

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit kardiovaskular dapat dikatakan merupakan penyakit yang banyak menyebabkan kematian di dunia. Di Indonesia, penyakit ini menduduki peringkat ketiga penyebab kematian (Bintanah, 2010). Penyakit kardiovaskular secara khusus menyumbang sekitar 40% penyebab kematian di sebagian besar negara di Eropa. *Scientific Committee ASMIHA* (2017) mengungkapkan bahwa penyakit kardiovaskular berperan dalam penyebab kematian sebesar 31% secara global. Pada tahun 2012 sekitar 17,5 juta penduduk di dunia meninggal karena penyakit kardiovaskular. Data WHO pada bulan Mei tahun 2014 mengungkapkan bahwa jumlah kasus kematian akibat penyakit jantung koroner di Indonesia telah mencapai 138.380 kasus atau 9,98% dari total kematian. Berdasarkan penelitian-penelitian epidemiologis diketahui bahwa faktor resiko seseorang menderita penyakit kardiovaskular merupakan perpaduan interaksi antara dua atau lebih faktor resiko. Faktor resiko penyakit kardiovaskular dibagi menjadi faktor resiko yang dapat dikendalikan (*modifiable risk factors*) seperti dislipidemia, hipertensi, merokok, penyakit *diabetes mellitus*, *stress* dan obesitas; serta faktor resiko yang tidak dapat dikendalikan (*non-modifiable risk factors*) seperti faktor keturunan, usia (semakin lanjut usia maka resiko semakin besar), dan jenis kelamin (pria memiliki resiko lebih tinggi daripada wanita, namun resiko pada wanita meningkat sesudah *menopause*). Pada penelitian yang dilakukan oleh Ismail dkk. (2003) pada laki-laki dan wanita usia 15-45 tahun di kawasan Asia Selatan disebutkan bahwa perokok aktif mempunyai resiko 3,82 kali lebih besar untuk menderita *myocard infarct* dibandingkan

kelompok kontrol, sedangkan pada kelompok dengan kenaikan serum kolesterol mempunyai resiko 1,67 kali lebih besar untuk menderita *myocard infarc* dibandingkan kelompok kontrol. Faktor resiko penyakit kardiovaskular yang sering terjadi yaitu disebabkan oleh tingginya kandungan kolesterol dalam serum (Hernawati dkk., 2013).

Kolesterol merupakan bagian dari lemak yang mana terdapat dua jenis kolesterol yaitu LDL (*Low Density Lipoprotein*) dan HDL (*High Density Lipoprotein*). Kolesterol diproduksi di hati dan memiliki peranan yang penting dalam tubuh. Peranan kolesterol dalam tubuh yaitu komponen utama dalam lipoprotein plasma dan membran plasma serta merupakan prekursor senyawa steroid. Sebagian besar hormon dalam tubuh kita merupakan steroid, maka dari itu kolesterol memiliki peranan yang cukup penting dalam tubuh (Malloy and Kane, 2015). Kolesterol dapat disintesis sendiri oleh tubuh, namun dapat pula berasal dari luar tubuh yaitu dari makanan yang dikonsumsi. Kadar kolesterol yang berlebihan dalam tubuh dapat menyebabkan terjadinya hiperkolesterolemia (Hernawati dkk., 2013). Hiperkolesterolemia merupakan salah satu faktor resiko terjadinya *atherosclerosis*. *Atherosclerosis* dapat didefinisikan sebagai gangguan inflamasi progresif dari dinding arteri yang ditandai dengan penumpukan *atheroma* yang kaya akan *lipid* hingga terjadi penumpukan yang cukup besar untuk merusak perfusi jaringan (Newby *et al.*, 2014). *Plaque atherosclerosis* ini dapat lepas dan berpindah tempat dalam aliran pembuluh darah. Ketika tiba di pembuluh darah yang lebih kecil, misalnya pembuluh darah jantung, *plaque* ini akan menyumbat pembuluh darah tersebut dan menyebabkan munculnya penyakit kardiovaskular (Libby, 2012).

Peningkatan kadar kolesterol dalam darah dapat disebabkan oleh sintesis kolesterol yang berlebihan, penyerapan kolesterol yang berlebihan serta konsumsi makanan tinggi lemak. Oleh sebab itu untuk menurunkan

kadar kolesterol yang tinggi dalam darah pada prinsipnya dilakukan dengan dua cara yaitu menghambat sintesis atau penyerapan kolesterol dalam tubuh serta mengurangi konsumsi makanan tinggi lemak (Hernawati dkk., 2013). Pada tahap sintesis kolesterol terdapat enzim yang berperan yaitu enzim *HMG-CoA Reductase*, (*3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A*). Oleh sebab itu untuk menekan sintesis kolesterol enzim ini harus dihambat oleh senyawa obat golongan penghambat enzim *HMG-CoA Reductase* (statin). Senyawa obat golongan ini akan menghambat aktivitas enzim *HMG-CoA Reductase* yang mengubah Asetil-CoA menjadi asam mevalonat. Pada proses sintesis kolesterol di hati, senyawa obat golongan statin dapat meningkatkan aktivitas reseptor LDL sehingga kecepatan metabolisme LDL oleh hati menjadi lebih cepat dan simpanan LDL plasma menjadi berkurang (Katzung, 2002). Selain senyawa obat golongan statin yang menghambat sintesis kolesterol, terdapat senyawa obat golongan lain yang bekerja dengan cara menghambat proses penyerapan kolesterol yang berlebih dalam tubuh sehingga kadar kolesterol dalam darah tidak mengalami peningkatan (Brenner and Steven, 2013).

Pengobatan untuk hiperkolesterolemia dapat dilakukan secara non-farmakologis maupun farmakologis. Usaha secara non-farmakologis dapat dilakukan dengan cara menjaga gaya hidup dan pola makan, mengurangi konsumsi makanan tinggi lemak. Namun usaha ini tidak membuat kadar kolesterol dalam darah turun. Perlu untuk mengonsumsi makanan tinggi serat untuk menghambat penyerapan kolesterol di usus halus (Hernawati dkk., 2013). Pengobatan secara farmakologis dilakukan dengan mengonsumsi obat-obatan. Ada beberapa golongan obat yang digunakan pada pengobatan hiperkolesterolemia, di antaranya yaitu golongan *HMG-CoA Reductase inhibitor* (statin), golongan *cholesterol absorption inhibitor* (ezetimibe), golongan fibrat (fenofibrate), golongan resin (colestyramine

dan colestipol), niacin, dan dari minyak ikan omega-3 (Sando, 2015). Obat antikoolesterol dapat digunakan secara tunggal atau kombinasi, tetapi harus disertai dengan diet rendah *lipid* terutama kolesterol dan lemak jenuh (Mycek *et al.*, 2001). Namun pada kenyataannya obat-obatan yang digunakan dalam jangka panjang dapat menimbulkan munculnya efek samping yang berbahaya. Sebagai contoh efek samping dari obat antihiperkolesterol golongan statin dapat menyebabkan gangguan pada hati dan terjadinya *rhabdomyolysis*. Hal ini dibuktikan pada penggunaan cerivastatin menyebabkan terjadinya gagal ginjal akut dan *rhabdomyolysis*. Oleh sebab itu seiring berkembangnya ilmu pengetahuan perlu dilakukan penelitian dari bahan alam yang dapat digunakan sebagai pengobatan untuk mengurangi efek samping yang ditimbulkan oleh obat-obatan tersebut.

Salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol adalah daun salam (*Syzygium polyanthum*). Daun salam memiliki kandungan kimia seperti saponin, triterpenoid, flavonoid, polifenol, alkaloid, tanin dan minyak atsiri yang terdiri dari sesquiterpen, lakton dan fenol. Pada penelitian yang dilakukan oleh Lajuck (2012), ditemukan bahwa pemberian kapsul yang mengandung 1 gram ekstrak daun salam dapat menurunkan kadar kolesterol total sebesar 20,6% dan menurunkan LDL sebesar 22% pada pemberian selama 15 hari. Penurunan yang terjadi lebih besar bila dibandingkan dengan kelompok yang diberikan statin dengan dosis 10 mg, hanya terjadi penurunan 10% pada kolesterol total dan 6,9% pada LDL. Berdasarkan penelitian ini, pemberian ekstrak daun salam memberi efek yang signifikan dalam menurunkan kadar kolesterol total dan LDL pada pria dan wanita usia 20-30 tahun. Penelitian lain yang dilakukan oleh Hardhani (2008) pada tikus *Sprague dawley* yang diberikan ekstrak daun salam sebanyak 0,72 gram/hari selama 15 hari dapat menurunkan kadar trigliserida serum tikus tersebut.

Seperti yang telah disebutkan dalam paragraf di atas bahwa daun salam memiliki kandungan kimia seperti saponin, triterpenoid, flavonoid, polifenol, alkaloid, tanin dan minyak atsiri yang terdiri dari sesquiterpen, lakton dan fenol. Dari beberapa kandungan kimia yang terdapat pada daun salam berdasarkan beberapa penelitian diketahui bahwa flavonoid, saponin dan steroid triterpenoid berperan secara signifikan dalam menurunkan kadar kolesterol. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Gabriela, Fatimawali dan Wehantouw (2013), terjadi penurunan kadar kolesterol pada hewan coba yang disebabkan karena pemberian ekstrak *Abelmoschus manihot* yang mengandung steroid. Hal yang sama juga terjadi pada studi yang dilakukan oleh Lee *et al.* (1999) flavonoid yang terdapat pada kulit jeruk bekerja menurunkan kadar kolesterol dari dalam darah dengan menghambat kerja enzim 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A reduktase (*HMG-CoA Reductase*). Selain itu saponin juga mampu bekerja dengan menurunkan kolesterol dengan cara berikatan dengan kolesterol dan menjadi bentuk yang tidak terserap di saluran pencernaan (Lipkin *et al.*, 1995).

Untuk dapat menarik senyawa kimia/ kandungan kimia berkhasiat dari suatu tanaman perlu dilakukan proses penyarian atau penarikan senyawa kimia berkhasiat dari tanaman tersebut atau sering dikenal dengan istilah proses ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan agar senyawa kimia berkhasiat dalam tanaman yang diinginkan dapat tertarik dari komponen lain yang merupakan senyawa kimia non berkhasiat. Pada prinsipnya sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel, 1989). Metode ekstraksi yang digunakan juga dapat mempengaruhi stabilitas dari kandungan kimia berkhasiat yang terdapat dalam tanaman. Pada daun salam

terdapat kandungan kimia flavonoid yang mampu menghambat kerja enzim *HMG-CoA Reductase*. Flavonoid memiliki kelarutan yang baik dalam etanol sehingga pada proses ekstraksi dapat digunakan etanol sebagai pelarut penyari. Flavonoid juga merupakan senyawa kimia yang tahan terhadap pemanasan sehingga dapat dilakukan ekstraksi dengan metode panas, salah satunya yaitu soxhletasi. Metode soxhletasi dapat dipilih untuk mengekstraksi flavonoid karena membutuhkan pelarut yang sedikit. Metode soxhletasi tidak memerlukan pelarut dalam jumlah banyak karena pelarut yang menguap karena pemanasan akan mengalami pendinginan dan dapat diperoleh kembali pelarutnya (Harborne, 1987). Penyarian terjadi berulang-ulang sehingga simplisia terus menerus kontak dengan pelarut dan zat yang tersari didalam pelarut lebih banyak (Voigt, 1995). Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Mokoginta, Runtunewe dan Wehantow (2013) terhadap tanaman yang mengandung golongan flavonoid, metode ekstraksi dengan pemanasan mampu meningkatkan rendemen dari ekstrak yang mengandung flavonoid. Dengan demikian metode ekstraksi cara panas mampu memberikan kuantitas flavonoid yang tersari menjadi lebih banyak. Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Aisyah, Rasdiansyah dan Muhaimin (2014) ditunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari ekstrak tumbuhan yang diekstraksi dengan menggunakan pemanasan lebih tinggi daripada tanpa pemanasan. Hal tersebut disebabkan karena pemanasan dapat meningkatkan kemampuan untuk menyari senyawa-senyawa yang tidak larut dalam suhu kamar, sehingga aktivitas penarikan senyawa lebih maksimal (Harborne, 1996).

Telah banyak penelitian yang mengkaji efek dari ekstrak daun salam secara *in vivo* pada hewan coba. Hasil yang diperoleh dari penelitian-penelitian tersebut secara *in vivo* telah membuktikan bahwa ekstrak daun salam dapat menurunkan kadar kolesterol pada kondisi hiperkolesterolemia.

Berdasarkan pengetahuan yang didapat dari hasil penelitian tersebut maka penelitian ini dimaksudkan untuk melihat potensi dari ekstrak etanol daun salam hasil soxhletasi pada kondisi hiperkolesterolemia secara *in vitro* dengan menggunakan pengukuran secara enzimatik dengan enzim *HMG-CoA Reductase*. Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan bahwa kandungan kimia berkhasiat yang terdapat pada daun salam secara efektif mampu menghambat enzim *HMG-CoA Reductase*. Hasil dari pengukuran daya inhibisi ekstrak etanol daun salam ini kemudian dibandingkan dengan simvastatin. Simvastatin merupakan salah satu contoh obat golongan inhibitor *HMG-CoA Reductase* yang bekerja dengan mekanisme penghambatan secara kompetitif dengan substrat HMG-CoA. Simvastatin merupakan senyawa sintesis yang memiliki sifat lipofilisitas yang tinggi dan memiliki permeabilitas yang baik dalam tubuh. Oleh sebab itu simvastatin mudah menembus membran sel dengan melakukan difusi pasif. Pada penelitian yang telah dilakukan Gabriela, Fatimawali dan Wehantouw (2013) secara *in vivo*, digunakan pembanding simvastatin pada kelompok kontrol positif. Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Muflikhatun dan Murwani (2014) juga menggunakan pembanding simvastatin sebagai kontrol positif pada percobaan secara *in vivo*. Widyaningrum (2015) pada penelitiannya yang dilakukan dengan hewan coba yang dikondisikan hiperkolesterol juga menggunakan simvastatin sebagai kontrol positif yang kemudian dibandingkan dengan ekstrak tanaman yang digunakan. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah disebutkan di atas menunjukkan bahwa simvastatin, walaupun merupakan golongan statin generasi pertama, masih banyak digunakan sebagai senyawa yang mampu memberikan hasil penurunan kadar kolesterol yang signifikan. Di sisi lain, digunakan simvastatin sebagai pembanding karena simvastatin merupakan generasi statin yang pertama, dengan kata lain simvastatin merupakan produk

inovator. Memang kini telah dilakukan pengembangan terhadap golongan statin yang melahirkan statin generasi baru seperti atorvastin, lovastatin, dan rosuvastatin. Pengembangan senyawa-senyawa statin generasi baru ini didasari dari statin generasi pertama yang mengalami berbagai modifikasi. Namun pengembangan ini tidak meninggalkan simvastatin sebagai statin generasi pertama karena simvastatin juga masih banyak diresepkan sebagai obat penurun kolesterol hingga saat ini. Walaupun merupakan statin generasi pertama, simvastatin masih dapat dipakai karena mampu memberikan efek penurunan kadar kolesterol yang signifikan seperti statin generasi baru. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Mosley dkk. (1989) pada hati tikus diperoleh nilai IC_{50} simvastatin terhadap enzim *HMG-CoA Reductase* sebesar 18,6 nmol/l atau setara dengan 0,0016 ppm.

Pengukuran enzimatik dapat dibedakan menjadi dua metode, yaitu *stopped method* dan *continuous method*. Sebelumnya, untuk melakukan pengukuran aktivitas enzimatik hal pertama yang harus diukur adalah berapa banyak produk yang dihasilkan selama waktu tertentu, atau pada beberapa kasus, berapa banyak substrat yang digunakan. Pada *stopped method* melibatkan penghentian reaksi pada waktu tertentu, kemudian dilakukan pengukuran terhadap jumlah produk yang dihasilkan. Pada metode ini dapat digunakan suatu senyawa yang dapat mendenaturasi enzim, seperti asam kuat atau basa kuat, untuk menghentikan reaksi enzimatik. Pada *continuous method* dilakukan pengamatan pada kemajuan proses yang terjadi selama reaksi enzimatik berlangsung. Metode ini memberikan hasil yang dapat segera dilihat dan setiap penyimpangan yang terjadi pada tahap awal dapat diamati linieritasnya (Scopes, 2002).

Pada penelitian ini akan dilakukan uji potensi dari ekstrak etanol daun salam terhadap aktivitas inhibisi enzim yang meregulasi sintesis kolesterol yaitu *HMG-CoA Reductase* secara *in vitro*. Daun salam akan

diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol dengan metode soxhletasi. Metode soxhletasi dipilih karena berdasarkan penelitian-penelitian terdahulu diduga flavonoid memiliki peran dalam menghambat enzim *HMG-CoA Reductase*, yang mana flavonoid sendiri tahan terhadap pemanasan. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian direaksikan secara enzimatik dengan menggunakan *continuous method* karena yang diamati adalah perubahan pada NADPH setiap waktu tertentu dalam jangka waktu tertentu. Dari uji enzimatik tersebut kemudian dilakukan penentuan nilai IC_{50} dari ekstrak etanol daun salam yang kemudian dibandingkan dengan IC_{50} simvastatin.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan pada latar belakang permasalahan, maka rumusan masalah dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol daun salam hasil soxhletasi memiliki potensi menghambat aktivitas enzim *HMG-CoA Reductase*?
2. Berapakah nilai IC_{50} dari ekstrak etanol daun salam hasil soxhletasi terhadap enzim *HMG-CoA Reductase*?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui potensi ekstrak etanol daun salam hasil soxhletasi dalam menghambat aktivitas enzim *HMG-CoA Reductase*.
2. Mengetahui nilai IC_{50} dari ekstrak etanol daun salam hasil soxhletasi terhadap enzim *HMG-CoA Reductase*.

1.4. Hipotesis Penelitian

1. Ekstrak etanol daun salam hasil soxhletasi memiliki potensi dalam menghambat aktivitas enzim *HMG-CoA Reductase*.

2. Ekstrak etanol daun salam hasil soxhletasi memiliki kemampuan menghambat enzim *HMG-CoA Reductase* hingga 50%.

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu mengetahui lebih lanjut tentang cara kerja dari ekstrak etanol daun salam hasil soxhletasi yang bermanfaat sebagai obat antihiperkolesterolemia, salah satunya adalah apakah ekstrak etanol daun salam hasil soxhletasi memiliki potensi menghambat aktivitas enzim *HMG-CoA Reductase*.