor nrf2 dapat dilihat pada tabel 4.7 Hasil visualisasi penambatan molekuler senyawa *native ligand* dengan reseptor nrf2 memiliki ikatan van der Waals, karbon hidrogen bond, alkyl, dan Pi-alkyl. Ikatan van der Waals terbentuk pada asam amino residu Val604, Gly558, Val512, Gly603, Ala556, Leu365, Ile416, Gly417, Gly464, Gly367, Gly419, Val369, Val608, Ala607, Cys513, Ile559, dan Val606. Ikatan hidrogen konvensional terbentuk pada asam amino residu Val418, Thr560, dan Val561. Ikatan karbon hidrogen

terbentuk pada asam amino residu Leu557 dan Val420. Ikatan alkyl terbentuk pada asam amino residu Cys368. Ikatan Pi-alkyl terbentuk pada asam amino residu Val514, Val467 dan Ala366.

Kompleks ikatan serta residu asam amino pada interaksi antara senyawa quercetin dengan reseptor nrf2 dapat dilihat pada tabel 4.7 Hasil visualisasi penambatan molekular senyawa quercetin dengan reseptor nrf2 memiliki ikatan van der waals, ikatan hidrogen konvensional, ikatan karbon hidrogen, dan pi-alkil. Ikatan van der waals terbentuk pada asam residu Cys513, Ile559, Gly511, Val463, Gly462, Gly509, Gly364, Gly603, Leu557, Gly605, dan Ala607. Ikatan hidrogen konvensional terbentuk pada asam amino residu Gly367, Arg415, Val465, Ala510, Val512, dan Val606. Ikatan karbon hidrogen terbentuk pada asam amino residu Gly464. Ikatan pi-alkil terbentuk pada asam amino residu Ala366 dan Ala556.

Senyawa quercetin berinteraksi dengan Nrf2 melalui ikatan hidrogen yang sama dengan yang terjadi pada *native ligand* dengan Nrf2, yaitu Val465. Selain itu, senyawa quercetin memiliki kemiripan interaksi residu asam amino dengan *native ligand* pada asam amino residu Cys513, Ile559, Gly603, Leu557, Ala607, Gly367, Val606, Gly464, dan Ala556. Hal tersebut menandakan bahwa tempat sisi aktif *native ligand* dan senyawa quercetin berikatan dengan Nrf2 juga sudah sama dan terdapat kemiripan residu asam amino yang terbentuk menunjukkan bahwa ikatan senyawa quercetin hampir sekuat ligan alami.

Senyawa quercetin berpotensi sebagai aktivator pada reseptor Nrf2 karena memiliki afinitas dengan reseptor Nrf2 tersebut dengan nilai ikatan sebesar - 9.7kcal/mol serta berinteraksi melalui ikatan hidrogen residu asam amino Val465.

Prediksi ini sesuai dengan Perdana dkk., (2019) bahwa senyawa quercetin termasuk turunan dari golongan senyawa flavonoid yang banyak ditemukan diberbagai jenis tanaman. Beberapa efek farmakologis dari quercetin yaitu sebagai antioksidan, antihipertensi dan mampu meningkatkan ekspresi protein *Nuclear factor related erythroid factor 2* (Nrf2) di dalam nukleus pada tikus yang mengalami Penyakit Ginjal Kronik (PGK). Ketika sel mengalami stres oksidatif, terjadi perubahan ikatan antara Nrf2 dan Keap1 sehingga Nrf2 terlepas dan terakumulasi di dalam sitoplasma. Nrf2 yang terakumulasi di dalam sitoplasma akan mudah mengalami translokasi ke dalam nukleus untuk menjalankan perannya sebagai faktor transkripsi pada ekspresi gen yang bergantung ARE (*antioxidan responsive element*) dan akan mengekspresikan sejumlah gen antioksidan seperti HO-1, CAT, GPx, GST, SOD, GS, NQO1, dan GCL.

Kompleks ikatan serta residu asam amino pada interaksi antara senyawa kaempferol dengan reseptor Nrf2 dapat dilihat pada Tabel 4.7 Hasil visualisasi penambatan molekular senyawa kaempferol dengan reseptor nrf2 memiliki ikatan van der waals, ikatan hidrogen konvensional, ikatan karbon hidrogen, unfavorable donor-donor, dan pi-alkil. Ikatan van der waals terbentuk pada asam residu Ile559, Val512, Gly511, Val463, Gly509, Leu557, Gly603, Gly364, Gly462, Ile416, Leu365, Gly605, dan Val418. Ikatan hidrogen konvensional terbentuk pada asam amino residu Gly367, Ala510, Val465, dan Val606. Ikatan karbon hidrogen terbentuk pada asam amino residu Gly464. Ikatan pi-alkil terbentuk pada asam amino residu Ala366 dan Ala556. Ikatan unfavorable donor-donor terbentuk pada asam amino residu Arg415.

Senyawa kaempferol berinteraksi dengan Nrf2 melalui ikatan hidrogen yang sama dengan yang terjadi pada *native ligand* dengan Nrf2, yaitu Val465. Interaksi asam amino yang sama pada senyawa quercetin dengan *native ligand* ditunjukkan pada asam amino residu Gly367, Ile559, Val512, Val418, dan Ala366, Ala556, Gly464, Val606, Leu365, Ile416, Gly603, dan Leu557. Hal tersebut menandakan bahwa tempat sisi aktif *native ligand* dan senyawa kaempferol berikatan dengan Nrf2 juga sudah sama dan terdapat kemiripan residu asam amino yang terbentuk menunjukkan bahwa ikatan senyawa kaempferol hampir sekuat ligan alami.

Hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Hussain *et al.*, (2022) bahwa senyawa kaempferol adalah flavonoid alami, yang telah diteliti secara luas dalam pengobatan kanker, penyakit kardiovaskular, obesitas, liver, dan gangguan saraf. Selain itu, senyawa kaempferol dapat menormalkan kadar lipid dan pembuluh darah. Pada kasus disfungsi jantung dan fibrosis yang diinduksi oleh angiotensin II berkurang secara signifikan dengan pemberian kaempferol melalui regulasi Nrf2.

Nrf2 adalah faktor transkripsi yang terlibat dalam memediasi karsinogenesis dan penyakit lainnya, memainkan peran penting dalam mengatur stres oksidatif. Aktivasi Nrf2 menghasilkan ekspresi protein dan enzim sitoprotektif, yang memberikan perlindungan seluler terhadap ROS. Senyawa kaempferol baru-baru ini dieksplorasi untuk antikanker dan kemanjuran terapi penyakit lainnya dan menargetkan modulasi Nrf2 sebagai pendekatan terapeutik yang potensial (Yang *et al.*, 2017).



Kompleks ikatan serta residu asam amino pada interaksi antara senyawa rutin dengan reseptor Nrf2 dapat dilihat pada Tabel 4.7 Hasil visualisasi penambatan molekular senyawa rutin dengan reseptor nrf2 memiliki ikatan van der waals, ikatan hidrogen konvensional, ikatan karbon hidrogen, dan pi-alkil. Ikatan van der waals terbentuk pada asam residu Val420, Val608, Ile559, Asn469, Val467, Val606, Val465, Gly367, Gly419, Val418, Cys368. Ikatan hidrogen konvensional terbentuk pada asam amino residu Val369, Val561, His561, Val512. Ikatan karbon hidrogen terbentuk pada asam amino residu Ala466, dan Thr560. Ikatan pi-alkil terbentuk pada asam amino residu Val514, Leu468, Cys513.

Senyawa rutin berinteraksi dengan Nrf2 melalui ikatan hidrogen yang sama dengan yang terjadi pada *native ligand* dengan Nrf2, yaitu Val561 dan Thr560. Interaksi asam amino yang sama pada senyawa rutin dengan *native ligand* ditunjukkan pada asam amino residu Val420, Val608, Val606, Val465, Gly419, Gly367, Ile559, Val512, Cys513, Val418, Cys368, Val514, Val467, Val369. Hal tersebut menandakan bahwa tempat sisi aktif *native ligand* dan senyawa rutin berikatan dengan Nrf2 juga sudah sama dan banyaknya kemiripan residu asam amino yang terbentuk menunjukkan bahwa ikatan senyawa rutin hampir sekuat *ligand* alami.

Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Zhiwei (2022) bahwa Rutin merupakan senyawa turunan flavonoid yang dapat ditemukan di berbagai macam tanaman. Senyawa rutin memiliki banyak efek farmakologis, termasuk pengaturan antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, antihipertensi, antidiabetes, dan kekebalan tubuh. Efek imunomodulator dan antioksidan pada senyawa rutin diungkapkan oleh model tikus yang diinduksi siklofosamid (CTX).

Hasilnya menunjukkan bahwa pemberian senyawa rutin pada tikus yang diinduksi CTX terjadi peningkatan ekspresi Nrf2 dibandingkan dengan kelompok kontrol yang diinduksi CTX tanpa diberi senyawa rutin terjadi penurunan tingkat ekspresi gen Nrf2.

Penelitian lain juga membuktikan bahwa berdasarkan sifat antioksidannya, rutin dapat mengurangi stres oksidatif di hampir semua studi *in vitro* dan *in vivo*. Hal ini dibuktikan dengan senyawa rutin dapat mengurangi produksi ROS, NADPH oxidase (NOX), produk oksidatif seperti zat reaktif asam thiobarbituric (TBARS) dan *malondialdehyde* (MDA), serta peningkatan antioksidan seperti *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GPx) dan katalase (Cat) dalam berbagai model penyakit kardiovaskular (Siti *et al.*, 2020).

Kompleks ikatan serta residu asam amino pada interaksi antara senyawa morin dengan reseptor Nrf2 dapat dilihat pada Tabel 4.7 Hasil visualisasi penambatan molekular senyawa morin dengan reseptor nrf2 memiliki ikatan van der Waals, ikatan hidrogen konvensional, ikatan karbon hidrogen, dan pi-alkil. Ikatan van der Waals terbentuk pada asam residu Gly603, Gly364, Ile416, Gly605, Val418, Val512, Ile559, Gly511, Val463, Gly509, Gly462. Ikatan hidrogen konvensional terbentuk pada asam amino residu Gly367, Arg415, Val465, Leu365, Ala510, Val606. Ikatan karbon hidrogen terbentuk pada asam amino residu Gly464. Ikatan pi-alkil terbentuk pada asam amino residu Ala366, Ala556.

Senyawa morin berinteraksi dengan Nrf2 melalui ikatan hidrogen yang sama dengan yang terjadi pada *native ligand* dengan Nrf2, yaitu Val465. Interaksi asam amino yang sama pada senyawa morin dengan *native ligand* ditunjukkan pada asam amino residu Ile559, Val512, Gly367, Val418, Ile416, Leu365, Gly464,

Ala556, dan Ala366. Hal tersebut menandakan bahwa tempat sisi aktif *native ligand* dan senyawa morin berikatan dengan Nrf2 juga sudah sama dan terdapat kemiripan residu asam amino yang terbentuk menunjukkan bahwa ikatan senyawa morin hampir sekuat ligan alami.

Flavonoid dapat ditemukan di berbagai buah-buahan, sayuran, dan komponen lainnya. Flavonoid memainkan peran penting dalam mencegah berbagai jenis penyakit. Morin (3, 5, 7, 2', 4'-pentahidroksiflavon) adalah sejenis flavonoid yang memiliki warna pigmen kekuningan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemberian morin secara oral pada tikus yang diinduksi DOCA-garam mengakibatkan penurunan tekanan darah sistolik dan diastolik yang sangat signifikan. Hal ini dapat terjadi karena disebabkan oleh kemampuan antioksidan dari senyawa morin ini (Prahalthan *et al.*, 2012).

Hal ini diperkuat oleh penelitian lain yang mengungkapkan bahwa senyawa pada morin telah terbukti memiliki sifat biologis, termasuk antioksidan, antiinflamasi, anti-apoptosis, antihipertensi, dan antikanker (Sang *et al.*, 2017) serta dapat mengurangi stress oksidasi dan fibrosis hati melalui ekspresi Nrf2 (Kizil *et al.*, 2022). Morin juga dapat melindungi berbagai sel pada manusia, seperti sebagai myoblasts, hepatosit, eritrosit, dan melindungi terhadap kerusakan oksidatif (Lee *et al.*, 2017).

Kompleks ikatan serta residu asam amino pada interaksi antara senyawa myricetin dengan reseptor Nrf2 dapat dilihat pada Tabel 4.7 Hasil visualisasi penambatan molekular senyawa myricetin dengan reseptor nrf2 memiliki ikatan van der waals, ikatan hidrogen konvensional, ikatan karbon hidrogen, dan unfavorable acceptor-acceptor. Ikatan van der waals terbentuk pada asam residu

Gly603, Leu557, Gly605, Ala607, Thr560, Gly367, Gly419, Ala466, Val465, Ala366, Gly417, Gly464, Val463, Gly509, Gly462, Arg415, Gly364, Leu365, Ile416. Ikatan hidrogen konvensional terbentuk pada asam amino residu Ile559, Val606, Ala510, Val418. Ikatan karbon hidrogen terbentuk pada asam amino residu Gly558. Ikatan unfavorable acceptor-acceptor terbentuk pada asam amino residu Val604.

Senyawa myricetin berinteraksi dengan Nrf2 melalui ikatan hidrogen yang sama dengan yang terjadi pada *native ligand* dengan Nrf2, yaitu Val418. Interaksi asam amino yang sama pada senyawa myricetin dengan *native ligand* ditunjukkan pada asam amino residu Ile559, Val512, Leu365, Gly464, Gly367, Thr560, Ala607, dan Ala366. Hal tersebut menandakan bahwa tempat sisi aktif *native ligand* dan senyawa myricetin berikatan dengan Nrf2 juga sudah sama dan terdapat kemiripan residu asam amino yang terbentuk menunjukkan bahwa ikatan senyawa myricetin hampir sekuat ligan alami.

Myricetin adalah komponen nutrisi penting yang memberikan perlindungan imunologis dan bermanfaat untuk menjaga kesehatan. Senyawa myricetin terdapat pada buah-buahan, sayur-sayuran, teh, dan anggur. Peneliti yang berbeda mengeksplorasi potensi terapeutik seperti antikanker, antidiabetes, antiobesitas, perlindungan kardiovaskular, perlindungan osteoporosis, anti-inflamasi, dan hepatoprotektor (Imran *et al.*, 2021).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Borde *et al.*, (2011) mengungkapkan bahwa pemberian myricetin dengan dosis 100 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB selama 4 minggu dapat memperbaiki hipertensi dan stres oksidatif yang diinduksi oleh DOCA-garam pada tikus. Treatment menggunakan myricetin juga dapat

mengurangi tekanan darah sistolik, perubahan reaktivitas vaskular dan memperbaiki detak jantung pada tikus yang diinduksi oleh DOCA-garam. Selain itu, pemberian myricetin dapat mengurangi kadar zat reaktif asam tiobarbiturat dan meningkatkan kadar SOD, Cat, dan GPx dalam jaringan jantung diamati pada hewan yang diinduksi dengan DOCA-garam. Dengan demikian, myricetin menunjukkan sifat antihipertensi dan antioksidan dalam tikus model hipertensi DOCA-garam. Studi lain menemukan bahwa myricetin dapat mengurangi stres oksidatif dan apoptosis melalui jalur pensinyalan Nrf2 yang memiliki peran penting sebagai protektif untuk ensefalopati hipoksik iskemik (Chen *et al.*, 2023).

Jadi, hasil docking pada senyawa quercetin, kaempferol, rutin, dan morin berpotensi sebagai aktivator Nrf2 karena memiliki ikatan hidrogen yang sama dan memiliki interaksi asam amino yang sama dengan native ligan. Selain itu, pada senyawa luteolin dan myricetin tidak memiliki ikatan hidrogen yang sama, akan tetapi memiliki interaksi asam amino yang sama dengan native ligan. Senyawa luteolin memiliki interaksi asam amino yang sama dengan native ligan pada asam amino residu Ile559, Leu365, Gly603, Leu557, Gly367, Val606, Gly464, Ala366, dan Ala556, sedangkan senyawa myricetin memiliki interaksi asam amino yang sama dengan native ligan pada asam amino residu Leu557, Ala607, Thr560, Gly367, Gly419, Val465, Ala366, Gly417, Gly464, Leu365, Ile416, Ile559, Val606, Val418, Gly558, Ala366, Ala556, dan Val604.

Berdasarkan Tabel 4.7 senyawa morin diprediksi memiliki potensi yang terbaik dari senyawa lainnya dalam mengaktivasi protein Nrf2, namun kemampuan dalam mengaktivasi protein Nrf2 masih lebih tinggi ligan alami. Hal ini dikarenakan pada senyawa morin hanya memiliki satu ikatan hidrogen dengan

sisi aktif Nrf2, memiliki *binding affinity* yang rendah yaitu -10.4, tidak memiliki ikatan unfavourable, dan profil farmakokinetik yang baik. Ikatan hidrogen memiliki pengaruh besar terhadap kestabilan interaksi antara molekul, sehingga semakin banyak jumlah ikatan hidrogen yang terjadi, maka semakin stabil ikatan antara ligan dan reseptor tersebut karena stabilitas struktur suatu protein dipengaruhi oleh ikatan hidrogen (Astuty & Komari, 2022).

Suatu interaksi apabila terdapat ikatan yang bersifat unfavourable, seperti ikatan unfavourable bump dan unfavourable donor-donor akan dapat mempengaruhi kestabilan aktivitas obat maupun ligan yang terikat. Terbentuknya ikatan yang bersifat unfavourable pada kompleks protein ligan dapat mengurangi kestabilan kompleks tersebut karena tipe ikatan ini menunjukkan gaya tolak yang terjadi antara 2 molekul dan atom (Dhorajiwala *et al.*, 2019).

Menurut penelitian Sjakoe *et al.*, (2021) bahwa benalu teh dan benalu mangga memiliki senyawa aktif berupa senyawa flavonoid seperti quercitrin/quercetin 3-rhamnoside, kaempferol, quercetin, isoquercitrin/quercetin 3-glucoside, flavonol 3-OD-glucoside/flavonol glycoside, dan casticin yang memiliki aktivitas sebagai penangkal radikal bebas, antiinflamasi, kardioprotektif, dan sebagai antioksidan.

Hal tersebut selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Husna dkk., (2022) mengatakan bahwa senyawa flavonoid telah dipelajari secara *in vitro* memiliki aktivitas antioksidan terbesar bahkan lebih kuat dari vitamin C dan E, hal ini dikarena pada flavonoid terdapat gugus hidroksil (-OH). Aktivitas antioksidan yang terkandung dalam senyawa ini dapat mencegah kerusakan pada komponen seluler yang timbul sebagai akibat dari reaksi kimia yang melibatkan

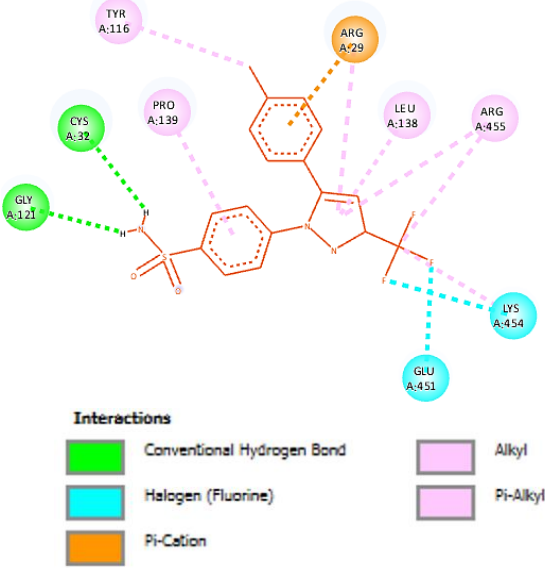
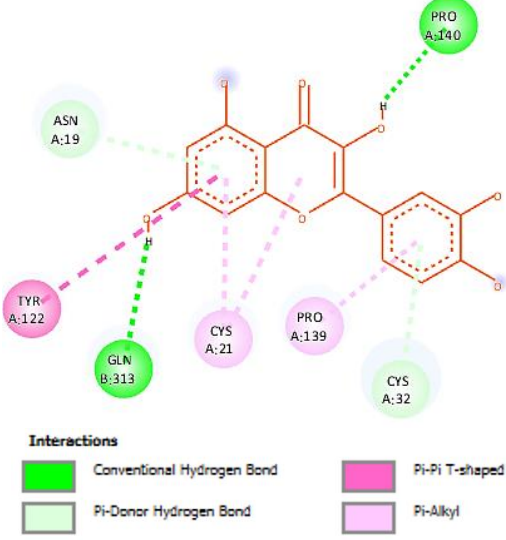
radikal bebas. Radikal bebas bersifat sangat reaktif karena terdapat elektron yang tidak berpasangan pada atom atau molekulnya. Radikal bebas dalam jumlah yang tidak terkendali dapat terjadi kerusakan jaringan normal, peroksidasi lipid dalam membran sel, disfungsi sel endotel pada pembuluh darah, dan peningkatan produksi prostaglandin serta peningkatan stres oksidatif.

Manfaat flavonoid sebagai antioksidan semakin diperkuat oleh Wang *et al.*, (2020) mengatakan bahwa flavonoid mampu meningkatkan potensi antioksidan endogen salah satunya seperti SOD, Cat, dan GPx melalui jalur Nrf2, sehingga *hydrogen peroxide* (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dan *hydroxyl radical* (OH<sup>-</sup>) tidak terbentuk.

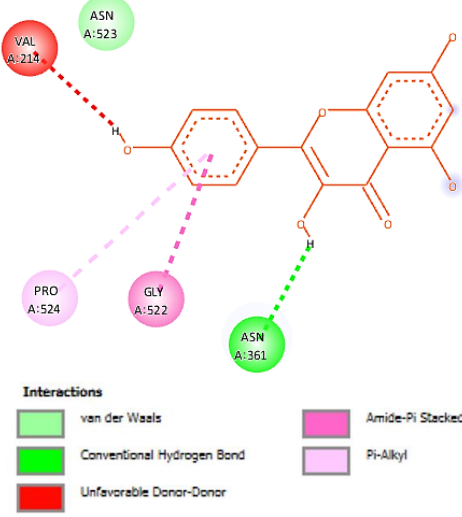
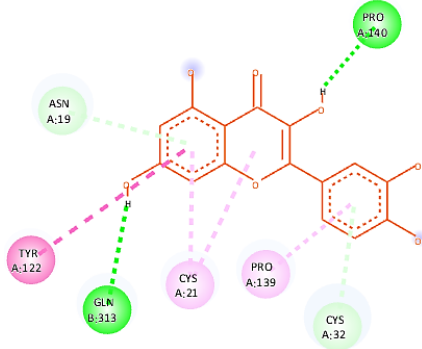
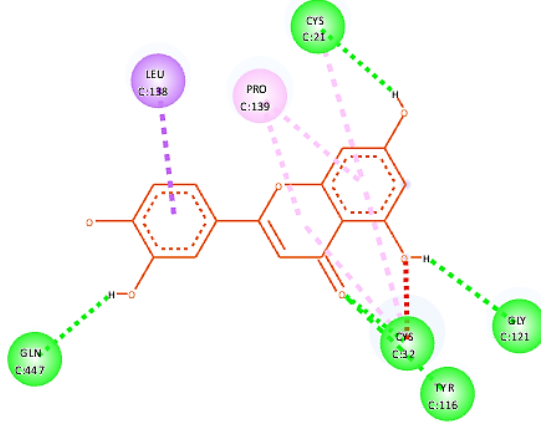
Selain itu, aktivasi Nrf2 merupakan hal penting dalam pengaturan tekanan darah. Hal ini dikarenakan Nrf2 dapat menginduksi ekspresi Heme oxygenase 1 (HO-1), yang memiliki efek penurunan tekanan darah dan mempengaruhi fungsi endotel ketika diregulasi pada tikus hipertensi spontan (Howden, 2013). HO-1 yang diaktifkan oleh Nrf2 juga terlibat dalam produksi karbon monoksida (CO) yang memiliki efek vasodilatasi, menghambat produksi endothelin yang merupakan suatu vasokonstriktor kuat pada tonus pembuluh darah. Selain itu, sejumlah penelitian telah menunjukkan penurunan tekanan darah sebagai respons terhadap peningkatan aktivitas jalur H<sub>2</sub>O/CO pada tikus hipertensi spontan. Hal ini menunjukkan menunjukkan bahwa Nrf2 berperan penting dalam pengaturan tekanan darah selain perannya dalam pertahanan antioksidan (Fasipe *et al.*, 2021).

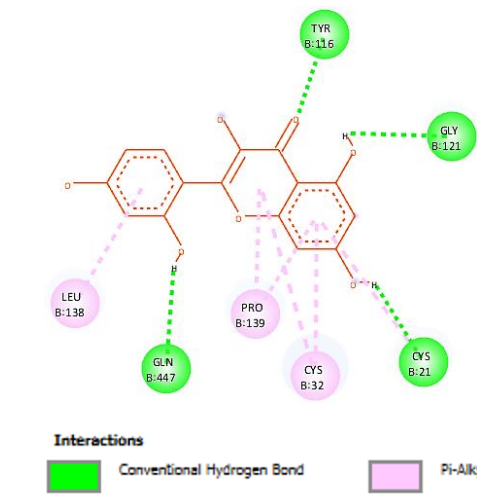
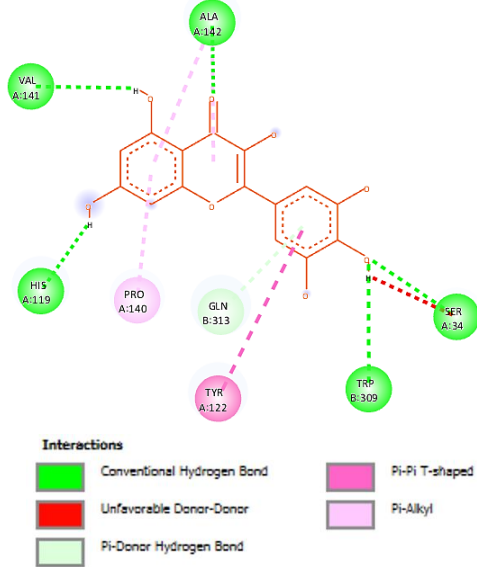
Pengamatan interaksi kimia antara senyawa uji dan protein target COX 2 dengan menggunakan software *Biovia Discovery Studio Visualizer*. Hasil analisa interaksi kimia antara senyawa uji dan protein target COX 2 dapat dilihat pada tabel 4.8

**Tabel 4. 8** Visualisasi 2D interaksi ikatan asam amino pada senyawa uji terhadap reseptor COX 2.

Ligan	Interaksi	Binding Affinity kkal/mol
Ligan Alami	 <p><b>Interactions</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Conventional Hydrogen Bond</li> <li>Halogen (Fluorine)</li> <li>Pi-Cation</li> <li>Alkyl</li> <li>Pi-Alkyl</li> </ul>	-10.0
Quercetin	 <p><b>Interactions</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Conventional Hydrogen Bond</li> <li>Pi-Donor Hydrogen Bond</li> <li>Pi-Pi T-shaped</li> <li>Pi-Alkyl</li> </ul>	-8.5



<p>Kaempferol</p>	 <p><b>Interactions</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>van der Waals</li> <li>Conventional Hydrogen Bond</li> <li>Unfavorable Donor-Donor</li> <li>Amide-Pi Stacked</li> <li>Pi-Alkyl</li> </ul>	<p>-8.2</p>
<p>Rutin</p>	 <p><b>Interactions</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Conventional Hydrogen Bond</li> <li>Pi-Donor Hydrogen Bond</li> <li>Pi-Pi T-shaped</li> <li>Pi-Alkyl</li> </ul>	<p>-9.9</p>
<p>Luteolin</p>	 <p><b>Interactions</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Conventional Hydrogen Bond</li> <li>Unfavorable Acceptor-Acceptor</li> <li>Pi-Sigma</li> <li>Pi-Alkyl</li> </ul>	<p>-9.4</p>

Morin	 <p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Conventional Hydrogen Bond</li> <li>Pi-Alkyl</li> </ul>	-9.2
Myricetin	 <p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Conventional Hydrogen Bond</li> <li>Unfavorable Donor-Donor</li> <li>Pi-Donor Hydrogen Bond</li> <li>Pi-Pi T-shaped</li> <li>Pi-Alkyl</li> </ul>	-8.6

Parameter yang dapat digunakan untuk menganalisa hasil docking diantaranya yaitu RMSD dan *binding affinity* atau energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ). Metode docking dikatakan valid jika memiliki nilai  $RMSD \leq 3 \text{ \AA}$ . Semakin kecil nilai RMSD menunjukkan bahwa penyimpangan kesalahan dalam melakukan docking kecil. Untuk energi bebas ikatan berguna untuk menggambarkan bagaimana pengikatan ligan uji terhadap reseptor. Jika semakin rendah nilai energi bebas ikatannya, maka ikatan ligan dengan reseptor akan semakin stabil,

sehingga ikatan yang terbentuk dan aktivitas penghambatannya maksimal (Mangat *et al.*, 2022).

Hasil docking menunjukkan bahwa ligan alami dan semua senyawa yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperti quercetin, kaempferol, rutin, luteolin, morin, dan myricetin memiliki nilai *binding affinity* berturut-turut -10.0, -8.5, -8.2, -9.9, -9.4, -9.2, dan -8.6 kkal/mol. Suatu ikatan dapat dikatakan kuat apabila nilai *binding affinity* < -7,3 kkal/mol sehingga hal ini dapat disimpulkan bahwa ligan alami memiliki ikatan yang kuat atau ligan mudah berikatan dengan dengan sisi aktif COX 2, tetapi semua senyawa uji memiliki ikatan yang lebih kuat dan berpotensi untuk berikatan dengan sisi aktif COX 2 yang dapat dapat mengkatalisis pembentukan prostaglandin jahat yang menyebabkan pembentukan MDA dan reaksi inflamasi serta berperan penting pada penyakit kardiovaskular termasuk hipertensi, sehingga potensinya dapat dikatakan baik atau kuat dalam menghambat kerja protein COX 2 (Khan *et al.*, 2019).

Kompleks ikatan serta residu asam amino pada interaksi antara senyawa *native ligand* dengan reseptor COX 2 dapat dilihat pada tabel 4. Hasil visualisasi penambatan molekuler senyawa *native ligand* dengan reseptor COX 2 memiliki ikatan hidrogen konvensional, halogen (fluorine), pi-cation, alkyl, dan pi-alkyl. Ikatan hidrogen konvensional terbentuk pada asam amino residu Cys31 dan Gly121. Ikatan halogen (fluorine) terbentuk pada asam amino residu Glu451, dan Lys454. Ikatan alkyl terbentuk pada asam amino residu Lys454. Pi-alkyl terbentuk pada asam amino residu Leu138, Pro139, dan Tyr116.

Kompleks ikatan serta residu asam amino pada interaksi antara senyawa quercetin dengan reseptor COX 2 dapat dilihat pada Tabel 4.8 Senyawa quercetin

berinteraksi dengan COX 2 melalui ikatan hidrogen yang sama dengan yang terjadi pada *native ligand* dengan COX 2, yaitu Cys32. Interaksi asam amino yang sama pada senyawa quercetin dengan native ligan ditunjukkan pada asam amino residu Pro139. Hal tersebut menandakan bahwa tempat sisi aktif *native ligand* dan senyawa quercetin berikatan dengan COX 2 terdapat kemiripan residu asam amino yang terbentuk hampir sekuat ligan alami.

Senyawa rutin berinteraksi dengan COX 2 melalui ikatan hidrogen yang sama dengan yang terjadi pada *native ligand* dengan COX 2, yaitu Cys32. Interaksi asam amino yang sama pada senyawa rutin dengan native ligan ditunjukkan pada asam amino residu Pro139. Hal tersebut menandakan bahwa tempat sisi aktif *native ligand* dan senyawa rutin berikatan dengan COX 2 terdapat kemiripan residu asam amino yang terbentuk hampir sekuat ligan alami.

Senyawa morin berinteraksi dengan COX 2 melalui ikatan hidrogen yang sama dengan yang terjadi pada *native ligand* dengan COX 2, yaitu Gly121. Interaksi asam amino yang sama pada senyawa morin dengan native ligan ditunjukkan pada asam amino residu Pro139, Cys32, Leu138, dan Tyr116. Hal tersebut menandakan bahwa tempat sisi aktif *native ligand* dan senyawa morin berikatan dengan COX 2 terdapat kemiripan residu asam amino yang terbentuk hampir sekuat ligan alami.

Senyawa luteolin berinteraksi dengan COX 2 melalui ikatan hidrogen yang sama dengan yang terjadi pada *native ligand* dengan COX 2, yaitu Gly121, dan Cys32. Interaksi asam amino yang sama pada senyawa luteolin dengan native ligan ditunjukkan pada asam amino residu Pro139, Leu138, dan Tyr116. Hal tersebut menandakan bahwa tempat sisi aktif *native ligand* dan senyawa morin

berikatan dengan COX 2 terdapat kemiripan residu asam amino yang terbentuk hampir sekuat ligan alami.

Senyawa selain quercetin, luteolin, morin, dan rutin yaitu seperti senyawa kaempferol dan myricetin tidak memiliki ikatan hidrogen yang sama dan tidak memiliki interaksi asam amino yang sama dengan native ligan. Senyawa luteolin merupakan senyawa uji yang memiliki potensi besar sebagai inhibitor COX 2 karena memiliki nilai energi bebas rendah, yaitu -9.4 dan memiliki interaksi dengan COX 2 melalui ikatan hidrogen yang sama dengan yang terjadi pada *native ligand* dengan COX 2, yaitu Cys32 dan Gly121 serta profil farmakokinetik yang baik.

Hal ini sesuai dengan peneliti lainnya yang mengatakan bahwa senyawa flavonoid seperti rutin, luteolin, morin, dan quercetin memiliki aktivitas sebagai antikanker kolorektal karena mampu menghambat protein COX 2 serta menginduksi Caspase-3 (Putri dkk., 2019; Suryasaputra dkk., 2019). Penurunan aktivitas COX 2 menurunkan pula kadar MDA (Oktarina dkk., 2021) karena COX 2 berperan penting dalam terbentuknya MDA pada proses peroksidasi enzimatik dengan cara mengkatalis reaksi oksigen dengan berbagai jenis asam lemak tak jenuh menghasilkan biomolekul aktif yang dinamakan endoperoksida (PGG, PGH<sub>2</sub>). Endoperoksida yang dihasilkan ini selanjutnya akan diubah secara enzimatik hingga terbentuk produk akhir berupa MDA yang dijadikan sebagai biomarker peningkatan stres oksidatif. Semakin tinggi kadar MDA serum di dalam tubuh maka peningkatan stres oksidatif juga semakin tinggi (Ayala *et al.*, 2014).

Baru-baru ini penghambatan COX 2 dapat mempengaruhi terjadinya penyakit kardiovaskular. Hal ini ditunjukkan oleh penelitian yang dilakukan oleh Khan *et al.*, (2019) mengatakan bahwa dengan penghambatan COX-1 dikaitkan dengan penurunan tekanan darah pada hipertensi yang diinduksi oleh angiotensin II, sedangkan penghambatan COX 2 ditunjukkan dapat memiliki efek pressor. Efek ini tampaknya bergantung pada status natrium, dosis, dan lama pemakaian, karena penghambatan COX 2 selektif seperti Rofecoxib (2mg/kg/hari) meningkatkan tekanan darah pada tikus SHRSP dan WKY pada diet garam normal dan tinggi, tetapi tidak pada diet garam rendah. Peneliti lainnya juga mengatakan bahwa penghambatan atau penekanan aktivitas COX 2 dapat meningkatkan relaksasi yang diinduksi asetilkolin dalam arteri pada tikus hipertensi yang dipapar DOCA- garam (Wenceslau & Rossoni, 2014).

Hal ini juga didukung oleh peneliti lainnya yang mengatakan bahwa obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) yang dapat mengurangi produksi prostaglandin dengan menghambat COX 2 seperti diclofenac, meloxicam, dan celecoxib secara signifikan dapat meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA jika dibandingkan dengan kelompok pasien dengan penyakit osteoarthritis, dan tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol (Dixit *et al.*, 2020).

## BAB V

### KESIMPULAN

#### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini yaitu:

1. Terdapat pengaruh yang signifikan pada pemberian EBM dan kombinasi EBTBM terhadap kadar SOD dan MDA serum pada tikus hipertensi, treatment terbaik ditunjukkan pada pemberian EBTBM dosis 50mg/kgBB.
2. Pendekatan *in silico* didapatkan hasil:
  - Analisis *molecular docking* terhadap protein Nrf2 didapatkan senyawa morin berpotensi sangat baik karena memiliki nilai *binding affinity* -10,4, memiliki interaksi dengan Nrf2 melalui ikatan hidrogen yang sama dengan yang terjadi pada *native ligand* dan Nrf2, yaitu Val465, tidak memiliki ikatan unfavourable serta profil farmakokinetik yang baik.
  - Analisis *molecular docking* terhadap protein COX 2 didapatkan senyawa luteolin berpotensi sangat baik karena memiliki nilai *binding affinity* -9.4, memiliki interaksi dengan COX 2 melalui ikatan hidrogen yang sama dengan yang terjadi pada *native ligand* dan COX 2, yaitu Cys32 dan Gly121, tidak memiliki ikatan unfavourable serta profil farmakokinetik yang baik.

#### 5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian *treatment* pada tikus hipertensi dengan menggunakan *single compound* (morin) dari ekstrak benalu teh dan benalu mangga dalam meningkatkan kadar SOD.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian *treatment* pada tikus hipertensi dengan menggunakan *single compound* (luteolin) dari ekstrak benalu teh dan benalu mangga dalam menurunkan kadar MDA.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada senyawa metabolit sekunder lainnya selain turunan flavonoid dari ekstrak benalu teh dan benalu mangga sebagai antihipertensi pada uji *in silico*.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah dan Abdurrahman. (2003). *Tafsir Ibnu Katsir* Jilid 6 hal 72 dan 665. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Abdul, A.K., 2016. Kebiasaan Makan dan Gangguan Pola Makan Serta Pengaruhnya Terhadap Status Gizi Remaja. *Publikasi Pendidikan* 6.
- Abdullah, S.S., Putra, P.P., Antasionasti, I., Rundengan, G., Suoth, E.J., Abdullah, R.P.I., Abdullah, F., 2021. Analisis Sifat Fisikokimia, Farmakokinetik dan Toksikologi Pada Pericarpium Pala (*Myristica fragrans*) Secara Artificial Intelligence. *chemprog* 14, 81.
- Abeng, A.T., Rumi, A., Masyita, A.A., 2021. Studi Etnofarmakologi Obat Tradisional Penyakit Darah Tinggi di Kecamatan Torue, Kabupaten Parigi Moutong, Sulawesi Tengah. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal* Vol. 6, 1–9.
- Aini, S.Q., Sjakoe, N.A.A., Mubarakati, N.J., 2021. Kadar Superoksida Dismutase (SOD) Pada Paru-Paru Tikus Hipertensi Doca-Garam Yang Dipapar Ekstrak Metanolik Benalu Teh dan Benalu Mangga. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences* 8, 291–297.
- Anam, K., 2016. Gaya Hidup Sehat Mencegah Penyakit Hipertensi. *Jurnal Langsung* Vol. 3, 6.
- Anggara, F.H.D., Prayitno, N., 2013. Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Tekanan Darah Di Puskesmas Telaga Murni, Cikarang Barat Tahun 2012. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 5, 6.
- Anjani, N. A Abdoes Sjakoe, N. J. Mubarakati, 2021. Studi Subkronik.28 Hari: Uji Toksisitas Ekstrak Metanolik Kombinasi *Scurrula atropurpurea* dan *Dendrophthoe pentandra* terhadap Kerusakan Fungsi Ginjal Tikus Wistar Betina. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAIN TROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)* 6.
- Ardhie, A.M., 2011. Radikal Bebas dan Peran Antioksidan Dalam Mencegah Penuaan. *Medicinus* 24, 6.
- Artanti, N., Firmansyah, T., Darmawan, A., n.d. Bioactivities Evaluation of Indonesian Mistletoes (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) Leaves Extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol 02, 24–27.
- Arwansyah, A., Ambarsari, L., Sumaryada, T.I., 2014. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Curr. Biochem.* 1, 11–19.
- Astuty, P., Komari, N., 2022. Kajian Molecular Docking Senyawa Karwinaphthol B dari Tanaman Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) sebagai Inhibitor Enzim Glukokinase. *J Nat Sci* 2.
- Athiroh, N., Permatasari, N., Sargowo, D., Widodo, M.A., 2014. Effect of *Scurrula atropurpurea* on nitric oxide, endothelial damage, and endothelial progenitor cells of DOCA-salt hypertensive rats. *Iran J Basic Med Sci* 17, 4.
- Athiroh, N., Sulistyowati, E., 2015. Evaluation of Methanolic Extract of *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans Sub-Chronic Exposure on Wistar Rat Liver. *Advances in Environmental Biology* 9, 7.
- Athiroh, N., Wahyuningsih, D., 2017. Study of Superoxide Dismutase and Malondialdehyde Concentrations in Mice After Administration of

- Methanolic Extract of *Scurrula atropurpurea* (Bl.). *J Ked Hewan* 11, 19–22.
- Ayala, A., Muñoz, M.F., Argüelles, S., 2014a. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2014, 1–31.
- Ayala, A., Muñoz, M.F., Argüelles, S., 2014b. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
- Borde, P., Mohan, M., Kasture, S., 2011. Effect of myricetin on deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt-hypertensive rats. *Natural Product Research* 25, 1549–1559.
- Bredo, Odo, N., 2011. Anatomía del Hígado de la Rata Wistar (*Rattus norvegicus*). *Int. J. Morphol.* 29, 76–79.
- Candra, Made, M.S., 2021. Molecular Docking Kaempferol sebagai Antiinflamasi pada Aterosklerosis secara In Silico | Jurnal Ilmiah Medicamento. *Jurnal Ilmiah Medicamento* 7, 13–18.
- Chen, T., Hu, Y., Lu, L., Zhao, Q., Tao, X., Ding, B., Chen, S., Zhu, J., Guo, X., Lin, Z., 2023. Myricetin attenuates hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats via NRF2 signaling pathway. *Front Pharmacol* 14, 1134464.
- Chen, W., Zhong, Y., Feng, N., Guo, Z., Wang, S., Xing, D., 2021. New horizons in the roles and associations of COX 2 and novel natural inhibitors in cardiovascular diseases. *Mol Med* 27, 123.
- Daina, A., Michielin, O., Zoete, V., 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep* 7, 42717.
- Damayanti, S., Khonsa, K., Amelia, T., 2021. Antiviral Activity and Toxicity Prediction of Compounds Contained in Figs (*Ficus carica* L.) by In Silico Method. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 8, 21–33.
- Demando, G., Hamisah, B., Marseli, Z., 2019. Potensi Tanaman Jewawut Sebagai Sumber Karbohidrat Terbarukan dan Bioaktivitasnya Sebagai Anti Hipertensi. *Khazanah Intelektual* 3, 355–370.
- Dhorajiwala, T.M., Halder, S.T., Samant, L., 2019. Comparative in Silico Molecular Docking Analysis of L-Threonine-3-Dehydrogenase, a Protein Target Against African Trypanosomiasis Using Selected Phytochemicals. *Journal of Applied Biotechnology Reports* 6, 101–108.
- Dianti, R.R., Rusdi, R., Evriyani, D., 2017. Kadar Malondialdehid dan Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase Pada Hipertensi dan Normotensi. *BIOMA* 12, 50.
- Dianti, R.Y., Dahlia, A.A., Ahmad, A.R., 2016. Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Ekstrak Etanolik Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia (IJPF)* 1.
- Dixit, A., Pandey, P., Dhasmana, D.C., 2020. In Vivo Effects of Nonselective, Partially Selective, and Selective Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in Patients with Rheumatoid Arthritis: A Clinical Study. *International Journal of Applied and Basic Medical Research* 10, 167.

- Donia, T., Khamis, A., 2021. Management of oxidative stress and inflammation in cardiovascular diseases: mechanisms and challenges. *Environmental Science and Pollution Research* 28. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14109-9>
- Dwi Haryanta, A.S., 2020. Pola Distribusi dan Identifikasi Jenis Benalu pada Tumbuhan Ruang Terbuka Hijau Kota Surabaya. *Journal of Research and Technology* Vol. 4.
- El-Din, H., A. Loutfy, S., Fathy, N., H Elberry, M., M Mayla, A., Kassem, S., Naqvi, A., 2016. Molecular dockingbased screening of compounds against VP40 from Ebola virus. *Bioinformation* 12, 192–196.
- Elinda, T., Wahyuni, W.T., Rohaeti, E., 2019. Deteksi Simultan Kuersetin dan Rutin Menggunakan Screen-Printed Carbon Electrode Termodifikasi Grafena. *Jurnal Kimia Valensi* 5, 97–107.
- Endharti, A., Wahyuningtyas, T.E., Hardini, Handono, K., Widjajanto, E., Permana, S., 2018. Dendrophthoe pentandra Leaves Extract Promotes Apoptotic Effects of Doxorubicin in Human Breast Cancer Cell via Modulation of Intracellular Calcium and Survivin. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 8, 039–043.
- Faiqoh, Z., Baskara, A.A.N.N., Budi, D.S., Putra, P.P., Nitari, W., Solikhah, E.N., 2013. Uji Aktivitas Antiplasmodium Ekstrak Benalu Secara in Vivo Pada Mencit Galur Swiss, in: Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional Program Kreativitas Mahasiswa - Penelitian 2013. Presented at the Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional Program Kreativitas Mahasiswa - Penelitian 2013, Indonesian Ministry of Research, Technology and Higher Education.
- Fasipe, B., Li, S., Laher, I., 2021. Harnessing the cardiovascular benefits of exercise: Are Nrf2 activators useful? *Sports Medicine and Health Science* 3, 70–79.
- Ferron, F.V., Ferron, A.J.T., Garcia, J.L., Silva, C.C.V. de A., Costa, M.R., Gregolin, C.S., Moreto, F., Ferreira, A.L.A., Minatel, I.O., Correa, C.R., 2019. Basic Concepts on the Role of Nuclear Factor Erythroid-Derived 2-Like 2 (Nrf2) in Age-Related Diseases. *IJMS* 20, 3208.
- Fitri, D.R., 2015. Diagnose Enforcement and Treatment of High Blood Pressure. *J Majority* 4.
- Fitrilia, T., Bintang, M., Safithri, M., 2015. Phytochemical screening and antioxidant activity of clove mistletoe leaf extracts (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq). *IOSR Journal of Pharmacy* 5.
- Ganga, Prem P. G., S. Reddy Nvl, 2019. Antihypertensive Effect of Rutin: Pharmacological and Computational Approach. *Asian J Pharm Clin Res* 12, 87–92.
- Hähnke, V.D., Kim, S., Bolton, E.E., 2018. PubChem Chemical Structure Standardization. *J Cheminform* 10, 36.
- Hardjono, S., 2013. Sintesis dan Uji Aktivitas Antikanker Senyawa 1-(2-Klorobenzoiloksi) Urea dan 1-(4-Klorobenzoiloksi) Urea. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi* 2, 6.
- Hasan, M.M., Uddin, N., Hasan, M.R., Islam, A.F.M.M., Hossain, M.M., Rahman, A.B., Hossain, M.S., Chowdhury, I.A., Rana, M.S., 2014. Analgesic and anti-inflammatory activities of leaf extract of *Mallotus repandus* (Willd.) Muell. Arg. *Biomed Res Int* 539807.

- Hasni, D., Nanda, S.O.D., Paf, T.P., 2021. Penilaian Asupan Makronutrient, Natrium, dan Kalium pada Pasien Hipertensi di Puskesmas Pajar Bulan. *Jurnal Kesehatan* Vol 14, 110–117.
- Hatai, B., Banerjee, S.K., 2019. Molecular docking interaction between superoxide dismutase (receptor) and phytochemicals (ligand) from *Heliotropium indicum* Linn for detection of potential phytoconstituents: New drug design for releasing oxidative stress condition/inflammation of osteoarthritis patients. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 8, 1700–1706.
- Hebert, A., Bishop, M., Bhattacharyya, D., Gleason, K., Torosian, S., 2015. Assessment by Ames test and comet assay of toxicity potential of polymer used to develop field-capable rapid-detection device to analyze environmental samples. *Appl Nanosci* 5, 763–769.
- Hikmah, U., Athiroh, N., Santoso, H., 2017. Kajian Subkronik Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans terhadap Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase Tikus Wistar Betina. *Jurnal Biosaintropis (Bioscience-Tropic)* Vol 2, 6.
- Howden, R., 2013. Nrf2 and Cardiovascular Defense. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2013, 1–10.
- Husna, P.A.U., Kairupan, C.F., Lintong, P.M., 2022. Tinjauan Mengenai Manfaat Flavonoid pada Tumbuhan Obat Sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *eBiomedik* 10, 76–83.
- Hussain, Y., Khan, H., Alsharif, K.F., Hayat Khan, A., Aschner, M., Saso, L., 2022. The Therapeutic Potential of Kaemferol and Other Naturally Occurring Polyphenols Might Be Modulated by Nrf2-ARE Signaling Pathway: Current Status and Future Direction. *Molecules* 27, 4145.
- Ikechukwu, J., Ifeanyichukwu, J., Ada, O., John, I., 2012. Conventional Grade Outbred Albino Mice (*Mus musculus*) in Nsukka, Eastern Nigeria. *Animal Research International* 9, 12.
- Imran, M., Saeed, F., Hussain, G., Imran, A., Mehmood, Z., Gondal, T.A., El-Ghorab, A., Ahmad, I., Pezzani, R., Arshad, M.U., Bacha, U., Shariarti, M.A., Rauf, A., Muhammad, N., Shah, Z.A., Zengin, G., Islam, S., 2021. Myricetin: A comprehensive review on its biological potentials. *Food Science & Nutrition* 9, 5854–5868.
- Islam, R.T., Hossain, M.M., Majumder, K., Tipu, A.H., 2016. In vitro Phytochemical Investigation of *Helianthus annuus* Seeds. *Bangla Pharma J* 19, 100–105.
- Jiang, S.-Z., Lu, W., Zong, X.-F., Ruan, H.-Y., Liu, Y., 2016. Obesity and hypertension. *Journal of Public Health* 12, 2395–2399.
- Kadir, A., 2018. Hubungan Patofisiologi Hipertensi dan Hipertensi Renal. *Jurnal Ilmiah Kedokteran* 5, 15–25.
- Kamal, S.M., 2013. Possible hepatoprotective effects of lacidipine in irradiated DOCA-salt hypertensive albino rats. *Pak J Biol Sci* 16, 1353–1357.
- Kamilatussaniah, K., Yuniastuti, A., Iswari, R.S., 2015. Pengaruh Suplementasi Madu Kelengkeng Terhadap Kadar Tsa dan Mda Tikus Putih yang Diinduksi Timbal (Pb). *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences* 38, 108–114.

- Kesuma, D., Siswandono, S., Purwanto, B.T., Hardjono, S., 2018. Uji in silico Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'-feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *J. Pharm. Sci. Clin. Res.* 3, 1.
- Khaki, A., Azad, F.F., Nouri, M., Khaki, A.A., 2011. Effects of basil, *Ocimum basilicum* on spermatogenesis in rats. *Journal of Medicinal Plants Research* 5, 4601–4604.
- Khan, S., Andrews, K.L., Chin-Dusting, J.P.F., 2019. Cyclo-Oxygenase (COX) Inhibitors and Cardiovascular Risk: Are Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs Really Anti-Inflammatory? *IJMS* 20, 4262.
- Kizil, H.E., Caglayan, C., Darendelioğlu, E., Ayna, A., Gür, C., Kandemir, F.M., Küçükler, S., 2022. Hepatoprotective effect of morin against methotrexate-induced hepatotoxicity via targeting Nrf2/HO-1 and Bax/Bcl2/Caspase-3 signaling pathways (preprint). In Review.
- Kurniasih, N., Kusmiyati, M., Sari, R.P., Wafdan, R., 2015. Potensi Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn), Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis), dan Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) Sebagai Antioksidan Pencegah Kanker. *Jurnal Istek* Vol 9.
- Lee, M.H., Han, M.H., Lee, D.-S., Park, C., Hong, S.-H., Kim, G.-Y., Hong, S.H., Song, K.S., Choi, I.-W., Cha, H.-J., Choi, Y.H., 2017. Morin exerts cytoprotective effects against oxidative stress in C2C12 myoblasts via the upregulation of Nrf2-dependent HO-1 expression and the activation of the ERK pathway. *Int J Mol Med* 39, 399–406.
- Lekal, J.A., Watuguly, T., 2017. Analisis Kandungan Flavonoid Pada Teh Benalu (*Dendropohtoe pentandra* (L.) Miq.). *Biopendix: Jurnal Biologi, Pendidikan dan Terapan* 3, 154–158.
- Lestari, Sjakoe, Mubarakati, 2023. Pengaruh Ekstrak Benalu Mangga Terhadap Kadar Malondealdehid (MDA) pada Tikus Hipertensi yang Dipapar DOCA- Garam | *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)* 8.
- Lestari, T., Athiroh, N., Mubarakati, N., 2020. Uji Toksisitas Ekstrak Metanolik Kombinasi Daun Benalu Teh Dan Daun Benalu Mangga Terhadap Profil Lipid Tikus Betina (*Rattus norvegicus*) pada Paparan Sub-Kronik 28 Hari. *Jurnal SAINS ALAMI (Known Nature)* 3, 22–28.
- Li, Z., Han, P., You, Z.-H., Li, X., Zhang, Y., Yu, H., Nie, R., Chen, X., 2017. In silico prediction of drug-target interaction networks based on drug chemical structure and protein sequences. *Scientific Reports* 7, 11174.
- Maftucha, N., Manalu, R., Amelia, R., Cordia, P., Bupu, R., 2022. Potensi Senyawa Turunan Xanton dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Inhibitor Protein Mycobacterium tuberculosis: Studi In Silico. *Pharmaceutical Journal of Indonesia* 7, 123–128.
- Mangat, H.K., Rani, M., Pathak, R.K., Yadav, I.S., Utreja, D., Chhuneja, P.K., Chhuneja, P., 2022. Virtual screening, molecular dynamics and binding energy-MM-PBSA studies of natural compounds to identify potential EcR inhibitors against Bemisia tabaci Gennadius. *PLoS ONE* 17, e0261545.
- Moi, P., Chan, K., Asunis, I., Cao, A., Kan, Y.W., 1994. Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91, 9926–9930.

- Muchtaridi, M., Dermawan, D., Yusuf, M., 2018. Molecular Docking, 3D Structure-Based Pharmacophore Modeling, and ADME Prediction of Alpha Mangostin and Its Derivatives against Estrogen Receptor Alpha. *JYP* 10, 252–259. <https://doi.org/10.5530/jyp.2018.10.58>
- Muchtaromah, B., Habibie, S., Ma'arif, B., Ramadhan, R., Savitri, E.S., Maghfuroh, Z., 2021. Comparative analysis of phytochemicals and antioxidant activity of ethanol extract of *Centella asiatica* leaves and its nanoparticle form. *Tropical Journal of Natural Product Research* 5, 465–469.
- Murphy, K.J., Chronopoulos, A.K., Singh, I., Francis, M.A., Moriarty, H., Pike, M.J., Turner, A.H., Mann, N.J., Sinclair, A.J., 2003. Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (*Theobroma cacao*) inhibit platelet function. *The American Journal of Clinical Nutrition* 77, 1466–1473.
- Nugroho, S.W., Fauziyah, K.R., Sajuthi, D., Darusman, H.S., 2018. Profil Tekanan Darah Normal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar dan Sprague-Dawley. *Acta Veterinaria Indonesiana* 6, 32–37.
- Nurfaat, D.L., 2016. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*) Terhadap Mencit Swiss Webster. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 3, 53–65.
- Nurihardiyanti, N., Yuliet, Y., Ihwan, I., 2015. Aktivitas Diuretik Kombinasi Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L) dan Biji Salak (*Salacca zalacca* varietas zalacca (Gaert.) Voss) pada TIKUS JANTAN GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus* L). *JFG* 1, 105–112.
- Nusantoro, Y.R., Fadlan, A., 2020. Analisis Sifat Mirip Obat, Prediksi ADMET, dan Penambatan Molekular Isatinil-2-Aminobenzoilhidrazon dan kompleks logam transisi Co (II), Ni (II), Cu (II), Zn (II) Terhadap BCL2-XL. *Akta Kimia Indonesia* 5, 114–126.
- Oktarina, D.R., Susilawati, Y., Halimah, E., 2021. The Potential of *Phyllanthus* Genus Plants as Immunomodulatory and Anti Inflammatory. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy* 1.
- Oktaviana, N.A., Sjakoe, N.A.A., Mubarakati, N.J., 2021. Effect of Mistletoe (Tea and Mango) Extract Combination on Histopathological Profile of Brain in Hypertensive Rats Treated with Deoxycorticosterone Acetate (DOCA)-Salt. *Biota: Biologi dan Pendidikan Biologi* 14, 21–33.
- Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R., 2016. Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci* 5, e47.
- Perdhana, I.S., Suzana, D., No, J.M.R., Barat, J., 2019. Peran Kuersetin Terhadap Ekspresi Nrf2 Pada Stres Oksidatif Akibat Penyakit Ginjal Kronik. *Jurnal Ilmiah Informatika Kedokteran* 2.
- Permatasari, S.N., Umarudin, 2019. Determinasi dan Analisa Proksimat Daun Benalu pada Pohon Mangga Arum Manis di Ketintang Madya Surabaya. *Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science)* 4, 77–83. <https://doi.org/10.53342/pharmasci.v4i2.140>
- Pestana, N., Nahey, D., Johnson, T., Collister, J., 2020. Development of the Deoxycorticosterone Acetate (DOCA)-salt Hypertensive Rat Model. *BIO-PROTOCOL* 10.
- Plaza, C.M., L. E. Díaz de Torres, R. K. Lücking, M. Vizcaya, Gerardo E. Medina, 2014. Antioxidant activity, total phenols and flavonoids of lichens

- from Venezuelan Andes. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research* 2, 11.
- Prahalathan, P., Kumar, S., Raja, B., 2012. Effect of morin, a flavonoid against DOCA-salt hypertensive rats: a dose dependent study. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2, 443–448.
- Pratama, A.N., Busman, H., 2020. Potensi Antioksidan Kedelai (*Glycine Max L*) Terhadap Penangkapan Radikal Bebas. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada* 9, 497–504.
- Putri, P.V.P., Susanti, N.M.P., Laksmiani, N.P.L., 2019. Senyawa Kuersetin Sebagai Agen Antikanker Kolorektal Secara *In Silico*. *JCHEM* 166.
- Putri, S.D., 2020. Quersetin Pada Benalu Teh Sebagai Terapi Hipertensi. *Medical Profession Journal of Lampung* 10, 307–311.
- Rahmi, H., 2017. Review: Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Sumber Buah-buahan di Indonesia. *Jurnal Agrotek Indonesia (Indonesian Journal of Agrotech)* 2.
- Rao, R.S.P., Moller, I.M., 2011. Pattern of occurrence and occupancy of carbonylation sites in proteins. *Proteomics* 11, 4166–4173.
- Rastini, M.B.O., Giantari, N.K.M., Adnyani, K.D., Laksmiani, N.P.L., 2019. Molecular Docking Aktivitas Antikanker Dari Kuersetin Terhadap Kanker Payudara Secara *In Silico*. *JCHEM* 180.
- Roikhana, A., Sjakoe, N.A.A., Mubarakati, N.J., 2022. Pengaruh ekstrak metanolik kombinasi benalu teh dan benalu mangga terhadap histopatologi hepar tikus model hipertensi (DOCA-Garam). *JBIOUNUD* 26, 132.
- Sang, L., Wang, X.-M., Xu, D.-Y., Sang, L.-X., Han, Y., Jiang, L.-Y., 2017. Morin enhances hepatic Nrf2 expression in a liver fibrosis rat model. *World J Gastroenterol* 23, 8334–8344.
- Sangeetha, K.S.S., Umamaheswari, S., Reddy, C.U.M., Kalkura, S.N., 2016. Flavonoids: Therapeutic Potential of Natural Pharmacological Agents. *IJPSR* 7, 6.
- Saputri, K.E., Fakhmi, N., Kusumaningtyas, E., Priyatama, D., Santoso, B., 2016. Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon Sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase Dengan Autodock-Vina. *Chimica et Natura Acta* 4, 16–20.
- Saxena, M., Jyoti, S., Nema, R., Dharmendra, S., Abhishek, G., 2013. Phytochemistry of Medicinal Plants. *J Pharm Phytochem* 1, 168–182.
- Seleem, D., Pardi, V., Murata, R.M., 2017. Review of flavonoids: A diverse group of natural compounds with anti-Candida albicans activity in vitro. *Archives of Oral Biology* 76, 76–83.
- Sembiring, H.Br., Lenny, S., Marpaung, L., 2016. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoida dari Daun Benalu Kakao (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.). *Chim. Nat. Acta* 4, 117.
- Setiawan, F.F., Istyastono, E.P., 2015. Uji *In Silico* Senyawa 2,6-Dihidroksiantraquinon Sebagai Ligan Pada Reseptor Estrogen Alfa. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas* 12, 4.
- Setiawan, H., Irawan, M.I., 2017. Kajian Pendekatan Penempatan Ligan Pada Protein Menggunakan Algoritma Genetika. *JSSITS* 6, A68–A72.
- Shofia, V., Aulanni'am, A., Mahdi, C., 2013. Studi Pemberian Ekstrak Rumpun Laut Coklat (*Sargassum prismaticum*) Terhadap Kadar Malondialdehid

- dan Gambaran Histologi Jaringan Ginjal Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes Melitus Tipe 1. *Jurnal Ilmu Kimia Universitas Brawijaya* 1, 119–125.
- Singh, Z., Karthigesu, I.P., Singh, P., Kaur, R., 2014. Use of Malondialdehyde as a Biomarker for Assessing Oxidative Stress in Different Disease Pathologies: a Review. *Iranian Journal of Public Health* 43, 7–16.
- Siswodihardjo, S., Widiandani, T., Hardjono, S., 2017. Docking and Cytotoxicity Test on Human Breast Cancer Cell Line (T47d) of N-(Allylcarbamothioyl)-3-chlorobenzamide and N-(Allylcarbamothioyl)-3, 4-dichlorobenzamide. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 8, 1909–1914.
- Siti, H.N., Jalil, J., Asmadi, A.Y., Kamisah, Y., 2020. Roles of rutin in cardiac remodeling. *Journal of Functional Foods* 64, 103606.
- Situmorang, N., Zulham, Z., 2020. Malondialdehyde (MDA) (Zat Oksidan yang Mempercepat Proses Penuaan). *Jurnal Keperawatan dan Fisioterapi (JKF)* 2, 117–123.
- Sjakoer, A.N.A., Sulistyowati, E., 2013. *Scurrula atropurpurea* increases nitric oxide and decreases malondialdehyde in hypertensive rats. *Universa Medicina* 32, 7.
- Sjakoer, N., Permatasari, N., 2012. Mekanisme Kerja Benalu Teh pada Pembuluh Darah. *JKB* 27, 1–7.
- Sjakoer, N.A.A., Mubarakati, N.J., Taufiq, A., 2021. Investigation of Excellent ACE Inhibitor Agents from *Scurrula atropurpurea* and *Dendrophthoe pentandra* for Anti-Hypertension. *CMUJNS* 20.
- Sjakoer, N.A.A., Permatasari, N., 2011. Mekanisme Deoxycorticosterone Acetate (DOCA)-Garam Terhadap Peningkatan Tekanan Darah pada Hewan Coba. *El-Hayah* Vol. 1, 16.
- Sliwoski, G., Kothiwale, S., Meiler, J., Lowe, E.W., 2014. Computational Methods in Drug Discovery. *Pharmacol Rev* 66, 334–395.
- Spirlandeli, A.L., Deminice, R., Jordao, A.A., 2014. Plasma Malondialdehyde as Biomarker of Lipid Peroxidation: Effects of Acute Exercise. *Int J Sports Med* 35, 14–18.
- Sundari, L., 2015. Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Hipertensi. *Jurnal Keperawatan* Volume XI, 8.
- Suroyya, M., Sjakoer, N.A.A., Mubarakati, N.J., 2021. Role of Superoxide Dismutases (SODs) in Hypertensive Rats After Administration of Mango Mistletoe Methanolic Extract. *Journal of Smart Bioprospecting and Technology (JSMARTech)* VOL 02, 4.
- Suryasaputra, D., Anugrah, R., Ikhsan, A., Rismaya, R., 2019. Studi Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas, Molecular Docking dan Evaluasi In Vitro Beberapa Flavonoid Tanaman Sebagai COX 2 Inhibitor. *Farma sains: Jurnal Ilmiah Ilmu Kefarmasian* 6, 27–33.
- Syahputra, G., Ambarsari, L., Sumaryada, T., 2014. Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksi kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika* 10, 55–67.
- Sylvestris, A., 2014. Hipertensi dan Retinopati Hipertensi. *Jurnal Saintika Medika* 10, 1–9.



- Tain, Y.-L., Hsu, C.-N., 2022. Oxidative Stress-Induced Hypertension of Developmental Origins: Preventive Aspects of Antioxidant Therapy. *Antioxidants* 11, 511.
- Tanase, D.M., Apostol, A.G., Costea, C.F., Tarniceriu, C.C., Tudorancea, I., Maranduca, M.A., Floria, M., Serban, I.L., 2022. Oxidative Stress in Arterial Hypertension (HTN): The Nuclear Factor Erythroid Factor 2-Related Factor 2 (Nrf2) Pathway, Implications and Future Perspectives. *Pharmaceutics* 14, 534.
- Wahyuningrum, M.R., Probosari, E., 2012. Pengaruh Pemberian Buah Pepaya (*Carica Papaya* L.) Terhadap Kadar Trigliserida Pada Tikus Sprague Dawley dengan Hiperkolesterolemia. *J. NutriColl* 1, 192–198.
- Wang, J., Bian, Y., Cheng, Y., Sun, R., Li, G., 2020. Effect of lemon peel flavonoids on UVB-induced skin damage in mice. *RSC Adv.* 10, 31470–31478.
- Wang, T., Li, Q., Bi, K., 2018. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* 13, 12–23.
- Wenceslau, C.F., Rossoni, L.V., 2014. Rostafuroxin ameliorates endothelial dysfunction and oxidative stress in resistance arteries from deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats: the role of Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPase/ cSRC pathway. *Journal of Hypertension* 32, 542–554.
- Weng, S., Sprague, J.E., Oh, J., Riek, A.E., Chin, K., Garcia, M., Bernal-Mizrachi, C., 2013. Vitamin D Deficiency Induces High Blood Pressure and Accelerates Atherosclerosis in Mice. *PLOS ONE* 8, e54625.
- Werdhasari, A., 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia* 3, 10.
- Wicaksono, M.H.B., Permana, S., 2013. Potensi Fraksi Etanol Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) Sebagai Agen Anti Kanker Kolon pada Mencit (*Mus musculus* Balb/c) Setelah Induksi Dextran Sulvat (DSS) dan Azoxymethane (AOM). *Biotropika: Journal of Tropical Biology* 1, 75–79.
- Widiasari, S., 2018. Mekanisme Inhibisi Angiotensin Converting Enzym Oleh Flavonoid Pada Hipertensi. *Collaborative Medical Journal (CMJ)* 1, 30–44.
- Xu, J., Chen, X., Ge, Z., Liang, H., Yan, L., Guo, X., Zhang, Y., Wang, L., Ma, J., 2017. Associations of Usual 24-Hour Sodium and Potassium Intakes with Blood Pressure and Risk of Hypertension among Adults in China's Shandong and Jiangsu Provinces. *KBR* 42, 188–200.
- Yang, Y., Wang, Y., Wang, T., Jiang, X., Wang, L., 2017. Screening active components of modified Xiaoyao powder as NRF2 agonists. *Cell Biochem Funct* 35, 518–526.
- Yonata, A., Pratama, A.S.P., 2016. Hipertensi sebagai Faktor Pencetus Terjadinya Stroke. *Majority* Vol 5, 5.
- Zainuddin, N.A.S., ain, M., 2015. Phytochemical Analysis, Toxicity and Cytotoxicity Evaluation of *Dendrophthoe Pentandra* Leaves Extracts. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 6, 108–116.
- Zhiwei, 2022. Rutin protects against cyclophosphamide induced immunological stress by inhibiting TLR4-NF-κB-mediated inflammation and activating

the Nrf2- mediated antioxidant responses. *Pharmacological research* v. 4, 100135-.

Ziraluo, Y.P.B., 2020. Tanaman Obat Keluarga Dalam Perspektif Masyarakat Transisi (Studi Etnografis pada Masyarakat Desa Bawodobara). *JIP* 1, 99–106.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Analisis SPSS

#### 1. ANALISIS SPSS PADA SOD DAN MDA SERUM

##### Uji Normalitas

##### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SOD Serum	MDA Serum
N		40	40
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	15.2695	511.9728
	Std. Deviation	.86711	137.46976
Most Extreme Differences	Absolute	.147	.149
	Positive	.067	.149
	Negative	-.147	-.097
Kolmogorov-Smirnov Z		.933	.941
Asymp. Sig. (2-tailed)		.349	.339

a. Test distribution is Normal.

##### Uji Homogenitas

##### Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
SOD Serum	1.676	7	32	.150
MDA Serum	1.589	7	32	.174

##### Uji One Way Anova

##### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
SOD Serum	Between Groups	23.864	7	3.409	19.984	.000
	Within Groups	5.459	32	.171		
	Total	29.324	39			
MDA Serum	Between Groups	678697.381	7	96956.769	53.198	.000
	Within Groups	58322.087	32	1822.565		
	Total	737019.468	39			

### Uji DMRT pada SOD serum

#### SOD Serum

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
K+ (Hipertensi)	5	13.6900				
P3 (BM 200)	5		14.9340			
K- (Normal)	5		15.0440	15.0440		
P1 (BM 50)	5		15.1560	15.1560		
P2 (BM 100)	5		15.2880	15.2880		
P5 (BTBM 100)	5			15.5340	15.5340	
P6 (BTBM 200)	5				16.0440	16.0440
P4 (BTBM 50)	5					16.4660
Sig.		1.000	.226	.095	.060	.116

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

### Uji DMRT pada SOD serum

#### MDA Serum

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
P4 (BTBM 50)	5	360.8900				
P5 (BTBM 100)	5	375.1120				
P2 (BM 100)	5		458.4440			
P3 (BM 200)	5		486.8900	486.8900		
P1 (BM 50)	5		498.4460	498.4460		
P6 (BTBM 200)	5			533.1120	533.1120	
K- (Normal)	5				578.2220	
K+ (Hipertensi)	5					804.6660
Sig.		.602	.171	.115	.105	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

**Lampiran 2.** Berat badan (BB) tikus pada minggu ke 1-3

<b>Kelompok</b>	<b>Kode tikus</b>	<b>BB Tikus Minggu ke-1</b>	<b>BB Tikus Minggu ke-2</b>	<b>BB Tikus Minggu ke-3</b>
<b>K-</b>	T.1	112	185	209
	T.2	98	137	145
	T.3	123	170	179
	T.4	119	140	142
	T.5	132	175	183
<b>K+</b>	T.1	134	185	207
	T.2	131	224	249
	T.3	115	164	174
	T.4	124	180	202
	T.5	128	196	230
<b>P1</b>	T.1	107	170	198
	T.2	113	143	151
	T.3	130	174	193
	T.4	120	192	213
	T.5	115	160	181
<b>P2</b>	T.1	125	168	165
	T.2	125	184	201
	T.3	124	159	168
	T.4	122	156	160
	T.5	130	165	184
<b>P3</b>	T.1	127	176	181
	T.2	119	170	179
	T.3	127	160	178
	T.4	125	179	195
	T.5	125	168	185
<b>P4</b>	T.1	119	130	181
	T.2	120	166	178
	T.3	109	166	177
	T.4	104	139	201

	T.5	109	170	211
P5	T.1	128	155	187
	T.2	92	154	178
	T.3	103	154	175
	T.4	105	136	154
	T.5	120	180	198
P6	T.1	113	142	153
	T.2	95	177	213
	T.3	110	134	135
	T.4	116	129	155
	T.5	105	160	188

**Lampiran 3.** Berat (gram) pakan tikus per hari (pagi dan sore)

Perlakuan	Kode Tikus	Berat (gram) Pakan Tikus	
		Pagi	Sore
K-	T.1	7	7
	T.2	7	7
	T.3	7	7
	T.4	7	7
	T.5	7	7
K+	T.1	7	7
	T.2	7	7
	T.3	7	7
	T.4	7	7
	T.5	7	7
P1	T.1	7	7
	T.2	7	7
	T.3	7	7
	T.4	7	7
	T.5	7	7
P2	T.1	7	7
	T.2	7	7

	T.3	7	7
	T.4	7	7
	T.5	7	7
P3	T.1	7	7
	T.2	7	7
	T.3	7	7
	T.4	7	7
	T.5	7	7
P4	T.1	7	7
	T.2	7	7
	T.3	7	7
	T.4	7	7
	T.5	7	7
P5	T.1	7	7
	T.2	7	7
	T.3	7	7
	T.4	7	7
	T.5	7	7
P6	T.1	7	7
	T.2	7	7
	T.3	7	7
	T.4	7	7
	T.5	7	7

**Lampiran 4.** Kebutuhan air minum (ml) tikus per hari (pagi dan sore)

Perlakuan	Kode Tikus	Air Minum (ml) Tikus	
		Pagi	Sore
K-	T.1	25	25
	T.2	25	25
	T.3	25	25
	T.4	25	25
	T.5	25	25

K+	T.1	25	25
	T.2	25	25
	T.3	25	25
	T.4	25	25
	T.5	25	25
P1	T.1	25	25
	T.2	25	25
	T.3	25	25
	T.4	25	25
	T.5	25	25
P2	T.1	25	25
	T.2	25	25
	T.3	25	25
	T.4	25	25
	T.5	25	25
P3	T.1	25	25
	T.2	25	25
	T.3	25	25
	T.4	25	25
	T.5	25	25
P4	T.1	25	25
	T.2	25	25
	T.3	25	25
	T.4	25	25
	T.5	25	25
P5	T.1	25	25
	T.2	25	25
	T.3	25	25
	T.4	25	25
	T.5	25	25
P6	T.1	25	25



	T.2	25	25
	T.3	25	25
	T.4	25	25
	T.5	25	25

### Lampiran 5. Perhitungan dosis DOCA

#### a) Perhitungan Dosis DOCA

$$\text{Ulangan } n = \frac{\text{Berat badan tikus}}{1000} \times 15 \text{ mg}$$

$$\text{Ulangan ke } - n = \frac{\text{Berat badan tikus}}{1000} \times 15 \text{ mg}$$

$\Sigma$  = jumlah total hasil perhitungan dosis DOCA pada semua ulangan, kemudian dihitung reratanya. Kemudian dilarutkan dalam minyak jagung (injeksi secara sub-cutane volume 0.5 cc) dengan perhitungan volume minyak jagung sebagai berikut :

#### b) Perhitungan Volume Minyak Jagung

$$\text{Ulangan 1} = \frac{\left( \frac{\text{Berat badan tikus}}{1000} \times 15 \text{ mg} \right)}{\text{Rata - rata perhitungan dosis DOCA}} \times 0.5 \text{ cc}$$

$$\text{Ulangan ke } - n = \frac{\left( \frac{\text{Berat badan tikus}}{1000} \times 15 \text{ mg} \right)}{\text{Rata - rata perhitungan dosis DOCA}} \times 0.5 \text{ cc}$$

$\Sigma$  = jumlah hasil total perhitungan dosis minyak jagung pada semua ulangan.

**Contoh** : Perhitungan pada tikus kelompok Kontrol + ) dengan berat badan tikus (gram) : 185 gram, 224 gram, 164 gram, 180 gram, 196 gram untuk 1x injeksi:

$$1. \frac{185}{1000} \times 15 = 2,78$$

$$2. \frac{224}{1000} \times 15 = 3,36$$

$$3. \frac{164}{1000} \times 15 = 2,46$$

$$4. \frac{180}{1000} \times 15 = 2,7$$

$$5. \frac{196}{1000} \times 15 = 2,94$$

$$\text{Jumlah} = 14,24$$

$$\text{Rerata} = 2,85$$

Perhitungan Volume Pelarut Minyak Jagung untuk 1x injeksi:

$$1. VP = \frac{2,78}{2,85} \times 0,5 = 0,49$$

$$2. VP = \frac{3,36}{2,85} \times 0,5 = 0,59$$

$$3. VP = \frac{2,46}{2,85} \times 0,5 = 0,43$$

$$4. VP = \frac{2,7}{2,85} \times 0,5 = 0,47$$

$$5. VP = \frac{2,46}{2,85} \times 0,5 = 0,52$$

$$\text{Jumlah} = 2,5 \text{ cc}$$

**Lampiran 6.** Perhitungan NaCl untuk minum dan sonde

a) Perhitungan pembuatan NaCl untuk Air Minum

$$200 \text{ mg} / 50 \text{ cc} / \text{ tikus} / \text{ hari}$$

Sehingga, cara penghitungannya sebagai berikut, jika untuk 40 ekor maka:

$$200 \text{ mg} \times 40 \text{ ekor} = 8.000 \text{ mg} \text{ ----- } 50 \text{ cc} \times 40 \text{ ekor} = 2.000 \text{ cc/hari}$$

Karena perlakuan diberikan selama 28 hari maka:

$$8.000 \text{ mg} \times 28 \text{ hari} = 224.000 \text{ mg} \text{ ----- } 2.000 \text{ cc} \times 28 \text{ hari} = 56.000 \text{ cc}$$

Jadi, pemberian NaCl untuk air minum pada tikus dalam 28 hari membutuhkan:

$$\text{Berat zat terlarut (NaCl)} \quad : 224.000 \text{ mg NaCl}$$

$$\text{Volume pelarut (akuades)} \quad : 56.000 \text{ cc air}$$

b) Perhitungan pembuatan NaCl untuk Penyondean

Penyondean dilakukan 2x sehari yaitu pagi dan sore, karena penyondean memerlukan 2 cc/sonde maka dibutuhkan 4 cc/hari.

Sehingga, perhitungan untuk 24 ekor tikus sebagai berikut:

$$800 \text{ mg} / 4\text{cc} / \text{ tikus} / \text{ hari}$$

$$\text{Berat zat terlarut (NaCl)} \quad : 800 \text{ mg NaCl} \times 40 \text{ ekor} = 32.000 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pelarut (Aquades)} : 4\text{cc} \times 40 \text{ ekor} = 160 \text{ cc}$$

**Lampiran 7.** Perhitungan dosis ekstrak benalu mangga (EBM)

a) Perhitungan untuk menentukan mg ekstrak yang akan dilarutkan dalam pelarut:

$$\text{mg} = \frac{\text{Berat Badan Tikus}}{1000} \times \text{dosis}$$

b) Perhitungan volume pelarut:

$$\text{c) Volume Pelarut (VP)} = \frac{\text{gr ekstrak}}{\text{rata-rata gr ekstrak}} \times \text{volume sode (2 ml)}$$

**Contoh :** Perhitungan mg ekstrak pada tikus kelompok PI (Perlakuan 1) dosis 50 mg/KgBB untuk 1x penyondean dengan berat badan tikus (gram) : 198 gram, 151 gram, 193 gram, 213 gram, dan 181 gram maka:

1.  $\frac{198}{1000} \times 50 = 9,9$
  2.  $\frac{151}{1000} \times 50 = 7,55$
  3.  $\frac{193}{1000} \times 50 = 9,65$
  4.  $\frac{213}{1000} \times 50 = 10,65$
  5.  $\frac{181}{1000} \times 50 = 9,05$
- Jumlah = 46,8**  
**Rerata = 9,36**

Perhitungan Volume Pelarut (Aquades)

1.  $\text{VP} = \frac{9,9}{9,36} \times 2 = 2,12$
  2.  $\text{VP} = \frac{7,55}{9,36} \times 2 = 1,61$
  3.  $\text{VP} = \frac{9,65}{9,36} \times 2 = 2,06$
  4.  $\text{VP} = \frac{10,65}{9,36} \times 2 = 2,28$
  5.  $\text{VP} = \frac{9,05}{9,36} \times 2 = 1,93$
- Jumlah = 10**

**Lampiran 8.** Perhitungan dosis kombinasi ekstrak benalu teh dan benalu mangga (EBTBM)

**Contoh :** Perhitungan mg ekstrak pada tikus kelompok PI (Perlakuan 1) dosis 50 mg/KgBB untuk 1x penyondean dengan berat badan tikus (gram) : 181 gram, 178 gram, 177 gram, 201 gram, dan 211 gram maka:

1.  $\frac{181}{1000} \times 50 = 9,05$
  2.  $\frac{178}{1000} \times 50 = 8,9$                       Untuk mendapatkan perbandingan 1:3 maka:
  3.  $\frac{177}{1000} \times 50 = 8,85$                        $47,4 \times \frac{1}{4} = 11,85$                       →BM
  4.  $\frac{201}{1000} \times 50 = 10,05$                        $47,4 \times \frac{3}{4} = 35,55$                       →BT
  5.  $\frac{211}{1000} \times 50 = 10,55$
- Jumlah**                      = **47,4**
- Rerata**                      = **9,48**

Perhitungan Volume Pelarut (Aquadres)

1.  $VP = \frac{9,05}{9,48} \times 2 = 1,90$
  2.  $VP = \frac{8,9}{9,48} \times 2 = 1,88$
  3.  $VP = \frac{8,85}{9,48} \times 2 = 1,87$
  4.  $VP = \frac{10,05}{9,48} \times 2 = 2,12$
  5.  $VP = \frac{10,55}{9,48} \times 2 = 2,23$
- Jumlah**                      = **10**

**Lampiran 9.** Tabel rerata tensi tikus

Perlakuan	Sebelum		DOCA-garam		DOCA-garam + Treatment	
	Sistolik	Diastolik	Sistolik	Diastolik	Sistolik	Diastolik
K-	128	89	132	96	108	70
K+	123	97	151	122	163	121
P1	125	95	151	83	113	79
P2	130	103	162	97	138	108
P3	117	90	142	98	100	74
P4	98	65	145	117	102	79
P5	116	77	150	113	112	70

P6	127	88	141	90	128	101
----	-----	----	-----	----	-----	-----

**Lampiran 10.** Tabel SOD serum

Perlakuan	Kode Tikus	SOD u/ml
K-	T1	14.87
	T2	14.2
	T3	15.64
	T4	14.98
	T5	15.53
Rerata		15.0
K+	T1	14.53
	T2	13.98
	T3	13.09
	T4	13.76
	T5	13.09
Rerata		13.7
P1	T1	15.64
	T2	15.09
	T3	14.98
	T4	15.09
	T5	14.98
Rerata		15.2
P2	T1	15.31
	T2	15.2
	T3	15.09
	T4	15.2
	T5	15.64
Rerata		15.3
P3	T1	14.64
	T2	15.42
	T3	14.87
	T4	14.87
	T5	14.87
Rerata		14.9
P4	T1	16.98
	T2	16.2
	T3	16.42





	T4	16.42
	T5	16.31
Rerata		16.5
P5	T1	15.42
	T2	14.87
	T3	16.09
	T4	15.31
	T5	15.98
Rerata		15.5
P6	T1	15.98
	T2	16.31
	T3	15.53
	T4	16.09
	T5	16.31
Rerata		16.0

**Lampiran 11.** Tabel MDA serum





Perlakuan	Kode Tikus	MDA u/ml
K-	T1	586
	T2	574.67
	T3	552.44
	T4	582.44
	T5	594.67
Rerata		578
K+	T1	738
	T2	800.22
	T3	780.22
	T4	761.33
	T5	943.56
Rerata		805
P1	T1	515.78
	T2	486.89
	T3	464.67
	T4	488
	T5	536.89
Rerata		498
P2	T1	518
	T2	432.44





	T3	426.89
	T4	423.56
	T5	491.33
Rerata		458
P3	T1	506.89
	T2	455.78
	T3	461.33
	T4	475.78
	T5	534.67
Rerata		487
P4	T1	380.22
	T2	380.22
	T3	336.89
	T4	333.56
	T5	373.56
Rerata		361
P5	T1	440.22
	T2	365.78
	T3	343.56
	T4	369.11
	T5	356.89
Rerata		375
P6	T1	475.78
	T2	503.56
	T3	539.11
	T4	556.89
	T5	590.22
Rerata		533





Lampiran 12. Dokumentasi Penelitian





No	Gambar	Keterangan
1.		<p>Membeli daun benalu teh dan daun benalu mangga di toko jamu sumber sehat kepanjen</p>
2.		<p>Menimbang daun benalu teh</p>
3.		<p>Menimbang daun benalu mangga</p>
4.		<p>Proses pengeringan daun benalu teh dan daun benalu mangga menggunakan <i>Oven</i></p>










5.		<p>Pembuatan simplisia bubuk daun benalu teh dan daun benalu mangga menggunakan <i>blender</i></p>
6.		<p>Mengukur volume metanol untuk proses maserasi</p>
7.		<p>Hasil proses evaporasi di maserasi di Balai Materia Medica Kota Batu</p>
8.		<p>Sampel benalu teh dan benalu mangga yang sudah menjadi pasta</p>

9.		<p>Proses evaporasi di balai materia medica batu</p>
10.		<p>Pemeliharaan tikus di laboratorium mikrobiologi FMIPA Universitas Islam Malang</p>
11.		<p>Proses penimbangan berat badan tikus</p>
12.		<p>Mengganti sekam tikus</p>

13.		Proses penimbangan makanan tikus
14.		Menyiapkan minum tikus
15.		Proses penimbangan NaCl bubuk
16.		Melarutkan NaCl bubuk dengan larutan aquades

17.		Proses penyondean pada tikus
18.		Proses pengukuran minyak jagung untuk dilarutkan dengan DOCA
19.		Proses penimbangan DOCA
20.		Proses melarutkan DOCA dengan minyak jagung

21.		DOCA yang sudah dilarutkan dengan minyak jagung
22.		Pembiusan pada tikus sebelum dibedah
23.		Proses pembedahan tikus wistar jantan
24.		Proses pengambilan serum darah pada organ <i>cor</i>

25.		<p>Serum darah yang diambil dimasukkan ke dalam tabung darah <i>Vaculab EDTA 5 ml</i></p>
26.		<p>Proses pelabelan</p>
27.		<p>Tim PTUPT</p>