

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enzim 3-hidroksi 3-metilglutaril-KoA reduktase merupakan enzim yang berperan dalam pembentukan kolesterol. Kolesterol merupakan substansi penting yang berada dalam seluruh tubuh. Substansi ini berfungsi dalam pembentukan membran sel, pembentukan asam empedu, hormon steroid dan vitamin D. Kadar total kolesterol normal pada manusia adalah kurang dari 200 mg/dL dan kadar *low-density lipoprotein cholesterol* (LDL-C) yang diinginkan adalah kurang dari 130 mg/dL dan optimal di bawah 100 mg/dL (National Cholesterol Education Program, 2001). Jika kadar kolesterol total melebihi batas maksimumnya (>200 mg/dL) maka menimbulkan penyakit hiperkolesterolemia. Hiperkolesterolemia merupakan salah satu tanda adanya gangguan metabolisme lipid yang disebabkan karena adanya peningkatan kadar kolesterol terutama LDL-C pada darah (National Cholesterol Education Program, 2001; Malloy *and* Kane, 2012).

Berdasarkan laporan WHO (2002), tercatat sebanyak 4,4 juta atau sebesar 7,9% dari jumlah total kematian di usia muda disebabkan karena hiperkolesterol. Berdasarkan data Riskesdas pada tahun 2013, proporsi kolesterol abnormal pada penduduk usia ≥ 15 tahun di Indonesia sebanyak 35,9%. Penilaian berdasarkan jenis kelamin didapatkan bahwa kadar kolesterol di atas normal pada perempuan lebih tinggi dibandingkan pada laki-laki, perempuan sebesar 39,6% dan laki-laki sebesar 30,0%. Selain itu penilaian berdasarkan tempat tinggal didapatkan bahwa kadar kolesterol di atas normal pada penduduk perkotaan lebih besar daripada penduduk pedesaan, penduduk perkotaan sebesar 39,5% dan penduduk pedesaan sebesar 32,1%. Persentase penduduk Indonesia dengan *high-density*

lipoprotein cholesterol (HDL-C) rendah 22,9% dan LDL-C tinggi 15,9% (Kementerian Kesehatan RI, 2013).

Hiperkolesterolemia jika tidak ditangani dengan baik maka akan menjadi faktor resiko penyakit lain, misalnya aterosklerosis yang dapat berujung stroke dan penyakit jantung koroner. Aterosklerosis merupakan penyakit arteri besar yang terdapat plak ateroma yang mengandung endapan kolesterol dalam jumlah besar (Guyton *and* Hall, 2006). Peningkatan level LDL-C umumnya dapat meningkatkan resiko penyakit jantung koroner. Berdasarkan penelitian oleh *Lipid Research Clinics Program* (1984), penurunan level kolesterol total dan LDL-C dapat menurunkan resiko terjadinya penyakit jantung koroner, sehingga untuk menghindari terjadinya penyakit yang lebih parah maka hiperkolesterolemia harus diobati.

Pengobatan hiperkolesterolemia dapat dilakukan dengan mengontrol gaya hidup seperti diet, berolahraga, mengurangi konsumsi rokok, dan mengontrol makanan yang dikonsumsi. Namun, pada kolesterol yang tinggi perubahan gaya hidup kurang dapat menurunkan LDL-C sehingga harus dibantu dengan mengkonsumsi obat. Ada beberapa macam obat sintesis yang digunakan untuk mengobati hiperkolesterolemia, di antaranya adalah statin atau 3-hidroksi-3-metilglutaril-KoA reduktase (HMGR) inhibitor, *bile acid sequestrant*, asam nikotinat, asam fibrat, *cholesterol absorption inhibitor*, dan *omega-3 fatty acids* (Sando, 2015).

Statin merupakan obat yang sering digunakan dalam pengobatan hiperkolesterolemia dengan menghambat enzim 3-hidroksi-3-metilglutaril-KoA reduktase (HMGR). Penghambatan terhadap enzim tersebut dapat menurunkan jumlah kolesterol. Enzim HMGR berperan sebagai katalisator dalam pembentukan asam mevalonat dari 3-hidroksi-3-metilglutaril-KoA (HMG-KoA) yang diperlukan untuk proses pembentukan kolesterol. Namun, jalur pembentukan mevalonat tersebut tidak hanya berperan dalam

pembentukan sterol saja. Jalur mevalonat juga berperan dalam biosintesis nonsterol isoprenoid yang dibutuhkan oleh sel tubuh. Mekanisme kerja obat statin dapat mengakibatkan efek samping, seperti kelemahan otot rangka, rabdomiolisis, peningkatan aktivitas aminotransferase, peningkatan minor aktivitas keratin kinase, sakit kepala, gangguan saraf, gangguan otot (kesulitan berjalan, inflamasi miopati (dermatomiositis dan polimiositis), *Myasthenia Gravis* (MG), *Rippling Muscle Disease*, Guillain Barre (GB) atau Sindrom GB-like, tendinopathy, kekakuan bahu, Sindrom *Amyotrophic Lateral Sclerosis* (ALS), kehilangan kognitif, neuropati, disfungsi pankreas dan hati, dan disfungsi seksual (Golomb and Evans, 2008; Malloy and Kane, 2012). Pengobatan alternatif menggunakan obat herbal merupakan salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk menghindari terjadinya efek samping.

Indonesia merupakan negara dengan keragaman hayati urutan terkaya kedua di dunia setelah Brazilia. Ada 30.000 spesies tumbuhan yang hidup di kepulauan Indonesia, di mana sekurang-kurangnya 9.600 spesies tumbuhan berkhasiat sebagai obat dan kurang lebih 300 spesies digunakan sebagai bahan obat tradisional (Depkes RI, 2007). Salah satu tumbuhan yang sering digunakan adalah kunyit. Kunyit (*Curcuma longa*) dapat digunakan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimitagenik, antimikroba, dan antikanker (Hewlings and Kalman, 2017). Kunyit digunakan dalam terapi anemia, aterosklerosis, diabetes, edema, hemoroid, hepatitis, histeria, gangguan pencernaan, inflamasi, penyakit kulit, penyakit saluran kencing, luka, dan penyembuhan memar, psoriasis, anoreksia, batuk, gangguan hati, rematik, dan sinusitis (Chattopadhyay *et al.*, 2015).

Kunyit merupakan tanaman yang sering digunakan sebagai bumbu makanan dalam kehidupan sehari-hari. Bagian yang sering digunakan dalam pengobatan adalah rimpang kunyit. Rimpang kunyit mengandung metabolit primer yang terdiri dari lemak (5,1%), protein (6,3%), karbohidrat (69,4%),

dan berbagai senyawa metabolit sekunder. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang banyak terdapat pada kunyit antara lain ar-turmeron (20,50%), β -seskuifelandren (5,20%), 2-metoksi-4-vinilfenol (4,32%), cis- β -elemenon (3,98%), isolongifolol (2,83%), gerani-*p*-kumen (2,77%), β -turmeron (2,58%), β -kurkumen (2,50%), β -vatirenen (2,37%), β -karyofilen (2,27%), α -kurkumen (2,24%), furanodien (2,23%), γ -kurkumen (2,22%), α -turmeron (1,84%), dan α -sedren (1,80%), dan senyawa lain yang berada dalam jumlah kecil. Pada kunyit terdapat kurkuminoid (3-4%) yang memberikan warna kuning, yang terdiri dari kurkumin (94%), bisdemetoksikurkmin (6%) dan demetoksikurkumin (0,3%) (Chattopadhyay *et al.*, 2015; Abdel-Lateef *et al.*, 2016). Selain itu kunyit juga mengandung flavonoid seperti quersetin, finesetin, dan myricetin, kaempferol, apigenin, dan luteolin (Lako *et al.*, 2007; Asif and Khodadadi, 2013).

Kurkumin memiliki aktivitas terapeutik sebagai antineoplastik, antiangiogenik, anti-apoptitik, sitotoksik, antitrombotik, immunomodulator, menyembuhkan luka, antistress, antilitogenik, antidiabetik, antimitagenik, antioksidan, antikarsinogenik, antitumorigenik, antiarthritis, antiinflamasi, antikoagulan, antifertilitas, antibakteri, antifungi, antiprotozoal, antivirus, antifibrotik, antivenom dan antiulcer, serta digunakan untuk pengobatan hipertensi, hiperkolesterolemia dan HIV (Abbasi *et al.*, 2012; Chattopadhyay *et al.*, 2015; Nisar *et al.*, 2015).

Penelitian sebelumnya telah dilakukan oleh Jung *et al.* (2015), mengenai efek berbagai jenis ekstrak *Curcuma longa* dan daun *Nelumbo nucifera* terhadap hiperkolesterolemia dengan 2 metode pengujian, yaitu *in vitro* dan *in vivo*. Metode *in vitro* dilakukan dengan menggunakan kultur sel sedangkan pada metode *in vivo* digunakan serum dari tikus yang diberi *high cholesterol diet* (HCD) bersama dengan ekstrak secara per oral. Hasil *in vitro* menunjukkan variasi dosis kedua ekstrak dapat menghambat akumulasi lipid

sehingga menekan kandungan total kolesterol, yang memiliki aktivitas terbesar adalah ekstrak etanol *Nelumbo nucifera* 20% dan ekstrak air *Curcuma longa*. Tikus yang hanya diberikan HCD secara per oral (kontrol) memiliki total kolesterol serum 161% dan LDL-C 1021% lebih besar dibandingkan diet normal. Ekstrak air kunyit dengan dosis 100 mg/kg/hari dan 300 mg/kg/hari berturut-turut dapat menurunkan total kolesterol serum 16,74% dan 25%, LDL-C 5,9% dan 28,5%, trigliserida 8% dan 9,7%, serta meningkatkan HDL-C 15,63% dan 12,97% dibandingkan dengan tikus kontrol. Ekstrak etanol *Nelumbo nucifera* dengan dosis 100 mg/kg/hari dan 300 mg/kg/hari berturut-turut dapat menurunkan total kolesterol serum 6% dan 15,87%, LDL-C 5,19% dan 14,24%, trigliserida 13,9% dan 24,12%, serta meningkatkan HDL-C 14,27% dan 20,17% dibandingkan tikus kontrol. Kombinasi keduanya pada dosis 100 mg/kg/hari dan 300 mg/kg/hari berturut-turut menurunkan total kolesterol serum 32,72% dan 21,39%, LDL-C 35,33% and 34,34%, trigliserida 19,52% dan 3,57%, serta meningkatkan HDL-C 14,11% dan 30,03% dibandingkan tikus kontrol. Dari hasil penelitian tersebut, didapatkan ekstrak air kunyit dapat menurunkan total kolesterol dan LDL-C lebih besar dibandingkan ekstrak etanol *Nelumbo nucifera*. Kombinasi kedua tanaman tersebut dapat menurunkan kolesterol lebih besar (Jung *et al.*, 2015). Namun demikian, belum ada laporan mengenai hasil pengujian yang menyatakan IC₅₀ ekstrak air rimpang kunyit terhadap enzim HMGR secara *in vitro*.

Kandungan rimpang kunyit, yaitu kurkumin dan flavonoid (myricetin), yang termasuk dalam polifenol telah dibuktikan berperan sebagai inhibitor enzim HMGR dengan metode skrining virtual berbasis struktur dan menunjukkan kurkumin memiliki IC₅₀ 4,3 µM (Islam *et al.*, 2015; Lin *et al.*, 2015). Senyawa polifenol yang terdapat pada kulit buah anggur dan *Moringa oleifera* L. telah diuji secara *in vitro* dapat menghambat

enzim tersebut (Ademosun *et al.*, 2015; Reddy, Ahmed, and Urooj, 2012). Enzim HMGR dihambat oleh senyawa polifenol pada terminal -COOH asam amino (Islam *et al.*, 2015). Oleh karena itu, ekstrak kunyit yang mengandung senyawa polifenol diduga juga akan menurunkan kolesterol dengan mekanisme menghambat enzim HMGR. Berdasarkan dugaan tersebut maka akan dilakukan penelitian mengenai uji daya inhibisi aktivitas ekstrak air rimpang kunyit terhadap enzim HMGR. Selain itu, pada penelitian ini juga diuji jumlah fenol dan kurkumin yang terdapat pada ekstrak air rimpang kunyit. Jumlah fenol dalam ekstrak diuji dengan metode kolorimetri menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis sedangkan jumlah kurkumin menggunakan KLT-Densitometer. Penentuan jumlah fenol dan kurkumin dilakukan untuk menunjukkan adanya korelasi antara jumlah fenol dan kurkumin yang terdapat dalam ekstrak terhadap daya inhibisi ekstrak air rimpang kunyit.

Ekstrak air rimpang kunyit didapatkan dengan metode digesti, yaitu modifikasi metode maserasi dengan pemanasan pada suhu 40-50°C (Dirjen POM, 2000; WHO, 2017). Pelarut yang digunakan adalah pelarut air dikarenakan air merupakan pelarut yang aman, murah, ramah lingkungan, dan pelarut yang sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Air berupa pelarut yang bersifat polar sehingga sulit untuk melarutkan senyawa yang non-polar. Kurkumin merupakan senyawa polifenol yang bersifat hidrofobik sehingga sukar larut dalam air (Abbasi *et al.*, 2012). Namun, sifat solvabilitas air dapat dirubah dengan adanya perubahan suhu dan tekanan (Kiamahalleh *et al.*, 2016).

Pada ekstraksi yang akan dilakukan diberikan pemanasan rendah untuk meningkatkan kemampuan pelarut dalam menarik senyawa dengan tidak merusak senyawa yang diinginkan. Hal tersebut telah dibuktikan oleh Kurien *et al.* (2007), yaitu dengan adanya pemanasan pada ekstraksi akan

meningkatkan kelarutan kurkumin 12 kali lipat dibandingkan pelarut tanpa pemanasan. Namun, proses ekstraksi senyawa polifenol harus lebih diperhatikan sebab senyawa polifenol merupakan senyawa yang rentan terhadap oksidasi. Suhu yang terlalu tinggi dan lingkungan yang basa dapat menyebabkan terjadinya degradasi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Sogi *et al.* (2009) ditunjukkan bahwa suhu melebihi 60°C akan menyebabkan degradasi pada kurkumin sehingga menurunkan rendemen yang didapatkan. Berdasarkan hal tersebut, proses ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan suhu 45°C sehingga tidak akan merusak senyawa polifenol (kurkumin). Ekstrak yang didapatkan kemudian dikeringkan menggunakan *freeze-drying*, sebab *freeze-drying* mempertahankan kadar kandungan fenolik lebih tinggi dibandingkan pengeringan udara (Abascal, Ganora and Yarnell, 2004).

Ekstrak air rimpang kunyit kemudian diuji aktivitas hambatnya terhadap HMGR menggunakan metode *in vitro*. Pengujian dilakukan berdasarkan pengukuran spektrofotometrik dengan berkurangnya absorbansi pada 340 nm, yang menunjukkan oksidasi NADPH oleh katalisis HMGR dengan adanya substrat HMG-KoA (Sigma-Aldrich, 2015). Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi inhibitor yang dapat menghambat enzim sebesar 50%. Nilai IC₅₀ diperoleh dari penyelesaian persamaan rumus matematika hasil regresi polinomial pada kurva % inhibisi dan konsentrasi inhibitor.

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapa nilai IC₅₀ ekstrak air rimpang kunyit terhadap enzim HMG-KoA reduktase?
2. Bagaimana aktivitas hambat ekstrak air rimpang kunyit terhadap enzim HMG-KoA reduktase jika dibandingkan dengan simvastatin?

3. Apakah terdapat korelasi yang linier antara jumlah kurkumin dan jumlah fenol dengan aktivitas hambat ekstrak air rimpang kunyit terhadap enzim HMG-KoA reduktase?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan nilai IC_{50} ekstrak air rimpang kunyit terhadap HMG-KoA reduktase.
2. Membandingkan aktivitas hambat ekstrak air rimpang kunyit terhadap enzim HMG-KoA reduktase dengan simvastatin.
3. Mengetahui adanya korelasi yang linier antara jumlah kurkumin dan jumlah fenol dengan aktivitas hambat ekstrak air rimpang kunyit terhadap enzim HMG-KoA reduktase.

1.4 Hipotesis Penelitian

1. IC_{50} ekstrak air rimpang kunyit terhadap HMG-KoA reduktase dapat ditentukan.
2. Ekstrak air rimpang kunyit memiliki aktivitas hambat enzim HMG-KoA reduktase yang sama dengan simvastatin.
3. Adanya korelasi yang linier antara jumlah kurkumin dan jumlah fenol dengan aktivitas hambat ekstrak air rimpang kunyit terhadap enzim HMG-KoA reduktase.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah untuk melengkapi data dan memberikan informasi mengenai mekanisme ekstrak air rimpang kunyit sebagai antikolesterol dengan menghambat enzim HMG-KoA reduktase dan dapat digunakan untuk perkembangan obat tradisional berdasarkan landasan ilmiah.