



**UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM LIPASE
EKSTRAK BUAH CABE JAWA (*Piper Retrofractum Vahl*)
SECARA *IN-VITRO* SEBAGAI ANTI-HIPERLIPIDEMIA**

SKRIPSI

Oleh:

Desak Ayu Lestarini Dewi

NIM 162210101044

**BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2021



**UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM LIPASE EKSTRAK BUAH CABE
JAWA (*Piper Retrofractum* Vahl) SECARA *IN-VITRO* SEBAGAI ANTI-
HIPERLIPIDEMIA**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

Desak Ayu Lestarini Dewi

NIM 162210101044

BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2021

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ida Sang Hyang Widhi Wasa, Tuhan Yang Maha Esa dengan segala limpahan rahmat, berkat, karunia dan segalanya yang telah ada dan yang akan ada kepada umat-Nya.
2. Ibu Ni Ketut Marlina Astuti dan Bapak Dewa Ketut Jaya Putra yang tersayang atas segala cinta kasih, dukungan dan doa serta kesabaran, dan semangatnya yang telah diberikan kepada penulis.
3. Nenek saya tersayang, atas segala doa, usaha, kasih sayang, semangat serta motivasi yang telah dicurahkan kepada penulis serta adik saya Dewa Bagus Oka Prayudha.
4. Nenek dan kakek tercinta atas segala doa dan semangatnya yang tercurahkan kepada penulis.
5. Keluarga besar kakak tersayang I Putu Bagus Indra Pramana, S.Pd yang selalu memberikan semangat, motivasi dan doanya yang telah diberikan kepada penulis.
6. Serta Guru-guruku sejak Taman Kanak-Kanak Bhayangkari 8, SDN 2 Lotim, SMPN 1 Negara, SMAN 1 Negara serta segenap dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah membimbing dan memberikan ilmu yang sangat bermanfaat.
7. Teman-teman Farmasi angkatan 2016 “Morfin”
8. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

Berbuatlah hanya demi kewajiban, bukan hasil perbuatan itu yang dipikirkan, jangan sekali-kali pahala menjadi motif dalam melaksanakan sesuatu, jangan pula hanya berdiam diri tanpa mencoba. (Sloka Bhagavad Gita Bab II.47)

Selama dalam kehidupan, jangan pernah menyerah dalam keadaan apapun. Selalu bersyukur dan jalankan sesuai dengan apa yang kamu miliki dengan batas kemampuan yang kamu miliki. Semua yang telah dihadapi adalah semua yang harus dijalani. (Ibu Ni Ketut Marlina Astuti)

Belajarlah dengan sujud disiplin, dengan bertanya dan dengan kerja berbakti. Maka dari itu ilmu budi pekerthi akan senantiasa bersama (Bhagavad Gita.IV.34)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Desak Ayu Lestarini Dewi

NIM : 162210101044

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Lipase Ekstrak Buah Cabe Jawa (*Piper retrofractum Vahl*) Secara *In-Vitro* sebagai Anti-hiperlipidemia" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Februari 2021

Yang menyatakan,



Desak Ayu Lestarini Dewi

162210101044

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM LIPASE EKSTRAK BUAH
CABE JAWA (*Piper retrofractum Vahl*) SECARA *IN-VITRO*
SEBAGAI ANTI-HIPERLIPIDEMIA**

Oleh:

Desak Ayu Lestarini Dewi

NIM 162210101044

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : apt. Diana Holiday, S.F., M. Farm.

Dosen Pembimbing Anggota : Dr.apt.Fifteen Aprilia F, M. Farm.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Lipase Ekstrak Buah Cabe Jawa (*Piper retrofractum Vahl*) Secara *In-Vitro* sebagai Anti-hiperlipidemia” karya Desak Ayu Lestari Dewi telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : 02 Februari 2021

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

apt. Diana Holiday, S.F., M. Farm.
NIP.197812212005012002

Dr. apt. Fifteen Aprila Fajrin, M. Farm
NIP.198204152006042002

Tim Penguji

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

apt. Fransiska Maria C., M. Farm.
NIP.198404062009122008

apt. Ika Puspita Dewi, M. Biomed.
NIP.198406132008122001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

apt. Lestyo Wulandari, S.Si., M. Farm.
NIP.197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Lipase Ekstrak Buah Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) Secara *In-Vitro* Sebagai Anti-Hiperlipidemia; Desak Ayu Lestardini Dewi; 162210101044; 2021: 95 Halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Obesitas akibat meningkatnya asupan lemak dan karbohidrat menyebabkan peningkatan kadar trigliserida yang merupakan penyebab utama hiperlipidemia. Hiperlipidemia merupakan suatu kondisi dimana terjadi peningkatan kolesterol total, *cholesterol low-density lipoprotein* (LDL), trigliserida; atau penurunan *cholesterol high-density lipoprotein* (HDL). Salah satu gangguan yang terjadi akibat metabolisme lemak dan memiliki risiko kematian terbesar dunia berdasarkan *World Health Organization* (WHO) adalah penyakit jantung koroner. Dalam menekan kondisi hiperlipidemia, terapi penting yang mampu memperlambat pencernaan dan absorpsi lemak melalui mekanisme penghambatan enzim lipase salah satunya adalah orlistat. Orlistat dalam saluran pencernaan akan mengikat sisi aktif enzim secara kovalen yang menyebabkan terhambatnya metabolisme trigliserida menjadi asam lemak. Orlistat memiliki efek samping bila konsumsi dalam jangka waktu yang lama seperti terjadinya gangguan gastrointestinal seperti perut kembung, kolik, urgensi tinja, dan inkontinensia. Seiring berjalannya waktu, kesadaran masyarakat akan *back to nature*, memicu untuk memanfaatkan bahan tanaman sebagai metode alternatif bagi pengobatan khususnya hiperlipidemia. Salah satu tanaman yang berpotensi memiliki efek bagi pengobatan di dunia kesehatan yaitu cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak buah cabe jawa terhadap aktivitas enzim lipase sebagai metode alternatif pengobatan hiperlipidemia.

Penelitian yang dilakukan berjenis *experimental laboratories* yaitu membandingkan aktivitas penghambatan enzim lipase dari kontrol positif (orlistat), kontrol negatif, dan ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.). Penelitian ini dimulai dengan tahap ekstraksi serbuk simplisia buah cabe jawa

dengan etanol 96% menggunakan metode sederhana yaitu metode maserasi, kemudian dilanjutkan pada tahap skrining fitokimia yang bertujuan mengetahui kandungan senyawa kimia apa saja yang terdapat dalam ekstrak yang akan dilanjutkan pada pengujian penghambatan ekstrak buah cabe jawa terhadap enzim lipase. Metode yang digunakan adalah reaksi hidrolisis substrat p -NBP menjadi bentuk p -nitrofenolat yang berwarna kuning sehingga dapat dianalisis menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm. Pengujian dilakukan dengan tiga replikasi. Semakin kecil nilai absorbansi yang dihasilkan, maka daya hambat terhadap enzim lipase akan semakin besar. Parameter dalam menentukan penghambatan enzim lipase adalah nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) yang didefinisikan sebagai konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat 50% aktivitas lipase dalam kondisi pengujian.

Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai IC_{50} kontrol positif orlistat sebesar $25,99 \pm 3,360 \mu\text{g/mL}$, sedangkan nilai IC_{50} ekstrak buah cabe jawa sebesar $148,953 \pm 3,485 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan nilai IC_{50} tersebut, menunjukkan aktivitas orlistat sebagai inhibitor enzim lipase sangat kuat, sedangkan untuk ekstrak cabe jawa tergolong sedang yang berarti potensi aktivitas penghambatan enzim lipase ekstrak lebih lemah dibandingkan dengan orlistat. Hal ini menunjukkan aktivitas antilipase cabe jawa tergantung dari ketersediaan jumlah senyawa yang aktif berpotensi sebagai antilipase.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan berkah dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Lipase Ekstrak Buah Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) Secara *In-Vitro* Sebagai Anti-Hiperlipidemia”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. apt. Lestyo Wulandari, S.Si., M. Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu yang sangat berharga;
2. apt. Diana Holidah, S.F., M. Farm. selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) dan Dr. apt. Fifteen Aprila Fajrin, M. Farm. selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) yang telah membimbing peneliti dan selalu memberi semangat serta arahan sehingga penelitian dan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
3. apt. Fransiska Maria C., M. Farm. selaku Dosen Penguji I dan apt. Ika Puspita Dewi, M. Biomed. selaku Dosen Penguji II yang telah sabar memberikan saran dan juga semangat dalam penulisan skripsi ini;
4. apt. Lusya Oktora Ruma Kumala Sari, S.F., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing saya selama menempuh S1;
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember, seluruh dosen dan juga staf Fakultas Farmasi yang telah banyak memberikan ilmu serta pengalaman berharga bagi peneliti selama masa perkuliahan;
6. Indriasih, S.P. dan Herdinik, S. Farm., Apt selaku teknisi Laboratorium Biomedik Farmasi, serta Parka Agnita, Spd dan Widiyanti, S.Tp. selaku teknisi Laboratorium Biologi Farmasi yang telah banyak membantu dan menyemangati selama penelitian;
7. Keluarga tercinta Ayahanda Dewa Ketut Jaya Putra, Ibunda Ni Ketut Marlina

Astuti, adik tercinta Dewa Bagus Oka prayudha, kakak I Putu Bagus Indra Pramana serta semua keluarga besar yang turut memberikan dukungan dan doa demi kelancaran dan keberhasilan dalam menempuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Jember;

8. Rekan penelitian biomedik yaitu Riza Avifah dan Eva yang selalu saling membantu dan memberikan semangat;
9. Sahabat rasa saudara yaitu Kintan Gemi , Anna Dwi, dan Ida Ayu Sindi yang selalu memberikan dukungan dan banyak semangat;
10. Rekan angkatan 2016 “MORFIN” Fakultas Farmasi Universitas Jember khususnya teman-teman Kelas C 2016 yang juga selalu memberikan dukungan serta semangat;
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu-persatu.

Peneliti menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan kelemahan baik dari segi materi, penyajian atau teknik penulisannya, sehingga peneliti sangat mengharapkan kritik dan saran dari pembaca agar skripsi ini menjadi lebih baik lagi dan memberikan manfaat bagi semua orang.

Jember, 2 Februari 2021

Penulis

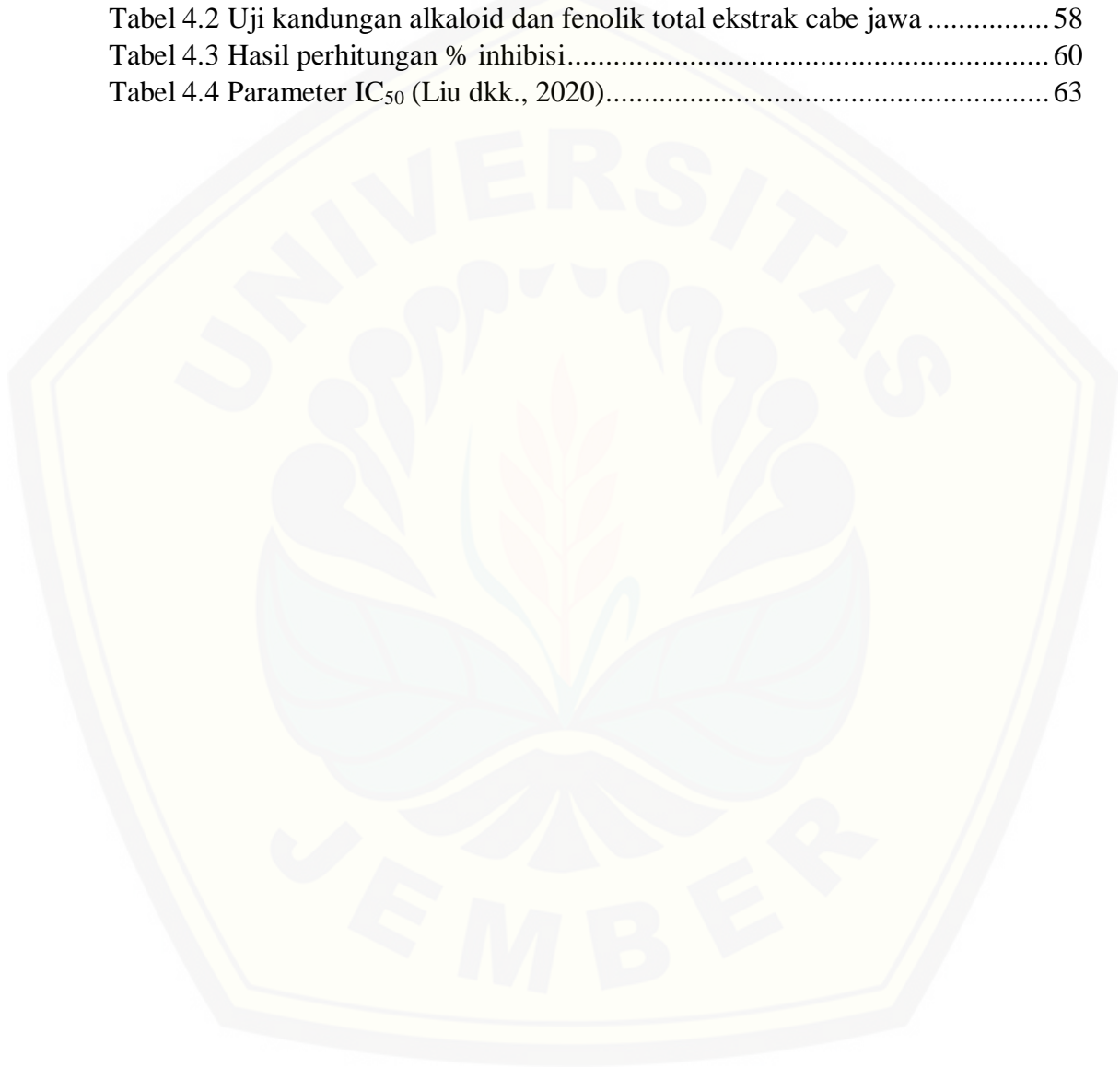
DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	ix
DAFTAR LAMPIRAN	15
1.1 Latar Belakang	16
1.2 Rumusan Masalah	19
1.4 Manfaat Penelitian	20
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	21
2.1 Cabe Jawa (<i>Piper retrofractum Vahl</i>)	21
2.2 Metabolisme Lipid	24
2.3 Obesitas	26
2.4 Hiperlipidemia	28
2.5 Anti-hiperlipidemia	30
2.2.1 Orlistat (<i>Gastrointestinal Lipase Inhibitor</i>).....	31
2.2.2 Statin	33
2.2.3 Resin Asam Empedu.....	34
2.2.4 Turunan Asam Fibrat	34
2.2.5 Ezetimibe	35
2.6 Enzim Lipase	36
2.9 Senyawa Fenolik	39
2.8.1 Struktur fenolik.....	39
2.8.2 Penentuan kadar fenol.....	40
2.10 Alkaloid	41
2.9.1 Struktur alkaloid	41
2.9.2 Prinsip penetapan kadar alkaloid.....	42
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	43
3.1 Jenis Penelitian	43
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	43
3.3 Alat dan Bahan	43
3.3.1 Alat	43
3.3.2 Bahan	43

3.4	Variabel Penelitian	44
3.4.1.	Variabel Bebas	44
3.4.2.	Variabel Terikat.....	44
3.4.3.	Variabel Terkendali	44
3.5	Rancangan Penelitian	44
3.5.1.	Definisi Operasional	44
3.5.2.	Rancangan Penelitian.....	45
3.5.3.	Alur penelitian	46
3.6	Prosedur Penelitian	47
3.6.1.	Ekstraksi.....	47
3.6.2.	Uji Kualitatif	47
a.	Skrinning Fitokimia	47
3.6.3.	Uji Kuantitatif.....	48
A.	Analisis Kandungan Total Alkaloid	48
B.	Analisis Kandungan Total Fenol	49
C.	Penentuan Aktivitas Anti-hiperlipidemia.....	50
c.	Analisis data	53
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN		54
BAB 5. KESIMPULAN		65
DAFTAR PUSTAKA		66
LAMPIRAN		76

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Klasifikasi Hiperlipidemia Faktor Primer (Genetik).....	29
Tabel 2.2 Klasifikasi Kadar Kolesterol (Dipiro dkk., 2015).....	30
Tabel 2.3Penggolongan Obat antihiperlipidemia (Rampengan, 2015).....	31
Tabel 3.1 Uji Warna Golongan Senyawa (Simaremare, 2014).....	47
Tabel 4.1 Hasil uji skrinning fitokimia ekstrak cabe jawa.....	55
Tabel 4.2 Uji kandungan alkaloid dan fenolik total ekstrak cabe jawa	58
Tabel 4.3 Hasil perhitungan % inhibisi.....	60
Tabel 4.4 Parameter IC ₅₀ (Liu dkk., 2020).....	63



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Piper retrofractum</i> Vahl (Shethi dkk., 2019).....	22
Gambar 2.2 Metabolisme Lemak (Neely dan Thompson, 2016)	25
Gambar 2.3 Risiko utama terjadi terkait adipositas (Gadde dkk., 2018).....	27
Gambar 2.4 Struktur Kimia Orlistat (A) dan Lipstatin (B) (Xiguang, 2018).....	32
Gambar 2.5. Struktur kimia Orlistat (Al-Omar dkk., 2006).....	37
Gambar 2.6 Struktur dasar flavonoid (Tsao, 2010)	39
Gambar. 2.7 Struktur asam fenolik (Tanase dkk., 2019)	40
Gambar 2.8 Alkaloid heterosiklik (Cushnie dkk., 2014)	41
Gambar 3.1. Rancangan penelitian	45
Gambar 3.2. Alur Penelitian Uji Aktivitas Anti-hiperlipidemia ekstrak Cabe Jawa	46
Gambar 4.1 Perbandingan nilai IC ₅₀ aktivitas penghambatan enzim lipase dari orlistat dan ekstrak cabe jawa (n=2). Huruf <i>superscript</i> (^a dan ^b) yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan signifikan.	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 4.1 Hasil Determinasi Tanaman Cabe Jawa	76
Lampiran 4.2 Perhitungan Rendemen Ekstraksi	77
Lampiran 4.3 Skrinning Fitokimia.....	77
Lampiran 4.4 Penetapan Kadar Alkaloid Total.....	78
Lampiran 4.5 Penetapan Kadar Alkaloid Total Sampel Uji.....	78
Lampiran 4.6 Penetapan Kadar Fenolik Total.....	79
Lampiran 4.7 Penetapan Kadar Flavonoid Total Sampel Uji	81
Lampiran 4.8 Hasil Optimasi	83
Lampiran 4.9 Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Lipase	87
Lampiran 4.11 Pengujian Aktivitas penghambatan Enzim Lipase.....	90
Lampiran 4.12 Perhitungan Nilai IC_{50}	91
Lampiran 4.13 Kurva Konsentrasi Vs %Inhibisi.....	93
Lampiran 4.14 Hasil Analisis Statistika <i>T-Test Independent</i>	95

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Era globalisasi yang terus berkembang seiring berjalannya waktu mempengaruhi kesejahteraan sosial sehingga menyebabkan pola konsumsi pangan masyarakat beralih menjadi produk makanan siap saji yang umumnya mengandung tinggi lemak, rendah serat dan rendah mineral. Kebiasaan yang serba instan ini membuat pola hidup masyarakat menjadi berubah, salah satunya menyebabkan berkurangnya aktivitas fisik (WHO, 2019). Penumpukan lemak dalam tubuh sebagai akibat penurunan aktivitas fisik merupakan risiko utama permasalahan kegemukan atau obesitas. Menurut WHO (2018), obesitas merupakan suatu keadaan dimana antara energi yang masuk dengan energi yang keluar mengalami ketidakseimbangan dalam jangka waktu yang lama. Konsumsi energi dari makanan yang dicerna melebihi energi yang digunakan untuk metabolisme dan aktivitas sehari-hari. Kelebihan energi ini akan disimpan dalam bentuk lemak dan jaringan lemak sehingga dapat mengakibatkan penambahan berat badan (Jati, 2014).

Pada tahun 2016, *noncommunicable diseases country profile* berdasarkan data WHO (2018) menyebutkan lebih dari 1,9 miliar orang berusia 18 tahun ke atas mengalami kelebihan berat badan, dengan lebih dari 650 juta orang mengalami obesitas. Obesitas ini tidak hanya terjadi pada orang dewasa saja, namun 340 juta anak-anak dan remaja berusia 5-19 tahun, serta sekitar 40 juta anak di bawah usia 5 tahun, dianggap kelebihan berat badan atau obesitas. Antara tahun 2000 dan 2016, obesitas ini menunjukkan peningkatan di semua wilayah dengan prevalensi global meningkat dari 9% pada tahun 2000 menjadi 13% pada tahun 2016 (WHO, 2018).

Obesitas akibat meningkatnya asupan lemak dan karbohidrat menyebabkan peningkatan kadar trigliserida yang merupakan penyebab utama hiperlipidemia (Putri dan Isti, 2015). Hiperlipidemia merupakan suatu kondisi terjadinya peningkatan kolesterol total, *cholesterol low-density lipoprotein* (LDL),

trigliserida; atau penurunan *cholesterol high-density lipoprotein* (HDL) (Dipiro dkk., 2015). Hiperlipidemia adalah kondisi yang menunjukkan peningkatan lipid dalam plasma darah, baik kolesterol atau trigliserida atau keduanya. Kondisi hiperlipidemia digambarkan ketika kolesterol total mencapai lebih dari 200 mg/dL, kolesterol LDL mencapai lebih dari 130 mg/dL dan penurunan level HDL kurang dari 40 mg/dL (Shahwan dkk., 2019). Pada seseorang yang mengalami obesitas atau kelebihan berat badan ditemukan bahwa kolesterol total, *cholesterol low-density lipoprotein* (LDL-C), dan jumlah trigliserida menurun dengan penambahan berat badan (Rhee dkk., 2019). Obesitas, penyakit lain seperti diabetes melitus, miksedema, sindrom nefritik, dan penyakit hati obstruktif, usia, jenis kelamin, genetik dan asupan gizi yang mengandung jumlah asam lemak jenuh tinggi merupakan faktor risiko terjadinya hiperlipidemia (Nouh dkk., 2019)

Secara homeostatis, metabolisme lemak sangat penting untuk menjaga keseimbangan energi (González-García dkk., 2017). Peningkatan lemak secara abnormal dalam aliran darah memungkinkan LDL tersimpan di dalam dinding arteri dan berkembang menjadi plak aterosklerosis. Plak aterosklerosis dimulai dengan adanya tanda-tanda kelainan dari lapisan endotel, pembentukan sel busa (*foam cell*), dan kerak lemak (*fatty streaks*), pembentukan pada jaringan ikat (*fibrous cap*) dan proses *rupture* plak aterosklerosis yang tidak stabil (Farid dkk., 2016). Adanya plak aterosklerosis ini kemudian akan menyebabkan penyumbatan arteri sehingga menyebabkan hipertensi, resistensi insulin, dislipidemia, hipertensi, pengurangan jumlah darah teroksigenasi yang mencapai jantung dan peningkatan risiko penyakit jantung koroner (PJK), serta aterosklerosis (Neeland dkk., 2019).

Mekanisme obat anti-hiperlipidemia yang dikembangkan dan telah beredar salah satunya bekerja sebagai penghambatan pada penyerapan lemak dengan menghambat aktivitas enzim lipase. Salah satu inhibitor yang berperan dalam hal ini adalah Orlistat, suatu turunan lipostatin yang diisolasi dari bakteri *Streptomyces toxytricini*. Orlistat dalam saluran pencernaan akan mengikat sisi aktif enzim secara kovalen yang menyebabkan terhambatnya metabolisme trigliserida menjadi asam lemak (Xiguang, 2018).

Enzim lipase pankreas merupakan enzim lipolitik penting yang disintesis dan disekresikan melalui pankreas serta melakukan tugasnya di usus yang mampu menghidrolisis 50-70% dari total lemak makanan dan melalui sistem saluran pankreas ini akan disekresikan ke duodenum (Seyedan dkk., 2015). Enzim lipase pankreas adalah enzim yang secara langsung mempengaruhi penyerapan asam lemak di usus, berperan serta bertanggung jawab mengubah substrat trigliserida dalam lemak makanan menjadi bentuk monogliserida dan asam lemak bebas kemudian dipindahkan ke sel yang melapisi usus (enterosit) dan selanjutnya akan diserap tubuh (Liu dkk., 2020). Peningkatan aktivitas lipase pankreas mampu meningkatkan jumlah monogliserida dan asam lemak yang diserap tubuh, dimana kejadian ini merupakan penyebab terjadinya obesitas (Rajan dkk., 2020). Dengan demikian, pencegahan pencernaan lipid pada sistem saluran pencernaan bisa menjadi strategi untuk mencegah penyerapan lipid sistemik yang akan dapat mencegah risiko terjadinya komplikasi lebih lanjut akibat kondisi hiperlipidemia dengan cara memperlambat absorpsi asam lemak dengan cara menginhibisi enzim lipase pankreas dalam saluran pencernaan (Hidayat dkk., 2014).

Perkembangan obat tradisional saat ini sangat pesat khususnya obat tradisional yang berasal dari tanaman atau tumbuh-tumbuhan. Sejak jaman dahulu, tanaman telah dipercaya dan digunakan sebagai alternatif penyembuhan sejumlah penyakit terutama di wilayah Indonesia yang beragam disetiap daerahnya (Parwata, 2012). Sebagai salah satu negara tropis, dengan keanekaragaman tumbuhan yang melimpah, Indonesia berpeluang besar untuk mengembangkan potensi yang dimilikinya. Beberapa pengujian menyebutkan bahwa banyak tanaman yang ada di wilayah Indonesia ini terbukti berkhasiat untuk pengobatan. Secara empiris juga disebutkan bahwa obat alami terbukti memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan obat sintetis. Akan tetapi perlu dilakukan ketepatan kebenaran obat, ketepatan dosis, ketepatan cara dan waktu penggunaan, tidak disalahgunakan, dan ketepatan pemilihan obat untuk penyakit tertentu untuk meminimalisir efek sampingnya (Sumayyah dan Salsabila, 2017). Salah satu tanaman yang banyak digunakan adalah cabe jawa.

Buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) berpotensi memiliki manfaat dalam bidang kesehatan, salah satunya membantu menurunkan kolesterol. Kandungan senyawa piperin dalam cabe jawa diduga dapat menurunkan kolesterol dalam darah (Kim dkk., 2011). Berdasarkan pustaka, cabe jawa mempunyai kandungan piperin sekitar 2 % dan minyak atsiri sekitar 1 % (Ruhnayat dkk., 2011). Penelitian Kim dkk (2011) menyebutkan bahwa alkaloid piperidin buah cabe jawa termasuk piperin, pipernonalin, dan dehidropipernonalin diisolasi sebagai konstituen antiobesitas melalui transaktivasi reseptor aktif proliferasi peroksisom (*PPAR α*) dan mengevaluasi efeknya pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak mempunyai aktivitas antiobesitas yang disebabkan oleh tinggi lemak dengan mengatur metabolisme lipid dan mengaktifkan protein kinase yang diaktifkan *adenosine monophosphate* (AMP). Berdasarkan Shah dkk (2011) piperin terbukti menghambat akumulasi lipid dan lipoprotein dengan secara signifikan memodulasi enzim metabolisme lipid, seperti *lipoprotein lipase* (LPL) dan *lecithin cholesterol acyltransferase* (LCAT).

Penelitian mengenai aktivitas cabe jawa (*Piper Retrofractum* Vahl) pada enzim lipase belum pernah dilaporkan sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim lipase pada saluran pencernaan dalam ekstrak buah cabe jawa. Dalam penelitian ini buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Pada penelitian ini juga ditentukan pengujian kandungan total alkaloid, fenolik pada ekstrak Cabe Jawa (*Piper Retrofractum* Vahl).

1.2 RumusanMasalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah dalam penulisan skripsi ini yaitu:

- a. Apakah kandungan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl)?
- b. Berapa kadar total senyawa fenolik dan senyawa alkaloid dalam ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl)?

- c. Bagaimana aktivitas penghambatan ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) terhadap aktivitas enzim lipase berdasarkan nilai IC_{50} ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian yang ingin dicapai peneliti yaitu :

- a. Menentukan golongan senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl).
- b. Menentukan kandungan total senyawa fenolik dan alkaloid dalam ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl).
- c. Menentukan aktivitas ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) sebagai penghambat aktivitas enzim lipase.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat antara lain :

- a. Mengembangkan terapi alternatif anti-hiperlipidemia terbaru bagi dunia kesehatan yang nantinya mampu bermanfaat bagi kesehatan masyarakat.
- b. Mengetahui kegunaan dari buah cabe jawa sebagai anti-hiperlipidemia dilihat dari aktivitas inhibisi enzim lipase.
- c. Menginspirasi penulis dan peneliti lain agar menggali kekayaan alam Indonesia, terutama tanaman-tanaman yang berpotensi memiliki aktivitas penghambatan enzim lipase sebagai terapi pengobatan herbal alami.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl)

2.1.1 Klasifikasi

Berdasarkan ITIS, (2011), klasifikasi ilmiah atau taksonomi cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Viridiplantae – tanaman hijau
Super Divisi	: Streptophyta – <i>lands plants</i>
Divisi	: Embryophyta
Sub Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Spermatophytina
Superorder	: Magnoliopsida
Order	: Magnolianaes
Family	: Piperaceae
Genus	: Piper L.
Spesies	: <i>Piper retrofractum</i> Vahl
Synonym	: <i>Piper chaba</i> , <i>Piper officinarum</i>

2.1.2 Morfologi

Tumbuhan cabe jawa (gambar 2.1) termasuk ke dalam famili piperaceae yang tumbuh di daerah tropis khususnya Indonesia. Tumbuhan cabe jawa merupakan tanaman yang memiliki karakteristik tumbuh subur di daratan yang curah hujannya tinggi antara 1.200-3.000 mm per tahun dan tingkat kelembaban tanah berkisar antara 80-100% (Salleh dan Ahmad, 2020). Tumbuhan cabe jawa berupa tanaman menjalar, juga dapat tumbuh disekitar pohon besar dengan panjang batang bisa mencapai 12 m (Shethi dkk., 2019)

Daun tumbuhan cabe jawa berbentuk bulat telur atau elips lonjong (lanset) berwarna hijau, dengan tangkai daun pendek 0,5-0,75 cm. Mempunyai panjang sekitar 11-14 cm dan lebar 4-6 cm dengan dasar asimetris, meruncing ke satu titik,

berselaput, dan tidak berbulu (halus) dan memiliki 7 sampai 11 urat daun lateral disetiap pangkal (Chaveerach dkk., 2002).

Buah cabe jawa memiliki beberapa bentuk yang cukup beragam mulai dari bulat panjang hingga silindris dengan bagian ujung yang menyempit (besar, sedang dan kecil) dengan warna yang bervariasi dan mendominasi merah cerah. Biji buah memiliki diameter 2-3 mm². Perubahan warna dari proses penyerbukan bertahap mulai dari kuning gading, hijau-gelap-cokelat dan menjadi merah jika buah telah matang (BPOM RI, 2010). Tanaman buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 *Piper retrofractum* Vahl (Shethi dkk., 2019)

Bunga cabe jawa berkelamin tunggal, tersusun dalam bulir yang tumbuh tegak atau sedikit merunduk berwarna kuning selama perkembangannya. Ukuran ibu tangkai bunga antara 0,5-2 cm dengan daun pelindung yang berukuran 1-2 mm berbentuk bulat telur hingga elips. Selain itu, bulir betina berukuran 1,5-3 cm, kepala putik pendek dan tumpul dengan ukuran 2-3 cm (BPOM RI, 2010).

Percabangan tanaman cabe jawa tidak teratur, melilit, tumbuh memanjat menggunakan akar lekat dengan panjang mencapai 10 m dari pangkal bertekstur keras meyerupai kayu. Selain itu, tanaman cabe jawa memiliki dua macam akar yaitu akar tumbuh yang digunakan sebagai penunjang tanaman baik cabang horizontal maupun vertikal yang menyebar kedalam tanah dan akar rekat yang hanya tumbuh di buku-buku batang/sulur sebagai perekat ke permukaan tegakan atau bebatuan dengan bentuk percabangan terbatas berbentuk silindris memanjang berukuran 0,7-1,0, panjang 1-2,5 cm dengan jumlah akar sekitar 4-9 buah (Zuchri, 2008).

2.1.3 Kandungan Senyawa

Tumbuhan cabe jawa mengandung alkaloid (piperine, sitosterol, pipartine), glikosida dan steroid. Komposisi senyawa kimia yang terkandung dalam daun cabe jawa adalah minyak atsiri yang terdiri dari monoterpen, alkohol monoterpen, seskuiterpen, alkohol seskuiterpen, dan sisanya senyawa kimia yang tidak termasuk ke dalam kelompok terpen (Jamal dkk., 2013). Buah cabe jawa mengandung berbagai senyawa kimia seperti alkaloid piperin, kavisin, piperidin, isobutildeka-trans-2-trans4-dienamida; saponin, polifenol, minyak atsiri, asam palmitat, asam tetrahidropiperat, 1 undesilenil-3,4 metilendioksibenzena, dan sesamin (Umami dan Purwani, 2015).

Kandungan utama dari buah cabe jawa ini adalah minyak atsiri, seperti *isocaryophyllene*, β -bisabolen dan zingiberen (Ismaniar, 2013) dan alkaloid piperidine termasuk piperine, pipernonalin, dan dehidropipernonalin (Kim dkk., 2011). Minyak atsiri buah cabe jawa merupakan senyawa metabolit sekunder yang tersusun atas komponen yang berasal dari golongan terpenoid, terpenoid ini akan diserap oleh saluran pencernaan tengah yang fungsinya adalah sebagai tempat penghancuran makanan secara enzimatis sehingga dapat berperan sebagai insektisida (Umami dan Purwani, 2015).

2.1.4 Penelitian Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl.)

Penelitian cabe jawa terkait aktivitasnya sebagai anti-hiperlipidemia baik *in vivo* maupun *in vitro* belum banyak dilakukan. Beberapa penelitian cabe jawa yang pernah dilakukan terkait aktivitasnya antara lain: uji klinis fitofarmaka androgenik pada laki-laki hipogonad (Moeloek dkk., 2010), penelitian uji aktivitas insektisida ekstrak buah cabe jawa terhadap *Helopeltis antonii* (Gusti dkk., 2016), pengujian aktivitas infusa buah cabe jawa sebagai penurun kadar asam urat darah tikus putih jantan hiperurisemia akibat pemberian *pyrazinamide* (Dewi, 2002), kandungan alkaloid piperidin ekstrak buah cabe jawa dapat digunakan sebagai anti-obesitas (Kim dkk., 2011), pengujian aktivitas biolarvasida ekstrak etanol (Rosalina, 2013), pengujian aktivitas antioksidan senyawa metil piperat ekstrak

metanol buah cabe jawa (Jilan, 2018), pengujian sitotoksisitas ekstrak etanol 70% cabe jawa terhadap sel HeLa (Suhartatik, 2008), ekstrak minyak atsiri dari cabe jawa memiliki aktivitas anti-bakteri minyak atsiri cabe jawa (Tati, 2018).

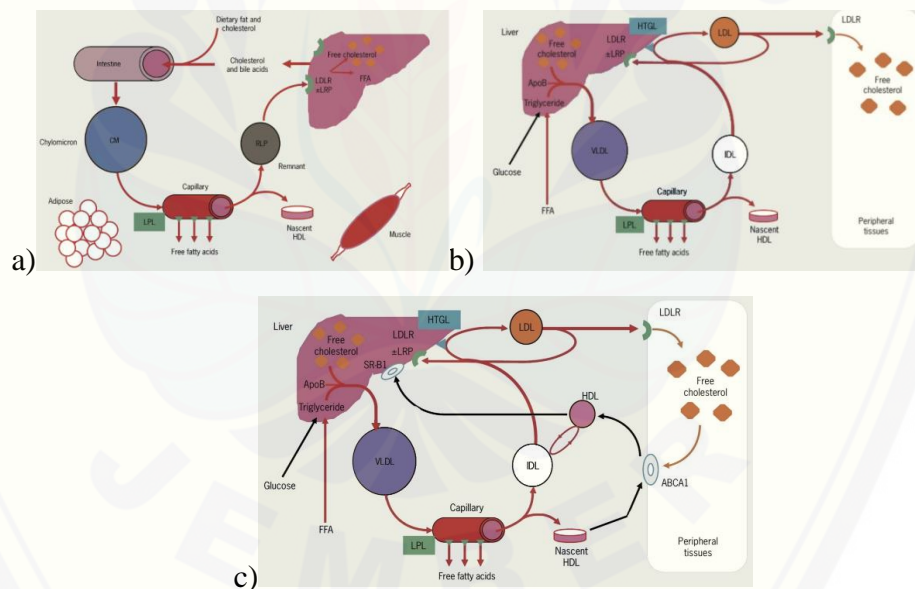
2.2 Metabolisme Lipid

Lipid merupakan salah satu kelompok senyawa organik beragam termasuk lemak, minyak, hormon, dan komponen membran tertentu yang dikelompokkan karena susah larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik (Thompson, 2020). Lemak berperan penting dalam metabolisme tubuh sebagai sumber energi utama yaitu sumber energi metabolik adenosin trifosfat (ATP), sumber dari asam lemak esensial (*essential fatty acids*, EFA) dan sumber steroid dalam fungsi biologis (Subandiyono dan Hastuti, 2016). Lemak dalam tubuh manusia berasal dari makanan yang dikonsumsi oleh manusia, secara umum hanya sebagian kecil dari lemak makanan yang dikonsumsi dapat mencapai usus besar (Hoyles dan Wallace, 2010). Metabolisme lemak adalah proses kompleks dengan melibatkan beberapa langkah yaitu asupan makanan dari lipid (eksogen) atau produksi lipid didalam tubuh (endogen) hingga proses degradasi atau transformasi (katabolisme) menjadi beberapa struktur yang mengandung lipid dalam tubuh (Malik, 2013).

Metabolisme lipid jalur intestinal (usus) disebut jalur eksogen (gambar 2.2.a) dimulai dengan lemak makanan yang mengandung kolesterol dan trigliserida diserap dalam usus oleh gen NPC1L1 (*Niemann-Pick C1-Like 1*) dan MTP (*microsomal triglyceride transfer protein*) serta dikemas dalam bentuk kilomikron. Trigliserida (TG) dalam kilomikron disekresikan ke dalam getah bening melewati hati dan memasuki plasma secara prandial melalui duktus toraks. Kilomikron kemudian mengirimkan lemak ke jaringan adiposa melalui lipoprotein lipase (LPL) dalam bentuk asam lemak. Sisa kilomikron yang dihasilkan dikeluarkan dari plasma oleh hati melalui Apo E yang mengikat reseptor LRP (*low density lipoprotein receptor-related proteins*) di hati atau ke reseptor *low-density lipoprotein* (LDL) serta apolipoprotein yang tersisa memasuki kumpulan HDL sebagai HDL *nascent*. Diantara fase paska absorpsi saat kadar

insulin turun, asam lemak dilepaskan dari jaringan adiposa melalui lipolisis dan masuk ke sirkulasi yang terikat albumin (Neely dan Thompson, 2016).

Metabolisme lipid jalur hepatic (hati) disebut dengan jalur endogen (Gambar 2.2.b), ditandai dengan asam lemak yang disintesis dan terikat dengan albumin masuk ke hati dan diesterifikasi ulang untuk membentuk TG dan bersama dengan kolesterol dimuat ke apoB untuk membentuk VLDL. VLDL akan memasuki plasma diantara waktu makan dan mengantarkan lemak ke jaringan adiposa dan melalui LPL menghasilkan IDL. IDL yang dihasilkan diserap langsung oleh hati atau diubah menjadi LDL oleh Lipase Hati (HL), LDL ini diambil oleh jaringan perifer melalui LDLr untuk memenuhi kebutuhan kolesterol dan partiel LDL yang tersisa akhirnya dibuang oleh hati melalui reseptor LDL (Neely dan Thompson, 2016). Tiga mekanisme metabolisme lemak tersebut dapat dilihat pada gambar 2.2



Gambar 2.2 Metabolisme Lemak (Neely dan Thompson, 2016)
Keterangan: (a) Jalur eksogen; (b) Jalur endogen; dan (c) *Reverse* kolesterol

Mekanisme lipid jalur *reverse cholesterol* merupakan proses degradasi atau transformasi (katabolisme) menjadi beberapa struktur yang mengandung lipid dalam tubuh. HDL menghambat perkembangan ateroma dan penyakit arteri koroner dengan mengangkut kelebihan kolesterol jaringan ke hati, dimana diubah menjadi asam empedu dan disekresikan (gambar 2.2.c) (Neely dan Thompson,

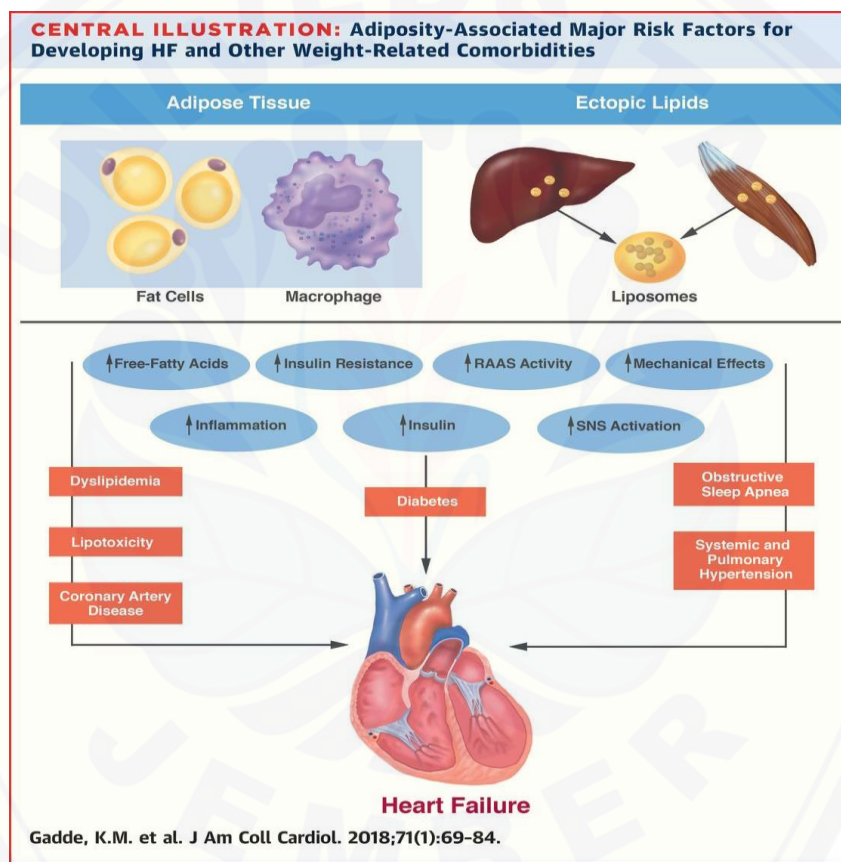
2016). Jika LDL teroksidasi, LDL akan dapat memasuki makrofag melalui reseptor *scavenger* (CD-36 dan SR-A), partikel HDL yang terbentuk di hati dan di usus di sekresikan sebagai partikel yang mengandung terutama fosfolipid dan apo A-1. HDL *nascent* kemudian berinteraksi dengan sel perifer seperti makrofag dan menghilangkan kolesterol yang tidak teresterifikasi melalui protein transporter ABC-1, kolesterol dalam HDL *nascent* kemudian diesterifikasi menjadi asam lemak yang berasal dari lesitin oleh LCAT (lesitin kolesterol asiltransferase) dan ko-faktornya apoA1 menghasilkan partikel HDL berbentuk bola matang. Ester kolesterol dalam inti HDL kemudian dikembalikan lagi ke hati, baik melalui interaksi HDL dengan reseptor SR-B1 atau dipindahkan ke lipoprotein yang mengandung apoB oleh CETP (*cholesterol ester transfer protein*) (Ouimet dkk., 2019).

2.3 Obesitas

Obesitas telah menjadi permasalahan kesehatan dunia global yang terus meningkat namun menjadi penyakit yang paling terabaikan (Ofori-Asenso dkk., 2016). Penyakit yang disertai dengan obesitas memiliki faktor risiko tersebar untuk mengembangkan berbagai kondisi komorbiditas, termasuk penyakit kardiovaskuler (CVD), hipertensi, diabetes melitus tipe 2 (T2D), gangguan pencernaan, sendi, otot, masalah pernafasan dan psikologis (Fruh, 2017). Menurut WHO, obesitas telah diklasifikasikan sebagai penyakit kronis dan parah di negara maju dan berkembang yang telah menyerang orang dewasa dan anak-anak (Hanć dan Cortese, 2018).

Obesitas didefinisikan sebagai adanya akumulasi lemak dalam tubuh manusia melebihi jumlah yang dibutuhkan pada fungsi tubuh yang normal. Akumulasi lemak ini terjadi terus-menerus sehingga menyebabkan kenaikan berat badan yang tidak dapat terkontrol. Obesitas dapat dibagi menjadi dua, yaitu obesitas sentral dan obesitas regional. Obesitas sentral ditandai pada lokasi lemak yang berada di bagian atas terutama perut, obesitas sentral biasanya paling banyak ditemukan pada populasi pria. Sedangkan obesitas regional ditandai dengan penumpukan lemak di paha dan pinggul, serta ditemukan pada populasi wanita

(Maria dan Evagelia, 2009). Formula yang paling banyak digunakan untuk mengukur berat badan ideal adalah BMI (Indeks massa tubuh) yaitu berat dalam kg/tinggi dalam m². Nilai BMI 25 - 29,9 kg/m² dinyatakan sebagai kelebihan berat badan, sedangkan jika BMI \geq 30 kg/m² dinyatakan obesitas. Namun demikian, BMI ini tidak dapat menjadi ukuran sebenarnya dari adipositas (kelebihan timbunan lemak dalam tubuh) (Gadde dkk., 2018). Berikut adalah ilustrasi faktor risiko utama terkait adipositas dalam penyakit gagal jantung dan komorbiditas terkait berat badan lainnya disajikan dalam gambar 2.3.



Gambar 2.3 Risiko utama terjadi terkait adipositas (Gadde dkk., 2018)

Peningkatan kadar plasma asam lemak bebas dan sitokin, lipid non-adiposa intraseluler (liposom), serta depot jaringan adiposa ektopik (dalam kompartemen viseral) dapat menyebabkan peradangan yang sifatnya sistemik, resisten insulin, RAAS (sistem renin-angiotensin aldosteron) dan aktivitas berlebih pada sistem saraf simpatis SNS (*sympathetic nervous system*). Selain itu, efek metabolik dan anatomi dari adipositas berlebih juga menyebabkan adanya

perkembangan penyakit diabetes tipe 2, gangguan hati, dislipidemia, hipertensi, dan osteoartritis. Obesitas merupakan kaskade mekanisme patofisiologis penyakit-penyakit terkait (Gadde dkk., 2018).

2.4 Hiperlipidemia

Hiperlipidemia merupakan kondisi medis yang ditandai dengan peningkatan setiap atau semua profil lipid dan atau lipoprotein dalam darah, biasanya hiperlipidemia juga bagian dari hiperkolesterolemia/ hiperlipoproteinemia (Amit dkk., 2011). Hiperlipidemia mengarah pada peningkatan kadar lipid dan kolesterol dalam darah atau umum diidentifikasi sebagai dislipidemia (Onwe dkk., 2015). Hiperlipidemia dapat menjadi faktor risiko terjadinya aterosklerosis yang dapat berkembang menjadi penyakit jantung koroner, dimulai dari adanya peningkatan kadar LDL dalam darah yang akan menyebabkan penumpukan LDL pada pembuluh darah arteri. Penumpukan LDL pada pembuluh darah arteri menyebabkan kerusakan atau disfungsi endotel pada dinding arteri sehingga kolesterol yang diangkut oleh LDL mengendap di lapisan endotelial sehingga menimbulkan plak aterosklerosis. Selain itu, juga terjadi proses oksidasi LDL pada sel endotel sehingga terjadi kerusakan pada endotel. Plak-plak aterosklerosis ini akan membuat pengerasan atau penyempitan yang terjadi di pembuluh darah (Ma'rufi dan Rosita, 2014). Meskipun peningkatan *low density lipoprotein* (LDL) sering disebut sebagai faktor risiko aterosklerosis dan jantung koroner, hiperlipidemia juga dapat dilihat sebagai kondisi dimana terjadi peningkatan kolesterol total (TC) atau trigliserida (TG), atau *kadar high density lipoprotein* (HDL) yang rendah (Gupta dkk., 2011).

Hiperlipidemia dapat disebabkan oleh dua faktor, yaitu faktor primer (genetik) dan faktor sekunder (lingkungan). Hiperlipidemia faktor primer atau faktor genetik merupakan hiperlipidemia sebagai akibat dari masalah yang timbul pada genetik, seperti adanya mutasi dalam protein reseptor yang kemungkinan disebabkan oleh kecacatan pada sel tunggal (monogonik) atau kecacatan pada gen multipel (poligenik). Hiperlipidemia jenis ini disebabkan akibat adanya perubahan pola makan yang tidak seimbang dan kurangnya aktivitas fisik yang tepat.

Hiperlipidemia primer atau genetik ini terjadi akibat mutasi atau kecacatan sel dan diklasifikasikan berdasarkan tabel 2.1 (Onwe dkk., 2015).

Tabel 2.1. Klasifikasi Hiperlipidemia Faktor Primer (Genetik) (Onwe dkk., 2015)

Tipe	Gangguan	Faktor	Kasus	Peningkatan Lipoprotein Plasma
I	Defisiensi lipase lipoprotein (familial)	Genetik	Sangat langka	kilomikron
IIa	Hiperkolesterolemia (familial)	Genetik	Kurang umum	LDL
IIb	Hiperkolesterolemia poligenik	multifaktorial	Paling umum	LDL
III	Dysbetalipoproteinemia (familial)	Genetik	Langka	IDL,Sisa-sisa kilomikron
IV	Hipertrigliseridemia	Multifaktorial Genetik	Umum	VLDL
V	Hiperlipidemia kombinasi (familial)	Genetik	Kurang umum	VLDL,LDL

Hiperlipidemia sekunder merupakan kondisi hiperlipidemia yang dipengaruhi akibat adanya penyakit penyerta seperti diabetes melitus, miksedema, sindrom nefritik, penyakit hati obstruktif, alkoholisme kronis, serta penggunaan obat-obatan seperti kortikosteroid, kontrasepsi oral, maupun beta bloker yang dapat meningkatkan kolesterol LDL dan menurunkan kolesterol HDL (Dipiro dkk., 2015). Kondisi hiperlipidemia sekunder dapat diperbaiki dengan pengelolaan pengobatan penyakit primer yang diutamakan (Arsana dkk., 2015)

Hiperlipidemia adalah suatu kondisi yang erat kaitannya dengan LDL, HDL, trigliserida, dan kolesterol total sehingga dalam upaya pencegahan dan pengobatannya diperlukan klasifikasi kadar LDL, HDL, trigliserida, dan kolesterol total yang dapat membantu dalam pemilihan pola pengobatannya.

Klasifikasi kadar LDL, HDL, trigliserida, dan kolesterol total tercantum dalam tabel 2.2 dibawah ini (Dipiro dkk., 2015).

Tabel 2.2 Klasifikasi Kadar Kolesterol (Dipiro dkk., 2015)

Komponen Lipid	Batasan (mg/dL)	Klasifikasi
Kolesterol Total	<200	Yang diinginkan
	200-239	Batas Tinggi
	>240	Tinggi
Kolesterol LDL	<100	Optimal
	100-129	Mendekati Optimal
	130-159	Batas Tinggi
	160-189	Tinggi
Kolesterol HDL	>190	Sangat Tinggi
	<40	Rendah
	>60	Tinggi
Trigliserida	<150	Normal
	150-199	Batas Tinggi
	200-499	Tinggi
	>500	Sangat Tinggi

Target terapi hiperlipidemia terfokus pada penurunan kolesterol LDL. Penurunan kolesterol LDL dapat dilakukan dengan cara terapi farmakologis, dengan menggunakan obat antihiperlipidemia. Selain itu, hiperlipidemia juga dipicu oleh perubahan kebiasaan gaya hidup seperti pola makan yang buruk dengan asupan lemak > 40% dari total kalori, asupan lemak jenuh > 10% dari total kalori, dan asupan kolesterol > 300 mg/hari (Rhee dkk., 2019). Berdasarkan faktor pemicu hiperlipidemia tersebut maka diperlukan terapi kombinasi untuk mendapatkan pendekatan yang komprehensif yaitu terapi non farmakologis. Terapi non farmakologis dilakukan dengan perubahan gaya hidup, seperti pola makan sehat yang menurunkan total lemak jenuh dan kolesterol yang masuk dalam tubuh atau mengonsumsi makanan tinggi serat (Robert, 2011).

2.5 Anti-hiperlipidemia

Obat-obat anti-hiperlipidemia memiliki target terapi yaitu menurunkan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, trigliserida dan atau meningkatkan kadar Kolesterol HDL dengan mekanisme pengobatan pada masing-masing obat.

Umumnya, obat-obat yang terlibat dalam pengobatan hiperlipidemia diklasifikasikan pada tabel 2.3.

Tabel 2.3 Penggolongan Obat Anti-hiperlipidemia (Rampengan, 2015)

Penggolongan Obat	Jenis Obat
HMG-CoA reduktase inhibitor (Statin)	Lovastatin Simvastatin Pravastatin Atorvastatin Rosuvastatin
Bile acid sequestrants (Resins)	Cholestyramine Colestipol
Activate lipoprotein lipase (Turunan Asam Fibrat)	Clofibrate Gemfibrozil Benzafibrate Fenofibrate
Penghambat lipolisis dan Sintesis Triglicerida	Asam nikotinat
Gastrointestinal Lipase Inhibitor Lainnya	Orlistat Ezetimibe Gugulipid

Terapi hiperlipidemia bertujuan untuk pengurangan kolesterol LDL, kolesterol LDL merupakan lipoprotein aterogenik utama sehingga dapat mengurangi aterosklerosis dan karenanya akan mengurangi efek samping kardiovaskular serta bertujuan untuk menurunkan kolesterol yang terdapat dalam plasma darah sehingga dapat meminimalisir faktor risiko penyebab terjadinya penyakit jantung koroner (Shattat, 2014).

2.2.1 Orlistat (*Gastrointestinal Lipase Inhibitor*)

Orlistat merupakan inhibitor reversibel dari lipase lambung dan pankreas dengan membentuk ikatan kovalen dengan situs residu serin aktif. Enzim yang tidak aktif akan tidak tersedia untuk menghidrolisis lemak makanan dalam bentuk trigliserida menjadi asam lemak bebas dan monogliserida yang dapat diserap (Qi, 2018). Orlistat adalah obat anti-obesitas non sistemik kelas pertama yang telah disetujui oleh FDA dan EMA dan telah berada dipasaran. Pada saluran

Gastrointestinal (GI), orlistat bertindak sebagai pencegahan penyerapan lemak makanan sekitar 30% dan meningkatkan eksresinya melalui tinja (Bruno dan Alfredo, 2015). Fungsi utama orlistat bekerja efektif dengan selektif pada enzim lipase lambung dan pankreas yaitu mencerna lemak yang berasal dari makanan. Selain itu, orlistat juga digunakan sebagai obat tambahan/kombinasi dalam perawatan klinis pasien dengan diabetes melitus tipe 2 yang merupakan penyakit yang berhubungan dengan adanya obesitas dan penyakit kardiovaskuler (Xiguang, 2018). Orlistat secara oral dipasarkan dengan merk dagang Xenical®. Efikasi orlistat pertama kali ditetapkan pada tahun 1995 oleh Drent dan rekannya, orlistat terbukti efektif dalam menginduksi penurunan berat badan pada remaja berusia 12 sampai 16 tahun hingga orang dewasa (Hoffmann-La Roche, 2015). Struktur kimia Orlistat ditunjukkan dalam gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur Kimia Orlistat (A) dan Lipstatin (B) (Xiguang, 2018)

Orlistat juga disebut dengan tetrahydrolipstatin yang merupakan turunan jenuh dari lipstatin dengan produk alami yang diisolasi dari *Streptomyces toxytricini*. Mekanisme penyerapan lemak oleh orlistat adalah dengan menghambat hidrolisis triasilgliserol (TAG) menjadi asam lemak bebas dan monoasilgliserol, yang selanjutnya akan diserap oleh tubuh. Mekanisme penyerapan lemak ini merupakan peran dari enzim lipase pankreas dan lambung. Karena orlistat bekerja secara selektif pada sistem pencernaan saja, maka orlistat tidak ada aktivitas terhadap amilase, *trypsin*, *chymotrypsin*, dan fosfolipase. Orlistat dalam saluran pencernaan mampu mengikat secara kovalen pada situs serin aktif di dalam enzim lipase guna mencegah enzim lipase menghidrolisis TG

menjadi asam lemak bebas yang dapat diserap oleh sel serta TG yang tidak ikut tercerna akan dieksresikan melalui feses. Maka dari itu, asupan kalori yang terserap akan berkurang akibat penghambatan lipase oleh orlistat yaitu menghambat penyerapan lemak makanan (Xiguang, 2018).

Orlistat memiliki beberapa efek samping pada gastrointestinal dengan intensitas ringan hingga sedang seperti feses berlemak atau berminyak, buang air besar lebih sering, dan inkontinensia feses (Pi-sunyer dan Xavier, 2009). Orlistat juga menimbulkan gangguan pada penyerapan nutrisi dan obat yang larut dalam lemak contohnya vitamin A, D, E, K dan β -karoten serta obat seperti warfarin, tiroksin, kontrasepsi oral dan antikonvulsan. Selain itu, penggunaan orlistat juga dilaporkan dapat menimbulkan risiko kerusakan pada hati (Xiguang, 2018).

2.2.2 Statin

Statin merupakan analog struktural dari zat antara HMG-CoA yang dibentuk menjadi HMG-CoA reduktase dalam sintesis mevalonat. Statin menurunkan kadar kolesterol melalui tiga mekanisme yang saling terikat satu sama lain. Pertama, melalui penghambatan selektif dan kompetitif dari 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A (HMG-CoA) reduktase, enzim yang membatasi kecepatan konversi HMG-CoA menjadi asam mevalonat, prekursor, termasuk kolesterol. Penghambatan enzim awal yang terjadi mengarah pada pengurangan kolesterol hati, namun mekanisme kompensasi menginduksi ekspresi yang lebih baik dari HMG-CoA reduktase dan reseptor LDL. Kedua, statin bertindak dengan mekanisme tidak langsung, dengan meningkatkan penyerapan LDL yang dimediasi reseptor sehingga statin mampu mengurangi LDL plasma karena terjadi peningkatan jumlah reseptor yang tinggi menyebabkan penurunan VLDL dan IDL, yang merupakan prekursor LDL. Serta dalam mekanisme aksi ketiga, lebih berkontribusi dalam penurunan Kolesterol LDL plasma dan menghilangkan sejumlah besar VLDL yang kaya akan trigliserida (TG) (Zodda dkk., 2018).

Statin memiliki efek samping seperti sakit kepala, mialgia, pusing dan gastrointestinal sementara. Statin juga memiliki kemungkinan efek toksisitas hati

dan otot, miopati, rabdomiopati dan peningkatan serum transaminase jika digunakan dalam jumlah dosis yang lebih tinggi. Zat tersebut berbahaya bagi ginjal karena dapat mengakibatkan kerusakan ginjal dan juga kardiomiopati (Shattat, 2014).

2.2.3 Resin Asam Empedu

Bile Acid Sequestran atau asam empedu (Resins) mampu menurunkan kolesterol LDL sebesar 12-20% dan meningkatkan kolesterol HDL sebesar 3-5% jika diberikan monoterapi pada pasien hiperlipidemia. Cara kerja *Bile Acid Sequestran* dengan mengikat asam empedu dalam lumen usus, bekerja dengan menghambat reabsorpsi asam empedu, dan siklus enterohepatik (Scaldaferri dkk., 2013). Asam empedu akan disekresikan dari hati ke lumen usus, asam empedu yang berada di lumen usus akan berperan penting sebagai penyerapan lemak makanan. Resins mensintesis asam empedu, terutama asam kolat akan meningkat sehingga terjadi peningkatan degradasi kolesterol menjadi asam empedu yang menyebabkan peningkatan ekspresi reseptor LDL hati. Penyerapan kolesterol LDL hati meningkat sehingga membuat kadar kolesterol LDL plasma menurun sebesar 5-30% tergantung dosis (Shattat, 2014).

Resins asam empedu dianggap aman meskipun dikaitkan dengan beberapa keluhan efek samping gastrointestinal (konstipasi, sakit perut dan atau mual). Resins juga memiliki efek dapat mengurangi penyerapan lemak dan nutrisi lainnya, sehingga dalam penggunaan jangka panjang diperlukan perhatian khusus. Selain itu, interaksi obat resin dengan obat tradisional juga sering menimbulkan peningkatan kadar trigliserida plasma yang tinggi (Carolien dkk., 2014).

2.2.4 Turunan Asam Fibrat

Fibrat adalah golongan obat yang biasanya digunakan pada dislipidemia aterogenik dan hipertrigliseridemia. Obat - obat turunan asam fibrat memiliki mekanisme utama yaitu aktivasi proliferasi peroksisom intraseluler diaktifkan reseptor (PPARs) alfa. Fibrat adalah obat yang memiliki peran penting dalam pengobatan hipertrigliseridemia dengan efektivitas klinis dalam penurunan TG

mencapai 50% yang disertai dengan peningkatan HDL-C yang lebih kecil namun signifikan (Okopień dkk., 2018).

Mekanisme fibrat menyebabkan efek hipotrigliseridemia dengan mengurangi ketersediaan substrat untuk memungkinkan sintesis trigliserida di hati, membalikkan pergerakan kolesterol dan menstimulasi pengangkutan asam lemak seluler serta memodulasi LDL dan interaksi ligan. Fibrat meningkatkan lipolisis yang dimediasi LPL melalui aktivasi faktor transkripsi untuk reseptor (PPAR). Selain itu, fibrat juga bekerja untuk meningkatkan tingkat HDL dengan cara meningkatkan produksi Apo-AI dan apo-AII di hati (Prasad, 2019).

2.2.5 Ezetimibe

Ezetimibe atau 1-(4-fluorophenyl)-(3R)-[3-{4-fluorophenyl}-{3S}-hydroxypropyl]-(4S)-(4-hydroxyphenyl)-(2-azetidinone) merupakan golongan lain obat antihiperlipidemia yang menghambat penyerapan kolesterol di usus dengan selektif memblokir protein NPC1L1. Ezetimibe mencegah kompleks NPC1L1/sterol dengan AP2 dalam vesikel yang berlapis *clathrin*, dengan mengubah bentuk NPC1L1 sehingga membuatnya tidak dapat mengikat sterol atau dapat mengganggu pengikatan kolesterol bebas ke membran sel (Lin dkk., 2017).

Ezetimibe menghambat penyerapan kolesterol usus dan efektif dalam menurunkan kolesterol sebagai monoterapi atau dalam kombinasi dengan statin, data yang berkembang menunjukkan bahwa ezetimibe dalam kombinasi statin memiliki efek yang positif pada perkembangan aterosklerosis dan mengurangi kejadian kardiovaskular pada pasien yang berisiko PJK (Phan dkk., 2012). Pengobatan Ezetimibe meningkatkan efisiensi keseluruhan jalur RCT (*Reverse cholesterol transport*), kemampuan ezetimibe untuk meningkatkan RCT secara kuantitatif jauh lebih besar daripada pengaruhnya terhadap kolesterol LDL (Lin dkk., 2017).

2.6 Enzim Lipase

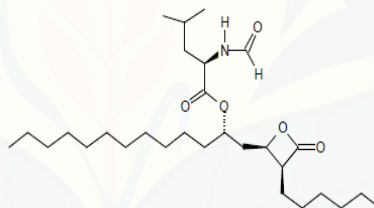
Lipase dengan nama ilmiah *triacylglycerol lipases EC 3.1.1.3* merupakan suatu enzim yang berfungsi sebagai katalis degradasi lemak dan minyak, serta mengubahnya menjadi asam lemak dan gliserol. Lipase memiliki substrat utama yaitu triasilgliserol. Produksi lipase berasal dari substrat seperti minyak alami, trigliserida sintetis dan ester asam lemak (Jaiswal dkk., 2017). Lipase memiliki sifat larut dalam air dan menghidrolisis substrat yang tidak larut menjadi ke bentuk lipolitik polar (Lasoń dan Ogonowski, 2010). Lipase berperan dalam sekresi pankreas dan bertanggung jawab dalam pencernaan lemak. Lipase memiliki beberapa jenis berdasarkan tempat dan fungsinya, yaitu lipase hati (di hati), lipase sensitif hormon (di adiposit), lipoprotein lipase (di permukaan endotel pembuluh darah), dan lipase pankreas (di usus kecil) (Yasaman dan Sandeep, 2019).

Lipase hati ada di hati dan berperan penting dalam pembentukan dan pengiriman LDL, dimana LDL berfungsi mengangkut kolesterol dari hati ke jaringan perifer. Lipase sensitif hormon terdapat pada jaringan lemak dan berfungsi menurunkan kadar trigliserida yang tersimpan dalam adiposit. Lipoprotein lipase terdapat pada permukaan endotel vaskular dan berfungsi untuk mendegradasi trigliserida yang bersirkulasi dari kilomikron dan VLDL. Sedangkan lipase pankreas ditemukan dalam usus kecil dan berperan menurunkan trigliserida diet (Yasaman dan Sandeep, 2019).

Enzim lipase pankreas (*Triacylglycerol acylhydrolase*) merupakan enzim yang diproduksi oleh pankreas berperan penting dalam penyerapan lemak makanan pada manusia karena terkait dengan penyerapan trigliserida makanan dan mengkatalisasi pencernaan trigliserida makanan. Dari berbagai jenis lipase, lipase pankreas mampu menghidrolisis 50-70% dari total lemak makanan. Sehingga melalui penghambatan enzim lipase pankreas mampu mengurangi penyerapan lemak yang bermanfaat bagi regulasi hiperlipidemia (Kim dkk., 2016).

2.7 Lipase Inhibitor

Lipase inhibitor merupakan terapi yang berkaitan dengan penghambatan metabolisme lemak oleh enzim lipase. Lipase inhibitor berinteraksi langsung dengan enzim dan menghambat aksi lipase, lipase inhibitor berperan menurunkan kolesterol dalam darah dengan menghambat aksi enzim lipase sebagai pemetabolisme lemak (Bhutani dkk., 2014). Kerja enzim lipase yang meningkat pada saluran pencernaan akan menimbulkan peningkatan produksi asam lemak bahkan hingga menimbulkan penumpukan lemak yang merupakan faktor risiko timbulnya penyakit hiperlipidemia. Penghambatan enzim lipase adalah mekanisme yang paling banyak digunakan sebagai salah satu terapi atau agen anti-hiperlipidemia. Agen atau terapi yang dapat digunakan sebagai inhibitor dalam proses katalitik enzim adalah Orlistat (Mahmoud dan Elnour, 2013). Struktur kimia Orlistat ditunjukkan pada gambar 2.5.



Gambar 2.5. Struktur kimia Orlistat (Al-Omar dkk., 2006)

Orlistat merupakan penghambat lipase lambung dan pankreas yang spesifik dan poten, orlistat adalah turunan lipstatin dikenal sebagai tetrahydrolipstatin hasil sintesis secara kimia dan diproduksi secara alami oleh *Streptomyces toxytricini* (Bansal dan Khalil, 2020). Orlistat bertindak mengurangi penyerapan lemak makanan dengan cara membentuk ikatan kovalen dengan situs *serine* aktif dari lipase lambung dan pankreas dalam lumen usus dari saluran pencernaan sehingga dapat menonaktifkan hidrolisis lemak makanan secara langsung mencegah enzim-enzim ini menghidrolisis lemak makanan (dalam bentuk trigliserida) menjadi asam lemak bebas dan monogliserol (Kumar dan Singh, 2019). Trigliserida yang tidak dicerna ini akan dihilangkan melalui rute fekal sehingga memiliki efek samping berupa tinja dengan konsistensi cair,

steatorrhea, kram perut, urgensi tinja, perut kembung, dan inkontinensia. Efek samping gastrointestinal yang menimbulkan rasa tidak nyaman ini membatasi kepatuhan pada individu yang menggunakan terapi orlistat (Bhutani dkk., 2014).

2.8 Pengujian Aktivitas Anti-hiperlipidemia

Pengujian aktivitas anti-hiperlipidemia yang dilakukan untuk pengujian tanaman secara *in vitro* dapat dilakukan dengan menggunakan enzim lipase dengan mekanisme penghambatannya (Mahmoud dan Elnour, 2013). Berdasarkan Pliego dkk (2015) metode pengujian aktivitas anti-hiperlipidemia penghambatan enzim lipase dapat dilakukan dengan menggunakan substrat kromogemik yaitu p-NPB (*Nitrophenyl Butyrate*) dengan metode spektrofometri. Pengujian ini menghasilkan hidrolisis p-NPB yang akan melepas kromofor (*p-nitrophenolate*) sehingga akan didapatkan perubahan warna menjadi kuning yang dapat diukur pada panjang gelombang 405 nm dan interval waktu yang berbeda (Pliego dkk., 2015).

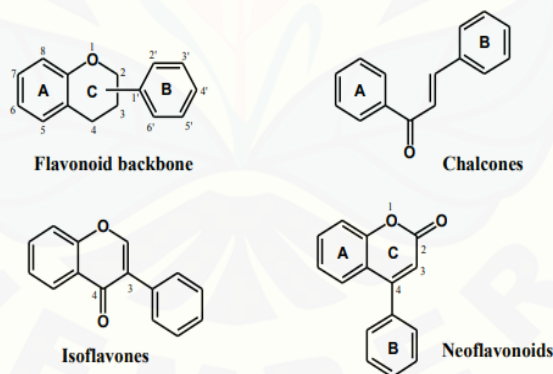
Penghambatan enzim lipase yang dilakukan melalui proses hidrolisis untuk menghasilkan produk dapat dilakukan dengan penambahan inhibitor enzim lipase dengan jumlah konsentrasi yang beragam. Penambahan tersebut akan menghasilkan reaksi dan membentuk perubahan warna kuning yang ditimbulkan sebelumnya akan semakin memudar. Terjadinya pemudaran warna kuning yang telah terbentuk tersebut menandakan bahwa telah terjadi proses hidrolisis (Pliego dkk., 2015).

Penelitian penghambatan enzim lipase umumnya ditentukan dengan menghitung nilai IC_{50} , dimana nilai IC_{50} ini merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan suatu ekstrak yang diteliti untuk menghambat 50% aktivitas dari enzim lipase itu sendiri. Katagori dari nilai IC_{50} adalah jika nilai IC_{50} semakin kecil maka ekstrak tanaman yang diuji dalam penghambatan enzim lipase semakin kuat (A Dechakhamphu dan Wongchum, 2015).

2.9 Senyawa Fenolik

2.8.1. Struktur fenolik

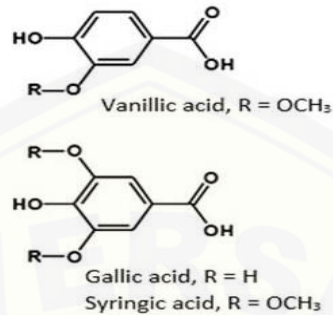
Senyawa fenolik didefinisikan sebagai metabolit alami yang timbul secara biogenetik yang terbentuk melalui jalur *shikimate* atau *phenylpropanoid* (Vuolo dkk., 2018). Komponen fenolik atau disebut juga polifenol yang struktur kimianya terdiri dari cincin aromatik, memiliki satu atau lebih substituen hidroksil. Senyawa folifenol merupakan golongan fitokimia terbesar dan banyak terdapat dalam tumbuhan (Tsao, 2010). Polifenol merupakan salah satu kelas metabolit yang paling banyak terdapat di alam yaitu buah dan sayur dan distribusi yang luas sekitar 100.000 hingga 200.000 metabolit standar dan sekitar 20% karbon ke jalur fenilpropanoid oleh fotosintesis sehingga menghasilkan sebagian besar fenolik alami seperti flavonoid dan lignan stilbena (Pereira dkk., 2009). Flavonoid memiliki struktur umum C₆-C₃-C₆, dimana dua unit C₆ (cincin A dan cincin B) bersifat fenolik (Tsao, 2010). Flavonoid memiliki beberapa struktur dasar yang ditunjukkan berdasarkan gambar 2.6.



Gambar 2.6 Struktur dasar flavonoid (Tsao, 2010)

Berdasarkan struktur kimianya, senyawa polifenol dibagi menjadi beberapa sub kelompok antara lain seperti: asam fenolik (hidroksisinamat dan asam hidroksibenzoat), flavonoid (flavonol, flavon, flavononol, flavanon, isoflavon, tanin dan antisianidin), stilbena lignan (resveratrol). Asam fenolik ditemukan pada tanaman dalam bentuk ester, glikosida ataupun amida dan jarang dalam bentuk bebasnya. Asam fenolik memiliki variasi struktural yang

bergantung pada posisi dan jumlah gugus hidroksil pada cincin aromatik, dengan dua struktur yang khas yaitu hidroksikinamat dan hidroksibenzoat (Tanase dkk., 2019). Contoh struktur asam fenolik ditunjukkan dalam gambar 2.7.



Gambar. 2.7 Struktur asam fenolik (Tanase dkk., 2019)

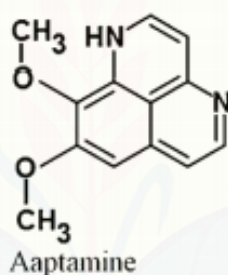
2.8.2. Penentuan kadar fenol

Penentuan kadar fenol dilakukan untuk mengetahui banyaknya kandungan senyawa fenol yang terdapat dalam ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.). Penentuan kadar fenol ini dilakukan dengan menggunakan standar asam galat dengan analisis kualitatif (Tahir dkk., 2017). Penetapan kadar fenol total menggunakan pereaksi *Folin-Ciocalteu*, pereaksi ini dapat bereaksi dengan folin dan membentuk larutan berwarna biru. Reaksi yang terjadi pada prinsip metode reaksi *Folin-Ciocalteu* adalah oksidasi gugus fenolik hidroksil yang bekerja mengoksidasi fenolat (garam alkali) dan mereduksi asam heteropoli hingga terbentuk suatu kompleks *molybdenum-tungsten* (Mo-W). Fenolat yang terkandung terdapat pada larutan yang bersifat basa, namun pereaksi ini tidak stabil dalam kondisi yang basa. Selama terjadi reaksi, gugus fenolik - hidroksi dengan pereaksi *Folin-Ciocalteu* akan membentuk suatu kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat yang membuat larutan berwarna biru sehingga dapat dideteksi oleh spektrofotometer. Semakin pekat warna biru yang dihasilkan maka semakin banyak reduksi asam hetropoli oleh ion fenolat yang berarti semakin besar konsentrasi senyawa fenolik yang terdapat didalamnya (Kusbandari dan Prasetyo, 2018). Nilai kadar fenol total ditunjukkan dengan satuan miligram asam galat ekuivalen per gram ekstrak (mg GAE/g ekstrak) (Barki dkk., 2017)

2.10 Alkaloid

2.9.1 Struktur alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa organik nitrogen yang memiliki struktur kompleks dan massa molekul tinggi. Alkaloid memiliki sifat sedikit larut dalam air dan larut dalam etanol, benzena, eter, dan kloroform. Struktur alkaloid adalah heterosiklik dan memiliki basa primer, sekunder, atau tersier maupun memiliki gugus amonium kuartener. Karakteristik umum alkaloid adalah oleh pewarnaan atau pengendapan reagen alkaloid (Aniszewski, 2007). Berdasarkan struktur kimia, ada dua jenis alkaloid yaitu alkaloid heterosiklik (*typical* alkaloid) yang mengandung nitrogen rantai samping. Alkaloid heterosiklik dengan struktur dalam gambar 2.8 diklasifikasikan berdasarkan struktur cincinnya sedangkan alkaloid non-heterosiklik menurut asal biosintesisnya.



Gambar 2.8 Alkaloid heterosiklik (Cushnie dkk., 2014)

Alkaloid umumnya diklasifikasikan berdasarkan struktural yang dibagi sesuai dengan bentuk dan asal-usulnya. Tiga jenis utama alkaloid antara lain adalah true alkaloid, protoalkaloid, dan pseudoalkaloid. True alkaloid dan protoalkaloid berasal dari asam amino, sedangkan pseudoalkaloid tidak berasal dari senyawa ini (Aniszewski, 2015). Senyawa alkaloid dalam tanaman obat ditemukan menunjukkan efek yang menjanjikan untuk mengatasi obesitas dengan berbagai mekanisme. Alkaloid diduga mempunyai peranan sebagai antiobesitas melalui mekanisme penghambatan pada aktivitas lipase sehingga menghambat hidrolisis lemak menjadi monogliserida dan asam lemak (Ruiz dkk., 2005).

2.9.2 Prinsip penetapan kadar alkaloid

Penetapan alkaloid total dilakukan untuk mengetahui kandungan alkaloid yang ada dalam ekstrak tanaman yang diteliti. Metode penetapan kadar alkaloid total yang berkembang telah banyak, salah satunya adalah metode dengan instrumen analisis spektrofometri UV-Vis dan pereaksi BCG (Bromocresol green). Metode spektrofometri UV-Vis ini memiliki kelebihan dengan yang lain seperti sederhana, sensitif, dan cepat untuk penentuan alkaloid total pada ekstrak tanaman yang akan diteliti. Selain itu juga, reaksi alkaloid dengan BCG juga akan memberikan keunggulan seperti sensitivitas dan stabilitasnya. Hasil dari reaksi alkaloid dengan BCG akan membentuk produk berwarna kuning (Shamsa dkk., 2010).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah *true experimental laboratories*. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menentukan kandungan senyawa alkaloid dan fenolik dalam ekstrak buah cabe jawa, selanjutnya dapat dilakukan uji aktivitas penghambatan enzim lipase *in-vitro*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dimulai pada November 2019 hingga Desember 2020 di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi dan Laboratorium Farmasi Klinik dan Komunitas Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *microplate reader* (Dialab Elx800), *rotary evaporator* (Heidoiph Laborats 4000), mikro-pipet, inkubator (Stuart SBS40), satu set alat spectrometer UV-Vis, *shaker* (Stuart SSL1), sentrifugator (Hitachi CF15RXII), alat-alat gelas, dan timbangan analitik.

3.3.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi serbuk simplisia buah cabe jawa (*Piper Retrofractum* Vahl.), etanol 96% (Merck), *lipase porcine pankreas* (Sigma-Aldrich), Natrium Karbonat (Brataco), Natrium Nitrit (Brataco), standar asam galat (Sigma-Aldrich), reagen Folin-Ciocalteu (Merck), ρ -NPB (Sigma-Aldrich), natrium asetat (Merck), HCl 0,1 N (Merck), Asam asetat (Merck), *Tris (hydroxymethyl) aminomethane* (Sigma-Aldrich), Orlistat (Xenical), akuades, NaCO₃, reagen dragendrof, mayer, asam asetat (Merck), asam sulfat, kloroform, magnesium HCl.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak buah buah cabe jawa yang diperoleh dari Laboratorium Materia Medica Batu Malang.

3.4.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar alkaloid, kadar fenolik, dan persentase penghambatan (% Inhibisi).

3.4.3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi buah cabe jawa, waktu ekstraksi buah cabe jawa, metode analisis total alkaloid buah cabe jawa, jenis pelarut, dan metode uji penghambatan enzim lipase.

3.5 Rancangan Penelitian

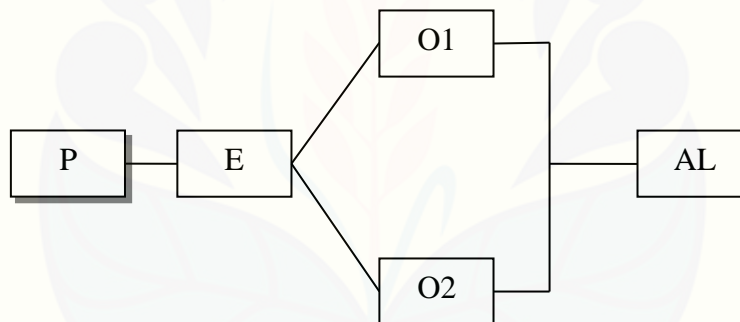
3.5.1. Definisi Operasional

1. Serbuk simplisia buah cabe jawa yang digunakan berasal dari laboratorium Materia Medica Batu.
2. Metode ekstraksi buah cabe jawa yang digunakan merupakan metode maserasi dengan pelarut ekstraksi yang digunakan adalah etanol 96%.
3. Analisis penentuan kadar total alkaloid menggunakan *bromocresol green* (BCG) dengan standar berberin klorida dengan menentukan interpolasi absorbansi analit ke dalam persamaan regresi linier standar berberin sehingga akan mendapatkan konsentrasi (x) dalam satuan $\mu\text{g/mL}$.
4. Analisis penentuan kadar total fenolik dengan menggunakan penambahan reagen Folin-Ciocalteu dan natrium karbonat. Perubahan warna pada larutan uji menjadi biru akan menunjukkan bahwa senyawa fenolik ada dalam larutan uji.

5. Analisis uji penghambatan lipase dengan menggunakan enzim lipase, substrat ρ -NPB (ρ -nitrofenil butirat), kontrol positif menggunakan orlistat.
6. Senyawa dikatakan mempunyai aktivitas anti-hiperlipidemia jika nilai IC_{50} yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan IC_{50} orlistat.

3.5.2. Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas inhibisi enzim pankreas lipase pada buah cabe jawa. Tahap awal penelitian dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi dalam pelarut etanol 96%. Tahap kedua adalah dilakukan pengukuran kadar alkaloid dan flavonoid. Tahap terakhir adalah pengujian aktivitas anti-hiperlipidemia dengan metode penghambatan enzim lipase secara *in vitro*. Rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar 3.1.



Gambar 3.1. Rancangan penelitian

Keterangan :

P : Simplisia buah cabe jawa

E : Ekstrak kental buah cabe jawa

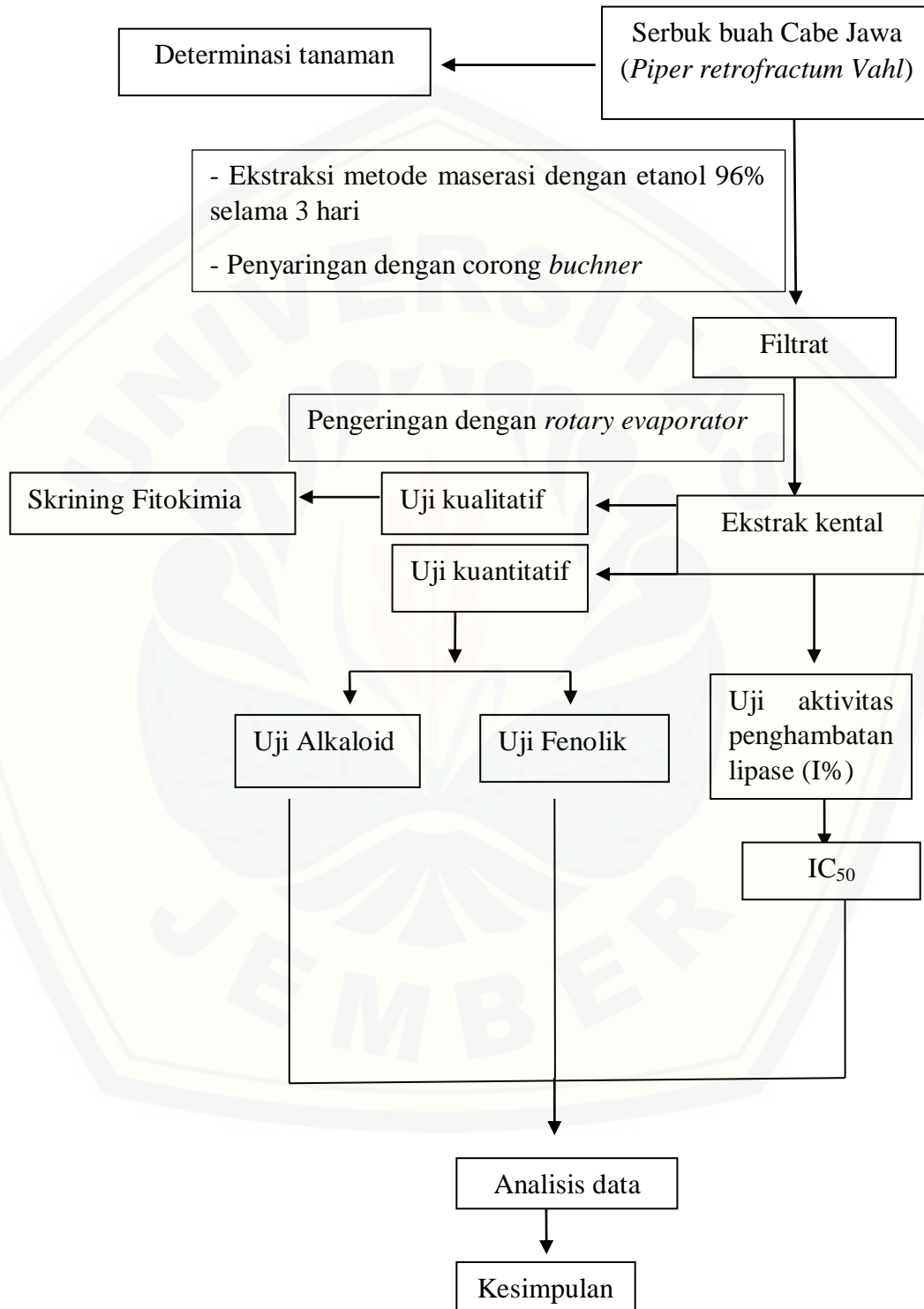
O1 : Uji kadar alkaloid

O2 : Uji kadar fenolik

AL : Uji aktivitas anti-hiperlipidemia penghambatan lipase secara *in vitro*

3.5.3 Alur penelitian

Alur penelitian ini selanjutnya akan dilakukan sebagai berikut:



Gambar 3.2. Alur Penelitian Uji Aktivitas Anti-hiperlipidemia ekstrak Cabe Jawa

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1. Ekstraksi

Ekstraksi serbuk simplisia cabe jawa dilakukan dengan cara maserasi. Metode maserasi ini menggunakan menggunakan pelarut etanol 96% (polar). Serbuk simplisia buah cabe jawa ditimbang sebanyak 1000 g dimasukkan dalam maserator. Pelarut etanol 96% sebanyak 7500 mL kemudian dimasukkan kedalam maserator. Serbuk simplisia didiamkan selama 3 x 24 jam pada suhu ruang. Setelah tiga hari, hasil maserasi difiltrasi dengan menggunakan corong *buchner* dan dilanjutkan dengan proses evaporasi menggunakan evaporator vakum pada suhu 40°C sampai didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian disimpan dalam wadah gelap, diberi label dan disimpan dalam lemari pendingin untuk selanjutnya dilakukan pengujian (Ismayadi, 2013).

3.6.2. Uji Kualitatif

a. Skrinning Fitokimia

Skrinning fitokimia pada ekstrak etanol buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) dilakukan untuk memberikan gambaran terkait kandungan golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Metode skrinning fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian perubahan warna dengan menggunakan pereaksi tertentu (Simaremare, 2014). Uji warna golongan senyawa dilakukan berdasarkan Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Uji Warna Golongan Senyawa (Ningsih dkk., 2016)

Golongan Senyawa	Pereaksi Warna
Alkaloid	Mayer Wagner
Glikosida Saponin	Uji Lieberman-Burchard Uji Buih
Steroid/ triterpenoid	+ Asam asetat anhidrida + Asam sulfat pekat
Polifenol	Fe(III) Klorida 10%
Tanin	Gelatin
Flavonoid(Leukoantosianin)	+ Asam klorida pekat

3.6.3 Uji Kuantitatif

A. Analisis Kandungan Total Alkaloid

1) Pembuatan Larutan Uji

Larutan Uji yang digunakan adalah larutan *bromocresol green* (BCG). Larutan ini dibuat dengan menimbang sebanyak 69,8 mg *bromocresol green* dan 3 mL NaOH 2 N serta penambahan 5 mL akuades. Campuran tersebut dipanaskan pada suhu 50-60°C selama 15 menit. Larutan tersebut kemudian diencerkan dengan penambahan 1000 mL akuades (Patel dkk., 2015).

2) Pembuatan Dapar Fosfat

Dapar fosfat yang digunakan adalah dapar fosfat pH 4,7 yang dibuat dengan komposisi campuran natrium fosfat (Na_2HPO_4) 0,2M dan asam sitrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) 0,2 M sampai mendapatkan pH 4,7 (Patel dkk., 2015).

3) Preparasi Larutan Induk Standar Berberin Klorida

Preparasi larutan induk dibuat dengan menimbang sebanyak 1 mg berberin klorida ke dalam labu ukur 10 mL. Berberin klorida dilarutkan dengan menambahkan metanol sampai tanda batas sehingga didapatkan larutan standar berberin klorida dengan konsentrasi 100 µg/mL (Patel dkk., 2015).

4) Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

Optimasi panjang gelombang maksimum dilakukan pada standar berberin sebanyak 10 µg/mL dan larutan sampel yang telah dipreparasi menggunakan *bromocresol green* (BCG). Absorbansi diukur pada panjang gelombang 200-800 nm dengan spektrofotometer UV - Vis.

5) Preparasi Kurva Kalibrasi

Preparasi Kurva Kalibrasi dilakukan dengan membuat larutan berberin klorida masing-masing sebanyak (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 mL) dan dilakukan penambahan dengan larutan buffer fosfat 4,7 sebanyak 5 mL. Larutan *bromocresol green* (BCG) sebanyak 5 mL kemudian ditambahkan dalam larutan. Larutan tersebut kemudian melewati tahap ekstraksi dengan 5 mL kloroform. Setelah melewati tahap ekstraksi, dilakukan pengambilan lapisan kloroform dan memasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, proses selanjutnya menambahkan

kloroform sampai tanda batas. Absorbansi larutan tersebut kemudian akan diukur pada panjang gelombang 415 nm dengan spektrometer UV-Vis. Kurva kalibrasi yang digunakan dibuat dengan menggunakan data absorbansi terhadap konsentrasi berberin klorida (Patel dkk., 2015).

6) Penetapan Kadar Alkaloid Total

Penentuan kadar alkaloid total pada ekstrak etanol buah cabe jawa (*Piper retrofractum Vahl*) dilakukan dengan menimbang ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum Vahl*) sebanyak 50 mg. Sejumlah ekstrak ditambahkan dalam asam klorida (HCl) 2N dan melewati tahap penyaringan. Pencucian dengan kloroform selanjutnya dilakukan dengan menampung fase air dan melakukan penambahan NaOH sebagai penyesuaian pH larutan hingga mencapai pH netral. Larutan uji sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 5 mL buffer fosfat pH 7,4 dan 5 mL larutan *bromocresol green* (BCG). Campuran yang telah terbentuk melewati proses penggojogan yang membentuk suatu kompleks dan dilakukan ekstraksi pada kompleks tersebut dengan penambahan 5 mL kloroform. Penetapan kadar alkaloid total ini mengambil lapisan kloroform dan memasukkan kedalam labu ukur 10 mL serta melarutkan sampai tanda batas. Pembuatan larutan dilakukan sebanyak 3 kali replikasi (Patel dkk., 2015). Kadar alkaloid total ditentukan dan ditetapkan berdasarkan interpolasi absorbansi analit yang dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier standar berberin sehingga akan mendapatkan konsentrasi (x) dalam satuan µg/mL. Penentuan kadar alkaloid total dalam ekstrak etanol buah cabe jawa (*Piper retrofractum Vahl*) dihitung berdasarkan persamaan 3.1:

$$\text{Kadar alkaloid total} = \frac{\text{bobot alkaloid } (\mu\text{g})}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\% \text{ b/b BE} \dots \dots \dots (3.1)$$

B. Analisis Kandungan Total Fenol

a) Preparasi Standar

Preparasi standar dilakukan dengan menimbang standar asam galat sebanyak 25 mg dalam labu ukur pelarutan standar asam galat dilakukan dengan menambahkan metanol 98% sebanyak 25 mL sampai batas volume sehingga mendapatkan konsentrasi larutan induk standar asam galat 1000 µg/mL.

Pengenceran larutan induk asam galat dilakukan dengan memipet sejumlah tertentu larutan induk dan memasukkan ke dalam labu ukur. Penambahan metanol 98% dengan jumlah tertentu dilakukan sehingga konsentrasi larutan standar asam galat akhir yaitu 40 µg/mL, 50 µg/mL, 60 µg/mL, 80 µg/mL, 100 µg/mL, dan 120 µg/mL.

b) Preparasi Sampel

Preparasi sampel dilakukan dengan menimbang ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum Vahl*) masing-masing sebanyak 25 mg. Ekstrak kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan pelarutan ekstrak dilakukan dengan menambahkan metanol 98% sampai batas volume sehingga konsentrasi larutan uji ekstrak 2500 µg/mL.

c) Penentuan Kadar Fenol Total

Penentuan kadar fenol total dilakukan dengan menambahkan sebanyak 100 µL dari masing-masing larutan uji ekstrak dan larutan standar. Selanjutnya menambahkan campuran tersebut dengan 500 µL Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air). Larutan didiamkan selama 6 menit. Dan ditambahkan dengan 400 µL NaCO₃ (75 g/L air). Campuran yang diperoleh didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya mengukur absorbansi pada panjang gelombang 628 nm serta blanko merupakan semua reagen tanpa larutan ekstrak. Kandungan total fenolik ekstrak ditentukan dalam satuan mg *gallic acid equivalent* (GAE) per gram ekstrak menggunakan persamaan dari kurva standar asam galat.

C. Penentuan Aktivitas Anti-hiperlipidemia

a. Pembuatan Larutan dan Reagen

Penentuan aktivitas anti-hiperlipidemia memerlukan larutan dan reagen, antara lain :

1) Larutan Substrat ρ-NPB (ρ-nitrofenil butirat)

Larutan substrat ρ-NPB (ρ-nitrofenil butirat) dibuat dengan menyiapkan dan menimbang substrat ρ-NPB (ρ-nitrofenil butirat) sebanyak 4,184 mg dan

melarutkan campuran tersebut ke dalam asetonotril sebanyak 2 mL, sehingga mendapatkan konsentrasi substrat sebesar 10 mmol/L.

2) Buffer Tris HCl pH 7,4

Buffer tris HCl pH 7,4 dibuat dengan menyiapkan dan menimbang sejumlah 1,214 g tris, selanjutnya menambahkan bahan tersebut dengan NaCl sejumlah 29,22 mg. Setelah itu, campuran dilarutkan dalam 60 mL akuades dan dihomogenkan, kemudian melakukan pengecekan pH serta penambahan pelarut ad 100 ml dilakukan setelah pH telah sesuai dengan yang diinginkan.

3) Larutan Enzim Lipase

Larutan enzim lipase dibuat dalam konsentrasi 2,5 mg/mL dengan menimbang enzim lipase sebanyak 25 mg dan melarutkannya dalam buffer Tris HCl sebanyak 10 mL.

4) Larutan Kontrol Positif

Larutan kontrol positif dibuat dengan melarutkan sebanyak 5 mg orlistat dengan dapar fosfat pH 7,4 dalam labu ukur 5 mL dan mendapatkan konsentrasi orlistat sebesar 1000 ppm. Larutan ini kemudian dibuat dalam konsentrasi sebesar 25 ppm, 50 ppm, 125 ppm, 250 ppm, dan 500 ppm dengan melakukan proses pengenceran.

5) Larutan Ekstrak

Pembuatan larutan ekstrak dilakukan dengan menimbang ekstrak buah cabe jawa sebanyak 10 mg dan pelarutan ekstrak dibuat dalam 0,1 ml DMSO kemudian campuran divorteks, selanjutnya menambahkan buffer Tris HCl sebanyak 9,9 ml, sehingga mendapatkan konsentrasi ekstrak sebesar 1000 ppm. Pengenceran larutan ekstrak dilakukan hingga mendapatkan konsentrasi sebesar 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 500 ppm, 1000 ppm.

b. Pengujian Aktivitas Anti-hiperlipidemia

Pengujian aktivitas anti-hiperlipidemia yang dilakukan mengacu pada metode dari penelitian yang telah dilakukan oleh Dechakhamphu dan Wongchum (2015). Tahap awal pengujian pada ekstrak buah cabe jawa adalah melakukan preparasi larutan ekstrak dengan menimbang sejumlah tertentu sampel ekstrak buah cabe jawa (replikasi tiga kali) dan melarutkan dalam metanol. Preparasi

enzim lipase dengan konsentrasi 2,5 mg/mL dilakukan dengan cara melarutkan 25 mg enzim lipase dengan 10 mL dapar Tris HCl 1,0 M ph 7,0. Substrat p-NPB konsentrasi 23,9 mmol/L (bobot molekul = 209,20) dibuat dengan menimbang 50 mg p-NPB dan dilarutkan dengan 10 mL Asetonitril.

Pengujian aktivitas anti-hiperlipidemia dilakukan dengan cara mereaksikan 100 µL larutan ekstrak buah cabe jawa pada berbagai konsentrasi dengan enzim lipase dan diinkubasi pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, menambahkan substrat dan akuadest yang selanjutnya diinkubasi kembali pada suhu 37°C. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang hasil optimasi. Aktivitas lipase ditentukan dengan mengukur hidrolisis p-NPB menjadi p-nitrofenol menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang sesuai hasil optimasi dan pengujian dilakukan sebanyak tiga kali replikasi. Persentase penghambatan lipase dapat dihitung dengan melakukan perhitungan seperti pada persamaan 3.2.

$$\text{penghambatan lipase (\%)} = \frac{A \text{ blanko} - A \text{ uji}}{A \text{ blanko}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.2)$$

Keterangan:

A blanko = Absorbansi pengujian tanpa sampel uji

A uji = Absorbansi pengujian dengan sampel uji

Setelah didapatkan persentase penghambatan lipase dari beberapa konsentrasi uji dengan persamaan 3.2, selanjutnya ditentukan dalam persamaan 3.3.

$$y = bx + a \dots \dots \dots (3.3)$$

Perhitungan secara regresi linier digunakan, dimana:

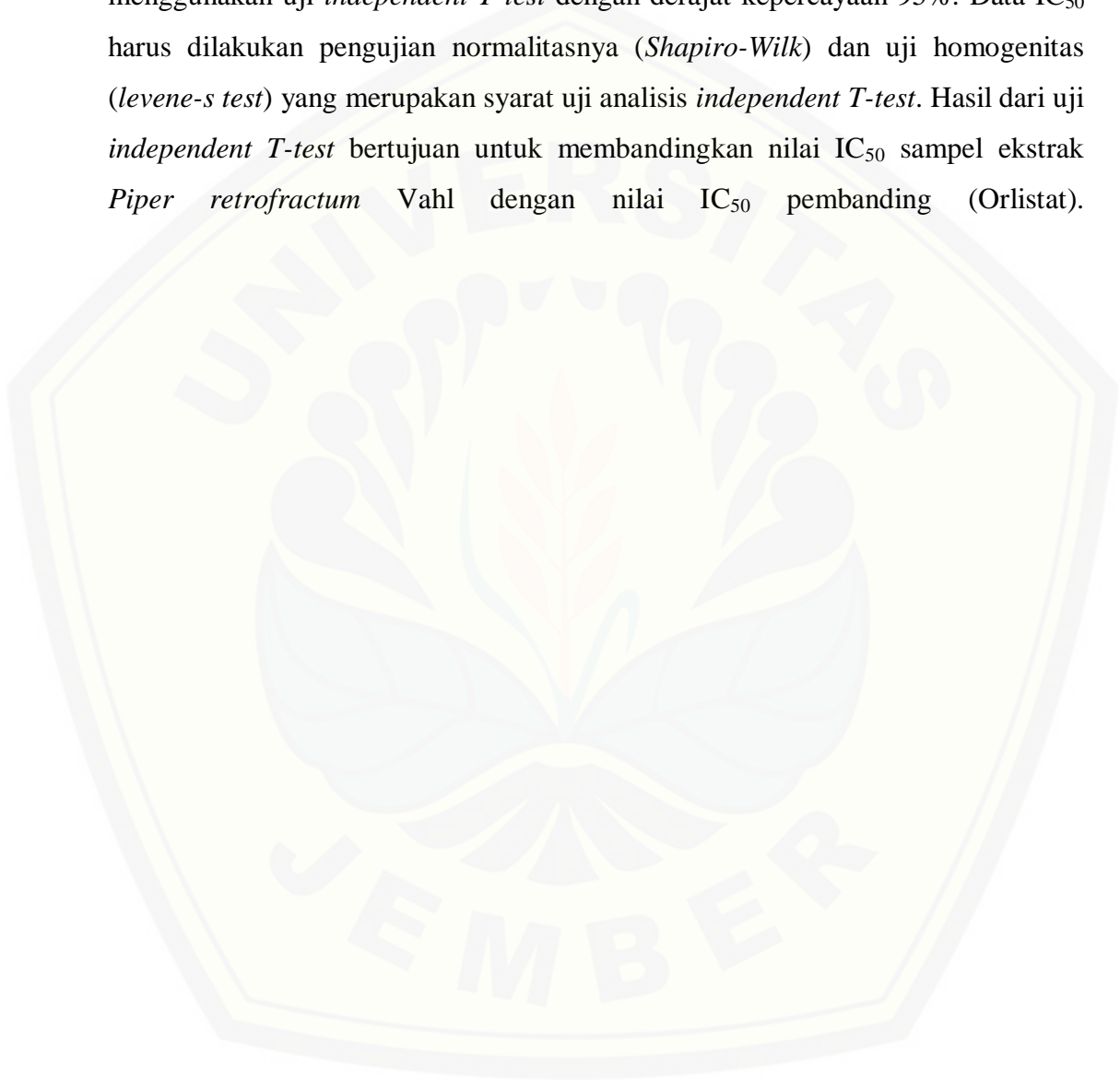
x = Konsentrasi uji (µg/mL)

y = Persentase penghambatan lipase (%).

Kemampuan ekstrak dalam menghambat aktivitas lipase dinyatakan dalam IC₅₀ (*inhibition concentration 50%*) yaitu konsentrasi sampel yang dapat menghambat aktivitas lipase sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti y = 50.

c. Analisis data

Semua data, yaitu total flavonoid, total alkaloid dan IC_{50} akan ditunjukkan dalam rerata dengan SD. Data IC_{50} yang telah didapatkan dari hasil penelitian akan dianalisis statistik menggunakan SPSS versi 18.0 *for windows* dengan menggunakan uji *independent T-test* dengan derajat kepercayaan 95%. Data IC_{50} harus dilakukan pengujian normalitasnya (*Shapiro-Wilk*) dan uji homogenitas (*levene-s test*) yang merupakan syarat uji analisis *independent T-test*. Hasil dari uji *independent T-test* bertujuan untuk membandingkan nilai IC_{50} sampel ekstrak *Piper retrofractum* Vahl dengan nilai IC_{50} pembanding (Orlistat).



BAB 5. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) mengandung senyawa alkaloid, glikosida saponin, steroid, terpenoid, flavonoid (leukoantosianin), polifenol dan tanin.
2. Kandungan senyawa alkaloid total buah ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) sebesar 6,239 mg/g sedangkan kandungan senyawa fenolik total sebesar 44,09 mg/g ekstrak buah cabe jawa.
3. Ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) memiliki aktivitas penghambatan enzim lipase dengan kategori sedang dengan nilai IC_{50} sebesar 148,953 $\mu\text{g/mL}$.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.), saran yang dapat diberikan oleh penulis adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui isolasi senyawa kimia aktif pada ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) yang berperan dalam aktivitas penghambatan enzim lipase.
2. Perlu dilakukan penelitian aktivitas penghambatan enzim lipase pada pada ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) dengan menggunakan metode ekstraksi maupun metode analisis yang berbeda agar dapat membandingkan dengan metode yang dilakukan oleh peneliti.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Omar, M. A., A. K. Al-Suwailem, A. S. Al-Tamimi, dan M. S. Al-Suhibani. 2006. Safety and mechanism of action of orlistat (tetrahydrolipstatin) as the first local antiobesity drug. *Journal of Applied Sciences Research*. 2(4):205–208.
- Amit, G., S. Vandana, dan M. Sidharth. 2011. Hyperlipidemia: an updated review. *Inter J of Biopharma & Toxicol*. 1:81–89.
- Ananda, A. . 2009. Aktivitas antioksidan dan karakterisasi organoleptik minuman fungsional teh hijau (*camellia sinensis*) rempah instant. *Program Studi Gizi Masyarakat Dan Sumber Daya Keluarga Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor*
- Anggraini, S. dan S. Hidayat. 2014. Sensitivitas metode serologi dan polymerase chain reaction untuk mendeteksi bean common mosaic potyvirus pada kacang panjang. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 10(1):17–22.
- Aniszewski. 2007. *Alkaloids - Secrets of Life 2007*
- Aniszewski, T. 2015. *Definition, Typology, and Occurrence of Alkaloids*. Edisi 2. Elsevier B.V. *Alkaloids*.
- Arsana, P. M., R. Rosandi, A. Manaf, A. Budhiarta, H. Permana, K. W. Sucipta, D. Lindarto, S. Adi, B. Pramono, D. S. Harbuwono, A. Shahab, Sugiarto, J. Karimi, L. B. Purnomo, A. Yuwono, dan T. Suhartono. 2015. Panduan pengelolaan dislipidemia di indonesia. *Pb. Perkeni*. 4.
- Azwanida, N. 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*. 04(03):3–8.
- Bansal, A. B. dan Y. Al Khalil. 2020. *Orlistat*
- Barki, T., N. Kristiningrum, E. Puspitasari, dan F. A. Fajrin. 2017. Penetapan kadar fenol total dan pengujian aktivitas antioksidan minyak jahe gajah (*zingiber officinale* var. *officinale*) (determination of total phenolic content and antioxidant activity of jahe gajah (*zingiber officinale* var. *officinale*) oil). *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 5(3):432–436.
- Bhutani, K. K., S. C. Jagtap, N. A. Lunagariya, dan N. K. Patel. 2014. Inhibitors of pancreatic lipase: state of the art and clinical perspectives. *EXCLI Journal*. 13:897–921.
- BPOM RI. 2010. *Acuan Sediaan Herbal, Volume Kelima Edisi Pertama*. Jakarta: Direktorat OAI.
- Bruno, H. dan H. Alfredo. 2015. Safety assessment of fda-approved (orlistat and medications. 1–11.
- Buchholz, T. dan M. F. Melzig. 2015. Polyphenolic compounds as pancreatic

- lipase inhibitors. *Planta Medica*. 81(10):771–783.
- Carolien, O., K. G. Albert, dan K. Folkert. 2014. Bile acid sequestrants : more than simple resins. 1–4.
- Chaveerach, R., H. Kunitake, S. Nuchadomrong, N. Sattayasai, dan H. Komatsu. 2002. RAPD patterns as a useful tool to differentiate thai piper from morphologically alike japanese piper. *ScienceAsia*. 28(3):221.
- Cushnie, T. P. T., B. Cushnie, dan A. J. Lamb. 2014. Alkaloids: an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 44(5):377–386.
- De La Garza, A. L., F. I. Milagro, N. Boque, J. Campión, dan J. A. Martínez. 2011. Natural inhibitors of pancreatic lipase as new players in obesity treatment. *Planta Medica*. 77(8):773–785.
- Dechakhamphu, A dan N. Wongchum. 2015. Screening for anti-pancreatic lipase properties of 28 traditional thai medicinal herbs. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. (5(12):):1042–1045.
- Dechakhamphu, Ananya dan N. Wongchum. 2015. Screening for anti-pancreatic lipase properties of 28 traditional thai medicinal herbs. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 5(12):1042–1045.
- Dewi, S. U. 2002. Uji aktivitas infusa buah cabe jawa (*piper retrofractum vahl*) sebagai penurun kadar asam urat darah tikus putih jantan hiperurisemia akibat pemberian pyrazinamide. [undergraduate thesis]
- Dipiro, J. T., B. G. Wells, T. L. Schwinghammer, dan C. V. Dipiro. 2015. *Pharmacotherapy Handbook*
- Ercan, P. Ä. dan S. N. El. 2016. Inhibitory effects of chickpea and tribulus terrestris on lipase , α -amylase and inhibitory effects of chickpea and tribulus terrestris on lipase , a -amylase and a -glucosidase. *FOOD CHEMISTRY*. 205(March):163–169.
- Farid, S. P., E. Dean, U. of S. Carolina, C. of Pharmacy, S. Columbia, A. Professor, P. College, dan S. of Pharmacy. 2016. “ Hyperlipidemia update & review ”. *College of Pharmacy Columbia, SC*. 38 #7:1–15.
- Farmakope Herbal Indonesia. 2008. Farmakope herbal indonesia edisi i. *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*. 1–221.
- Fruh, S. M. 2017. Obesity: risk factors, complications, and strategies for sustainable long-term weight management. *Journal of the American Association of Nurse Practitioners*. 29:S3–S14.
- Gadde, K. M., C. K. Martin, H. R. Berthoud, dan S. B. Heymsfield. 2018. Obesity: pathophysiology and management. *Journal of the American College of Cardiology*. 71(1):69–84.

- González-García, I., J. Fernø, C. Diéguez, R. Nogueiras, dan M. López. 2017. Hypothalamic lipids: key regulators of whole body energy balance. *Neuroendocrinology*. 104(4):398–411.
- Gupta, A., V. Sehgal, dan S. Mehan. 2011. HYPERLIPIDEMIA: an updated review. (1):81–89.
- Gusti, I., Dadang, dan D. Priyono. 2016. AKTIVITAS insektisida ekstrak buah cabai jawa (*piper retrofractum*) terhadap *helopeltis antonii* (hemiptera: miridae). *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. 21(1):33.
- Hanć, T. dan S. Cortese. 2018. Attention deficit/hyperactivity-disorder and obesity: a review and model of current hypotheses explaining their comorbidity. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 92(May):16–28.
- Hardiana, R., Rudiyanasyah, dan T. A. Zaharah. 2012. Aktivitas antioksidan senyawa golongan fenol dari beberapa jenis tumbuhan famili malvaceae. *JKK*. 1(1):8–13.
- He, K., Y. Hu, H. Ma, Z. Zou, Y. Xiao, Y. Yang, M. Feng, X. Li, dan X. Ye. 2016. Biochimica et biophysica acta rhizoma coptidis alkaloids alleviate hyperlipidemia in b6 mice by modulating gut microbiota and bile acid pathways. *BBA - Molecular Basis of Disease*. 1862(9):1696–1709.
- Hidayat, M., S. Soeng, dan S. Prahastuti. 2014. Pengujian aktivitas inhibitor lipase ekstrak etanol dan hasil fraksionasi dari kedelai detam 1 dan daun jati belanda. *Chimica et Natura Acta*. 2(1):76–82.
- Hoffmann-La Roche. 2015. XENICAL® orlistat. Retrieved from [Www.RocheCanada.Com](http://www.RocheCanada.Com). 1–46.
- Hoyle, L. dan R. J. Wallace. 2010. *Gastrointestinal Tract: Fat Metabolism in the Colon*. Dalam Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology. united kingdom: springer-verlag Berlin Heidelberg.
- Ismaniar, M. 2013. Perbandingan komponen kimia penyusun minyak atsiri pada buah dari genus piper (*piper betle* l, *piper cubeba* l, dan *piper retrofractum* vahl) menggunakan analisis gc-ms. *UNS-F.MIPA Jur. Ilmu Kimia Program Studi Ilmu Kimia-M.0305006-2013*
- Ismayadi, K. 2013. AKTIVITAS biolarvasida fraksi semipolar ekstrak etanol 96% buah *piper retrofractum* vahl. terhadap larva nyamuk *anopheles aconitus* dan *aedes aegypti* serta profil kromatografi lapis tipisnya. *Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta*. 1–13.
- ITIS. 2011. *Piper retrofractum* vahl taxonomic serial no.: 506526
- Jaiswal, A., M. Preet, dan B. Tripti. 2017. Production and optimization of lipase enzyme from mesophiles and thermophiles. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*. 09(03):126–131.
- Jamal, Y., P. Irawati, A. Fathoni, dan A. Augusta. 2013. Chemical constituents and

- antibacterial effect of essential oil of javaneese pepper leaves (piper retrofractum vahl.). *Media of Health Research and Development*. 23(2):65–72.
- Jasmile, V. 2016. PENETAPAN kandungan fenolik total dan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak metanol daun cabe jawa (piper retrofractum vahl.)
- Jati, L. U. 2014. Perbedaan asupan lemak , lingkaran pinggang dan persentase lemak tubuh pada wanita dislipidemia dan non dislipidemia. 2:292–299.
- Jilan, I. F. 2018. ISOLASI, karakterisasi dan uji aktivitas antioksidan senyawa metil piperat dari ekstrak metanol buah cabe jawa (piper retrofractum) asal jawa barat. *Universitas Pendidikan Indonesia*
- Jukanti, A., P. M. Gaur, C. L. Gowda, dan R. Chibbar. 2012. Nutritional quality and health benefits of chickpea (cicer arietinum l.): a review. (August)
- Kadarwenny, C. P. 2018. Penetapan kadar alkaloid total dan uji aktivitas antibakteri terhadap bacillus cereus dari ekstrak etanol daun kematian (lunasia amara blanco). 9.
- Kim, G. N., M. R. Shin, S. H. Shin, A. R. Lee, J. Y. Lee, B. Il Seo, M. Y. Kim, T. H. Kim, J. S. Noh, M. H. Rhee, dan S. S. Roh. 2016. Study of antiobesity effect through inhibition of pancreatic lipase activity of diospyros kaki fruit and citrus unshiu peel. *BioMed Research International*. 2016
- Kim, K. J., M. S. Lee, K. Jo, dan J. K. Hwang. 2011. Piperidine alkaloids from piper retrofractum vahl. protect against high-fat diet-induced obesity by regulating lipid metabolism and activating amp-activated protein kinase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 411(1):219–225.
- Kumar, A. S. dan R. Singh. 2019. Pharmacotherapy in obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials of anti-obesity drugs. *Expert Review of Clinical Pharmacology*. 0(0):1.
- Kusbandari, A. dan D. Y. Prasetyo. 2018. Penetapan kadar fenolik total dan aktivitas. *Jurnal Ilmu Farmasi*. 15(2):72–80.
- Lasoń, E. dan J. Ogonowski. 2010. Lipase – characterization , applications and methods of immobilization. *Science Technique*. 64(2):97–102.
- Lin, X., S. B. Racette, L. Ma, M. Wallendorf, dan R. E. Ostlund. 2017. Ezetimibe increases endogenous cholesterol excretion in humans. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 37(5):990–996.
- Liu, T. T., X. T. Liu, Q. X. Chen, dan Y. Shi. 2020. Lipase inhibitors for obesity: a review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 128(November 2019)
- Ma'rufi, R. dan L. Rosita. 2014. Hubungan dislipidemia dan kejadian penyakit jantung koroner. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*. 6(1):47–53.
- Mahmoud, R. H. dan W. A. Elnour. 2013. Comparative evaluation of the efficacy

- of ginger and orlistat on obesity management, pancreatic lipase and liver peroxisomal catalase enzyme in male albino rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 17(1):75–83.
- Malik, J. A. 2013. *Encyclopedia of Behavioral Medicine*. *Encyclopedia of Behavioral Medicine*.
- Maria, P. dan S. Evagelia. 2009. Obesity disease. *Health Science Journal*. 3(3):132–138.
- Martinez-Gonzalez, A. I., E. Alvarez-Parrilla, Á. G. Díaz-Sánchez, L. A. de la Rosa, J. A. Núñez-Gastélum, A. A. Vazquez-Flores, dan G. A. Gonzalez-Aguilar. 2017. In vitro inhibition of pancreatic lipase by polyphenols: a kinetic, fluorescence spectroscopy and molecular docking study. *Food Technology and Biotechnology*. 55(4):519–530.
- Moeloek, N., S. W. Lestari, dan B. Wahjoedi. 2010. Uji klinik ekstrak cabe jawa (*piper retrofractum vahl*) sebagai fitofarmaka androgenik pada laki-laki hipogonad. *Maj Kedokt Indon*. (March 2015):255–262.
- Mulia, A., M. S. Masfria, A. D. S. Si, dan M. Si. 2018. Pengujian kandungan total fenol ekstrak etanol tempuyung (*shoncus arvensis* L .) talenta conference series pengujian kandungan total fenol ekstrak etanol tempuyung (*shoncus arvensis* L .). *TALENTA Conference Series: Tropical Medicine (TM)*. 1(1):284–290.
- Mulia, K., E. Z. Hasan, dan Akhmad. 2016. Total phenolic, anticancer and antioxidant activity of ethanol extract of *piper retrofractum vahl* from pamekasan and karang asem. *Current Biochemistry CURRENT BIOCHEMISTRY Jl. Agatis Gd. Fapet Lt*. 5(5):80–90.
- Neeland, I. J., R. Ross, J. P. Després, Y. Matsuzawa, S. Yamashita, I. Shai, J. Seidell, P. Magni, R. D. Santos, B. Arsenault, A. Cuevas, F. B. Hu, B. Griffin, A. Zambon, P. Barter, J. C. Fruchart, dan R. H. Eckel. 2019. Visceral and ectopic fat, atherosclerosis, and cardiometabolic disease: a position statement. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*. 7(9):715–725.
- Neely, D. D. dan D. D. Thompson. 2016. Lipids module 1: lipid metabolism and its role in atherosclerosis. *The British Journal Of Cardiology*
- Ningsih, indah yulia, E. Puspitasari, B. Triatmoko, dan D. Dianasari. 2016. Buku petunjuk praktikum fitokimia. 106.
- Nouh, F., M. Omar, dan M. Younis. 2019. Risk factors and management of hyperlipidemia (review) risk factors and management of hyperlipidemia (review). (January)
- Ofori-Asenso, R., A. A. Agyeman, A. Laar, dan D. Boateng. 2016. Overweight and obesity epidemic in ghana - a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 16(1)

- Okopień, B., Ł. Bułdak, dan A. Bóldys. 2018. Benefits and risks of the treatment with fibrates—a comprehensive summary. *Expert Review of Clinical Pharmacology*. 11(11):1099–1112.
- Okuda, T., T. Yoshida, T. Hatano, T. Hashimoto, A. Yamashita, S. Shimura, dan Y. Itoh. 2016. Tannins and lipase inhibitors containing the same as active ingredients
- Onwe, P., M. Folawiyo, A. Ogah, G. Umahi, A. Okorocho, dan A. Afoke. 2015. Hyperlipidemia: etiology and possible control. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*. 14(10):2279–2861.
- Ouimet, M., T. J. Barrett, dan E. A. Fisher. 2019. HDL and reverse cholesterol transport: basic mechanisms and their roles in vascular health and disease. *Circulation Research*. 124(10):1505–1518.
- Parwata, I. M. O. A. 2012. Obat tradisional. *Jurnal Keperawatan Universitas Jambi*. 218799.
- Patel, R. K., J. B. Patel, dan P. D. Trivedi. 2015. Spectrophotometric method for the estimation of total alkaloids in the *tinospora cordifolia* m. and its herbal formulations. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 7(10):249–251.
- Pereira, D. M., P. Valentão, J. A. Pereira, dan P. B. Andrade. 2009. Phenolics: from chemistry to biology. *Molecules*. 14(6):2202–2211.
- Phan, B. A. P., T. D. Dayspring, dan P. P. Toth. 2012. Ezetimibe therapy: mechanism of action and clinical update. *Article in Vascular Health and Risk Managemen*. (December 2013)
- Pi-sunyer dan F. Xavier. 2009. Orlistat. *Clinical Lipidology*
- Pliego, J., J. C. Mateos, J. Rodriguez, F. Valero, M. Baeza, R. Femat, R. Camacho, G. Sandoval, dan E. J. Herrera-López. 2015. Monitoring lipase/esterase activity by stopped flow in a sequential injection analysis system using p-nitrophenyl butyrate. *Sensors (Switzerland)*. 15(2):2798–2811.
- Pradipta, G. D., B. Kusumawardhana, dan T. Herlambang. 2018. KANDUNGAN ekstrak cabe jawa untuk alternatif energi dalam aktivitas olahraga. *Jurnal Ilmiah PENJAS*. 4:23–32.
- Prasad, M. P., S. Shekhar, dan B. Amit. 2012. International journal of fundamental & applied sciences phytochemical analysis and antioxidant potential of piper species and its molecular characterization by rapid markers. 1(4):71–73.
- Prasad, A. S. V. 2019. Biochemistry and molecular biology of mechanisms of action of fibrates – an overview. 26(2):1–12.
- Putri, septyne R. dan D. Isti. 2015. Obesitas sebagai faktor resiko peningkatan

- kadar trigliserida obesity as risk factor of higher triglyceride level. *Majority*. 2007:78.
- Qi, X. 2018. Review of the clinical effect of orlistat review of the clinical effect of orlistat
- Rajan, L., D. Palaniswamy, dan S. K. Mohankumar. 2020. *Targeting Obesity with Plant-Derived Pancreatic Lipase Inhibitors: A Comprehensive Review*. Elsevier Ltd. *Pharmacological Research*.
- Ramadhan, H., L. Andina, K. A. Yuliana, D. Baidah, dan N. P. Lestari. 2020. Jurnal ilmiah farmako bahari phytochemical screening and randemen comparison of 96 % ethanol extract of terap (artocarpus odoratissimus blanco) leaf , flesh and peel ekstrak etanol 96 % daun , buah dan kulit buah terap (artocarpus odoratissimus blanco . 103–112.
- Ramadhan, L. Z., Muhartonodan, dan U. G. Mutiara. 2019. Jati belanda (guazuma ulmifolia lamk.) as an alternative therapy for obesity. *Jurnal Medula*. 8:161–167.
- Rampengan, S. H. 2015. MENINGKATKAN kolesterol hdl paradigma baru dalam pencegahan penyakit kardiovaskular. *Jurnal Biomedik (Jbm)*. 7(2):89–98.
- Rhee, E., H. C. Kim, J. H. Kim, E. Y. Lee, B. J. Kim, E. M. Kim, Y. Song, J. H. Lim, H. J. Kim, S. Choi, M. K. Moon, J. O. Na, K. Park, M. S. Oh, S. Y. Han, J. Noh, K. H. Yi, S. Lee, S. Hong, dan I. Jeong. 2019. 2018 guidelines for the management of dyslipidemia cardiovascular disease in koreans. 723–771.
- Robert, B. 2011. American family physician. pharmacological treatment of hyperlipidemia. *American Family Physician*. 81(9):1097–1102.
- Rosalina, K. 2013. Aktivitas biolarvasida ekstrak etanol buah piper retrofractum vahl. terhadap larva nyamuk anopheles aconitus dan aedes aegypti serta profil kromatografi lapis tipisnya. *Skripsi Thesis, Universitas Muhammadiyah Surakarta*
- Ruhnayat, A., R. S. Muljati, dan W. Haryudin. 2011. Respon tanaman cabe jawa produktif terhadap pemupukan di sumenep madura. bul. littro. *Balai Penelitian Tanaman Obat Dan Aromatik*. 22(2):136–146.
- Ruiz, C., S. Falcocchio, E. Xoxi, L. Villo, G. Nicolosi, F. Pastor, P. Diaz, dan L. Saso. 2005. Inhibition of candida rugosa lipase by saponin, flavonoids and alkaloids. biochem. 63 : 539-560. *J. Biosci. Biotechnol*. 539–560.
- Salamah, N., M. Rozak, dan M. Al Abror. 2017. Pengaruh metode penyarian terhadap kadar alkaloid total daun jembirit (tabernaemontana sphaerocarpa. bl) dengan metode spektrofotometri visibel. *Pharmaciana*. 7(1):113.
- Salleh, W. M. N. H. W. dan F. Ahmad. 2020. Phytopharmacological

- investigations of piper retrofractum vahl. – a review. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 85(3):193–202.
- Saraf, D. A. Y. 2014. Phytochemical and antimicrobial studies of medicinal plant piper longum linn. international. *Journal of Pharmacology and Phytochemical Research*. 6(2):213–222.
- Scaldeferri, F., M. Pizzoferrato, F. R. Ponziani, G. Gasbarrini, dan A. Gasbarrini. 2013. Use and indications of cholestyramine and bile acid sequestrants. *Internal and Emergency Medicine*. 8(3):205–210.
- Seyedan, A., M. A. Alshawsh, M. A. Alshagga, S. Koosha, dan Z. Mohamed. 2015. Medicinal plants and their inhibitory activities against pancreatic lipase: a review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015
- Shah, S. S., G. B. Shah, S. D. Singh, P. V. Gohil, K. Chauhan, K. A. Shah, dan M. Chorawala. 2011. Effect of piperine in the regulation of obesity-induced dyslipidemia in high-fat diet rats. *Indian Journal of Pharmacology*. 43(3):296–299.
- Shahwan, M. J., A. A. Jairoun, A. Farajallah, dan S. Shanabli. 2019. SC. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*
- Shamsa, F., H. Monsef, R. Ghamooshi, dan M. reza Verdianrizi. 2010. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some iranian medicinal plants. *Journal of Applied Horticulture*. 12(1):69–70.
- Shattat, G. F. 2014. A review article on hyperlipidemia: types, treatments and new drug targets. *Biomedical and Pharmacology Journal*. 7(2):399–409.
- Shethi, K. J., P. Rashid, M. Begum, dan M. O. Rahman. 2019. Morphoanatomical profile of five species of piper l. from bangladesh and its taxonomic significance. *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy*. 26(1):57–68.
- Sholehah, D. N., A. Amrullah, dan K. Badami. 2016. Identifikasi kadar dan pengaruh sifat kimia tanah terhadap metabolit sekunder kunyit (*curcuma domestica* val.) di bangkalan. *Rekayasa*. 9(1):61.
- Simaremare, E. S. 2014. SKRINING fitokimia ekstrak etanol daun gatal (*laportea decumana* (roxb.) wedd). *Program Studi Farmasi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Cenderawasih, Jayapura*. 11(01):98–107.
- Subandiyono, D. I. dan D. I. S. Hastuti. 2016. *Buku Ajar Nutrisi Ikan*. Editor C. K. MANDIRI. Lembaga Pengemangan Dan Penjaminan Mutu Pendidikan UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG.
- Suhartatik. 2008. UJI sitotoksik ekstrak etanol 70 % buah cabe jawa (*piper retrofractum* vahl.) terhadap sel hela. *Skripsi Thesis, Universitas Muhammadiyah Surakarta*
- Sumayyah, S. dan N. Salsabila. 2017. Obat tradisional: antara khasiat dan efek

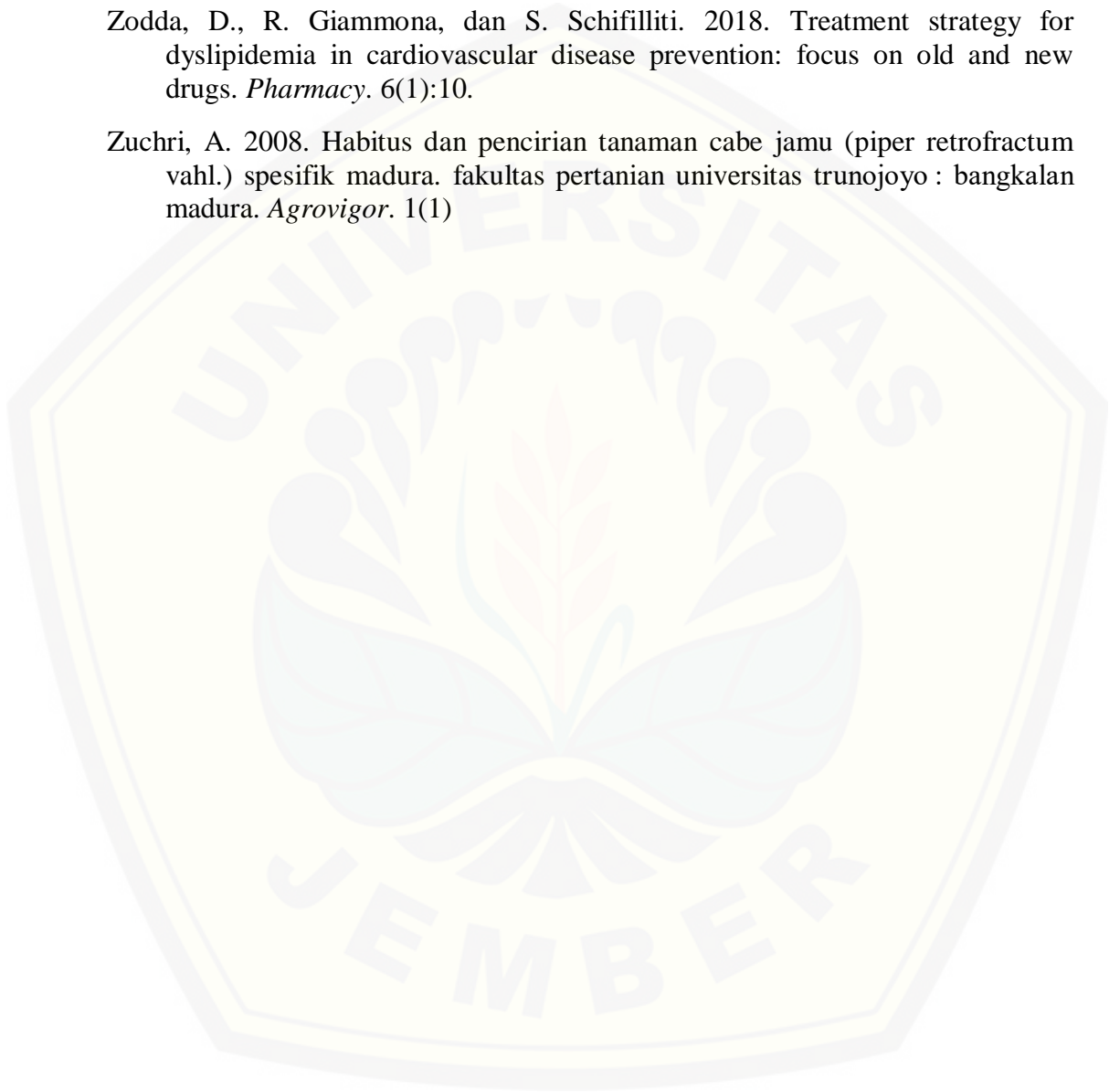
- sampingnya. *Farmasetika, Majalah Farmasi, Program Sarjana Farmasi, Fakultas Padjadjaran, Universitas*. 2(5):2003–2006.
- Tahir, M., A. Muflihunna, dan S. Syafrianti. 2017. PENENTUAN kadar fenolik total ekstrak etanol daun nilam (*pogostemon cablin benth.*) dengan metode spektrofotometri uv-vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 4(1):215–218.
- Tanase, C., S. Cosarcă, dan D. L. Muntean. 2019. A critical review of phenolic compounds extracted from the bark of woody vascular plants and their potential biological activity. *Molecules*. 24(6)
- Tati, N. 2018. Aktivitas antibakteri minyak atsiri buah cabe jawa (*piper retrofractum vahl.*) terhadap *staphylococcus aureus*, *bacillus subtilis* dan *escherichia coli* dengan metode difusi agar. *UNPAD Library Information System*
- Thompson, T. E. 2020. *Lipid, Biochemistry*
- Tsao, R. 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. 2(12):1231–1246.
- Umami, L. dan K. I. Purwani. 2015. Pengaruh ekstrak buah cabe jamu (*piper retrofractum vahl.*) terhadap perkembangan larva grayak (*spodoptera litura f.*). *Jurnal Sains Dan Seni ITS*. 4(2):37–39.
- Urifah, I. 2011. Daya inhibisi ekstrak rosella (*hibiscus sabdariffa*) terhadap enzim alfa-amilase, alfa-glukosidase dan lipase secara in vitro
- Vasavirama, K. dan M. Upender. 2014. Piperine: a valuable alkaloid from piper species. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(4):34–38.
- Vuolo, M. M., V. S. Lima, dan M. R. Maróstica Junior. 2018. *Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power*. Elsevier Inc. *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications*.
- WHO. 2018. *Noncommunicable Diseases Country Profiles 2018*
- WHO. 2019. *OBESITAS DI ERA MILENIAL*. 2019
- Wijaya, H., Novitasari, dan S. Jubaidah. 2018. Perbandingan metode ekstraksi terhadap rendemen ekstrak daun rambui laut (*sonneratia caseolaris l. engl.*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 4(1):79–83.
- Wulansari, I. A. ., P. S. Yustiantara, N. L. P. V Paramita, dan I. M. A. G. Wirasuta. 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah cabe jawa (*piper retrofractum vahl.*) terhadap bakteri *propionibacterium acnes* wulansari, *JURNAL FARMASI UDAYANA*. V(September)
- Xiguang, Q. 2018. Review of the clinical effect of orlistat. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 301(1)

Yasaman, P. dan S. Sandeep. 2019. *Biochemistry, Lipase*. Dalam National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine

Zakiyaturrodliyah, L. 2017. Isolasi, identifikasi, dan uji aktivitas senyawa saponin dalam mesokarp terong ungu (*solanum melongena* l) sebagai inhibitor lipase pankreas. *Diploma Thesis, Universitas Negeri Malang*.


Zodda, D., R. Giammona, dan S. Schifilliti. 2018. Treatment strategy for dyslipidemia in cardiovascular disease prevention: focus on old and new drugs. *Pharmacy*. 6(1):10.

Zuchri, A. 2008. Habitus dan pencirian tanaman cabe jamu (*piper retrofractum* vahl.) spesifik madura. fakultas pertanian universitas trunojoyo : bangkalan madura. *Agrovigor*. 1(1)



LAMPIRAN

Lampiran 4.1 Hasil Determinasi Tanaman Cabe Jawa



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
 Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396, e-mail: materiamedicabatu@jatimprov.go.id
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 604A/ 102.7/ 2020
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Cabe Jawa**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : DESAK AYU LESTARINI DEWI
 NIM : 162210101044
 Fakultas : FARMASI, UNIVERSITAS JEMBER.

1. Perihal determinasi tanaman cabe jawa
 Kingdom : Plantae
 Sub Kingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
 Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
 Divisi : Angiospermae/ Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
 Kelas : Dicotyledonae/ Magnoliopsida (Berkeping dua)
 Bangsa : Piperales
 Suku : Piperaceae
 Marga : Piper
 Jenis : *Piper retrofractum* Vahl.
 Nama Daerah : Cabean, cabe alas, cabe areuy, cabe jawa, c. sula (Jawa); cabai jhama, cabe ongghu, cabe solah (Madura); lada panjang, cabai jawa, cabai panjang (Sumatera); cabia (Makasar).

Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43b-50b-59b-61b-62b-63a-64a.


2. Morfologi : Habitus: Semak, menjalar, panjang ±12 m. Batang: Bulat, berkayu, membelit, beralur, beruas, hijau. Daun: Tunggal, lonjong, pangkal tumpul, ujung runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas licin, permukaan bawah berbentuk-bintik, panjang 8,5-20 cm, lebar 3-7 cm, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk bulir, tangkai panjang 0,5-2 cm, berang sari dua kadang tiga, pendek, kuning, putik 2-3 buah, hijau kekuningan. Buah: Lonjong, masih muda hijau setelah tua merah. Biji: Bulat pipih, coklat keputih-putihan. Akar: Tunggang, putih pucat.

3. Bagian yang digunakan : Buah.
 4. Penggunaan : Penelitian.
 5. Daftar Pustaka

- Anonim. 1977. *Materia Medica Indonesia "Jilid I"*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 2006. *Serial Tanaman Obat "CABAI JAWA"*. BPOM, Deputi Bidang pengawasan Obat Tradisional, Kosmetik dan Produk Komplemen, Direktorat Obat Asli Indonesia.
- Syamsuhidayat, Sei Sugati dan Johnny Ria Hutapea. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia III*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 29 Desember 2020



ACHMAISANIBRIE, SKM, M.Kes.
 PEMBINA
 NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 4.2 Perhitungan Rendemen Ekstraksi

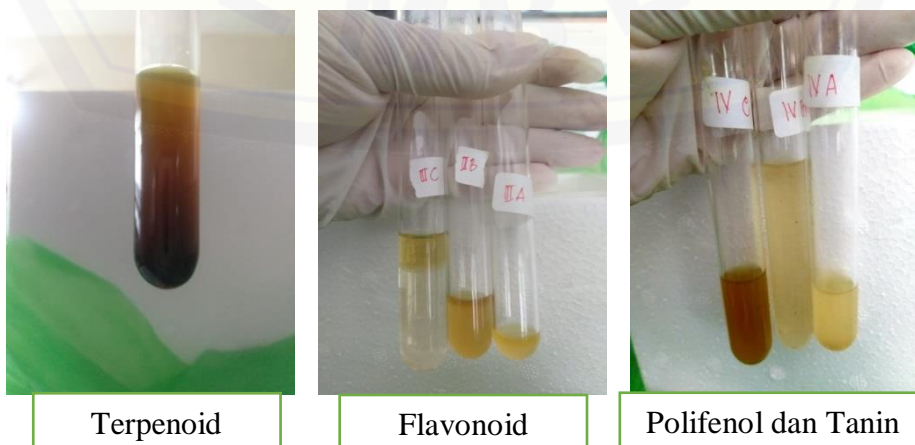
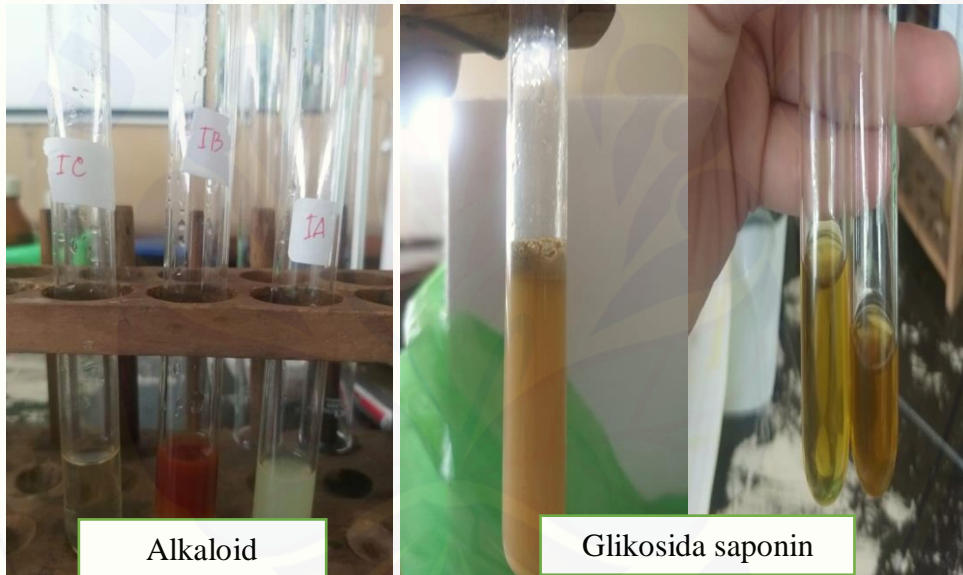
Rendemen ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1875 mL

Bobot simplisia (g) yang ditimbang : 250,04 g

Bobot ekstrak (g) yang diperoleh : 20,85 g

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot Ekstrak yang diperoleh}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{20,83 \text{ g}}{250,04 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 8,33 \% \end{aligned}$$

Lampiran 4.3 Skrinning Fitokimia



Lampiran 4.4 Penetapan Kadar Alkaloid Total

Lampiran 4.4.1 Preparasi Reagen

Bromocresol green (BCG) ditimbang sebanyak 7 mg dilarutkan dengan NaOH sebanyak 0,3 mL dan Aquadest sebanyak 0,5 mL, kemudian dipanaskan pada suhu 55°C selama 15 menit dan di addkan dengan aquadest 100 mL.

Lampiran 4.4.2 Preparasi Larutan Baku Berberin Klorida

Larutan Induk berberin klorida : $\frac{10,2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 1020 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Standar berberin klorida, dibuat menjadi beberapa konsentrasi dengan pengenceran dari larutan induk menjadi 6 konsentrasi uji, diantaranya : 40 $\mu\text{g/mL}$, 60 $\mu\text{g/mL}$, 80 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$, 120 $\mu\text{g/mL}$, dan 140 $\mu\text{g/mL}$.

Konsentrasi 1 : $\frac{0,4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1020 \text{ } \mu\text{g/mL} = 40,8 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Konsentrasi 2 : $\frac{0,6 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1020 \text{ } \mu\text{g/mL} = 61,2 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Konsentrasi 3 : $\frac{0,8 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1020 \text{ } \mu\text{g/mL} = 81,6 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Konsentrasi 4 : $\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1020 \text{ } \mu\text{g/mL} = 102 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Konsentrasi 5 : $\frac{1,2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1020 \text{ } \mu\text{g/mL} = 122,4 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Konsentrasi 6 : $\frac{1,4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1020 \text{ } \mu\text{g/mL} = 142,8 \text{ } \mu\text{g/mL}$

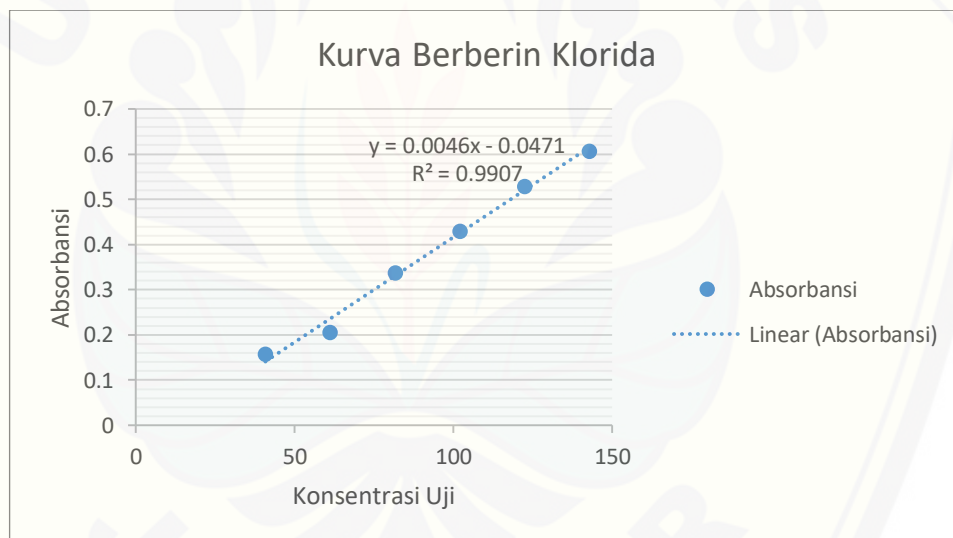
Lampiran 4.4.3 Kurva Standar Berberin

Data absorbansi standar berberin klorida

Konsentrasi (ppm)	Replikasi			Rata - rata
	1	2	3	
40,8	0,158	0,159	0,158	0,158
61,2	0,202	0,206	0,207	0,205
81,6	0,340	0,338	0,337	0,338
102	0,423	0,436	0,432	0,430
122,4	0,523	0,534	0,529	0,529
142,8	0,609	0,603	0,606	0,606

Konsentrasi standar berberin klorida diplot dengan absorbansi sehingga akan dihasilkan regresi $y = 0,00463x - 0,047$

Kurva standar berberin klorida



Lampiran 4.5 Penetapan Kadar Alkaloid Total Sampel Uji

1. Preparasi Sampel Uji

Sampel uji ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) dibuat dengan konsentrasi 10000 µg/mL sebanyak tiga kali replikasi.

Penimbangan ekstrak dimasing - masing konsentrasi yaitu sebanyak 105 mg, 106 mg, dan 105 mg dengan pelarut etanol 96% ad 10 ml.

$$\text{Konsentrasi Induk 1} : \frac{105 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 10500 \text{ µg/ml}$$

$$\text{Konsentrasi Induk 2} : \frac{106 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 10600 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi Induk 3} : \frac{105 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 10500 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

2. Pengujian Alkaloid Total Sampel Uji

Sampel Uji	Dapar Fosfat	Reagen BCG	Kloroform
105 mg	2 mL	2 mL	3 mL
106 mg	2 mL	2 mL	3 mL
102 mg	2 mL	2 mL	3 mL

3. Perhitungan Kadar Total Alkaloid Sampel Uji

Sampel Uji	Replikasi			Rata-rata
	1	2	3	
Sampel 1	0,262	0,262	0,261	0,262
Sampel 2	0,255	0,256	0,256	0,256
Sampel 3	0,263	0,263	0,263	0,263

a. Sampel Uji 1

$$y = 0,00463x - 0,047$$

$$0,262 = 0,00463x - 0,047$$

$$x = 66,74 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

dalam 10 mL

$$\frac{1 \text{ mL}}{66,74 \text{ } \mu\text{g}} = \frac{10 \text{ mL}}{x}$$

$$x = 667,4 \text{ } \mu\text{g}$$

Kadar Alkaloid Total

$$\frac{0,6674 \text{ mg}}{0,105 \text{ g}} = 6,36 \text{ mg/g ekstrak cabe jawa}$$

b. Sampel Uji 2

$$y = 0,00463x - 0,047$$

$$0,256 = 0,00463x - 0,047$$

$$x = 63,443 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

dalam 10 mL

$$\frac{1 \text{ mL}}{63,443 \text{ } \mu\text{g}} = \frac{10 \text{ mL}}{x}$$

$$x = 634,4 \text{ } \mu\text{g}$$

Kadar Alkaloid Total

$$\frac{0,634 \text{ mg}}{0,106 \text{ g}} = 5,98 \text{ mg/g ekstrak cabe jawa}$$

c. Sampel Uji 3

$$y = 0,00463x - 0,047$$

$$0,263 = 0,00463x - 0,047$$

$$x = 66,95 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

dalam 10 mL

$$\frac{1 \text{ mL}}{66,95 \text{ } \mu\text{g}} = \frac{10 \text{ mL}}{x}$$

$$x = 669,5 \text{ } \mu\text{g}$$

Kadar Alkaloid Total

$$\frac{0,6695 \text{ mg}}{0,105 \text{ g}} = 6,38 \text{ mg/g ekstrak cabe jawa}$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{(6,24-6,36)^2 + (6,24-5,98)^2 + (6,24-6,38)^2}{2}}$$

$$= \sqrt{0,0606}$$

$$= 0,246$$

$$\text{CV} = \frac{0,246}{6,24} \times 100 \% = 3,94 \%$$

Lampiran 4.6 Penetapan Kadar Fenolik Total

Lampiran 4.6.1 Preparasi Reagen

1. Larutan Folin-Ciocalteu

Sebanyak 1 mL Folin-Ciocalteu dilarutkan dalam aquadest 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 0,1 v/v.

2. Larutan NaCO₃

Sebanyak 0,75 g NaCO₃ dilarutkan dengan aquadest ad 10 mL, sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 7,5%.

Lampiran 4.6.2 Preparasi Larutan Baku Standar Asam Galat

Larutan Induk asam galat : $\frac{25,03 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 1001,2 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Konsentrasi Induk 1 : $\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1001,2 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100,12 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Konsentrasi Induk 2 : $\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100,12 = 200,24 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Standar asam galat dibuat menjadi 7 konsentrasi uji dengan pengenceran larutan induk standar asam galat menjadi 10 $\mu\text{g/mL}$, 20 $\mu\text{g/mL}$, 30 $\mu\text{g/mL}$, 40 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$, 60 $\mu\text{g/mL}$, dan 80 $\mu\text{g/mL}$.

Konsentrasi 1 : $\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100,12 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10,012 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Konsentrasi 2 : $\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100,12 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20,024 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Konsentrasi 3 : $\frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100,12 \text{ } \mu\text{g/mL} = 30,036 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Konsentrasi 4 : $\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,24 \text{ } \mu\text{g/mL} = 40,048 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Konsentrasi 5 : $\frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1001,2 \text{ } \mu\text{g/mL} = 50,06 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Konsentrasi 6 : $\frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,24 \text{ } \mu\text{g/mL} = 60,072 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Konsentrasi 7 : $\frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,24 \text{ } \mu\text{g/mL} = 80,096 \text{ } \mu\text{g/mL}$

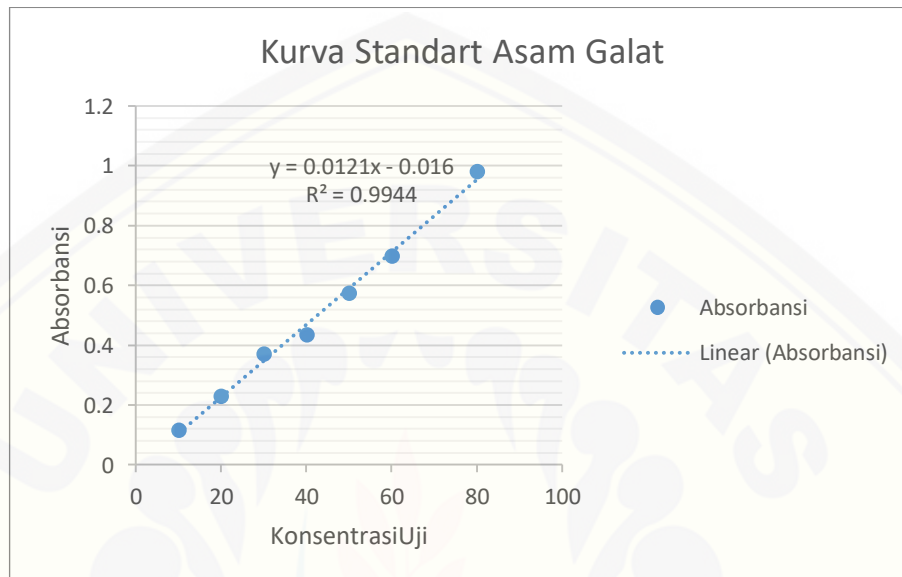
Lampiran 4.6.3 Kurva Standar Asam Galat

Data Absorbansi Asam Galat

Konsentrasi Uji (ppm)	Replikasi			Rata-rata
	1	2	3	
10,012	0,110	0,117	0,121	0,116
20,024	0,224	0,231	0,235	0,230
30,036	0,364	0,373	0,375	0,371
40,048	0,429	0,439	0,441	0,436
50,060	0,589	0,539	0,597	0,575
60,072	0,691	0,701	0,706	0,699
80,096	0,978	0,981	0,985	0,981

Konsentrasi asam galat diplot dengan data absorbansi yang didapat sehingga didapatkan persamaan regresi $y = 0,012x - 0,016$

Kurva standar asam galat



Lampiran 4.7 Penetapan Kadar Flavonoid Total Sampel Uji

1. Preparasi Sampel Uji

Konsentrasi sampel uji ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) dibuat dengan konsentrasi 2500 $\mu\text{g/mL}$ dan replikasi sebanyak tiga kali. Ekstrak cabe jawa masing – masing sebanyak 25,1 mg, 25,4 mg, dan 25,3 mg dilarutkan dalam metanol 98% ad 10 mL yang kemudian dilakukan pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi uji sebesar 500 $\mu\text{g/mL}$.

$$\text{Konsentrasi sampel induk replikasi 1 : } \frac{25,1 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 2510 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Pengenceran sampel induk 1 : } \frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2510 \mu\text{g/mL} = 502 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi sampel induk replikasi 2 : } \frac{25,4 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 2540 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Pengenceran sampel induk 2 : } \frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2540 \mu\text{g/mL} = 508 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi sampel induk replikasi 3 : } \frac{25,3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 2530 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Pengenceran sampel induk 3 : } \frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2530 \mu\text{g/mL} = 506 \mu\text{g/mL}$$

2. Pengujian Fenol Total Sampel Uji

Sampel Uji	Reagen Folin-Ciocalteu	NaCO ₃ 7,5 %
100 µL	500 µL	400 µL

3. Perhitungan Total Fenolik Sampel Uji

Data absorbansi sampel

Sampel Uji	Replikasi			Rata - rata
	1	2	3	
Sampel 1	0,267	0,270	0,270	0,269
Sampel 2	0,259	0,259	0,261	0,260
Sampel 3	0,224	0,225	0,225	0,225

a. Replikasi 1

$$y = 0,012x - 0,016$$

$$0,269 = 0,012x - 0,016$$

$$x = 23,75 \mu\text{g/mL} \text{ (kadar fenolik dalam } 100 \mu\text{L larutan ekstrak)}$$

dalam 100 µL

$$23,75 \mu\text{g/mL} \times 0,1 \text{ mL} = 2,375 \mu\text{g}$$

dalam 10 mL

$$\frac{0,1 \text{ mL}}{2,375 \text{ mL}} = \frac{10 \text{ mL}}{x}$$

$$x = 237,5 \mu\text{g}$$

dalam 10 mL

$$\frac{2 \text{ mL}}{237,5 \mu\text{g}} = \frac{10 \text{ mL}}{x}$$

$$x = 1187,5 \mu\text{g}$$

$$: 1,19 \text{ mg}$$

$$\text{Kadar total fenolik} : \frac{1,19 \text{ mg}}{0,0251}$$

$$: 47,31 \text{ mg/g ekstrak}$$

b. Replikasi 2

$$y = 0,012x - 0,016$$

$$0,260 = 0,012x - 0,016$$

$$x = 23 \mu\text{g/mL} \text{ (kadar fenolik dalam } 100 \mu\text{L larutan ekstrak)}$$

dalam 100 μL

$$23 \mu\text{g/mL} \times 0,1 \text{ mL} = 2,3 \mu\text{g}$$

dalam 10 mL

$$\frac{0,1 \text{ mL}}{2,3 \mu\text{g}} = \frac{10 \text{ mL}}{x}$$

$$x = 230 \mu\text{g}$$

dalam 10 mL

$$\frac{2 \text{ mL}}{230 \mu\text{g}} = \frac{10 \text{ mL}}{x}$$

$$x = 1150 \mu\text{g}$$

: 1,150 mg

$$\text{Kadar total fenolik} : \frac{1,150 \text{ mg}}{0,0254}$$

: 45,27 mg/g ekstrak

c. Replikasi 3

$$y = 0,012x - 0,016$$

$$0,225 = 0,012x - 0,016$$

$$x = 20,08 \mu\text{g/mL} \text{ (kadar fenolik dalam } 100 \mu\text{L larutan ekstrak)}$$

dalam 100 μL

$$20,08 \mu\text{g/mL} \times 0,1 \text{ mL} = 2,008 \mu\text{g}$$

dalam 10 mL

$$\frac{0,1 \text{ mL}}{2,008 \mu\text{g}} = \frac{10 \text{ mL}}{x}$$

$$x = 200,8 \mu\text{g}$$

dalam 10 mL

$$\frac{2 \text{ mL}}{200,8 \mu\text{g}} = \frac{10 \text{ mL}}{x}$$

$$x = 1004 \mu\text{g}$$

: 1,004 mg

$$\text{Kadar total fenolik} : \frac{1,004 \text{ mg}}{0,0253}$$

: 39,68 mg/g ekstrak

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{(44,09-47,31)^2 + (44,09-45,27)^2 + (44,09-39,68)^2}{2}}$$

$$= \sqrt{15,604}$$

$$= 3,95$$

$$CV = \frac{3,95}{44,09} \times 100 \% = 8,96 \%$$

Lampiran 4.8 Hasil Optimasi

Lampiran 4.8.1 Hasil Optimasi Panjang Gelombang

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi pada λ	
	405 nm	450 nm
1,022	0,348	0,249
5,1	0,338	0,193
10,2	0,324	0,172
25,5	0,312	0,156
51	0,180	0,138
102	0,101	0,123

Lampiran 4.8.2 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi pada Waktu Inkubasi			
	5 menit	15 menit	30 menit	45 menit
1,02	0,206	0,407	0,385	0,267
5,1	0,146	0,376	-	-
10,2	0,137	0,356	0,372	0,241
15,3	0,125	0,344	0,361	-
20,4	0,098	0,304	0,340	0,224
25,5	0,057	0,266	0,323	0,165

Lampiran 4.8.3 Hasil Optimasi Konsentrasi Orlistat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		
	1	2	3
1,02	0,344	0,348	0,351
5,1	0,335	0,338	0,342
10,2	0,326	0,325	0,322
25,5	0,316	0,309	0,312
51	0,181	0,185	0,173
102	0,091	0,123	0,089
250	0,357	0,381	0,270
500	0,394	0,376	0,241
1000	0,379	0,390	0,302

Lampiran 4.8.4 Hasil Optimasi volume Enzim

Konsentrasi (ppm)	Konsentrasi enzim	
	(25 µL)	(35 µL)
1,02	0,407	0,634
5,1	0,376	0,590
10,2	0,356	0,559
15,3	0,344	0,548
20,4	0,304	-
25,5	0,266	0,508

Lampiran 4.5 Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Lipase

Lampiran 4.9.1 Preparasi Reagen

1. Pembuatan Larutan dapar Tris HCl pH 7,4

Molaritas (M) *Tris(hydroxymethyl)aminomethane* 1,0 M

$$M = \frac{\text{massa (g)}}{BM} \times \frac{1000}{\text{volume (mL)}}$$

$$\text{massa} = \frac{1,0 \times 121,14 \times 100}{1000} = 12,14 \text{ g}$$

2. Pembuatan Enzim Lipase

$$\frac{20 \text{ mg}}{4 \text{ mL}} = 5 \text{ mg/mL (300 unit/mL)}$$

Sebanyak 20 mg enzim lipase dilarutkan dengan 4 mL dapar Tris HCl 7,4.

3. Pembuatan Larutan Substrat p-NPB

Substrat p-NPB sebanyak 3,52 µL dilarutkan dengan 2 mL asetonitril menjadi konsentrasi 10 mM, kemudian sebanyak 0,4 mL larutan substrat 10 mM dilarutkan dalam 2 mL asetonitril hingga menjadi 2 mM.

$$1190 \text{ mg/mL} \times \frac{3,52 \mu\text{L}}{1000 \text{ mL}} = 4,188 \text{ mg}$$

$$\frac{4,188 \text{ mg}}{2 \text{ mL}} = 2,094 \text{ mg/mL}$$

$$= 2,094 \text{ g/L}$$

$$2,094 \text{ g} : 209,2 \text{ g/mol} = 0,01 \text{ mol}$$

$$= 10 \text{ mmol}$$

$$100 \text{ mmol/L} = 10 \text{ mM}$$

$$\frac{0,4 \text{ mL}}{2 \text{ mL}} \times 10 \text{ mM} = 2 \text{ mM}$$

Lampiran 4.9.2 Preparasi Larutan Pembanding Orlistat

$$\text{Larutan induk orlistat} : \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 1000 \mu\text{g/mL}$$

Kemudian dilakukan pengenceran hingga menjadi konsentrasi sebesar 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50 dan 100 µg/mL dengan pelarut dapar posfat pH 7,4.

Pengenceran :

$$\text{Konsentrasi 1} : \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 100 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 2} : \frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 50 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 3} : \frac{0,1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 100 \mu\text{g/mL} = 10 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 4} : \frac{0,1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10 \mu\text{g/mL} = 1 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 5} : \frac{0,1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 50 \mu\text{g/mL} = 5 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 6} : \frac{1,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100 \mu\text{g/mL} = 15 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 7} : \frac{1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 100 \mu\text{g/mL} = 20 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 8} : \frac{1 \text{ mL}}{2 \text{ mL}} \times 50 \mu\text{g/mL} = 25 \mu\text{g/mL}$$



Lampiran 4.9.3 Preparasi Larutan Sampel Uji

Sebanyak 10 mg ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) dilarutkan dalam 0,1 mL DMSO dan 9,9 mL dapar tris HCl 7,4 dan menjadi konsentrasi induk sebesar 1000 µg/mL.

$$\text{Larutan induk sampel uji} : \frac{10,2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 1020 \text{ µg/mL}$$

Dilakukan pengenceran menjadi 1, 5, 10, 15, 25, 51 dan 102 µg/mL.

$$\text{Konsentrasi 1} : \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1020 \text{ µg/mL} = 102 \text{ µg/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 2} : \frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1020 \text{ µg/mL} = 51 \text{ µg/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 3} : \frac{0,1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 102 \text{ µg/mL} = 10,2 \text{ µg/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 4} : \frac{0,1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10,2 \text{ µg/mL} = 1,02 \text{ µg/mL}$$

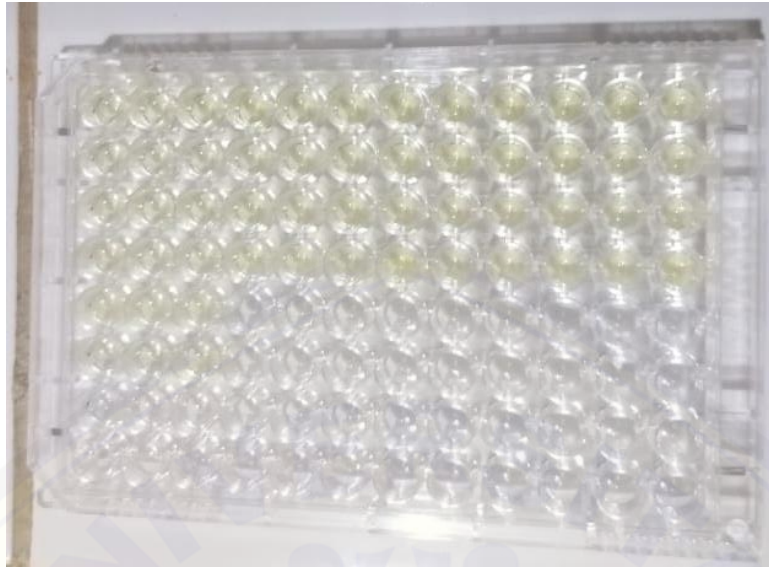
$$\text{Konsentrasi 5} : \frac{0,1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 51 \text{ µg/mL} = 5,1 \text{ µg/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 6} : \frac{1 \text{ mL}}{2 \text{ mL}} \times 51 \text{ µg/mL} = 25,5 \text{ µg/mL}$$

Lampiran 4.6 Pengujian Aktivitas penghambatan Enzim Lipase

Pengujian aktivitas penghambatan enzim lipase dilakukan dengan mereaksikan enzim, substrat, orlistat/ekstrak buah cabe jawa dan dapat tris HCl 7,4 dengan konsentrasi sebagai berikut :

	Orlistat	Ekstrak cabe jawa	Enzim	Dapar Tris Hcl	Substrat
Kontrol positif	20 µL	-	25 µL	135 µL	20 µL
Blanko kontrol positif	20 µL	-	-	160 µL	20 µL
Sampel uji	-	20 µL	25 µL	135 µL	20 µL
Kontrol negatif	-	-	25 µL	155 µL	20 µL
Blanko kontrol negatif	-	-	-	180 µL	20 µL



Pengujian inhibisi enzim lipase

Lampiran 4.7 Perhitungan Nilai IC₅₀

$$\% \text{Penghambatan Lipase} = \frac{\text{Absorbansi kontrol}(-) - \text{Absorbansi uji}}{\text{Absorbansi kontrol}(-)} \times 100 \%$$

Keterangan :

Absorbansi kontrol (-) : absorbansi enzim dan substrat tanpa inhibitor

Absorbansi Uji : absorbansi enzim, inhibitor dan substrat

Perhitungan IC₅₀ Orlistat

$$\text{IC}_{50} = \frac{50 - b}{a} \text{ dari persamaan regresi}$$

1. Hasil Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Lipase

Sampel	Konsentrasi sampel	Absorbansi			%inhibisi			Persamaan Garis	Nilai IC ₅₀
		Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep3		
Orlistat	1,02	0,344	0,348	0,351	40,59%	39,90 %	39,38%	y = 0,314x + 40,643 r = 0,97	29,80 µg/mL
	5,1	0,335	0,338	0,342	42,14 %	41,62 %	40,93%	y = 0,408x + 39,908 r = 0,97	24,47 µg/mL
	10,2	0,326	0,325	0,322	43,70 %	43,89%	44,39%	y = 0,471x + 38,962 r = 0,98	23,44 µg/mL
	25,5	0,316	0,309	0,312	45,42%	46,63%	46,11%		
	51	0,188	0,185	0,173	67,53 %	68,05%	70,12%		
	102	0,091	0,123	0,089	84,28 %	78,76 %	84,63%		
Ekstrak	1,02	0,693	0,689	0,696	5,20 %	5,22%	8,3%	y = 0,277x + 8,023 r = 0,97	151,541 µg/mL
	5,1	0,656	0,678	0,686	10,26 %	6,74%	9,62%	y = 0,288x + 6,708 r = 0,97	150,318 µg/mL
	10,2	0,638	0,641	0,648	12,72 %	11,83%	14,62%	y = 0,278x + 9,692 r = 0,99	144,99 µg/mL
	25,5	0,635	0,620	0,627	13,13%	12,65%	17,39%		
	51	0,539	0,561	0,567	26,26%	25,86%	25,30%		
	102	0,479	0,474	0,478	34,47%	34,11%	37,02%		
Absorbansi Kontrol(-)	0,731	0,727	0,716						

$$\% \text{ inhibisi orlistat} : \frac{0,579 - 0,344}{0,579} \times 100 \% = 40,59 \%$$

$$\% \text{ inhibisi orlistat} : \frac{0,579 - 0,333}{0,579} \times 100 \% = 42,14 \%$$

$$\% \text{ inhibisi orlistat} : \frac{0,579 - 0,320}{0,579} \times 100 \% = 43,70 \%$$

$$\% \text{ inhibisi orlista} : \frac{0,579 - 0,310}{0,579} \times 100 \% = 45,42 \%$$

$$\% \text{ inhibisi orlistat} : \frac{0,579 - 0,188}{0,579} \times 100 \% = 67,53 \%$$

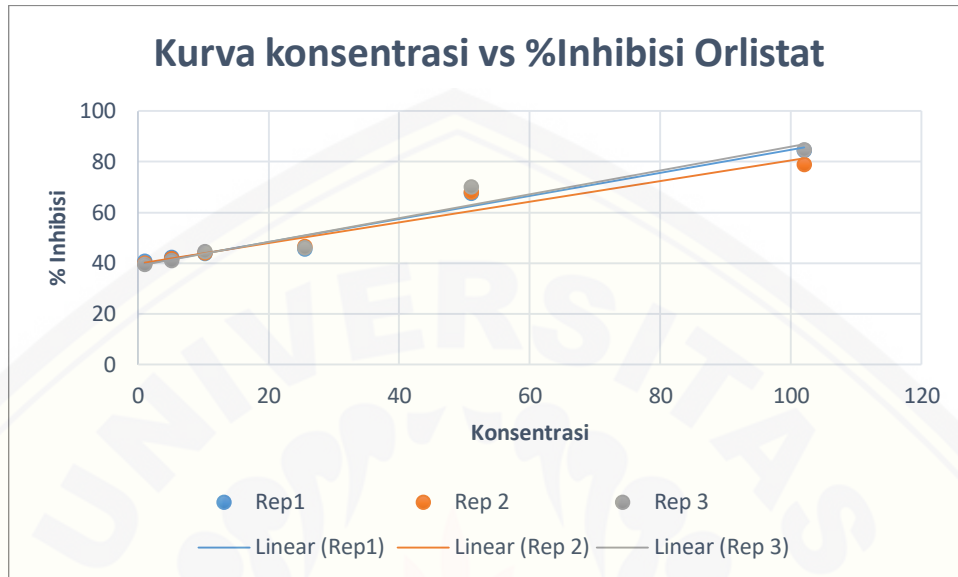
$$\% \text{ inhibisi orlistat} : \frac{0,579 - 0,091}{0,579} \times 100 \% = 84,28 \%$$

Data diplotkan antara konsentrasi orlistat dengan %inhibisi sehingga diperoleh persamaan regresi $y = 0,455x + 39,182$ dengan nilai r sebesar 0,981 dan dilakukan perhitungan nilai IC₅₀.

$$x = \frac{50 - 39,182}{0,455} = 23,78 \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 4.8 Kurva Konsentrasi Vs %Inhibisi

1. Kurva Orlistat terhadap Penghambatan Enzim Lipase



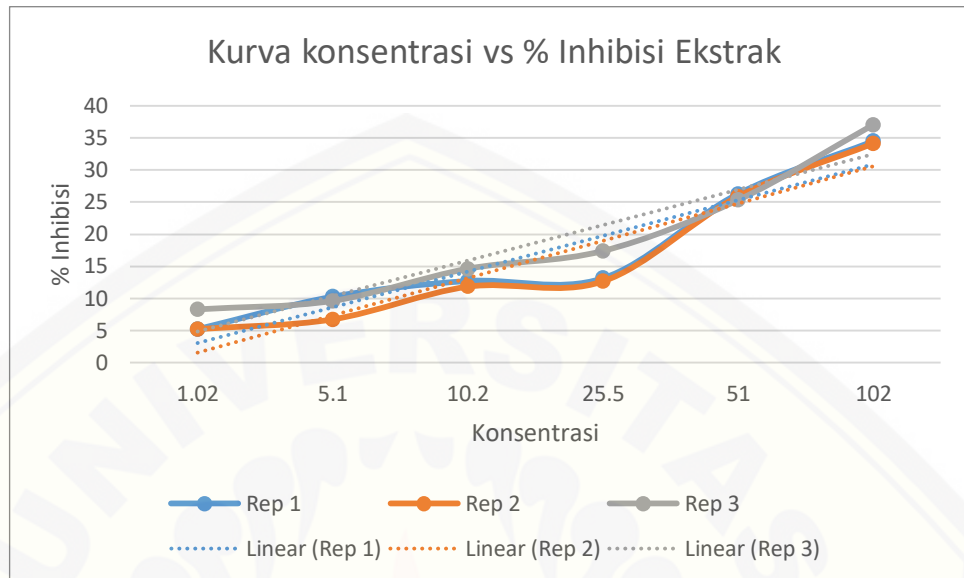
Rata – rata IC₅₀ = 25,99 µg/mL

2. Perhitungan SD dan CV

$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\frac{(25,99-29,80)^2+(25,99-24,74)^2+(25,99-23,44)^2}{2}} \\
 &= \sqrt{11,29} \\
 &= 3,36
 \end{aligned}$$

$$CV = \frac{3,36}{25,99} \times 100 \% = 12,92 \%$$

3. Kurva Ekstrak terhadap Penghambatan Enzim Lipase



Rata-rata IC₅₀ = 148,953 µg/mL

4. Perhitungan SD dan CV

$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\frac{(148,953 - 151,541)^2 + (148,953 - 150,328)^2 + (148,953 - 144,99)^2}{2}} \\
 &= \sqrt{12,147} \\
 &= 3,485
 \end{aligned}$$

$$CV = \frac{3,485}{148,953} \times 100 \% = 2,33 \%$$

Lampiran 4.9 Hasil Analisis Statistika *T-Test Independent*

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
orlistat	.312	3	.	.896	3	.372
ekstrak	.300	3	.	.913	3	.427

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

VAR00004

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.255	1	4	.640

Group Statistics

VAR0000		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
3					
VAR00004	orlistat	3	25.9933	3.36014	1.93998
	ekstrak	3	1.5247E2	2.73291	1.57785

3. Uji Independent T-test

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Hasil	.255	.640	-50.579	4	.000	-126.47967	2.50062	-133.42250	-119.53683
Equal variances assumed			-50.579	3.841	.000	-126.47967	2.50062	-133.53764	-119.42170
Equal variances not assumed									