BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Kolesterol merupakan suatu senyawa yang termasuk dalam kelompok lemak. Senyawa ini terdapat dalam jaringan kelenjar dan terdapat juga dalam hati yang merupakan tempat kolesterol disintesis dan disimpan. Kolesterol ini juga merupakan suatu prekursor pada pembentukan sejumlah hormon steroid, asam empedu dan vitamin D (Almatsier, 2009). Kolesterol merupakan senyawa yang sangat penting dalam kehidupan manusia, namun jika dalam jumlah berlebihan, akan mengakibatkan penyakit aterosklerosis. Aterosklerosis adalah penyempitan atau pengerasan pembuluh darah sebagai akibat tingginya kolesterol darah atau disebut hiperkolesterolemia (Schwartz and Elzbieta, 2010).

Di dalam tubuh, protein dapat berikatan dengan kolesterol yang sudah ditransportasikan melalui plasma darah. Ikatan antara protein dan kolesterol ini membentuk suatu kompleks yang disebut dengan lipoprotein (Mumpuni dan Wulandari, 2011). Ada dua jenis utama dari lipoprotein yaitu *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan *High Density Lipoprotein* (HDL). LDL sering disebut sebagai kolesterol jahat, karena tingginya kadar kolesterol LDL dapat menyebabkan terjadinya pengendapan kolesterol dalam arteri yang merupakan suatu faktor resiko utama dari penyakit jantung koroner. HDL sering disebut dengan kolesterol yang baik karena membawa kolesterol lebih sedikit daripada LDL. HDL juga mampu membuang kelebihan kolesterol jahat di pembuluh arteri untuk dibawa ke hati lalu diproses dan dibuang. HDL dapat melindungi pembuluh darah dari proses aterosklerosis dan mencegah pengendapan kolesterol dalam arteri (Koolman and Roehm, 2005). Batasan kolesterol total terdapat beberapa

kriteria, kolesterol total rendah sebesar 200 mg/dl, kolesterol total normal sebesar 200-239 mg/dl, sedangkan kolesterol total tinggi sebesar ≥ 240 mg/dl. Jika kolesterol dalam tubuh telah melebihi batas normal yaitu ≥ 240 mg/dl, dapat menyebabkan aterosklerosis (Roskoski, 1996).

Sebesar 80 persen dari kolesterol di dalam darah diproduksi oleh tubuh sendiri. Kolesterol sehari-hari umumnya dapat terpenuhi oleh tubuh melalui sintesis di dalam tubuh (endogen). Biosintesis kolesterol pada tubuh berlangsung di dalam usus, kulit, dan terutama dalam hati (sekitar 50%), selebihnya kolesterol diambil dari bahan makanan (eksogen) (Koolman and Roehm, 2005). Sintesis kolesterol berlangsung hampir pada seluruh jaringan pada tubuh, dan aktivitas biosintesis kolesterol yang tertinggi terjadi pada organ hati, kelenjar adrenal, ovarium, dan testis (Valenzuela, Sanhueza and Susana, 2003). Prekursor yang digunakan oleh hati untuk mensintesis kolesterol adalah asetil Koenzim-A (asetil KoA) yang merupakan hasil metabolisme karbohidrat, protein, atau lemak (Koolman and Roehm, 2005). Proses dari biosintesis pada kolesterol dapat dibagi menjadi lima tahap. Tahap pertama merupakan sintesis mevalonat. Pada tahap ini, terjadi reaksi katalisis 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) menjadi mevalonat oleh enzim *HMG-CoA Reductase*. Tahapan kedua adalah pembentukan unit isoprenoid dari mevalonat dengan cara menghilangkan CO₂. Tahapan ketiga adalah kondensasi enam unit isoprenoid membentuk skualena. Tahapan keempat adalah siklisasi skualena menghasilkan senyawa steroid induk yaitu lanosterol. Tahapan terakhir adalah pembentukan kolesterol dari lanosterol (Murray, Granner and Rodwell, 2006).

Kadar kolesterol yang tinggi dalam darah dapat diatasi dengan berbagai cara yaitu secara farmakologis dan non farmakologis. Pengobatan secara farmakologis, kolesterol dapat ditangani dengan obat penurun kolesterol seperti obat golongan statin (atorvastatin dan simvastatin),

golongan fibrat (fenofibrate), golongan resin (colestyramine dan colestipol), golongan penghambat absorpsi kolesterol (ezetimibe), asam nikotinat (niasin), dan dari minyak ikan omega-3. Pada obat golongan statin, mekanisme kerja obat dengan cara menurunkan kadar kolesterol dan LDL dalam darah dengan menghambat enzim *HMG-CoA Reductase* secara kompetitif. Pada proses sintesis kolesterol di hati, 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).

Penggunaan obat dalam jangka waktu yang panjang, memiliki efek yang dapat merugikan tubuh. Pada obat golongan statin, efek samping simvastatin berupa atrial fibrilasi, pusing, konstipasi, *myalgia*, ISPA, diare, muntah dan lemas. Efek samping dari golongan statin yang lain seperti atorvastatin berupa diare, atralgia, nasofaringitis, dispepsia, *myalgia*, spasme otot, lelah, dan hilang rasa (American Pharmacists Association, 2012). Adanya efek samping yang dihasilkan dari obat-obat sintetis tersebut, maka diperlukan alternatif lain untuk mengobati kadar kolesterol yang tinggi dalam darah.

Masyarakat saat ini cenderung menggunakan terapi non farmakologis karena alasan besarnya efek samping yang ditimbulkan dari terapi farmakologis. Perubahan pola hidup merupakan pengobatan non farmakologis yang bertujuan menghilangkan atau mengurangi faktor risiko yang dapat memperberat penyakitnya. Perubahan ini mencakup mengurangi asupan lemak jenuh, memperbanyak makan buah dan sayur, mengurangi asupan garam, mengurangi berat badan berlebih, berhenti merokok dan memperbanyak aktivitas fisik (Sudoyo *et al.*, 2006).

Masyarakat Indonesia telah mengenal dan memanfaatkan tanaman berkhasiat obat sejak zaman dahulu untuk digunakan sebagai salah satu

upaya dalam menangani masalah kesehatan (Wijayakusuma, 2007). Di Indonesia ada terdapat 30.000 spesies tanaman, di mana sekurang-kurangnya 9.600 spesies dari tanaman di Indonesia berkhasiat sebagai obat dan kurang lebih 300 spesies tersebut digunakan sebagai bahan obat tradisional oleh industri obat tradisional (Kemenkes RI, 2007). Salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk pengobatan adalah daun salam (*Syzygium polyanthum*).

Daun salam adalah salah satu rempah pengharum makanan yang sering terdapat di dapur penduduk Indonesia. Daun salam mengandung berbagai senyawa seperti flavonoid, saponin, tanin, fenol, alkaloid, minyak atsiri yang terdiri dari sitrat dan eugenol yang dapat menurunkan kadar kolesterol jahat (LDL) dan kolesterol total (Pidrayanti, 2008). Senyawa alkaloid yang terkandung pada daun salam dapat menghambat aktivitas enzim lipase pankreas. Akibatnya, penyerapan lemak oleh hati terhambat sehingga tidak mampu diubah menjadi kolesterol. Selain alkaloid yang terkandung pada daun salam, saponin juga membantu menurunkan kadar kolesterol serta mengurangi penimbunan lemak dalam pembuluh darah (Vincentius, 2008). Menurut Dorland (2002) tanin dapat menghambat penyerapan lemak dengan cara bereaksi dengan protein mukosa dan sel epitel usus. Menurut Tanabe *et al.* (1993) minyak atsiri mampu mempengaruhi asam empedu dalam hati dengan meningkatkan pembentukan asam empedu, walaupun efeknya tidak terlalu besar namun dapat menurunkan kadar kolesterol. Saponin yang terkandung juga mampu mengikat kolesterol dengan asam empedu sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Song *et al.* (1997) flavonoid mampu bekerja dengan cara menghambat enzim *HMG-CoA Reductase* sehingga menyebabkan perubahan HMG-CoA menjadi mevalonat dapat turun, akibatnya sintesis kolesterol menurun.

Daun salam dapat digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol yang tinggi dalam darah dibuktikan dengan penelitian terdahulu yaitu, ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diberikan secara peroral pada tikus jantan galur Wistar selama 15 hari dengan dosis ekstrak dari 0,18 gram, 0,36 gram dan 0,72 gram dapat menurunkan kadar kolesterol total dari tikus secara bermakna. Dosis optimal pemberian ekstrak daun salam adalah ekstrak dari 0,72 gram daun salam segar dengan penurunan kolesterol total dalam darah yang paling besar dibandingkan dosis perlakuan yang lainnya. Semakin besar dosis ekstrak daun salam, semakin besar penurunan kolesterol total (Riansari, 2008).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Lajuck (2012), ekstrak yang didapatkan dari 10 gram daun salam segar terbukti lebih dapat menurunkan kadar kolesterol total dan LDL jika dibandingkan dengan kelompok statin 10 mg selama 15 hari. Penelitian ini dilakukan pada 22 orang pria dan wanita berusia 30-60 tahun dengan berat badan 50-70 kg. Hal ini dapat dilihat dari hasil penurunan kolesterol total pada kelompok kapsul ekstrak daun salam yaitu sebesar 20,6 % sedangkan pada kelompok statin sebesar 10 %. Untuk kadar kolesterol LDL, kelompok kapsul ekstrak daun salam mampu menurunkan sebesar 22 % sedangkan kelompok statin 10 mg hanya mampu menurunkan sebesar 6,9 %. Penelitian ini menunjukkan bahwa efek yang ditimbulkan oleh ekstrak daun salam berbeda bermakna bila dibandingkan dengan pemberian statin.

Penelitian lain yang dilakukan Ratnawati, Wargasetia dan Hartanto (2009), menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam juga dapat menurunkan kadar trigliserida serum tikus Wistar. Hal ini dibuktikan pada pengujian ekstrak etanol daun salam dengan dosis 50 mg/kgBB/hari dan 100 mg/kgBB/hari sedangkan sebagai pembanding diberi simvastatin dengan dosis 0,9 mg/kgBB/hari. Ekstrak etanol daun salam dan simvastatin

lalu diuji khasiatnya sebagai anti kolesterol secara *in vivo* pada tikus jantan galur Wistar yang telah diinduksi pakan tinggi lemak. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam menunjukkan hasil yang sebanding dengan simvastatin dalam menurunkan kadar trigliserida tikus Wistar.

Pada usulan penelitian ini akan didapatkan hasil pengukuran daya inhibisi ekstrak etanol daun salam yang dibandingkan dengan simvastatin. Simvastatin digunakan sebagai pembanding karena simvastatin masih menjadi obat yang sering disarankan dan mampu menurunkan kadar kolesterol secara bermakna. Simvastatin merupakan salah satu obat golongan statin yang bekerja dengan mekanisme penghambatan enzim *HMG-CoA Reductase* secara kompetitif dengan substrat HMG-CoA. Simvastatin juga termasuk obat golongan statin generasi pertama dan menjadi obat inovator dalam pengembangan obat yang melahirkan statin generasi baru seperti atorvastatin, rosuvastatin dan lovastatin. Pengembangan statin generasi baru tersebut tentu saja masih didasari dari statin generasi pertama yang dimodifikasi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ayu, Cholid dan Muftia (2016) simvastatin digunakan sebagai pembanding pada kontrol positif yang dibandingkan dengan ekstrak etanol daun salam terhadap kadar kolesterol total serum tikus wistar jantan yang telah diinduksi pakan tinggi lemak dan terbukti mampu menurunkan kadar kolesterol secara bermakna. Widyarningsih, Prabowo dan Sumiasih (2010) juga menggunakan pembanding simvastatin sebagai kontrol positif dalam penelitian ekstrak etanol daging bekicot dalam menurunkan kadar kolesterol total, HDL dan LDL serum darah tikus jantan galur wistar yang dilakukan secara *in vivo*. Berdasarkan hasil penelitian yang telah ada, diketahui bahwa simvastatin memiliki nilai IC_{50} sebesar 18,6 nmol/l atau setara dengan 0,0016 ppm. Nilai IC_{50} yang dihasilkan ini menghambat

aktivitas dari enzim *HMG-CoA Reductase* sebagai pembentuk dari kolesterol (Alfons *et al.*, 1993).

Penelitian mengenai daun salam yang banyak dilakukan secara *in vivo* pada hewan coba dalam berbagai penelitian tersebut telah membuktikan bahwa daun salam mampu menurunkan kadar kolesterol. Berdasarkan pengetahuan yang didapat dari penelitian tersebut, maka pada penelitian ini dilakukan pengujian secara *in vitro* untuk mengetahui mekanisme kerja dari daun salam dalam menurunkan kadar kolesterol dalam darah dengan pengukuran secara enzimatik menggunakan enzim *HMG-CoA Reductase*. Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol daun salam untuk menurunkan kadar kolesterol darah, dengan mekanisme menarik senyawa kimia atau kandungan kimia berkhasiat yang didapatkan lalu dilakukan penyarian. Mekanisme ini sering dikenal dengan istilah ekstraksi. Metode ekstraksi harus diperhatikan dalam melakukan proses ekstraksi, karena dapat mempengaruhi stabilitas dari kandungan kimia yang berasal dari tanaman. Dalam penelitian ini, ekstrak kental daun salam diperoleh dengan cara dingin yaitu metode perkolasi dan menggunakan pelarut etanol 96% karena pelarut ini bersifat semi polar, sehingga diharapkan senyawa aktif baik yang larut dalam pelarut polar atau non polar dapat ikut tersari. Metabolit aktif yang ingin ditarik dari daun salam adalah senyawa flavonoid yaitu kuersetin. Etanol juga merupakan pelarut organik yang dapat melarutkan senyawa organik yang terkandung dalam daun salam termasuk flavonoid.

Ekstraksi cara dingin metode perkolasi dipilih karena memiliki keuntungan dalam proses ekstraksi total, yaitu memperkecil kemungkinan terjadinya kerusakan pada senyawa yang terdapat pada sampel. Salah satu senyawa di dalam daun salam yang harus dijaga selama proses ekstraksi adalah flavonoid yaitu kuersetin dan fluoretin. Flavonoid pada daun salam

merupakan senyawa antioksidan polifenol alami yang mampu menurunkan kadar kolesterol dan kadar trigliserida dalam darah, melindungi pembuluh arteri dari kerusakan dan mengurangi jumlah penimbunan kolesterol dipermukaan endotel pembuluh darah arteri (Chen *et al.*, 2001). Kandungan pada daun salam juga terdapat minyak atsiri seperti sitrat dan eugenol dalam daun salam yang tidak tahan terhadap pemanasan. Oleh karena itu digunakan metode perkolasi karena metode tersebut merupakan cara dingin sehingga kemungkinan kecil senyawa kimia akan rusak. Metode perkolasi juga memberikan beberapa keuntungan yaitu dengan menggunakan pelarut yang selalu baru akan membuat proses penyarian menjadi lebih sempurna. Ekstrak kental daun salam yang didapat dilakukan standarisasi terlebih dahulu sebelum diujikan untuk mengetahui mutu ekstrak.

Penentuan uji aktivitas enzimatis dapat dilakukan dengan 2 jenis metode, yaitu metode pengujian kontinyu dan metode pengujian dengan penghentian kerja enzim. Dalam melakukan pengukuran aktivitas enzimatis, yang harus diukur adalah jumlah produk yang dihasilkan selama waktu tertentu atau jumlah substrat yang tersisa. Pada metode penghentian kerja enzim, dilakukan penghentian reaksi pada waktu tertentu kemudian dapat dihitung jumlah produk yang dihasilkan. Metode ini dapat menggunakan asam kuat atau basa kuat yang mampu mendenaturasi enzim sehingga dapat menghentikan reaksi enzimatis. Pada penelitian ini digunakan metode pengujian kontinyu karena metode ini memiliki bentuk kurva laju reaksi yang nampak jelas, sehingga kurva buruk dan baik dalam reaksi teramati dan tahapan kerja metode ini juga lebih sederhana bila dibandingkan dengan metode pengujian penghentian kerja enzim (Scopes, 2002).

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah nilai dari IC_{50} , yaitu konsentrasi inhibitor yang menunjukkan daya inhibisi sebesar 50%. Nilai IC_{50} ekstrak etanol daun salam yang diperoleh akan dilakukan uji

komparatif dengan nilai IC_{50} simvastatin sebagai pembanding dengan menggunakan *independent sample t-test* dengan tingkat kepercayaan 95% (pada α 0,05).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang telah dijabarkan, maka rumusan masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) hasil perkolasi memiliki potensi dalam menghambat aktivitas dari enzim *HMG-CoA Reductase* jika dibandingkan dengan simvastatin?
2. Berapakah nilai IC_{50} ekstrak etanol daun salam hasil perkolasi terhadap aktivitas dari enzim *HMG-CoA Reductase*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui potensi ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) hasil perkolasi dalam menghambat aktivitas dari enzim *HMG-CoA Reductase* jika dibandingkan dengan simvastatin.
2. Mengetahui nilai IC_{50} ekstrak etanol daun salam hasil perkolasi terhadap aktivitas dari enzim *HMG-CoA Reductase*.

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) hasil perkolasi memiliki potensi dalam menghambat aktivitas dari enzim *HMG-CoA Reductase* jika dibandingkan dengan simvastatin.
2. Ekstrak etanol daun salam hasil perkolasi memiliki kemampuan menghambat aktivitas dari enzim *HMG-CoA Reductase* hingga 50%.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai khasiat dari ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) hasil perkolasi dalam menghambat aktivitas dari enzim *HMG-CoA Reductase*.