

**AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL MAHKOTA DEWA
(*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) TERSTANDAR SEBAGAI
UPAYA PREVENTIF HIPERLIPIDEMIA: Uji Praklinik Secara
In Vivo Pada Mencit Yang Diinduksi Poloxamer**

Skripsi



Oleh :

RR. LIZA ANISA MIRAWATI

07613075

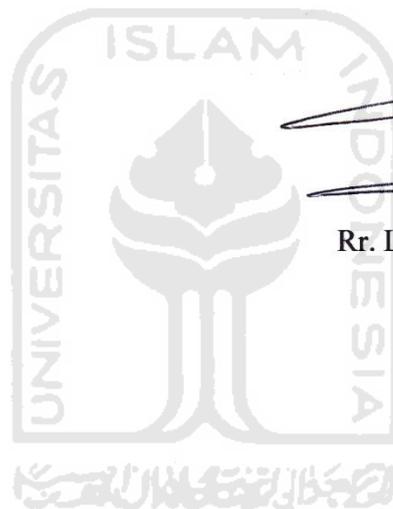
**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
AGUSTUS 2011**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang sepengetahuan saya, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, Agustus 2011

Penulis,



A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Rr. Liza Anisa Mirawati', written over a horizontal line. The signature is stylized and cursive.

Rr. Liza Anisa Mirawati

MOTTO

**“ Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan ;
Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan),
kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain.”**

-Q.S. Al-Insyirah: 6 dan 7-

“Kesuksesan mendatangi mereka yang tidak takut gagal”

-Winston Churchill-

**Jangan menyerah di persimpangan, jangan tergoda untuk mengambil jalan
yang lebih mudah**

-Prof. Yohanes Surya, Ph.D-

**Kebahagiaan adalah mereka yang berani bermimpi dan berani berkorban
demi mewujudkannya**

-Leon Joseph-

“Our greatest glory is not in never falling, but in rising every time we fall”

-Confucious-

“Berlelah-lelahlah, manisnya hidup terasa setelah berjuang”

-Imam Syafi'i-

“Man jadda wajadda”



**Untuk mereka yang kusayangi,
Bapak, Ibu, serta Kakakku untuk dukungan, doa, dan cintanya sepanjang
waktu**



KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini yang berjudul **Aktivitas Ekstrak Etanol Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) Terstandar Sebagai Upaya Preventif Hiperlipidemia: Uji Praklinik Secara *In Vivo* Pada Mencit Yang Diinduksi Poloxamer**. Skripsi ini merupakan salah satu syarat kelengkapan untuk menyelesaikan program S1 Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia.

Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah memberikan bantuan, dorongan, serta pengarahan-pengarahan untuk membimbing penulis dalam penulisan skripsi sebagai berikut:

1. Asih Triastuti, M.Pharm., Apt. selaku Pembimbing Utama atas segala kesabaran, waktu, saran, sumbangan pemikiran, arahan, dan bimbingan dalam penyusunan skripsi dari awal hingga akhir.
2. Dimas Adhi Pradana, M.Sc., Apt. selaku Pembimbing Pendamping atas segala kesabaran, waktu, saran, masukan, arahan, dan bimbingan dalam penyusunan skripsi dari awal hingga akhir.
3. Yandi Syukri, M.Si., Apt., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
4. Muhammad Hatta Prabowo, M.Si., Apt., selaku Ketua Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia.
5. Bapak Sumarno, selaku Laboran dari Laboratorium Farmakologi Universitas Islam Indonesia atas dukungan, bantuan dan bimbingan praktek penelitiannya.
8. Seluruh staf Laboratorium Prodi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia, atas bantuan dan kerjasamanya.
9. Segenap civitas akademika Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia yang secara tidak langsung telah banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

10. Almamamterku Universitas Islam Indonesia Yogyakarta yang mendidik dan memberikan ilmu pengetahuan.
11. Orang tuaku tercinta yang telah membesarkan, mendidik, membimbing, menyayangi, dan mendoakan.
12. Kakakku yang selalu mendukung dan mendoakan.
13. Untuk rekan penelitianku Ani Agustina, Eka Yuliana, Endah Ayu Prawitasari, dan Nurul Isnaeni, terimakasih atas semua bantuan dan semangatnya.
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Terima kasih atas segala bantuan, dukungan, dan doa kalian.

Semoga Allah membalas kebaikan mereka dengan segala anugerah, rahmat, dan hidayah-Nya. Penulis menyadari, bahwa penyusunan karya tulis ini masih jauh dari sempurna karena tidak terlepas dari banyaknya kekurangan yang ada. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat diperlukan oleh penulis. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat memberikan dedikasi tinggi terhadap pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang kefarmasian.

Wassalamualaikum Wr. Wb.

Yogyakarta, Agustus 2011

Penulis

Rr. Liza Anisa Mirawati

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	vii	
DAFTAR ISI.....	ix	
DAFTAR GAMBAR.....	x	
DAFTAR TABEL.....	xi	
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii	
INTISARI.....	xiii	
<i>ABSTRACT</i>	xiv	
BAB I. PENDAHULUAN		
A. Latar Belakang Masalah.....	1	
B. Perumusan Masalah.....	3	
C. Tujuan Penelitian.....	3	
D. Manfaat Penelitian.....	3	
BAB II. STUDI PUSTAKA		
A. Tinjauan Pustaka.....	4	
B. Landasan Teori.....	18	
C. Hipotesis.....	19	
BAB III. METODE PENELITIAN		
A. Bahan dan Alat		
1. Bahan.....	20	
2. Alat.....	20	
B. Cara Kerja		
1. Preparasi ekstrak.....	21	
2. Skema penelitian.....	21	
3. Jalannya penelitian.....	22	
4. Metode analisis serum.....	26	
C. Analisis hasil.....	27	
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN		
A. Hasil.....	28	
B. Pembahasan.....	28	
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....		39
DAFTAR PUSTAKA.....	40	
LAMPIRAN.....	43	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Daun dan buah mahkota dewa.....	4
Gambar 2.	Tanaman mahkota dewa.....	4
Gambar 3.	Struktur dasar flavonoid.....	5
Gambar 4.	Jalur biosintesis kolesterol.....	12
Gambar 5.	Struktur lovastatin.....	13
Gambar 6.	Struktur simvastatin.....	13
Gambar 7.	Struktur pravastatin.....	14
Gambar 8.	Struktur fluvastatin.....	14
Gambar 9.	Struktur atorvastatin.....	14
Gambar 10.	Alur penelitian.....	21
Gambar 11.	Perlakuan hewan uji.....	26
Gambar 12.	Buah mahkota dewa.....	29
Gambar 13.	Serbuk kering mahkota dewa.....	30
Gambar 14.	Ekstrak kental mahkota.....	30
Gambar 15.	Hasil uji kualitatif flavonoid.....	32
Gambar 16.	Reaksi kompleks pembentukan flavonoid-aluminium chloride.....	33
Gambar 17.	Grafik rata-rata konsentrasi kolesterol dan trigliserida.....	34
Gambar 18.	Mekanisme P-407 menginduksi hiperkolesterolemia.....	36

DAFTAR TABEL

Tabel I.	Hasil standarisasi ekstrak.....	31
Tabel II.	Hasil uji aktivitas antihiperlipidemia.....	34



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman mahkota dewa.....	43
Lampiran 2. Surat keterangan pembelian hewan uji.....	44
Lampiran 3. Surat keterangan <i>Ethical Clearance</i>	45
Lampiran 4. Surat keterangan uji flavonoid ekstrak buah mahkota dewa.....	46
Lampiran 5. Surat keterangan hasil uji flavonoid ekstrak buah mahkota dewa.....	47
Lampiran 6. Hasil uji kadar air dan viskositas ekstrak.....	48
Lampiran 7. Data konsentrasi trigliserida.....	49
Lampiran 8. Data konsentrasi kolesterol.....	50
Lampiran 9. Perhitungan dosis.....	51
Lampiran 10. Data pengolahan SPSS hasil konsentrasi kolesterol dan trigliserida.....	54
Lampiran 11. Brosur reagen kolesterol.....	62
Lampiran 12. Brosur reagen kolesterol.....	64
Lampiran 13. Dokumentasi penelitian.....	66

**AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL MAHKOTA DEWA
(*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) TERSTANDAR SEBAGAI
UPAYA PREVENTIF HIPERLIPIDEMIA: Uji Praklinik Secara
In Vivo Pada Mencit Yang Diinduksi *Poloxamer***

INTISARI

Phaleria macrocarpa atau mahkota dewa merupakan salah satu obat tradisional yang sedang berkembang yang diduga berpotensi sebagai antihiperlipidemia. Penggunaan obat antihiperlipidemia modern atau sintetis memang terbukti efektif dalam menurunkan kadar lipid dalam darah. Tidak semua efek samping yang ditimbulkan dari penggunaan obat sintetis ini dapat ditoleransi oleh pasien. Banyak masyarakat yang kini beralih menggunakan tanaman herbal seperti mahkota dewa. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas ekstrak mahkota dewa terstandar sebagai terapi preventif pada hiperlipidemia. Sebanyak 25 ekor mencit galur swiss berumur \pm 2 bulan dibagi menjadi 5 kelompok yang terdiri dari kelompok normal (aquadest), kelompok kontrol (aquadest), kelompok referen (simvastatin 10 mg/kgBB), dan 2 kelompok uji yang masing-masing diberi ekstrak mahkota dewa terstandar dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB. Perlakuan dilakukan selama 14 hari dan pada hari terakhir mencit dipuasakan kemudian semua kelompok kecuali kelompok normal diinduksi dengan poloxamer 400 mg/kgBB secara intraperitoneal. Hari berikutnya, semua hewan uji dibedah untuk diambil darahnya melalui vena lateral lalu dilakukan analisis penetapan kadar kolesterol dan trigliserida. Analisis statistik dilakukan menggunakan SPSS 16 dengan *one way Anova* level signifikansi 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa berdasar parameter kadar kolesterol dan trigliserida, ekstrak mahkota dewa dosis 200 mg/kgBB berbeda signifikan dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Untuk ekstrak mahkota dewa dosis 100 mg/kgBB menunjukkan perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$) hanya berdasar parameter kolesterol. Dapat disimpulkan bahwa dalam penelitian ini ekstrak mahkota dewa dengan dosis 200 mg/kgBB dapat menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida.

Kata kunci: hiperlipidemia, *Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl., poloxamer

**ACTIVITIES OF STANDARDIZED ETHANOLIC EXTRACT
CROWN OF GOD (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) AS
PREVENTIVE FOR HYPERLIPIDEMIA: Preclinical Study
In Vivo in Poloxamer-Induced Mice**

ABSTRACT

Phaleria macrocarpa or crown of god is one of the remedies that suspected of developing potentially as antihyperlipidemia. The use of modern antihyperlipidemia or synthetic drugs are proven effective in lowering blood lipid levels. Not all side effects from use of these synthetic drugs can be tolerated by the patient. Many communities are now switched to using herbs such as crown of the god. The study was conducted to determine the activity of standardized extract crown of god as preventive therapy in hyperlipidemia. A total of 25 mice strains \pm 2-month-old Swiss is divided into 5 groups consisting of normal group (distilled water), the control group (distilled water), the reference group (simvastatin 10 mg/kgBW), and two test groups were given standardized crown of god extracts dose of 100 mg/kgBW and 200 mg/kgBW. The treatment carried out for 14 days and on the last day fasted mice then all groups except the normal group was induced with poloxamer 400 mg/kgBW by intraperitoneal. The next day, all test animals dissected for blood drawn through the lateral vein and performed the analysis of cholesterol and triglyceride assays. Statistical analysis was performed using SPSS 16 with one-way Anova significance level of 95%. The results showed that based on the parameters of cholesterol and triglycerides, the crown of god extract dose of 200 mg/kgBW significantly different from the control group ($p < 0.05$). Crown of god extract dose of 100 mg/kgBW showed significant differences with the control group ($p < 0.05$) only on cholesterol parameters. It can be concluded that in this study crown of god extracts with a dose of 200 mg/kgBW can decrease cholesterol and triglyceride levels.

Key words: hyperlipidemia, *Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl., poloxamer

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Hiperlipidemia merupakan penyebab utama *atherosclerosis* dan kondisi yang berhubungan dengan *atherosclerosis*, seperti penyakit jantung koroner, iskemik pembuluh cerebral, serta penyakit pembuluh darah perifer lainnya. Kondisi ini masih menjadi masalah utama terkait morbiditas dan mortalitas pada usia paruh baya dan geriatri. Insidensi dan banyaknya masalah hiperlipidemia sepertinya akan terus meningkat pada dekade kedepan. Dislipidemia, mencakup hiperlipidemia (hiperkolesterol) dan rendahnya HDL-C, merupakan penyebab utama meningkatnya risiko atherogenik, masalah genetik dan gaya hidup seperti kurangnya aktivitas atau kurang olahraga, diet tinggi kalori, serta kolesterol berkontribusi pada dislipidemia di berbagai belahan dunia⁽¹⁾.

Manifestasi klinis hiperlipidemia dapat berupa obesitas atau *overweight* yang menjadi faktor resiko beragam penyakit seperti yang telah disebutkan diatas. Menurut data terbaru dari WHO, secara global pada tahun 2008 kurang lebih 1,5 milyar orang dewasa (usia 20 tahun keatas) mengalami kelebihan berat badan (*overweight*). Diperkirakan hingga tahun 2015 kurang lebih 2,3 milyar orang dewasa akan mengalami *overweight* dan lebih dari 700 juta akan mengalami obesitas. Salah satu akibat dari *overweight* atau obesitas yaitu dapat menyebabkan penyakit jantung yang merupakan penyebab utama mortalitas, dengan angka mortalitas kurang lebih 17 juta orang tiap tahunnya di dunia⁽²⁾. Di Indonesia, menurut data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007, prevalensi nasional obesitas umum pada penduduk berusia ≥ 15 tahun adalah 10,3% (laki-laki 13,9%, perempuan 23,8%). Sedangkan prevalensi berat badan berlebih anak-anak usia 6-14 tahun pada laki-laki 9,5% dan pada perempuan 6,4%. Angka ini hampir sama dengan estimasi WHO sebesar 10% pada anak usia 5-17 tahun⁽³⁾.

Terapi hiperlipidemia meliputi pengaturan diet, olahraga, dan penggunaan obat-obatan. Beberapa golongan obat antihiperlipidemia yang dapat digunakan diantaranya yaitu golongan asam nikotinat (niasin), derivat asam fibrat (gemfibrozil, fenofibrat, klofibrat), inhibitor *HMG-CoA reductase* (lovastatin,

pravastatin, simvastatin, fluvastatin, dan atorvastatin), resin pengikat asam empedu (kolestiramin, kolestipol), probukol, dan ezetimibe⁽¹⁾.

Dari beberapa obat yang telah disebutkan sebelumnya, golongan statin merupakan obat yang paling efektif dan memiliki toleransi yang paling baik dalam mengatasi hiperlipidemia. Obat golongan ini merupakan inhibitor kompetitif *3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase*, yang mengkatalisis pada awal, dengan membatasi kecepatan biosintesis kolesterol. Dosis lebih tinggi dari statin (atorvastatin dan simvastatin) dapat lebih poten juga untuk mengurangi trigliserida disebabkan dengan peningkatan VLDL. Beberapa statin juga diindikasikan untuk meningkatkan HDL-C⁽¹⁾.

Menurut beberapa laporan, tidak semua pasien bisa mentoleransi efek samping yang ditimbulkan dari obat oral ini seperti sakit kepala, gangguan pencernaan (dispepsia, flatus, konstipasi, nyeri perut), miopati, serta gangguan hepar. Akibatnya, permintaan untuk obat baru antihiperlipidemia semakin meningkat^(4,5). Penggunaan obat antihiperlipidemia modern memang terbukti efektif dalam menurunkan kadar lipid dalam darah namun harga obat-obatan tersebut semakin melambung dan umumnya kurang terjangkau oleh masyarakat, khususnya golongan menengah ke bawah. Penggunaannya dalam jangka panjang dan tidak rasional, dilaporkan dapat menyebabkan gangguan fungsi organ metabolisme seperti ginjal dan hepar⁽⁶⁾.

Melihat permasalahan di atas, maka perlu pengobatan alternatif hiperlipidemia yang efektif, lebih terjangkau oleh masyarakat, dan aman digunakan untuk jangka panjang. Pemanfaatan obat tradisional dalam pengobatan belum optimal karena pada umumnya penggunaannya masih dalam lingkup masyarakat turun-temurun dan belum menjadi bagian dari sistem pelayanan kesehatan formal yang menggunakan obat berdasarkan pada bukti-bukti ilmiah yang dapat dipertanggungjawabkan. Di Indonesia sendiri, *Phaleria macrocarpa* atau mahkota dewa merupakan salah satu obat tradisional yang sedang berkembang yang diduga berpotensi sebagai antihiperlipidemia. Daun dan buah mahkota dewa banyak digunakan secara empiris untuk pengobatan penyakit kanker, jantung, liver, diabetes mellitus, hipertensi, reumatik, asam urat, ginjal,

penambah stamina, penyakit kulit, alergi, penurun kolesterol serta obat untuk ketergantungan narkoba⁽⁷⁾.

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya pada ekstrak mahkota dewa terbukti dapat mencegah terjadinya *atherosclerosis*⁽⁸⁾. Seperti yang diketahui bahwa *atherosclerosis* dapat disebabkan oleh adanya hiperlipidemia. Namun, sampai saat ini belum ada penelitian secara spesifik tentang ekstrak mahkota dewa terstandar sebagai preventif hiperlipidemia. Oleh karena itu, penelitian ini mutlak untuk dilakukan.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah dikemukakan di atas, maka penelitian ini diharapkan dapat menjawab permasalahan bagaimana aktivitas ekstrak etanol mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) terstandar sebagai preventif hiperlipidemia pada mencit yang diinduksi poloxamer.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) terstandar sebagai preventif hiperlipidemia pada mencit yang diinduksi poloxamer.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu informasi tentang efek farmakologi buah mahkota dewa terkait dengan aktivitasnya sebagai preventif hiperlipidemia, yaitu mampu menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Informasi tersebut diharapkan dapat menambah khasanah informasi obat alami yang dapat digunakan untuk pengembangan ilmu pengetahuan di bidang kesehatan.

BAB II STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Mahkota dewa

Dalam taksonomi tumbuhan, tanaman yang memiliki nama dagang mahkota dewa dan nama daerah simalakama (Sumatera/Melayu) atau makuto dewo (Jawa) diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Thymelaeaceae
Suku	: Thymelaeaceae
Marga	: <i>Phaleria</i>
Spesies	: <i>Phaleria macrocarpa</i> (Scheff) Boerl atau <i>Phaleria papuana</i> Warb var. <i>Wichnannii</i> (Val) Back ⁽⁸⁾ .



Gambar 1. Daun dan buah mahkota dewa

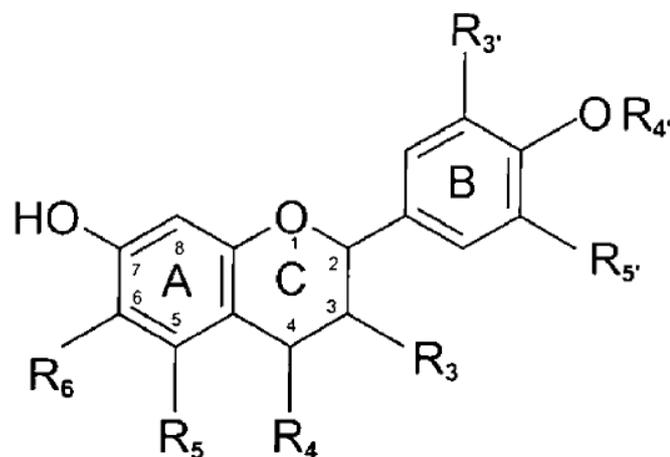


Gambar 2. Tanaman mahkota dewa⁽⁹⁾

Penampilan tumbuhan ini sangat menarik, terutama saat buahnya mulai tua sehingga banyak dipelihara sebagai tanaman hias. Buah mahkota dewa sesungguhnya dapat dimakan, meskipun bijinya mengandung racun. Buah mahkota dewa yang bulat, berwarna hijau ketika muda dan merah marun ketika tua, dengan ukuran bervariasi dari sebesar bola pingpong sampai sebesar apel dengan ketebalan kulit 0,1 – 0,5 mm⁽¹¹⁾. Perdu menahun ini batangnya bulat,

permukaan kasar, warnanya coklat, berkayu dan bergetah, percabangan simpodial. Daun tunggal letaknya berhadapan, bertangkai pendek, bentuknya lanset atau jorong, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan licin, warnanya hijau tua, panjang 7 sampai 10 cm, lebar 2 sampai 5 cm. Bunga keluar sepanjang tahun, letaknya tersebar di batang atau ketiak daun, bentuk tabung, berukuran kecil, berwarna putih dan harum. Bentuknya bulat, diameter 3 sampai 5 cm, permukaan licin, beralur, ketika muda warnanya hijau dan merah setelah masak. Daging buah berwarna putih, berserat, dan berair. Biji bulat, keras, berwarna coklat. Berakar tunggang dan berwarna kuning kecoklatan⁽¹²⁾.

Mahkota dewa berasal dari daerah Papua. Tanaman ini terkadang masih dapat dijumpai tumbuh liar di daerah hutan pada ketinggian 10- 1.200 meter di atas permukaan laut dengan curah hujan rata-rata 1.000-2500 mm/tahun. Berdasarkan literatur, diketahui bahwa zat aktif yang terkandung di dalam daun dan buah antara lain alkaloid, terpenoid, saponin, lignan (polifenol) dan flavonoid (gambar 3)⁽¹²⁾. Hasil identifikasi lainnya menyebutkan bahwa kandungan kimia dari buah mahkota dewa terdiri dari glikosida fenolik, seperti mahkotasida, mangiferin, kaempferol-3-O- β -d glukosida, asam dodekanoat, asam palmitat, etil stearat, sukrosa⁽¹³⁾, asam oleat, asam linoleat, asam linolenat, steroid (sitosterol, stigmasterol, sikloargentenol), benzofenon glikosida, karbohidrat (glukosa)⁽¹⁴⁾, dan lignan pinosin, lariciresinol, dan matairesinol⁽¹⁵⁾.



Gambar 3. Struktur dasar flavonoid⁽¹⁰⁾

Secara empiris, *phaleria macrocarpa* terbukti mampu untuk mengontrol kanker, impotensi, disentri, hemorrhoid, diabetes mellitus, alergi, penyakit jantung dan hepar, gangguan ginjal, penyakit atau gangguan darah, arthritis, reumatik, tekanan darah tinggi, *stroke*, migrain, bermacam penyakit kulit, jerawat, dan kolesterol. Tumbuhan ini mengandung senyawa antihistamin, antioksidan, dan antikanker⁽¹⁶⁾.

2. Metode ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah dengan menggunakan pelarut yang dipilih sehingga zat yang diinginkan akan larut. Pemilihan sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi berdasarkan atas kemampuannya melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif, seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan⁽¹⁷⁾. Hasil Ekstraksi yaitu berupa kering, kental dan cair, dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok di luar pengaruh cahaya matahari langsung⁽¹⁸⁾.

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya⁽¹⁹⁾.

3. Ekstrak terstandar

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Disamping memperhatikan sifat fisik dan senyawa aktif dari simplisia harus juga diperhatikan senyawa-senyawa lain yang terdapat dalam simplisia seperti protein, karbohidrat, lemak dan gula, karena senyawa ini akan mempengaruhi tingkat kejenuhan pelarut sehingga akan berpengaruh pula pada proses pelarutan senyawa

aktif. Konsistensi kadar senyawa aktif merupakan syarat mutlak mutu ekstrak yang diproduksi. Oleh sebab itu setiap ekstrak harus distandardisasi⁽¹⁹⁾.

Standardisasi dalam kefarmasian tidak lain adalah serangkaian parameter, prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait paradigma mutu kefarmasian, mutu dalam artian memenuhi syarat standar (kimia, biologi, dan farmasi), termasuk jaminan (batas-batas) stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya. Persyaratan mutu ekstrak terdiri dari berbagai parameter standar umum dan parameter standar spesifik⁽¹⁹⁾.

a. Parameter organoleptik ekstrak

Tujuan dari uji organoleptik adalah untuk pengenalan awal yang seobyektif mungkin. Pada parameter organoleptik ini digunakan pancaindra untuk mendeskripsikan bentuk (padat, serbuk-kering, kental, cair), warna (kuning, coklat, dan lain-lain), bau (aromatik, tidak berbau, dan lain-lain), dan rasa (pahit, manis, kelat, dan lain-lain)⁽¹⁹⁾.

b. Parameter kadar air

Tujuan dilakukannya uji kadar air ini untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam bahan⁽¹⁹⁾. Pada penelitian ini uji kadar air menggunakan alat *Moisture Balancer HB43*.

c. Parameter pola kromatogram

Dilakukan penentuan pola kromatogram dalam penelitian ini dimaksudkan untuk memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram (KLT). Prinsipnya adalah ekstrak ditimbang, diekstraksi dengan pelarut dan cara tertentu, kemudian dilakukan analisis kromatografi sehingga memberikan pola kromatogram yang khas⁽¹⁹⁾.

d. Parameter kekentalan

Uji kekentalan atau uji viskositas dilakukan dengan memasukkan ekstrak ke dalam bejana viskosimeter elektrik (VT-04). Kecepatan (rpm) dan nomor rotor disesuaikan dengan kekentalan ekstrak. Alat dijalankan dan dilakukan pengukuran viskositas. Hasil yang terbaca pada alat merupakan viskositas dari ekstrak kental.

4. Kromatografi lapis tipis (KLT)

Dalam kromatografi lapis tipis hanya membutuhkan penyerap dan cuplikan dalam jumlah yang sedikit dan noda-noda yang terpisahkan dilokalisasi pada plat seperti pada lembaran kertas. Setelah pemisahan mudah diperoleh senyawa-senyawa yang terpisah secara individu yaitu dengan jalan mengeroknya dan mengumpulkan tiap-tiap lapisan dalam mana lapisan itu dikerok⁽²⁰⁾.

Metode lapis tipis mempunyai keuntungan yang utama, yaitu membutuhkan waktu yang lebih cepat dan diperoleh pemisahan yang lebih baik. Waktu rata-rata untuk kromatografi lapis tipis dengan panjang 10 cm pada silika gel adalah sekitar 20-30 menit (tergantung sifat fase gerak). Hasil pemisahan yang baik ternyata dari kenyataan bahwa penyerap dalam kromatografi lapis tipis mempunyai kapasitas yang lebih besar bila dibandingkan dengan kertas. Lebih lanjut dan yang sangat penting keuntungan dari sistem serapan ialah bahwa ia dapat digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofobi, seperti lipida-lipida dan hidrokarbon, dimana hal ini sukar dikerjakan dengan kertas. Sekarang pemisahan dengan lapis tipis telah digunakan dalam kebanyakan lapangan-lapangan organik dan beberapa dalam kimia anorganik⁽²⁰⁾.

Sifat-sifat umum dari penyerap-penyerap untuk kromatografi lapis tipis adalah mirip dengan sifat-sifat penyerap untuk kromatografi kolom. Dua sifat yang penting dari penyerap adalah besar partikel dan homogenitasnya, karena adhesi terhadap penyokong sangat tergantung pada mereka. Besar partikel yang biasa digunakan adalah 1 – 25 mikron. Partikel yang butirannya sangat kasar tidak akan memberikan hasil yang memuaskan dan salah satu alasan untuk menaikkan hasil pemisahan adalah menggunakan penyerap yang butirannya halus. Sedangkan pada kolom partikel yang sangat halus akan mengakibatkan aliran pelarut menjadi lambat, pada lapis tipis butiran yang halus memberikan aliran pelarut yang lebih cepat⁽²⁰⁾.

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis lebih baik dikerjakan dengan pereaksi lokasi kimia dan reaksi-reaksi warna. Tetapi lazimnya untuk identifikasi menggunakan harga R_f meskipun harga-harga R_f dalam lapisan tipis kurang tepat bila dibandingkan pada kertas⁽²⁰⁾.

Harga-harga R_f untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga standard. Perlu diperhatikan bahwa harga-harga R_f yang diperoleh hanya berlaku untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan, meskipun demikian daftar dari harga-harga R_f untuk berbagai campuran dari pelarut dan penyerap dapat diperoleh. Pengukuran yang sering dipakai lainnya adalah menggunakan pengertian R_x atau $R_{std}^{(20)}$.

Senyawa standar biasanya memiliki sifat-sifat kimia yang mirip dengan senyawa yang dipisahkan pada kromatogram. Misal perbandingan suatu hidrolisa protein dengan glisin atau alanin. Faktor-faktor yang biasanya mempengaruhi gerakan noda dalam kromatografi lapis tipis yang juga mempengaruhi harga R_f yaitu:

- a. Struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan
- b. Sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya (biasanya aktivitas dicapai dengan pemanasan dalam oven, hal ini akan mengeringkan molekul-molekul air yang menempati pusat-pusat serapan dari penyerap). Perbedaan penyerap akan memberikan perbedaan yang besar terhadap harga-harga R_f meskipun menggunakan fase bergerak dan solute yang sama, tetapi hasil akan dapat diulang dengan hasil yang sama, hanya akan diperoleh jika menggunakan penyerap yang sama juga ukuran partikel tetap dan jika pengikat (kalau ada) dicampur hingga homogen
- c. Tebal dan kerataan dari lapisan penyerap. Meskipun dalam prakteknya tebal lapisan tidak dapat dilihat pengaruhnya, tetapi perlu diusahakan tebal lapisan yang rata. Ketidakerataan akan menyebabkan aliran pelarut menjadi tak rata pula dalam daerah yang kecil dari plat
- d. Pelarut (dan derajat kemurniannya) fasa bergerak. Kemurnian dari pelarut yang digunakan sebagai fase gerak dalam kromatografi lapis tipis adalah sangat penting dan bila campuran pelarut digunakan maka perbandingan yang dipakai harus betul-betul diperhatikan
- e. Derajat kejenuhan dari uap dalam mana bejana pengembangan yang digunakan

- f. Teknik percobaan. Arah mana pelarut bergerak di atas plat (metode aliran penaikan yang hanya diperhatikan, karena cara ini yang paling umum meskipun teknik aliran penurunan dan mendatar juga digunakan)
- g. Jumlah cuplikan yang digunakan. Penetes cuplikan dalam jumlah yang berlebihan memberikan tendensi penyebaran noda-noda dengan kemungkinan terbentuknya ekor dan efek ketidakseimbangan lainnya sehingga akan mengakibatkan kesalahan-kesalahan pada harga-harga R_f
- h. Suhu. Pemisahan-pemisahan sebaiknya dikerjakan pada suhu tetap, hal ini terutama untuk mencegah perubahan-perubahan dalam komposisi pelarut yang disebabkan oleh penguapan atau perubahan-perubahan fase
- i. Keseimbangan. Ternyata bahwa keseimbangan dalam lapis tipis lebih penting dalam kromatografi kertas, hingga perlu mengusahakan atmosfer dalam bejana jenuh dengan uap pelarut. Suatu gejala bila atmosfer dalam bejana tidak jenuh dengan uap pelarut, bila digunakan pelarut campuran, akan terjadi pengembangan dengan permukaan pelarut yang berbentuk cekung dan fase bergerak lebih cepat pada bagian tepi-tepi daripada di bagian tengah. Keadaan ini harus dicegah⁽²⁰⁾.

5. Hiperlipidemia

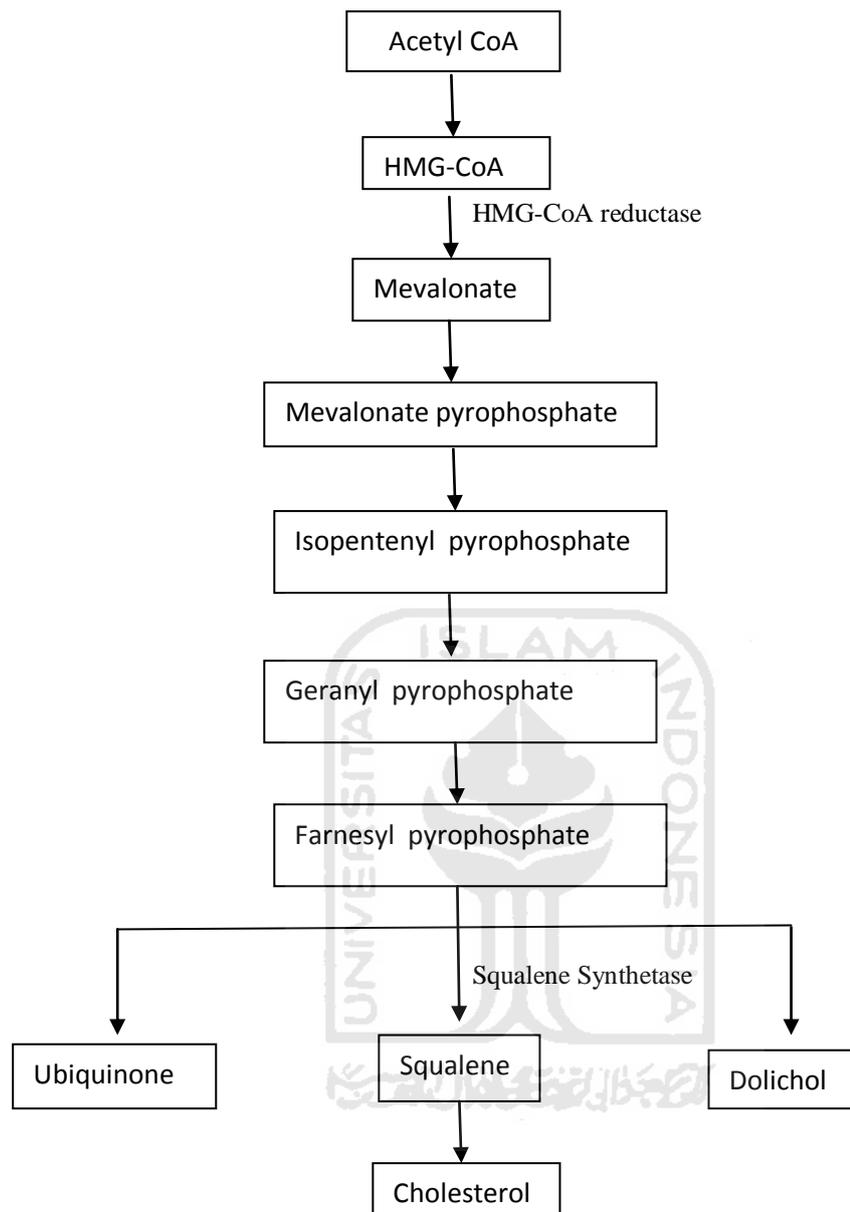
Hiperlipidemia merupakan peningkatan satu atau lebih kolesterol, ester kolesterol, fosfolipid, atau trigliserida⁽²¹⁾, atau dapat juga didefinisikan dengan tingginya kadar lemak (kolesterol, trigliserida maupun keduanya) dalam darah. Lemak (disebut juga lipid) adalah zat yang kaya energi, yang berfungsi sebagai sumber energi utama untuk proses metabolisme tubuh. Lemak diperoleh dari makanan atau dibentuk di dalam tubuh, terutama di hati dan bisa disimpan di dalam sel-sel lemak untuk digunakan di kemudian hari. Sel-sel lemak juga melindungi tubuh dari dingin dan membantu melindungi tubuh terhadap cedera. Lemak merupakan komponen penting dari selaput sel, selubung saraf yang membungkus sel-sel saraf serta empedu⁽²²⁾.

Atherosclerosis merupakan penyebab umum terjadinya ischemic heart disease yang mengakibatkan angina, infark miokard (“serangan jantung”), stroke, dan kematian mendadak. Penelitian menunjukkan bahwa komposisi plaq

lebih dari stenosis atau terjadinya penyempitan pembuluh darah adalah faktor kunci untuk memprediksi kerentanan untuk pecah atau mengalami trombosis^(23,24). Salah satu penyebab umum terjadinya atherosclerosis adalah hiperkolesterolemia. *Atherosclerosis* merupakan indikasi penyakit dengan terbentuknya plaq atheroma karena modifikasi tunica intima pada pembuluh darah sebagai hasil dari pengendapan kolesterol⁽²⁵⁾.

Kenyataan menunjukkan bahwa faktor utama penyebab hiperkolesterolemia adalah karena penurunan kapasitas pembersihan kolesterol LDL dari darah dan penderita hiperkolesterolemia turunan (relatif tidak memiliki sel-sel reseptor untuk LDL). Jadi hiperkolesterolemia merupakan refleksi penurunan (abnormal) kapasitas tubuh untuk membuang kolesterol dan atau tidak adanya kapasitas tubuh untuk mengatur produksi endogen dari metabolisme kolesterol⁽²⁶⁾.

Peningkatan kolesterol intraselular dihasilkan dari katabolisme LDL menghambat aktivitas *3-hydroxy-3-methylglutaryl koenzim A reduktase (HMG-CoA reductase)*, enzim pembatas kecepatan biosintesis kolesterol intraselular (gambar 4). Konsekuensi tambahan dari meningkatnya kolesterol intraselular termasuk mengurangi sintesis reseptor LDL, yang membatasi pengambilan kolesterol dari plasma, dan dipercepat aktivitas koenzim-A asil: *acyltransferase cholesterol (ACAT)* untuk memfasilitasi penyimpanan kolesterol dalam sel. Kolesterol LDL juga dapat dibuang ke dalam empedu dan menjadi bagian dari siklus enterohepatik atau mungkin hilang dalam tinja. Lp (a) adalah lipoprotein kaya kolesterol yang sama dengan LDL dalam komposisi dan kepadatan dan dekat dengan homologi fibrinogen; hal ini dilaporkan menjadi faktor risiko independen yang penting dari perkembangan penyakit kardiovaskuler dini⁽²¹⁾.



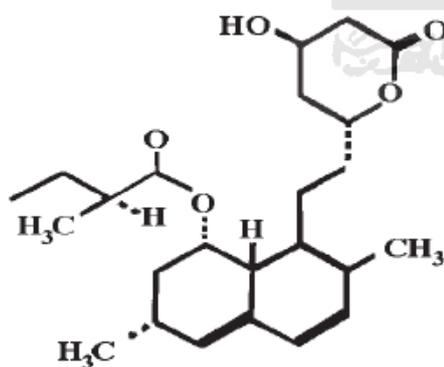
Gambar 4. Jalur biosintesis kolesterol. Enzim yang membatasi kecepatan pada jalur ini adalah *3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase* (*HMG-CoA reductase*)⁽²¹⁾

Penyakit kardiovaskular menyebabkan 18 juta mortalitas di seluruh dunia pada tahun 2005⁽²⁷⁾. Dari angka mortalitas ini, 8 juta (44%) diantaranya terjadi pada usia dibawah 60 tahun dan 80% terjadi pada negara dengan penghasilan (income) yang rendah^(27, 28). Oleh karena itu, *World Health Organization* (WHO) memiliki target untuk menurunkan angka mortalitas dari penyakit kronis ini 2% per tahun sampai tahun 2015⁽²⁹⁾. Tujuan ini berdasarkan pada kejadian mortalitas

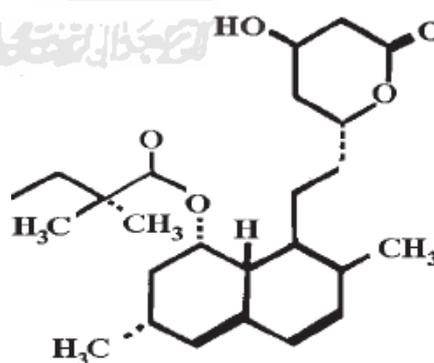
di seluruh dunia akibat kardiovaskuler yang disebabkan oleh beberapa faktor risiko seperti, tekanan darah tinggi, merokok, dan tingginya serum kolesterol total^(30, 31).

Prevalensi hiperlipidemia di Indonesia pada wanita lanjut usia lebih tinggi daripada pria. Status gizi lanjut usia dengan hiperlipidemia pada umumnya adalah berat badan lebih (60.4%) dan obesitas (57.1%) pada lanjut usia pria; dan terutama dengan berat badan normal (59.1%) dan berat badan lebih (59.5%) pada lanjut usia wanita. Prevalensi hiperlipidemia diantara lanjut usia pria dan wanita dengan berat badan kurang didapatkan cukup tinggi, masing-masing 38.7% dan 31.6%⁽³²⁾.

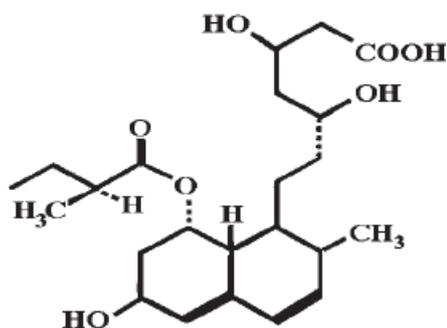
Menurunkan serum kolesterol total adalah strategi yang tepat untuk mengurangi angka kejadian kardiovaskular sebagai manifestasi dari hiperlipidemia. Beberapa obat tersedia untuk terapi hiperlipidemia dan obat yang digunakan adalah obat yang poten, aman, dan memiliki efektivitas tinggi menurunkan kolesterol. Dari data diketahui bahwa obat paling poten yaitu golongan *HMG CoA reductase inhibitor* atau golongan statin seperti lovastatin (gambar 5); simvastatin (gambar 6); pravastatin (gambar 7); fluvastatin (gambar 8); atorvastatin (gambar 9); dan rosuvastatin. Obat-obat tersebut terbukti efektif untuk memperbaiki profil lipid⁽³³⁾.



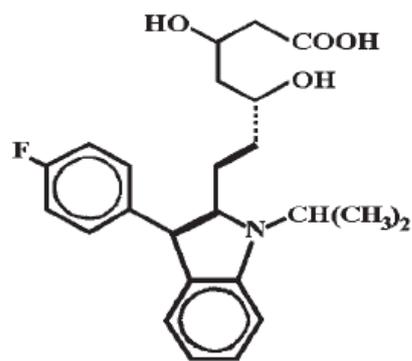
Gambar 5. Struktur Lovastatin⁽³⁴⁾



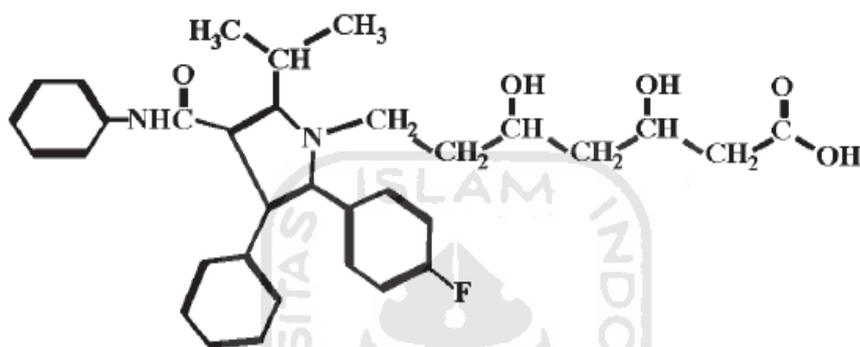
Gambar 6. Struktur Simvastatin⁽³⁴⁾



Gambar 7. Struktur Pravastatin⁽³⁴⁾



Gambar 8. Struktur Fluvastatin⁽³⁴⁾



Gambar 9. Struktur Atorvastatin⁽³⁴⁾

6. Uji antihiperlipidemia

a. Induksi poloxamer

Atherosclerosis ditandai oleh pengendapan lipid secara progresif dan adanya proses inflamasi. Pada penelitian ini pembuatan mencit hiperlipidemia dilakukan secara induksi kimia dengan menggunakan pluronic F-127 atau poloxamer-407 kemudian untuk terapinya dibandingkan antara ekstrak *Phaleria macrocarpa* dengan suatu obat antihiperlipidemia yaitu simvastatin. Poloxamer-407 partikel nano kubik diteliti memiliki potensi distribusi obat oral untuk meningkatkan bioavailabilitas dari simvastatin model obat tidak larut air^(35, 36).

Poloxamer-407 ini membentuk gugus ampifilik setelah hidrasi. Gugus polarnya sangat kuat berikatan dengan air, sementara gugus yang lain kluster hidrofobik. Partisi obat antara kedua segmen jaringan polimer diketahui mempengaruhi difusi dan pelepasan obat dari gel poloxamer-407⁽³⁷⁾. Sifat fisik dari poloxamer yaitu berbentuk granul putih, tak berbau, hambar, memiliki berat jenis 1,76-2,08 g/cm³ dan titik lebur pada 52-57° serta dapat larut dalam air, etanol

dan propan-2-ol. Konsentrasi lazim poloxamer 407 sebagai *gelling agent* yaitu 15-50%⁽³⁸⁾. Poloxamer-407 konsentrasi 25% memiliki nilai difusi paling besar⁽³⁷⁾.

Poloxamer 407 secara signifikan menunjukkan peningkatan kolesterol dan trigliserida plasma pada tikus, mencit, dan kelinci. Poloxamer memiliki sifat sebagai surfaktan dan dapat mengaktifkan enzim *HMG-CoA reductase* kemudian menekan reseptor LDL sehingga menyebabkan naiknya kolesterol dalam darah^(39, 40).

Baru-baru ini dikembangkan sebuah model hiperlipidemia pada hewan uji yang cepat, nyaman, dan biaya rendah dengan menggunakan Poloxamer 407 (P-407), sebuah senyawa inert dengan toksisitas rendah⁽⁴¹⁾. P-407 akan menyebabkan hiperlipidemia berkelanjutan selama minimal 25 hari tanpa efek yang nampak pada hewan uji. Aspek menguntungkan dari model ini berkaitan pada hubungan dosis-respons dengan tingkat hiperlipidemia dapat tepat diatur dengan mengubah dosis⁽⁴²⁾.

b. Panetapan kadar kolesterol dan trigliserida dengan spektrofotometer uv-vis

Spektra uv-vis dapat digunakan untuk informasi kualitatif dan sekaligus dapat digunakan untuk analisis kuantitatif.

1. Aspek kualitatif

Data spektra uv-vis secara tersendiri tidak dapat digunakan untuk identifikasi kualitatif obat atau metabolitnya. Akan tetapi jika digabung dengan cara lain seperti spektroskopi inframerah, resonansi magnet inti, dan spektroskopi massa, maka dapat digunakan untuk maksud identifikasi / analisis kualitatif suatu senyawa tersebut. Data yang diperoleh dari spektroskopi uv dan vis adalah panjang gelombang maksimal, intensitas, efek pH, dan pelarut; yang kesemuanya itu dapat dibandingkan dengan data yang sudah dipublikasikan. Dari spektra yang diperoleh dapat dilihat, misalnya:

- i. Serapan (absorbansi) berubah atau tidak karena perubahan pH. Jika berubah, bagaimana perubahannya apakah dari batokromik ke hipsokromik dan sebaliknya atau dari hipokromik ke hiperkromik, dan sebagainya
- ii. Obat-obat yang netral misalnya kafein, kloramfenikol; atau obat-obat yang berisi auksokrom yang tidak terkonjugasi seperti amfetamin, siklizin dan pensiklidin⁽⁴²⁾.

2. Aspek kuantitatif

Dalam aspek kuantitatif, suatu berkas radiasi dikenakan pada cuplikan (larutan sampel) dan intensitas sinar radiasi yang diteruskan diukur besarnya. Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan intensitas sinar yang diteruskan dengan intensitas sinar yang diserap jika tidak ada spesies penyerap lainnya. Intensitas atau kekuatan radiasi cahaya sebanding dengan jumlah foton yang melalui satu satuan luas penampang per detik. Serapan dapat terjadi jika foton / radiasi yang mengenai cuplikan memiliki energi yang sama dengan energi yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga. Kekuatan radiasi juga mengalami penurunan dengan adanya penghamburan dan pemantulan cahaya, akan tetapi penurunan karena hal ini sangat kecil dibandingkan dengan proses penyerapan⁽⁴²⁾.

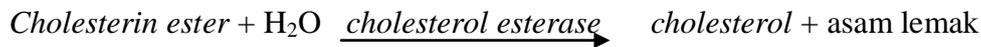
c. Mekanisme pembentukan warna

1) Reagen kolesterol / Fluitest[®] CHOL (CHOLESTEROL CHOD-PAP)

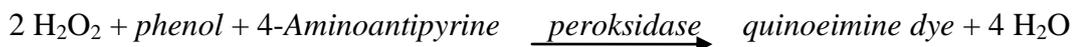
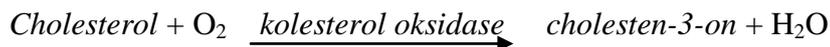
Kolesterol merupakan steroid dengan kelompok *hydroxyl* sekunder pada posisi C₃. Kolesterol disintesis dalam berbagai tipe jaringan, tetapi sebagian di hepar dan dinding usus. Kurang lebih $\frac{3}{4}$ kolesterol baru disintesis dan $\frac{1}{4}$ berasal dari asupan makanan. Pemeriksaan kolesterol digunakan untuk mengetahui resiko *atherosclerosis* dan mendiagnosis adanya gangguan yang meliputi peningkatan kolesterol disertai gangguan metabolisme lipid dan lipoprotein. Metode yang digunakan disini adalah berdasarkan penetapan perubahan *cholestenone* setelah pemotongan secara enzimatis dari ester kolesterol dengan perubahan kolesterol esterase dari kolesterol menjadi kolesterol oksidase kemudian pengukuran dengan reaksi Trinder dari bentuk hidrogen peroksida. Optimasi dari pemotongan ester (>99,5%) mengikuti standardisasi menggunakan standard primer dan sekunder dan perbandingan langsung menggunakan metode referensi CDC dan NIST. Pemeriksaan kolesterol Biocon[®] memenuhi tujuan dari National Institutes of Health (NIH) kurang dari atau sama dengan 3% untuk kedua presisi dan bias⁽⁴³⁾.

Prinsip mekanisme pewarnaan secara enzimatis dapat dijelaskan sebagai berikut:

Sampel ditambah R1 (reagen kolesterol) dan mulai terjadi reaksi. Kolesterol ditetapkan secara enzimatis menggunakan kolesterol esterase dan kolesterol oksidase.



Kolesterol ester dipotong dengan aksi atau kolesterol esterase menjadi kolesterol bebas dan asam lemak



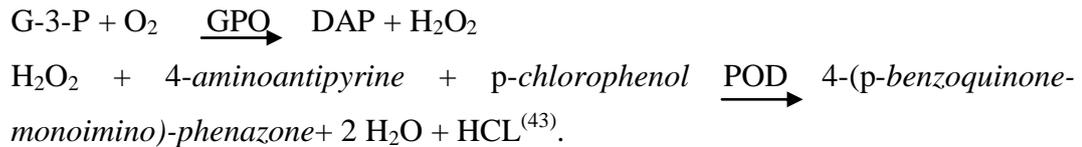
Kolesterol diubah oleh oksigen dengan bantuan kolesterol oksidase menjadi cholest-4-en 3-one dan hidrogen peroksidase. Hidrogen peroksidase membentuk zat warna merah dengan mereaksikan dengan 4-Aminoantipyrine dan fenol dibawah katalisis dari peroksidase. Intensitas warna secara langsung proporsional dengan konsentrasi kolesterol dan bisa ditetapkan secara fotometri⁽⁴³⁾.

2) Reagen trigliserida / Fluitest[®] TG (TRIGLYSERIDES GPO-PAP)

Trigliserida merupakan ester dari *trihydric alcohol glyserol* dengan 3 rantai panjang asam lemak. Trigliserida sebagian disintesis di hepar dan sebagian dari asupan makanan. Penetapan trigliserida digunakan dalam diagnosis dan terapi pasien yang mengalami diabetes mellitus, nefrosis, gangguan hepar, gangguan metabolisme lipid, dan penyakit endokrin lainnya. Metode ini berdasarkan uji dari Wahlefeld menggunakan lipoprotein lipase dari mikroorganisme untuk hidrolisis lengkap dan cepat dari trigliserida menjadi gliserol diikuti dengan oksidasi menjadi *dihydroxyacetone phosphate* dan *hidrogen peroksidase*. Hidrogen peroksidase yang dihasilkan kemudian bereaksi dengan 4-aminophenazon dan 4-chlorophenol dibawah katalisis dari peroksidase membentuk warna merah (reaksi akhir Trinder⁽⁴³⁾).

Prinsip mekanisme pewarnaan secara enzimatis dijelaskan sebagai berikut:





B. Landasan Teori

Kadar lemak yang abnormal dalam sirkulasi darah (terutama kolesterol) bisa menyebabkan masalah jangka panjang. Resiko terjadinya *atherosclerosis* dan penyakit arteri koroner atau penyakit pembuluh darah arteri meningkat pada seseorang yang memiliki kadar kolesterol total yang tinggi. Kadar kolesterol rendah biasanya lebih baik dibandingkan dengan kadar kolesterol yang tinggi, tetapi kadar yang terlalu rendah juga tidak baik. Kadar kolesterol total yang ideal adalah 140-200 mg/dL atau kurang. Jika kadar kolesterol total mendekati 300 mg/dL, maka resiko terjadinya serangan jantung adalah lebih dari 2 kali⁽²²⁾.

Berdasarkan literatur, beberapa zat aktif yang terkandung di dalam daun dan buah mahkota dewa antara lain alkaloid, terpenoid, saponin, lignan (polifenol) dan flavonoid⁽¹²⁾. Hasil identifikasi lainnya menyebutkan bahwa kandungan kimia dari buah mahkota dewa terdiri dari glikosida fenolik, seperti mahkotasida, mangiferin, kaempferol-3-O-β-d glukosida, asam dodekanoat, asam palmitat, etil stearat, sukrosa⁽¹³⁾, asam oleat, asam linoleat, asam linolenat, steroid (sitosterol, stigmasterol, sikloargentenol), benzofenon glikosida, karbohidrat (glukosa)⁽¹⁴⁾, dan lignan pinoresinol, lariciresinol, dan matairesinol⁽¹⁵⁾. Efek antioksidan dari beberapa zat aktif tersebut diduga dapat mempengaruhi metabolisme lipid atau dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah.

Penelitian terhadap tanaman ini secara empiris diyakini bermanfaat untuk mengontrol kolesterol. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan sebelumnya, ekstrak mahkota dewa pada dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dapat mencegah terjadinya *atherosclerosis*⁽⁹⁾. Pada penelitian sebelumnya belum dilakukan standardisasi ekstrak yang merupakan serangkaian parameter dan prosedur pengukuran yang hasilnya memenuhi syarat standar (kimia, biologi, dan farmasi), termasuk jaminan (batas-batas) stabilitas sebagai produk kefarmasian⁽¹⁹⁾.

C. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori tersebut maka dapat disusun suatu hipotesis bahwa ekstrak etanol mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) terstandar dapat digunakan sebagai upaya preventif hiperlipidemia.



BAB III METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

a. Bahan ekstraksi

Bahan baku utama (primer) yang diperlukan dalam penelitian ini adalah buah mahkota dewa yang diperoleh dari petani lokal Kulonprogo, Yogyakarta. Bahan lain (sekunder) yang diperlukan untuk proses ekstraksi buah adalah pelarut etanol 70%.

b. Bahan uji hiperlipidemia

Hewan uji yang digunakan adalah 25 ekor mencit jantan galur Swiss umur 1½ bulan dengan bobot badan 20 – 30 gram yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT – UNIT 4) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta (lampiran 2) dan diberi minum *ad libitum*, poloxamer, reagen kolesterol dan trigliserida, aquades, obat simvastatin, *eppendorf*, spuit oral, spuit injeksi, Microtip (*yellow* dan *blue* tip).

2. Alat

a. Alat ekstraksi

Peralatan yang diperlukan untuk ekstraksi adalah seperangkat alat maserasi serta *rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak kental.

b. Alat uji herbal terstandar

Alat yang digunakan yaitu KLT, *viscometer Brookfield*, dan *Moisture Balancer HB43*

c. Alat uji hiperlipidemia

Alat- alat yang digunakan untuk uji ini adalah timbangan hewan (EK-1200A AND), timbangan analitik bahan (Metler Toledo type 303), *sentrifuge* (Heraeus-Sepatech), kertas timbang, vortex (Maxi-mix, Thermolyne), spektrofotometer uv-vis (Hitachi u-280), kandang mencit, alat- alat gelas (labu takar, gelas beker, gelas ukur, pipet).

B. Cara Kerja

1. Preparasi ekstrak

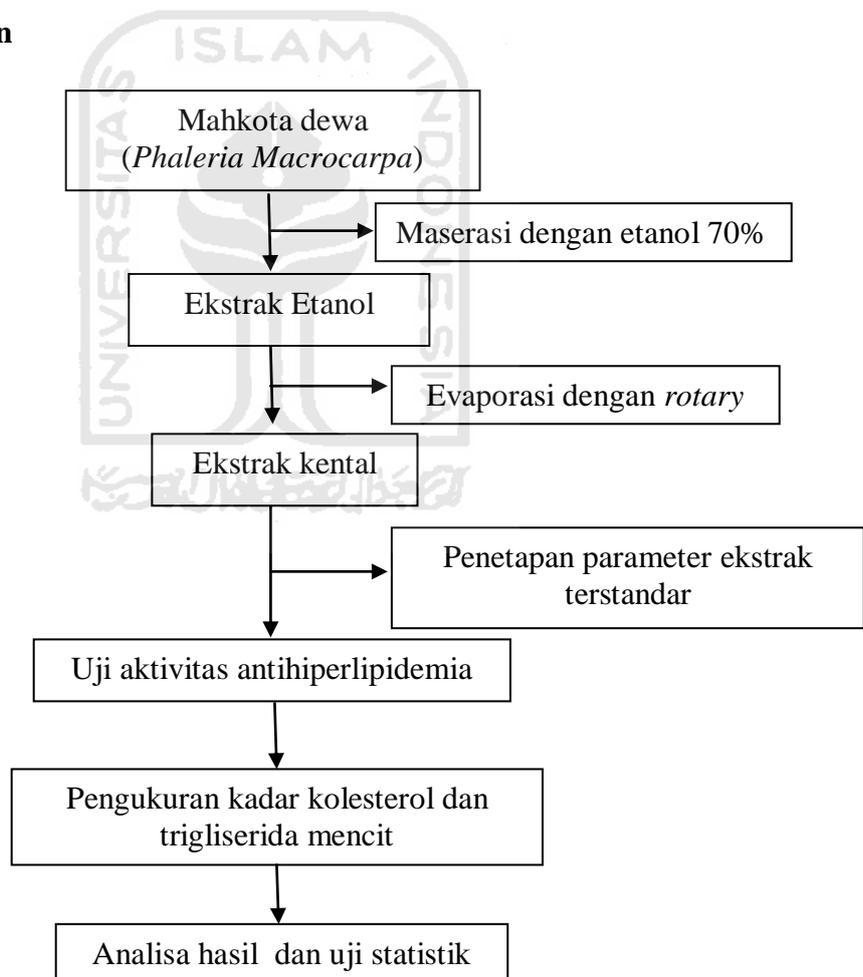
a. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman *Phaleria Macrocarpa* (Scheff.) Boerl. bertempat di Laboratorium Biologi Farmasi, Jurusan Farmasi, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

b. Penyiapan serbuk mahkota dewa

Buah matang mahkota dewa yang dipilih secara acak dicuci dengan air mengalir sehingga bersih dari kotoran dan debu. Bahan yang telah bersih diiris dan bijinya disisihkan, kemudian dikeringkan dalam lemari pengering suhu 45°C. Bahan yang sudah kering, diserbuk dengan menggunakan blender.

2. Skema penelitian



Gambar 10. Alur penelitian

3. Jalannya penelitian

a. Penetapan parameter ekstrak terstandar

1) Uji organoleptis.

Pengamatan secara visual penggunaan pancaindera mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa.

2) Uji kadar air

Uji kadar air dalam penelitian ini menggunakan alat *Moisture Balancer HB43* yang telah dikalibrasi. Ekstrak dengan berat ± 500 mg dimasukkan dalam alat sampai tanda persentase menunjukkan hasil konstan.

3) Uji kekentalan

Uji kekentalan dilakukan dengan menggunakan *viscometer Brookfield*.

4) Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Uji menggunakan KLT pada ekstrak mahkota dewa dalam penelitian ini untuk mengetahui adanya senyawa aktif flavonoid. Cara yang dilakukan adalah dengan menimbang sampel sebanyak 50 mg, dimasukkan dalam labu lalu dihidrolisis dengan asam sulfat 2 N selama 30 menit. Setelah didinginkan lalu ditambah dietileter, diekstraksi dengan vortex lalu disentrifuge. Kemudian diambil fase eter dan dievaporasi menggunakan gas nitrogen. Sampel sebanyak 10 μ l ditotolkan pada plate silika disertakan senyawa pembanding. Plat dimasukkan dalam *chamber* jenuh fase gerak etil asetat:asam formiat:air (100:11:11:27). Dielusi sampai batas atas lalu plate dikeringkan dibawah sinar UV, diuapi dengan amoniak. Semprot dengan vanilin asam klorida, dipanaskan 100°C selama 2 menit. Bercak dapat dilihat dibawah sinar UV 254 nm, 365 nm, dan sinar visibel.

b. Perhitungan Dosis

Dosis yang digunakan adalah 100 mg/kg BB, 200 mg/kg Pembuatan stok didasarkan pada dosis terendah yaitu 100 mg/kgBB dengan asumsi pemberian 0,2 mL untuk mencit 20-30 gram.

1) Dosis Ekstrak Mahkota dewa 100 mg/kgBB

i. Konversi Dosis

Konversi dosis burung puyuh (BB= 90 g)

$$100 \text{ mg/kgBB} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{9 \text{ mg}}{90 \text{ g}}$$

Konversi dosis burung puyuh ke dosis manusia (BB = 70 kg)

$$\frac{9 \text{ mg}}{90 \text{ g}} = \frac{7000 \text{ mg}}{70000 \text{ g}}$$

Konversi dosis manusia ke mencit (BB = 20 g)

$$\frac{7000 \text{ mg}}{70000 \text{ g}} \times 0,0026 = 18,2 \text{ mg} / 20 \text{ g}$$

ii. Perhitungan larutan stok untuk 2 hari

$$20 \text{ g} \sim 0,2 \text{ mL}$$

$$\text{Volume larutan} = 0,2 \text{ mL} \times 6 \text{ (mencit)} \times 2 \text{ (hari)}$$

$$= 2,4 \text{ mL}$$

$$\text{Larutan stok} = \frac{18,2 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} = \frac{218,4 \text{ mg}}{2,4 \text{ mL}} = \frac{910 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{0,910 \text{ g}}{10 \text{ mL}}$$

iii. Volume pemejanaan

Volume pemejanaan disesuaikan dengan berat badan mencit.

$$\text{Misal berat mencit } 25 \text{ g, maka } V_p = \frac{25 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,2 \text{ mL} = 0,25 \text{ mL}$$

2) Dosis Ekstrak Mahkota dewa 200 mg/kgBB

i. Konversi Dosis

Konversi dosis burung puyuh (BB= 90 g)

$$200 \text{ mg/kgBB} = \frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{18 \text{ mg}}{90 \text{ g}}$$

Konversi dosis burung puyuh ke dosis manusia (BB = 70 kg)

$$\frac{18 \text{ mg}}{90 \text{ g}} = \frac{14000 \text{ mg}}{70000 \text{ g}}$$

Konversi dosis manusia ke mencit (BB = 20 g)

$$\frac{14000 \text{ mg}}{70000 \text{ g}} \times 0,0026 = 36,4 \text{ mg} / 20 \text{ g}$$

ii. Perhitungan larutan stok untuk 2 hari

$$20 \text{ g} \sim 0,2 \text{ mL}$$

$$\text{Volume larutan} = 0,2 \text{ mL} \times 6 \text{ (mencit)} \times 2 \text{ (hari)}$$

$$= 2,4 \text{ mL}$$

$$\text{Larutan stok} = \frac{36,4 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} = \frac{436,8 \text{ mg}}{2,4 \text{ mL}} = \frac{1820 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{1,82 \text{ g}}{10 \text{ mL}}$$

iii. Volume pemejanaan

Volume pemejanaan disesuaikan dengan berat badan mencit.

$$\text{Misal berat mencit } 25 \text{ g, maka } V_p = \frac{25 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,2 \text{ mL} = 0,25 \text{ mL}$$

3) Dosis Simvastatin 10 mg/70 kgBB

i. Konversi Dosis

Konversi dosis manusia ke mencit (BB = 20 g)

$$\frac{10 \text{ mg}}{70 \text{ kgBB}} \times 0,0026 = 0,026 \text{ mg} / 20 \text{ g}$$

ii. Perhitungan larutan stok untuk 2 hari

$$\text{Volume larutan} = 0,2 \text{ mL} \times 6 \text{ (mencit)} \times 2 \text{ (hari)}$$

$$= 2,4 \text{ mL}$$

$$\text{Larutan stok} = \frac{0,026 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} = \frac{0,312 \text{ mg}}{2,4 \text{ mL}} = \frac{1,3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}}$$

Bobot per tablet = 100 mg

$$\text{Jadi larutan stok} = \frac{1,3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times \frac{100 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} = \frac{1300 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{1,3 \text{ g}}{10 \text{ mL}}$$

iii. Volume pemejanaan

Volume pemejanaan disesuaikan dengan berat badan mencit.

$$\text{Misal berat mencit } 25 \text{ g, maka } V_p = \frac{25 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,2 \text{ mL} = 0,25 \text{ mL}$$

4) Dosis Poloxamer

Dosis penelitian sebelumnya adalah 400 mg/kgBB

$$400 \text{ mg/kgBB} = \frac{400 \text{ mg}}{1000 \text{ g}}$$

$$= \frac{8 \text{ mg}}{20 \text{ g}}$$

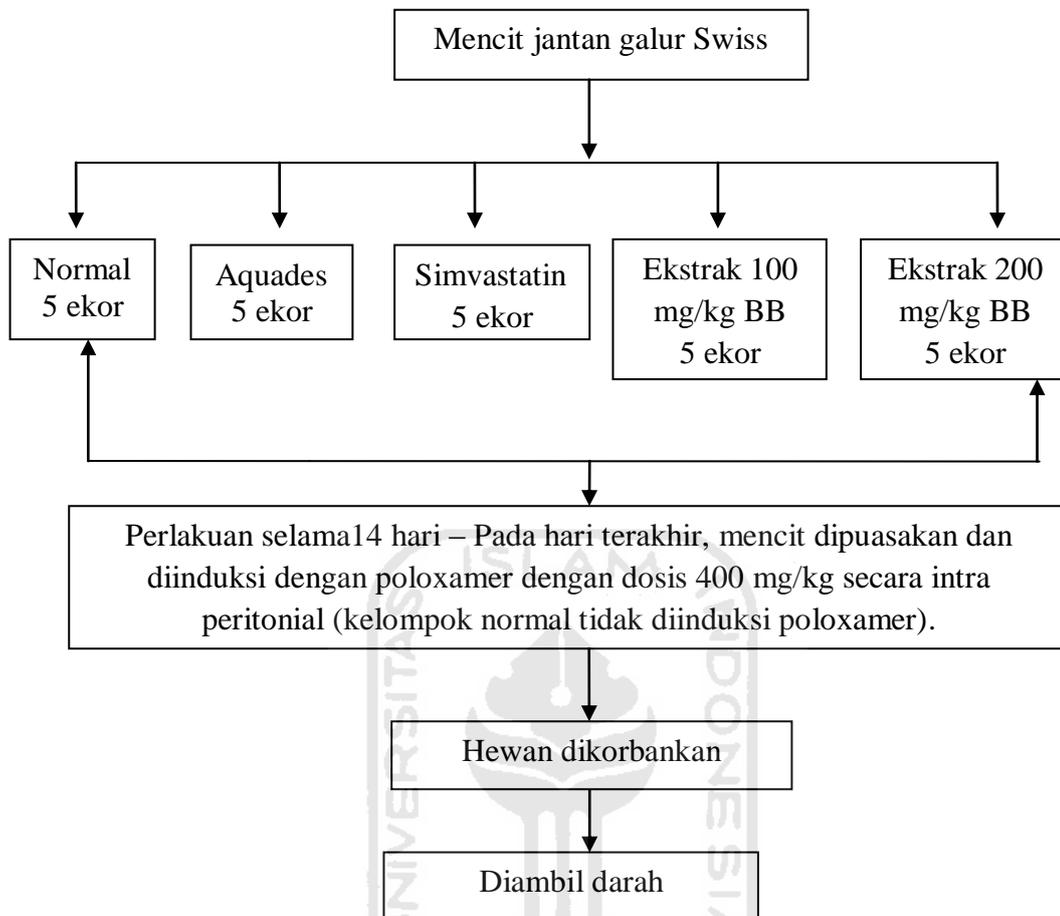
$$= \frac{8 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} = \frac{2 \text{ g}}{50 \text{ mL}}$$

Volume pemejanaan berdasar hasil optimasi = 0,5 mL

c. Perlakuan pada hewan uji

Mencit sejumlah 25 ekor dengan berat badan sekitar 20 g – 30 g dikondisikan pada suhu ruangan selama satu minggu untuk proses adaptasi dan diberi makan dan minum *ad libitum*. Mencit dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan sebagai berikut:

- a. Kelompok normal : mencit normal + aquadest
- b. Kelompok kontrol : mencit normal + aquadest
- c. Kelompok referen : mencit normal + simvastatin 10 mg/kgBB
- d. Kelompok perlakuan A : mencit normal + ekstrak mahkota dewa dosis 100 mg/kgBB
- e. Kelompok perlakuan B : mencit normal + ekstrak mahkota dewa dosis 200 mg/kgBB



Gambar 11. Perlakuan pada hewan uji

4. Metode analisis serum

Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit, dan diberi perlakuan secara per oral dengan senyawa uji selama 2 minggu. Pada hari terakhir, mencit dipuasakan dan diinduksi dengan poloxamer dengan dosis 400 mg/kgBB secara intraperitonial tetapi pada kelompok normal tidak diinduksi poloxamer. Setelah satu malam dipuasakan (18 jam) setelah induksi poloxamer, mencit dikorbankan dengan cara diberi eter overdosis kemudian dibedah bagian perutnya dan darah diambil dari vena lateral. Darah disentrifus pada 3000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan serum. Dari serum yang didapat digunakan untuk penetapan kadar total kolesterol dan trigliserida serum.

a. Penetapan kadar kolesterol

Pada tabung reaksi standar / referensi dan tabung reaksi sampel diisi dengan 10 µl serum ditambah 1000 µl reagen kolesterol. Pada tabung reaksi blanko diisi 1000 µl reagen kolesterol. Kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ atau pada 20°C sampai 25°C . Dalam 60 menit dibaca absorbansi dari larutan standar / referensi, sampel, dan blanko. Pembacaan absorbansi dilakukan pada spektrofotometri uv-vis pada panjang gelombang 546 nm (500-550 nm). Dari prosedur tersebut dapat diketahui konsentrasi kolesterol yaitu:

$$\text{Konsentrasi kolesterol} = \frac{\Delta \text{absorbansi sampel}}{\Delta \text{absorbansi standar}} \times \text{konsentrasi standar}$$

b. Penetapan kadar trigliserida

Pada tabung reaksi standar / referensi dan tabung reaksi sampel diisi dengan 10 µl serum ditambah 1000 µl reagen trigliserida. Pada tabung reaksi blanko diisi 1000 µl reagen trigliserida. Kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ atau pada 20°C sampai 25°C . Dalam 60 menit dibaca absorbansi dari larutan standar / referensi, sampel, dan blanko. Pembacaan absorbansi dilakukan pada spektrofotometri uv-vis pada panjang gelombang 546 nm (500-550 nm). Dari prosedur tersebut dapat diketahui konsentrasi kolesterol yaitu:

$$\text{Konsentrasi trigliserida} = \frac{\Delta \text{absorbansi sampel}}{\Delta \text{absorbansi standar}} \times \text{konsentrasi standar}$$

C. Analisis Hasil

Metode analisis data menggunakan perangkat lunak SPSS 16 pada sistem operasi Windows menggunakan uji *one way* Anova. Metode ini digunakan untuk mengetahui pengaruh masing-masing perlakuan terhadap kadar kolesterol total, dilanjutkan dengan *post-Hoc test*. Kadar kolesterol total serum dikatakan bermakna apabila nilai signifikansi yang dihasilkan kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) dan tidak memiliki perbedaan yang bermakna jika nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) dengan tingkat kepercayaan 95%.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) terstandar sebagai upaya preventif hiperlipidemia pada mencit yang diinduksi poloxamer. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) yang diperoleh Kulonprogo, Yogyakarta. Pengujian ini dilakukan pada mencit jantan galur Swiss. Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini mempunyai berat badan sekitar 20-30 gram yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT – UNIT 4) Universitas Gadjah Mada (lampiran 2). Penelitian ini juga telah memenuhi syarat etik dan mendapatkan surat kelaikan etik (*ethical clearance*) yang dikeluarkan oleh Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta (lampiran 3).

A. Determinasi Tanaman Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.)

Uji determinasi tanaman mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Islam Indonesia. Determinasi ini bertujuan untuk membuktikan dan memastikan kebenaran bahwa tanaman dalam penelitian ini adalah jenis tanaman mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.). Determinasi ini dilakukan dengan menggunakan seluruh bagian tanaman, kecuali bagian akarnya. Tanaman buah mahkota dewa dideterminasi menurut cara dalam buku “Flora of Java” sebagai acuan dalam menentukan kunci determinasi. Kunci determinasi yang diperoleh adalah sebagai berikut:

942.b – 941.b – 940.a – 939.a – 938.c – 937.a – 936.b – 935.b - 934.a –
936.b – 935.b - 934.a – 933.b – 877.d – 876.b – 875.b – 874.b - 872.b –
860.b – 858.b – 857.a – 856.b – 855.c – 854.a – 853.b – 852.b – 851.a –
837.c – 836.a – 835.a – 834.a – 833.b – 832.b – 831.b – 830.b – 829.b –
826.b – 825.b – 824.b – 822.b – 821.b – 820.b – 818.b – 816.b – 815.b –
812.b – 811.a – 810.b - 809.b – 808.c – 807.a - 806.b – 805.c – 804.b –
803.b – 802.a – 801.b – 800.b – 799.b – 27.b – 26.b – 25.b – 24.b – 23.b –

22.b – 21.b – 20.b – 19.b – 18.b -17.b – 14.b – 13.b – 12.b – 11.b – 10.b –
9.a – 8.b – 6.b – 5.b – 4.b – 3.b – 2.b -1.b

Dari hasil kunci determinasi diatas dapat dipastikan bahwa buah yang digunakan dalam penelitian ini merupakan buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.).



Gambar 12. Buah mahkota dewa

B. Ekstraksi Buah Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.)

Metode yang digunakan dalam ekstraksi ini adalah metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia kedalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif yang ada didalam sel dengan yang ada diluar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa berulang terjadi sehingga kesetimbangan antara larutan di luar sel dan di dalam sel⁽⁴⁴⁾. Buah mahkota dewa yang digunakan adalah dalam bentuk rajangan tipis yang telah dikeringkan. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terdapat didalam buah mahkota dewa sehingga mencegah pembusukan oleh bakteri. Selain itu, dengan pengeringan bahan akan lebih tahan lama sehingga dapat digunakan dalam waktu tertentu. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi ini adalah etanol 70%. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, meminimalkan pertumbuhan bakteri, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur

dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk pemekatan relatif lebih sedikit⁽⁴⁴⁾.

Hasil ekstraksi didapatkan ekstrak kental berwarna coklat pekat seperti yang disajikan pada gambar 3. Rendemen yang dihasilkan dalam penelitian ini adalah 27,17% artinya dalam 100 gram serbuk kering buah mahkota dewa didapatkan 27,17 gram ekstrak kental. Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen berguna sebagai perbandingan perolehan ekstrak yang didapat, sehingga kita memperoleh data kebutuhan sampel.



Gambar 13. Serbuk kering mahkota dewa



Gambar 14. Ekstrak kental mahkota dewa / warna *dark skin*⁽⁴⁵⁾

C. Standardisasi Ekstrak Mahkota dewa

(*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.)

Standardisasi ekstrak dalam penelitian ini berupa pemaparan secara deskriptif yang bertujuan sebagai parameter untuk menjaga mutu ekstrak. Hasil standardisasi ekstrak mahkota dewa disajikan pada tabel 1.

Tabel I. Hasil standardisasi ekstrak mahkota dewa

Parameter standardisasi	Hasil
1. Organoleptik	warna = coklat pekat / <i>dark skin</i> ⁽⁴⁵⁾ bau = khas aromatik rasa = pahit bentuk = ekstrak kental
2. Kadar air	19,04 ± 1,21 %
3. Viskositas	10338 ± 0,01 cp
4. Kandungan senyawa aktif	flavonoid

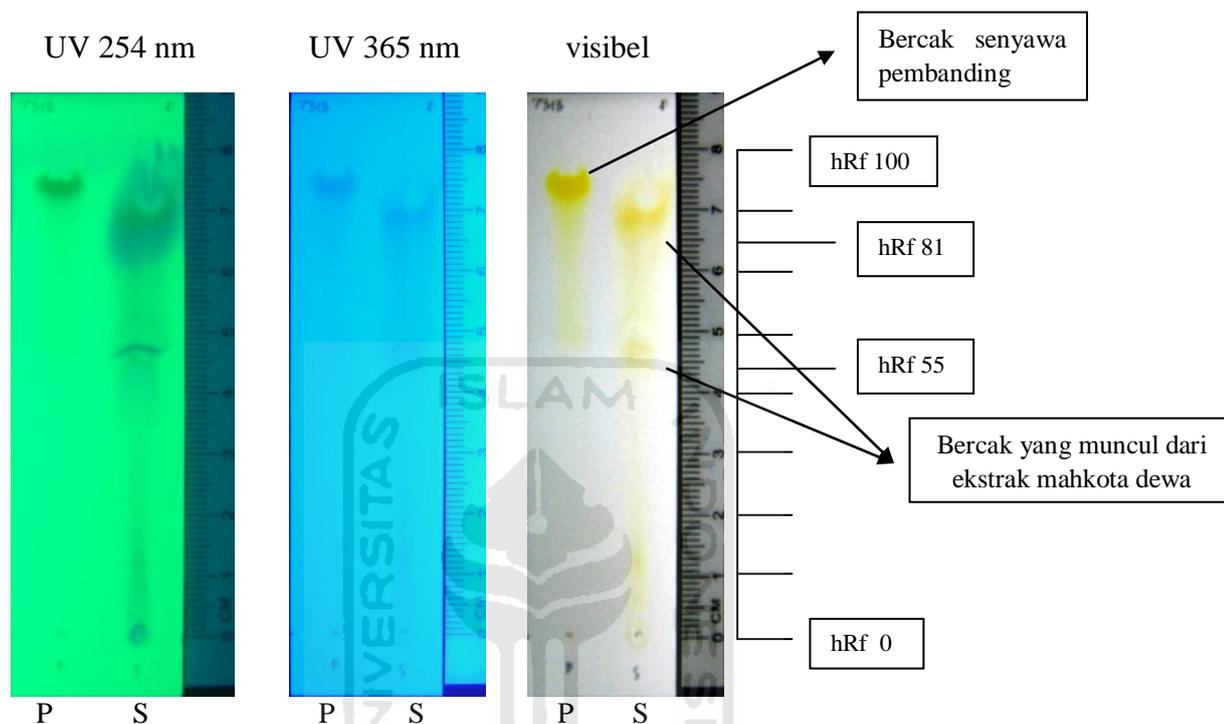
Uji yang pertama kali dilakukan adalah uji organoleptik. Tujuan dilakukannya uji organoleptik adalah untuk langkah pengenalan awal sederhana yang seobyektif mungkin. Pemeriksaan dilakukan dengan melihat secara langsung bagaimana sifat fisik dari ekstrak kental mahkota dewa yang dihasilkan. Dari hasil dapat diketahui bahwa ekstrak mahkota dewa mempunyai bentuk berupa ekstrak kental dengan warna ekstrak *dark skin*⁽⁴⁵⁾ atau coklat pekat, dengan bau khas aromatik, dan memiliki rasa pahit.

Penetapan kadar air bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam bahan⁽⁴⁴⁾. Parameter penetapan kadar air dilakukan menggunakan alat *Moisture Balancer HB43*. Dari hasil penetapan kadar air terlihat bahwa dalam ekstrak mahkota dewa ini memiliki kadar air yang telah memenuhi syarat yaitu kurang dari 30%.

Untuk melihat kekentalan dari ekstrak mahkota dewa, digunakan rotor nomor S64 dengan kecepatan 50 rpm dihasilkan kekentalan rata – rata 10388 cp. Kekentalan ekstrak akan berpengaruh pada proses homogenitas. Semakin kental ekstrak yang digunakan maka akan semakin kuat ikatan antar partikelnya

Uji standardisasi ekstrak yang terakhir yaitu uji kandungan senyawa aktif. Uji kandungan senyawa aktif ekstrak buah mahkota dewa bertujuan untuk mengetahui dan memastikan apakah didalam ekstrak mahkota dewa ini terkandung senyawa flavonoid yang dicari. Uji ini dilakukan untuk memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram menggunakan data baku yang telah ditetapkan. Kandungan kimia ekstrak etanol buah mahkota dewa diuji menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang dilakukan di LPPT-UGM.

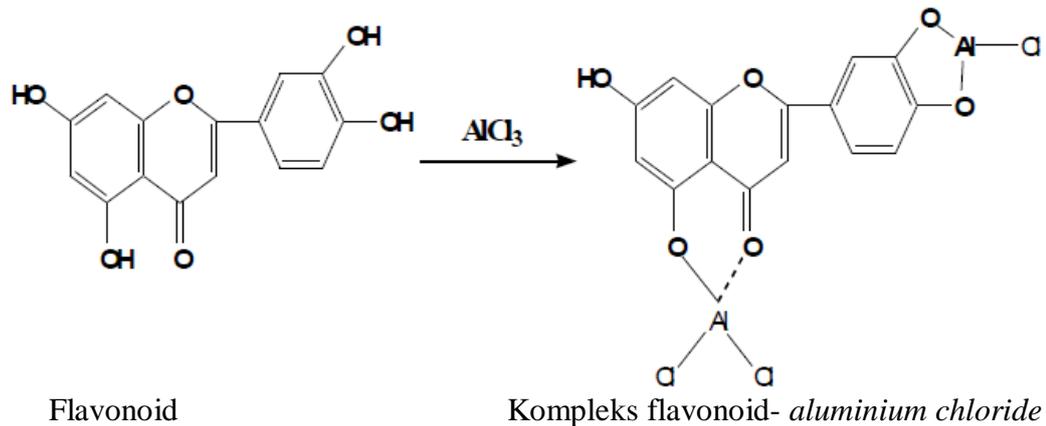
Untuk mendeteksi flavonoid, fase diam yang digunakan adalah silika Gel 60 F₂₅₄ sedangkan fase gerakya menggunakan etil asetat : metanol : asam formiat dengan perbandingan 95 : 5 : 0,5. Hasil yang didapat kemudian dideteksi menggunakan *aluminium chloride* dan diamati dengan sinar UV254 nm, 365 nm dan visibel.



Gambar 15. Hasil uji kualitatif flavonoid pada ekstrak buah mahkota dewa dengan menggunakan KLT

Keterangan	
Fase diam	: silika Gel 60 F ₂₅₄
Fase gerak	: etil asetat : metanol : asam formiat (95 : 5 : 0,5)
Pereaksi	: <i>aluminium chloride</i>
P	: bercak pembanding Quercetin
S	: sampel ekstrak mahkota dewa

Dari hasil KLT pada gambar 12 diperoleh warna spot flavonoid di bawah sinar *visible* berwarna kuning. Nilai Rf flavonoid yang terdeteksi yaitu 0,55 dengan hRf 55 dan Rf 0,81 dengan hRf 81. Bercak kuning yang dihasilkan pada plat KLT diatas disebabkan karena ada reaksi antara pereaksi *aluminium chloride* (AlCl₃) dengan golongan flavonoid sehingga membentuk kompleks antara gugus hidroksil dan keton yang bertetangga atau dengan gugus hidroksil yang saling bertetangga.



Gambar 16. Reaksi kompleks pembentukan Flavonoid-Aluminium Chloride ⁽⁵²⁾

Bercak flavonoid yang terdeteksi memiliki hRf 55 dan 81. Hasil pengamatan bercak ekstrak dan pembanding pada sinar UV 254 dan sinar UV 365 menunjukkan warna gelap, sedangkan pada sinar visibel menunjukkan warna kuning untuk bercak flavonoid maupun pembanding. Dari hasil uji kandungan senyawa aktif menggunakan KLT diketahui bahwa dalam ekstrak buah mahkota dewa positif mengandung flavonoid.

D. Optimasi dosis dan metode penelitian

Sebelum dilakukan penelitian maka dilakukan optimasi terlebih dahulu, meliputi optimasi metode dan dosis. Optimasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya reaksi yang ditimbulkan pada hewan uji dengan pemberian dosis ekstrak maupun obat sintetik selama waktu perlakuan 2 minggu. Hewan uji yang digunakan dalam optimasi ini adalah mencit. Sebanyak 15 ekor mencit dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok normal, kontrol, simvastatin, ekstrak mahkota dewa dosis 100 mg/kgBB, ekstrak mahkota dewa dosis 200 mg/kgBB. Pemberian obat atau ekstrak mahkota dewa dilakukan pada awal penelitian karena metode penelitian yang digunakan adalah secara preventif. Setelah itu induksi kolesterol dengan poloxamer 400 mg/kgBB dilakukan pada akhir penelitian. Dari hasil optimasi selama 2 minggu menunjukkan bahwa dosis dan metode yang digunakan aman untuk hewan uji sehingga dapat digunakan untuk penelitian.

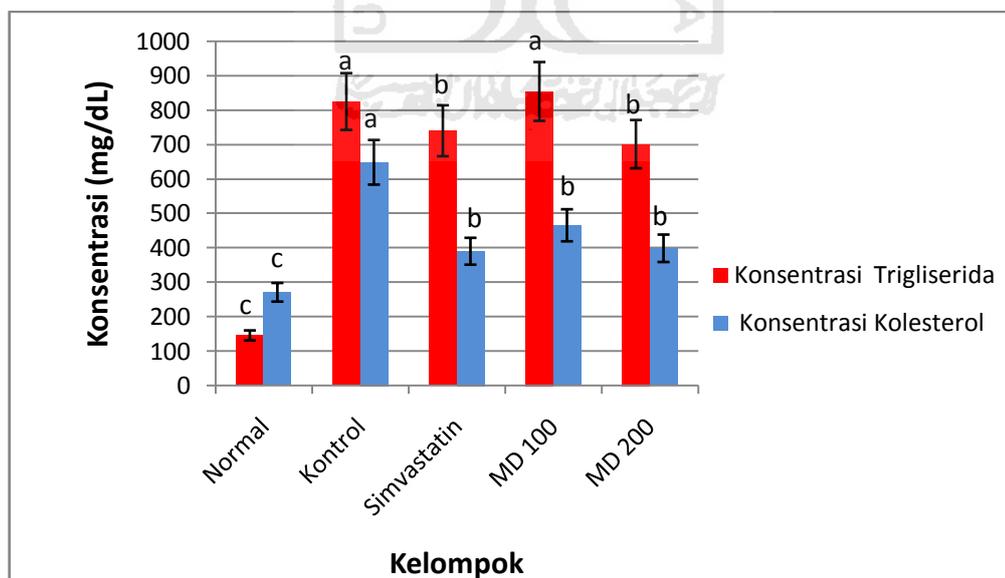
E. Uji Aktivitas Ekstrak Mahkota dewa Ditinjau dari Parameter Trigliserida dan Kolesterol

Terapi preventif pada penelitian ini dilakukan dengan pemberian induksi hiperlipidemia pada akhir penelitian. Setelah itu dilakukan analisis pada serum untuk mendapatkan data absorbansi trigliserida dan kolesterol yang kemudian dihitung menggunakan rumus untuk memperoleh konsentrasi keduanya. Hasil rata-rata konsentrasi trigliserida dapat diamati apada tabel dibawah ini.

Tabel II. Hasil uji aktivitas antihiperlipidemia kadar trigliserida dan kolesterol dalam darah (mg/dL)

Kelompok perlakuan	N	Kadar trigliserida (rata-rata \pm SD)	Kadar kolesterol (rata-rata \pm SD)
Normal	5	145,40 \pm 26,28 ^c	270,67 \pm 13,42 ^c
Kontrol	5	824,45 \pm 39,31 ^a	648,02 \pm 112,74 ^a
Simvastatin	5	739,65 \pm 54,29 ^b	389,78 \pm 36,06 ^b
Ekstrak mahkota dewa 100 mg/kgBB	5	853,71 \pm 9,68 ^a	465,17 \pm 7,37 ^b
Ekstrak mahkota dewa 200 mg/kgBB	5	700,79 \pm 24,45 ^b	398,34 \pm 39,34 ^b

*Indeks menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok lain

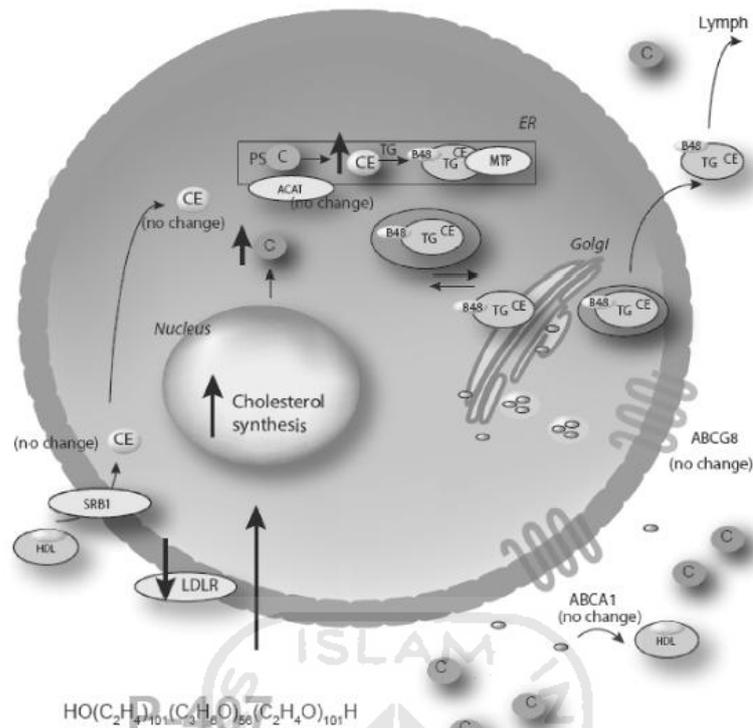


Gambar 17. Grafik rata-rata konsentrasi trigliserida dan kolesterol. Indeks menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok lain.

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan *one way Anova* ($p=0,05$) dapat diamati bahwa induksi poloxamer mampu meningkatkan kadar trigliserida dan kolesterol secara signifikan pada kelompok kontrol dibandingkan kelompok normal (tabel II dan gambar 17). Pemberian ekstrak mahkota dewa dosis 200 mg/kgBB terbukti mampu menurunkan kadar kolesterol maupun trigliserida pada mencit hiperlipidemia. Hal ini ditunjukkan dengan adanya perbedaan yang signifikan antara pemberian ekstrak mahkota dewa 200 mg/kgBB terhadap kelompok kontrol ($p<0,05$). Simvastatin 10 mg/kgBB dengan ekstrak mahkota dewa 200 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p>0,05$), tetapi ada perbedaan signifikan antara simvastatin 10 mg/kgBB dengan kelompok kontrol ($p<0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa simvastatin dosis 10 mg/kgBB memiliki kemampuan menurunkan kolesterol maupun trigliserida.

Pada pengukuran trigliserida, ekstrak mahkota dewa dengan dosis 100 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol, hal ini dapat diartikan bahwa dengan dosis 100 mg/kgBB mahkota dewa tidak dapat menurunkan kadar trigliserida. Hal yang berbeda ditunjukkan saat pengukuran kadar kolesterol, dari tabel II dapat diketahui bahwa adanya perbedaan yang signifikan antara ekstrak mahkota dewa 100 mg/kgBB terhadap kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak mahkota dewa dosis 100 mg/kgBB dapat menurunkan kolesterol tetapi tidak dapat menurunkan trigliserida pada mencit hiperlipidemia. Pada gambar 17 terlihat bahwa mahkota dewa dosis 100 mg/kgBB memiliki kadar trigliserida hampir sama dengan kelompok kontrol, sehingga tidak menunjukkan penurunan kadar trigliserida setelah pemberian ekstrak. Hal ini kemungkinan disebabkan kurangnya dosis ekstrak mahkota dewa 100 mg/kgBB karena pada dosis di atasnya, yaitu 200 mg/kgBB, ekstrak mahkota dewa terbukti mampu menurunkan kadar kolesterol maupun trigliserida.

Induksi hiperlipidemia menggunakan poloxamer 407 (P-407) yaitu suatu hidrofilik triblok kopolimer yang terdiri dari *polyoxyethylene* dan *polyoxypropylene*. Setelah pemberian poloxamer perubahan konsentrasi lipid dapat teramati di jaringan dan plasma yang melibatkan perubahan metabolisme lipid⁽⁴⁶⁾.



Gambar 18. Mekanisme Poloxamer-407 menginduksi hiperkolesterolemia. Pemberian P-407 menginduksi aktivitas hepatic *HMG-CoA reductase*, tidak ada aktivitas *cholesterol acyltransferase* (ACAT), namun reseptor LDL dapat ditekan secara signifikan⁽⁴⁷⁾.

Berdasarkan gambar 18 menunjukkan bahwa pemberian Poloxamer 407 pada mencit tidak merubah ekspresi hepatic dari *cholesterol acyltransferase* (ACAT). ACAT merupakan enzim yang merubah kolesterol bebas menjadi kolesterol ester untuk penyimpanan di intrasel. Melalui mekanisme kolesterolgenesis poloxamer dapat mengaktifkan enzim *HMG-CoA reductase* dan secara signifikan menekan ekspresi reseptor LDL yang pada akhirnya akan meningkatkan kadar kolesterol dalam plasma. 24 jam setelah pemberian Poloxamer 407 tidak menunjukkan penurunan kadar kolesterol dalam plasma hewan uji⁽⁴⁷⁾. Dari mekanisme tersebut terbukti induksi poloxamer pada penelitian ini berhasil meningkatkan kadar kolesterol dan trigliserida.

Berdasarkan gambar 6, simvastatin dapat menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida. Penggunaan obat simvastatin sebagai *reference* dalam penelitian ini dimaksudkan untuk menghambat aktivitas enzim *HMG-CoA reductase* yang teraktivasi oleh induksi poloxamer. Simvastatin merupakan obat golongan statin

yang memiliki mekanisme penurunan kolesterol dengan menghambat *HMG-CoA reductase*, yaitu enzim yang mengubah *HMG-CoA* menjadi asam mevalonat, prekursor kolesterol⁽⁴⁸⁾.

Ekstrak mahkota dewa telah dilakukan analisis secara kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis, terbukti positif mengandung flavonoid. Hampir semua flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Sel dan jaringan tubuh terus-menerus terancam oleh kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dan *reactive oxygen species* (ROS) yang terbentuk selama metabolisme oksigen normal atau dipicu oleh kerusakan secara eksogen. Kerusakan ini mengakibatkan pergeseran muatan sel, perubahan tekanan osmotik, sel mengembang lalu mati. Organisme hidup mengembangkan mekanisme pertahanan / antioksidan dari tubuhnya meliputi *superoxide dismutase*, *catalase*, dan *glutathione peroxidase* serta nonenzim seperti *glutathione*, asam askorbat, dan *α-tocopherol*. Mekanisme lain flavonoid sebagai antioksidan adalah sebagai berikut:

1. Menangkap radikal bebas secara langsung. Flavonoid teroksidasi oleh radikal, menjadi lebih stabil. Dengan kata lain, flavonoid menstabilkan *reactive oxygen species* (ROS) melalui reaksi dengan senyawa reaktif dari radikal. Reaktivitas yang tinggi dari hidroksil flavonoid, radikal dibuat menjadi tidak aktif, menurut persamaan berikut⁽⁴⁹⁾:



*keterangan: R• adalah radikal bebas dan O• adalah oksigen radikal bebas.

Dengan penghilangan radikal, flavonoid dapat menghambat oksidasi LDL sehingga dapat mencegah terjadinya *atherosclerosis*⁽⁵¹⁾.

2. Bereaksi dengan nitrit oksida (NO). Pelepasan nitrit oksida penting untuk mengatur dilatasi pembuluh darah, tetapi untuk konsentrasi yang lebih tinggi dapat mengakibatkan kerusakan oksidatif. Ketika flavonoid digunakan sebagai antioksidan maka radikal bebas akan ditangkap, tidak bereaksi lama dengan NO sehingga mengurangi kerusakan⁽⁵¹⁾.

3. Menghambat aktivitas *xanthine oxidase*. *Xanthine oxidase* adalah sumber oksigen radikal bebas. Dalam fase reperfusi *xanthine oxidase* bereaksi dengan oksigen, melepaskan superoksida radikal bebas. Flavonoid akan menghambat aktivitas *xanthine oxidase* sehingga mengurangi kerusakan oksidatif⁽⁵¹⁾.

4. Immobilisasi leukosit. Pada kondisi normal leukosit bergerak dengan bebas di dalam dinding endotel. Saat terjadi inflamasi dan iskemia, endotel melepaskan mediator dan faktor komplemen yang menyebabkan adhesi leukosit pada dinding endotel, sehingga leukosit mengalami immobilisasi kemudian menstimulus degranulasi neutrofil. Akibatnya, oksidan dan mediator inflamasi dilepaskan dan menyebabkan kerusakan jaringan. Flavonoid disini mengurangi jumlah leukosit yang mengalami immobilisasi⁽⁵¹⁾.

5. Interaksi dengan enzim lain. Flavonoid dapat mengurangi pelepasan peroksidase. Reduksi ini menghambat *reactive oxygen species* (ROS) oleh neutrofil dengan mengganggu aktivasi α_1 -antitrypsin. Efek flavonoid lainnya pada sistem enzim adalah menghambat metabolisme asam arakhidonat. Pelepasan asam arakhidonat merupakan awal respon inflamasi. Oleh karena itu, flavonoid dapat dikatakan sebagai antiinflamasi dan antitrombogenik⁽⁵¹⁾.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

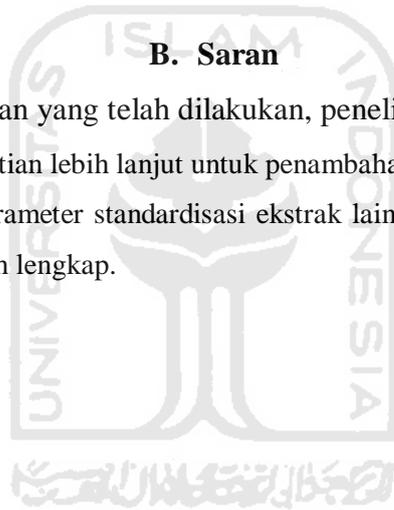
A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak buah mahkota dewa terstandar dosis 200 mg/kgBB mampu menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida secara signifikan ($p < 0,05$). Aktivitas berbeda ditunjukkan oleh ekstrak buah mahkota dewa dosis 100 mg/kgBB, yaitu mampu menurunkan kadar kolesterol secara signifikan ($p < 0,05$) tetapi tidak mampu menurunkan kadar trigliserida secara signifikan ($p > 0,05$).

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, peneliti menyarankan:

- 1) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk penambahan durasi perlakuan.
- 2) Perlu penambahan parameter standardisasi ekstrak lainnya agar informasi tentang ekstrak terstandar lebih lengkap.



DAFTAR PUSTAKA

- (1) Goodman, S. L., and Gilman, A., 2006, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th Ed, McGraw-Hill, New York, 35:1-8.
- (2) Anonim, 2011, Obesity and Overweight, available at <http://WHO.int> (diakses 10 Februari 2011).
- (3) Anonim, 2009, Obesitas Dan Kurang Aktivitas Fisik Menyumbang 30% Kanker, available at www.indonesia.go.id (diakses tanggal 27 Januari 2011).
- (4) Strong, K., Mathers, C., Leeder, S., Beaglehole, R., 2005, Preventing Chronic Diseases: How many lives can we save ?, *Lancet*, 366:1578-82.
- (5) Xie, W., Wang, W., Su, H., Xing, D., Cai, G., Du, L., 2007, *Hypolipidemic Mechanisms of Ananas comosus L. Leaves in Mice: Different From Fibrates but Similar to Statins*, 103, 267 – 274.
- (6) Anonim, 2010, Hiperlipidemia, available at <http://digilib.ubaya.ac.id> (diakses tanggal 10 Januari 2011).
- (7) Winarto, W. P., 2003, *Mahkota Dewa Budi Daya dan Pemanfaatan untuk Obat*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- (8) F. A., Ermilda, R. M., Widya, D. J., Rusdi, M., Netty, 2006, *Anti-Atherosclerotic Effect and Liver Toxicity of Ethanolic Extract of Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl Fruit on Japanese Quail*, 1-2.
- (9) Nurhayati, I., 2004, *Conservation of Asian-Native Medicinal Plants on the University Campus*, 1-2.
- (10) Gross, Myron, 2004, *Flavonoids and Cardiovascular Disease*, Molecular Epidemiology and Biomarker Research Laboratory, Department of Laboratory Medicine and Pathology, School of Medicine, Division of Epidemiology, School of Public Health, University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota, USA, 24.
- (11) Harmanto, N., 2003, *Conquering Disease in Unison with Mahkota Dewa Phaleria macrocarpa*, First edition, PT. Mahkotadewa Indonesia, Jakarta, 14.
- (12) Dalimartha, S., 2003, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3*, Puspa Swara, Jakarta.
- (13) Zhang, Y. B., Xu, X. J., Liu, H. M., 2006, Chemical Constituents from Mahkota dewa, *Journal of Asian Natural Products Research*, Vol. 8, No. 1–2, 119–123.
- (14) Simanjuntak, P., 2008, Identifikasi Senyawa Kimia dalam Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*), Thymelaceae, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. vol. 6, No. 1.
- (15) A., Saufi , 2008, *Stereochemistry of lignans in Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl.*, Germany, 63(1-2):13-6.
- (16) Harmanto, N., 2002, *Mahkota Dewa: Obat Pusaka Para Dewa*, Agro Media, Jakarta.
- (17) Harmanto, N., 2005, *Mahkota Dewa Obat Pusaka Para Dewa [A Medicine the Legacy of the Gods]*, 6th Edition, Agro Media Pustaka, Jakarta.

- (18) Ansel, H., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- (19) Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- (20) Sastrohamidjojo, H., 2002, *Kromatografi*, Edisi kedua, Liberty, Yogyakarta.
- (21) DiPiro, J. T., Talbert, R. T., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G., Posey, L. M., 2005, *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, Sixth Ed, McGraw-Hill Book, New York, 429-432.
- (22) Anonim, 2009, Kolesterol, available at <http://www.bit.lipi.go.id/> (diakses 10 Januari 2011).
- (23) Fayad, Z.A., Fuster, V., 2001, *Clinical Imaging of The High Risk or Vulnerable Atherosclerotic Plaque*, 305-316.
- (24) Fuster, V., Fayad, Z.A., Badimon J. J., 1999, Acute Coronary Syndrome: *Biology, Lancet* 353 (Suppl. 2) (1999), pp. SII5-SII9.
- (25) Guyton, A.C., and Hall, J.E., 2006, *Text Book of Medical Physiology*, Elsevier, Saunders.
- (26) Linder, M.C., 1992, *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme dengan Pemakaian secara Klinis*, UI Press, Jakarta, 61-66, 607-608.
- (27) Abegunde, D. O., Mathers, C. D., Adam, T., Ortegón, M., Strong, K., 2007, The Burden and Costs of Chronic Diseases in Low-Income and Middle-Income Countries, *Lancet*, 370:1929-38.
- (28) Anonim, 2004, *Preventing Chronic Diseases: A Vital Investment: WHO Global Report*, World Health Organization, Geneva.
- (29) Ezzati, M., 2004, *Comparative Quantification of Health Risks Global and Regional Burden of Disease Attributable to Selected Major Risk Factors*, World Health Organization, Geneva.
- (30) Yusuf, S., Hawken, S., Ôunpuu, S., Dans, T., Avezum, A., Lanas, F., 2004, Effect of Potentially Modifiable Risk Factors Associated with Myocardial Infarction in 52 Countries (The INTERHEART study): Case-Control Study. *Lancet*, 364:937-52.
- (31) Kamso, S., Purwastyastuti, Rumawas, P. S. Y., Lukito, W., 2005, Nutritional Status of Hyperlipidemics Elderly in Indonesia According to Body Mass Index (Study in Four Indonesian Big Cities), available at <http://www.lontar.ui.ac.id/opac/themes/libri2/detail.jsp?id=105706&lokasi=lokal> (diakses tanggal 27 Januari 2011).
- (32) Baigent, C., Keech, A., Kearney, P. M., Blackwell, L., Buck, G., Pollicino, C., 2005, Efficacy and Safety of Cholesterol-Lowering Treatment: Prospective Meta-Analysis of Data from 90,056 Participants in 14 Randomised Trials of Statins, *Lancet*, 366:1267-78.
- (33) Strong, K., Mathers, C., Leeder, S., Beaglehole, R., 2005, Preventing Chronic Diseases: How many lives can we save ?, *Lancet*, 366:1578-82.
- (34) Stancu, Camelia, 2001, Statins: mechanism of action and effect, *J.Cell.Mol.Med.* Vol 5, No 4.
- (35) Joo, W., Ryu, H. J., Oh, J. H., 2010, *The Influence of Sam-Chil-Geun (Panax Notoginseng) on the Serum Lipid Levels and Inflammations of Rats with Hyperlipidemia Induced by Poloxamer-407*, 504.
- (36) Arissandi, S. N. D., 2009, Pengaruh Basis Gel Poloxamer dan Karbopol terhadap Penyembuhan Luka Bakar Gel Ekstrak Etanol Umbi Wortel

- (*Daucus carota* L.) pada Kulit Punggung Kelinci, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- (37) Rowe, R. C., 2006, *The Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, UK.
 - (38) Wasan, K., M., Subramanian, R., Kwong, M., Poloxamer 407-mediated Alterations in The Activities of Enzymes Regulating Lipid Metabolism in Rats, *J Pharm Pharmaceut Sci*, 189.
 - (39) Leon, C., Wasan, K., M., Sachs-Barrable, K., Johnston, T. P., 2006, Acute P-407 Administration to Mice Causes Hypercholesterolemia by Inhibiting Cholesterologenesis and Down Regulating Low Density Lipoprotein Receptor Expressions, *Pharmaceutical Research*, 23 (7):1597-1607.
 - (40) Wout, Z., Pec, A., Maggiore, J., Williams, R., Palicharla, P., Johnston, T. P., 1992, *Poloxamer 407-Mediated Changes in Plasma Cholesterol and Triglycerides Following Intraperitoneal Injections of Rats*, 46:192.
 - (41) Palmer, K. W., Emeson, E. E., Johnston, P. T., 1997, *Poloxamer 407-Induced Atherogenesis in The C57BL: 6 Mouse*, 116.
 - (42) Gandjar, G. I., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 240-241.
 - (43) Tietz, N. W., 1995, *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 130-131.
 - (44) Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, Hal 19, 21.
 - (45) C. S. McCamy, H. Marcus., 1976, "A Color-Rendition Chart", *Journal of Applied Photographic Engineering*, 2(3). 95–99.
 - (46) Johnston, T. P., 2004, The P-407-induced murine model of dosecontrolled hyperlipidemia and atherosclerosis: a review of findings to date. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 43.
 - (47) Leon, Carlos., 2006, Acute P-407 Administration to Mice Causes Hypercholesterolemia by Inducing Cholesterologenesis and Down-Regulating Low-Density Lipoprotein Receptor Expression, *Pharmaceutical Research*, Vol. 23, No. 7
 - (48) A, Corsini., S, Bellosta., 1999, New insights into the pharmacodynamics and pharmacokinetic properties of statins, *Pharmacol. Ther.*, 84: 413-28.
 - (49) LG, Korkina., 1997, Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv Pharmacol.*, 439:175–82.
 - (50) EJ, Middleton., 1998, Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Adv Exp Med Biol*.
 - (51) Nijveldt, Robert J., 2001, Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications *Am J Clin Nutr* .,74:418–25.
 - (52) Rahayu, D.S., 2009, Antioxidant Activity Determination in the Extract Ethanol Ketapang's Leave (*Terminalia catappa* L) by 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) Method, available at <http://eprints.undip.ac.id> (diakses tanggal 1 Agustus 2011).