



**UJI AKTIVITAS ANTIHIPERLIPIDEMIA EKSTRAK DAUN
KEPEL (*Stelechocarpus burahol*) SECARA IN VITRO
MENGUNAKAN METODE INHIBISI ENZIM LIPASE**

SKRIPSI

Oleh:

Finola Calysta Yakain

NIM 162210101007

BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2020



**UJI AKTIVITAS ANTIHIPERLIPIDEMIA EKSTRAK DAUN
KEPEL (*Stelechocarpus burahol*) SECARA IN VITRO
MENGUNAKAN METODE INHIBISI ENZIM LIPASE**

SKRIPSI

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

Oleh:

Finola Calysta Yakain

NIM 162210101007

BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2020

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

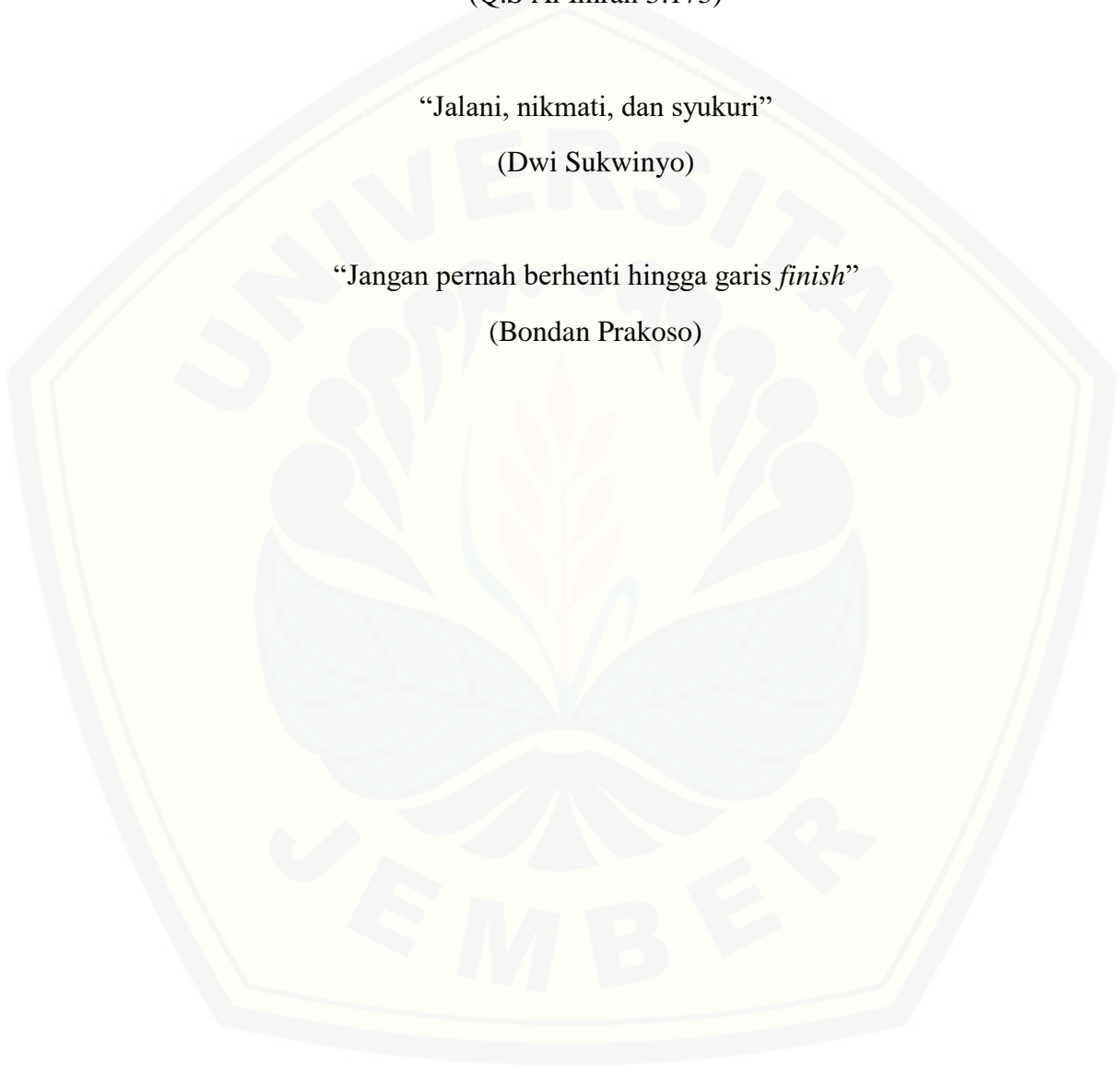
1. Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat, nikmat, dan hidayah kepada hamba-Nya yang selalu berjuang dalam kebaikan dan menuntut ilmu;
2. Ayah Yulianto Andri Kurniawan, S.E dan Mama Aning Isda Nuraini yang telah membesarkan dan senantiasa mendidik penulis dengan penuh kasih sayang, cinta, kerja keras, serta selalu memberikan motivasi, nasihat, dan doa sehingga skripsi ini dapat diselesaikan;
3. Nenek Hj. Nurul Hidayati, Om Anton (Alm), Tante Purwati, Adik Erina, Adik Ayu, dan seluruh kucing peliharaan yang senantiasa menghibur, memberikan semangat, dan doa kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi;
4. Bapak/Ibu guru penulis sedari penulis di bangku sekolah TK Sandhy Putra, SDI Plus Al-Azhar, SMPN 5 Mojokerto, SMAN 1 Sooko Mojokerto, hingga dosen, laboran, dan civitas akademik Fakultas Farmasi Universitas Jember, yang telah membimbing dan memberikan ilmu pengetahuannya kepada penulis dengan sabar;
5. Teman-teman seperjuangan farmasi angkatan 2016 (MORFIN);
6. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

“Cukuplah Allah menjadi Penolong kami dan Allah adalah
sebaik-baik Pelindung”
(Q.S Al Imran 3:173)

“Jalani, nikmati, dan syukuri”
(Dwi Sukwinyo)

“Jangan pernah berhenti hingga garis *finish*”
(Bondan Prakoso)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Finola Calysta Yakain

NIM : 162210101007

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Antihiperlipidemia Ekstrak Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Secera In Vitro Menggunakan Metode Inhibisi Enzim Lipase” adalah benar-benar 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 mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 24 Juli 2020

Yang menyatakan,

Finola Calysta Yakain

NIM 162210101007

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIHIPERLIPIDEMIA EKSTRAK DAUN KEPEL
(*Stelechocarpus burahol*) SECARA IN VITRO MENGGUNAKAN METODE
INHIBISI ENZIM LIPASE**

Oleh:

Finola Calysta Yakain

NIM 162210101007

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Diana Holidah, S.F., M.Farm., Apt

Dosen Pembimbing Anggota : Fransiska Maria C, S.Farm., M.Farm., Apt

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antihiperlipidemia Ekstrak Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Secara In Vitro Menggunakan Metode Inhibisi Enzim Lipase” karya Finola Calysta Yakain telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal :

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

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

Fransiska Maria C, S.Farm., M.Farm., Apt
NIP. 198404062009122008

Tim Penguji

Dosen Penguji Utama,

Dosen Penguji Anggota,

Dr. Fifteen Aprila Fajrin S.Farm., M. Farm., Apt
NIP. 198204152006042002

Ika Puspita Dewi S.Farm., M.Biomed., Apt
NIP. 198406132008122001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lestyo Wulandari, S.Farm., M.Sc., Apt
NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antihiperlipidemia Ekstrak Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Secara *In Vitro* Menggunakan Metode Inhibisi Enzim Lipase: Finola Calysta Yakain: 162210101007; 2020; 79 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

Hiperlipidemia merupakan suatu kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan terjadinya peningkatan trigliserida, kolesterol total, *Low Density Lipoprotein* (LDL), dan penurunan *High Density Lipoprotein* (HDL). Kadar kolesterol dan lipid yang tinggi dapat memicu oksidasi oleh radikal bebas dan menyebabkan terbentuk aterosklerosis. Seiring berjalannya waktu, aterosklerosis akan bermanifestasi menjadi penyakit jantung koroner yang merupakan penyebab kematian tertinggi di dunia. Menurut data *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) pada tahun 2013 hingga 2016, prevalensi total penyakit jantung koroner meningkat sebesar 48% atau setara dengan 121,5 juta jiwa. Berdasarkan data Riskesdas tahun 2018, prevalensi penyakit kardiovaskuler termasuk jantung koroner adalah 1,5% dengan 15 provinsi memiliki prevalensi diatas rata-rata nasional.

Salah satu terapi untuk mengatasi hiperlipidemia adalah menghambat metabolisme asam lemak dengan penghambatan enzim lipase pankreas. Enzim lipase pankreas berperan dalam hidrolisis trigliserida makanan menjadi monogliserida dan asam lemak bebas. Apabila enzim lipase pankreas tidak dihambat, maka akan meningkatkan risiko akumulasi asam lemak bebas dan monogliserida pada jaringan adiposa serta bermanifestasi menjadi aterosklerosis. Obat yang memiliki mekanisme menghambat enzim lipase adalah orlistat.

Salah satu tanaman yang dapat memiliki potensi memiliki aktivitas menghambat enzim lipase adalah daun kepel. Daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) mengandung senyawa kimia golongan flavonoid, alkaloid, tannin, polifenol, saponin, terpenoid, dan steroid. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan kadar flavonoid total dan menentukan aktivitas penghambatan enzim lipase pada ekstrak daun kepel secara *in vitro*.

Tahapan awal penelitian ini adalah ekstraksi simplisia daun kepel dengan metode remaserasi. Hasil ekstraksi didapatkan bobot rendemen ekstrak sebesar 13,24% (b/b). Penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun kepel menggunakan metode aluminium klorida dengan mengamati adanya perubahan warna kuning karena terbentuknya kuinon. Rata-rata kadar flavonoid total pada penelitian ini adalah $216,803 \pm 4,50$ mg QE/g ekstrak. Langkah selanjutnya adalah uji aktivitas penghambatan enzim lipase berdasarkan hidrolisis substrat ρ -NPB menggunakan alat ELISA reader. Pengujian dilakukan tiga kali replikasi pada ekstrak daun kepel dan kontrol positif (orlistat). Potensi ekstrak daun kepel dalam penghambatan enzim lipase dinyatakan dengan nilai Inhibition Concentration 50% (IC₅₀), yaitu konsentrasi inhibitor yang mampu menghambat aktivitas enzim lipase sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀, maka semakin besar nilai penghambatan terhadap aktivitas enzim lipase. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak daun kepel memiliki

aktivitas penghambatan enzim lipase dengan nilai IC_{50} $195,494 \mu\text{g/mL} \pm 2,965$ dan orlistat memiliki IC_{50} sebesar $12,799 \mu\text{g/mL} \pm 0,544$.

Berdasarkan analistik statistik menggunakan *independent T-test* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara ekstrak daun kepel dengan kontrol positif (orlistat) dengan nilai $p < 0,001$. Jadi, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kepel memiliki aktivitas penghambatan enzim lipase, namun potensi ekstrak daun kepel lebih rendah dibandingkan dengan orlistat sebagai kontrol positif. Senyawa yang diduga memiliki aktivitas penghambatan lipase pada daun kepel adalah flavonoid.



PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antihiperlipidemia Ekstrak Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Secara *In Vitro* dengan Metode Inhibisi Enzim Lipase”. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu persyaratan untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ayah Yulianto Andri Kurniawan, S.E dan Mama Aning Isda Nuraini yang telah membesarkan dan senantiasa mendidik penulis dengan penuh kasih sayang, cinta, kerja keras, serta selalu memberikan motivasi, nasihat, dan doa sehingga skripsi ini dapat diselesaikan;
2. Nenek Hj. Nurul Hidayati, Om Anton (Alm.), Tante Purwati, Adik Erina, Adik Ayu, dan seluruh kucing peliharaan yang senantiasa menghibur, memberikan semangat, dan doa kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi;
3. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
4. Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing dan memberikan arahan kepada penulis selama menjadi mahasiswi S1 di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
5. Ibu Diana Holidah S.F., M.Farm., Apt dan Ibu Fransiska Maria C., S.Farm., M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, dan perhatian, serta selalu menyemangati penulis untuk menyelesaikan skripsi;
6. Ibu Dr. Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm., M.Farm., Apt dan Ibu Ika Puspita Dewi, S.Farm., M.Biomed., Apt selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi;
7. Seluruh dosen dan civitas akademik Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu pengetahuan dan bimbingan selama masa perkuliahan;

8. Mbak Dinik dan Mbak Indri selaku laboran laboratorium farmakologi serta Ibu Widi dan Mbak Parka selaku laboran laboratorium biologi yang memberikan arahan dan membantu penulis selama penelitian;
9. Tim terbaik “FIMES” seperjuangan dalam penelitian, Monika Tri Wulandari, Sabda Kartika Ratu, dan Amirun Nisaul Maghfiroh atas kenangan suka dan duka, serta kerja sama yang hebat selama penelitian;
10. Sahabat “GS” (Leilani Rakhma Apriyanti, Amelia Windi Astutik, Tiara Sagita Putri Aditama, dan Monika Tri Wulandari) yang senantiasa menjadi tempat bertukar cerita, memberikan semangat hingga hujatan, ikhlas, dan sabar menjadi sahabat penulis;
11. Teman diskusi “Bulan Bintang” (Yessika, Shafira, Tyas, Jeni, Elin, Hariz, Uwik, Amel, Momon, dan Kibthi) yang memberikan semangat dan motivasi belajar selama masa perkuliahan;
12. Teman terdekat penulis, Fadhilah dan Amelia Mareta, yang telah menjadi tempat berkeluh kesah untuk saling berbagi cerita;
13. Keluarga Yudya Residence, Tante Ima, dan Ibu Kantin yang telah memberikan keluarga baru selama penulis berada di Jember;
14. Teman-teman KKN 49 (Mutiara, Lisa, Monika, Fany, Haechal, Ivan, dan Devi) serta seluruh warga Desa Silo Kabupaten Jember yang sudah memberikan keceriaan, pengalaman, dan kenangan yang sangat berarti bagi penulis;
15. Teman seperjuangan “MORFIN” angkatan 2016, kelas A, UKMO Fassenden, atas kebersamaan, kenangan, dan kerja sama yang dilakukan selama perkuliahan;
16. Semua pihak yang penulis tidak dapat sebutkan satu per satu.

Penulis menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi mahasiswa, dunia pendidikan dan penelitian, maupun masyarakat luas.

Jember, 24 Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI

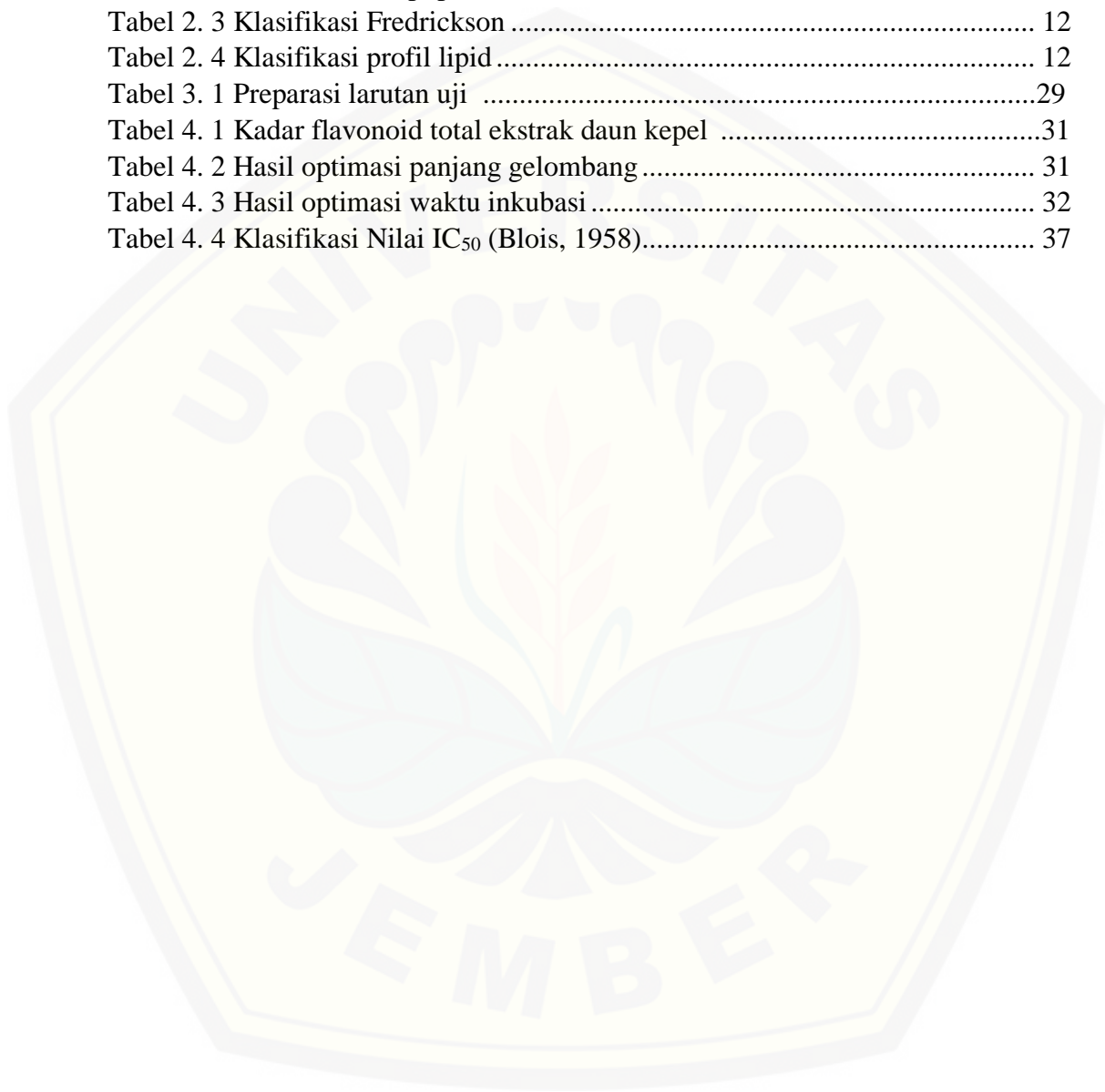
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Obesitas	5
2.2 Lipid	7
2.3 Metabolisme lipid.....	8
2.4 Hiperlipidemia.....	10
2.4.1 Klasifikasi	11
2.4.2 Diagnosis.....	12
2.5 Hubungan Obesitas dan Hiperlipidemia.....	13
2.6 Antihiperlipidemia.....	13
2.7 Antiobesitas	15
2.8 Enzim Lipase	18
2.9 Pengujian Aktivitas Antihiperlipidemia	19
2.10 Tanaman Kepel.....	20

2.10.1	Klasifikasi	20
2.10.2	Deskripsi Kepel	20
2.10.3	Kandungan dan Manfaat Kepel	21
2.11	Flavonoid Total.....	22
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN		24
3.1	Jenis Penelitian	24
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	24
3.3	Variabel Penelitian	24
3.3.1	Variabel Bebas	24
3.3.2	Variabel Terikat	24
3.3.3	Variabel Terkendali.....	24
3.4	Rancangan Penelitian	24
3.4.1	Definisi Operasional.....	24
3.4.2	Rancangan Percobaan	25
3.5	Alat dan Bahan	26
3.5.1	Alat.....	26
3.5.2	Bahan.....	26
3.6	Prosedur Penelitian.....	26
3.6.1	Pembuatan Ekstrak Daun Kepel.....	26
3.6.2	Penentuan Kadar Total Flavonoid.....	26
3.6.3	Penentuan Aktivitas Penghambatan Enzim Lipase	27
3.7	Analisis Data	29
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN		30
4.1	Hasil.....	30
4.1.1	Pembuatan Ekstrak Daun Kepel.....	30
4.1.2	Penetapan Kadar Flavonoid Total	30
4.1.3	Uji Pendahuluan Reaksi Enzimatis	31
4.1.4	Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Lipase	33
4.2	Pembahasan	35
BAB 5. KESIMPULAN		40
5.1	Kesimpulan.....	40
5.2	Saran	40

DAFTAR PUSTAKA	41
Lampiran 4.1 Hasil Determinasi Tumbuhan Kepel	49
Lampiran 4.2 Perhitungan Rendemen Ekstrak.....	50
Lampiran 4.3 Penetapan Kadar Flavonoid Total	51
Lampiran 4.3.1 Pembuatan Reagen	51
Lampiran 4.3.2 Pembuatan Standar Kuersetin.....	51
Lampiran 4.3.3 Kurva Standar Kuersetin	52
Lampiran 4.3.4 Kadar Flavonoid Total dalam Ekstrak Daun Kepel.....	53
Lampiran 4.4 Uji Penghambatan Enzim Lipase	54
Lampiran 4.4.1 Persiapan Sampel Uji.....	54
Lampiran 4.4.2 Perhitungan Nilai IC ₅₀ Penghambatan Enzim Lipase.....	56
Lampiran 4.4.3 Kurva Penghambatan Enzim Lipase.....	57
Lampiran 4.5 Hasil Analisis Statistik Uji Penghambatan Enzim Lipase.....	60
Lampiran 4.5.1 Uji Normalitas	60
Lampiran 4.5.2 Uji Homogenitas.....	60
Lampiran 4.5.3 Uji Independen T-Test.....	61
Lampiran 4.6 Dokumentasi.....	62

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Klasifikasi IMT kriteria Asia-Pasifik.....	6
Tabel 2. 2 Karakteristik lipoprotein	8
Tabel 2. 3 Klasifikasi Fredrickson	12
Tabel 2. 4 Klasifikasi profil lipid	12
Tabel 3. 1 Preparasi larutan uji	29
Tabel 4. 1 Kadar flavonoid total ekstrak daun kepel	31
Tabel 4. 2 Hasil optimasi panjang gelombang	31
Tabel 4. 3 Hasil optimasi waktu inkubasi	32
Tabel 4. 4 Klasifikasi Nilai IC ₅₀ (Blois, 1958).....	37



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Metabolisme lemak	8
Gambar 2. 2 Proses terbentuk aterosklerosis	11
Gambar 2. 3 Patofisiologi hiperlipidemia pada obesitas.....	13
Gambar 2. 4 Struktur kimia orlistat.....	16
Gambar 2. 5 Digesti lemak.....	19
Gambar 2. 6 Reaksi hidrolisis enzim lipase	19
Gambar 2. 7 Tanaman kepel	20
Gambar 2. 8 Reaksi kompleks aluminium-flavonoid	22
Gambar 4. 1 Kurva standar kuersetin.....	30
Gambar 4. 2 Kurva persentase penghambatan ekstrak daun kepel.....	33
Gambar 4. 3 Kurva persentase penghambatan orlistat.....	34
Gambar 4. 4 Perbandingan rata-rata nilai IC ₅₀	34
Gambar 4. 5 Prediksi ikatan flavonoid dengan Ser ¹⁵³ pada enzim lipase	39

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perubahan pola hidup yang mengarah ke *sedentary lifestyle* mengakibatkan masyarakat memiliki pola makan tinggi kalori atau *junk food*, sehingga berdampak pada peningkatan risiko obesitas (Vilchis-Gil dkk., 2015). Obesitas merupakan ketidakseimbangan antara asupan dan pengeluaran energi dalam metabolisme tubuh sehingga menyebabkan akumulasi lipid dan peningkatan berat badan (DiPiro dkk., 2017). Prevalensi obesitas meningkat secara signifikan baik di negara maju dan berkembang sehingga WHO menetapkan obesitas menjadi epidemi global (Rokholm dkk., 2010). Berdasarkan data statistik perkembangan obesitas di dunia oleh OECD (2017), rata-rata prevalensi obesitas pada populasi orang dengan umur ≥ 15 tahun mencapai 19,5%. Menurut Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018, prevalensi obesitas pada orang dewasa berusia ≥ 18 tahun yang memiliki nilai Indeks Massa Tubuh (IMT) $\geq 27,0$, meningkat hingga 21,8% lebih tinggi dari tahun 2013 (14,8%). Peningkatan prevalensi obesitas berdampak pada munculnya penyakit degeneratif, seperti penyakit kardiovaskuler dan hiperlipidemia (Klop dkk., 2013).

Hiperlipidemia adalah suatu kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan terjadinya peningkatan trigliserida, kolesterol total, *Low Density Lipoprotein* (LDL), dan penurunan *High Density Lipoprotein* (HDL) (DiPiro dkk., 2017). Kadar kolesterol atau lipid yang tinggi dapat memicu oksidasi oleh radikal bebas secara berlebihan sehingga menyebabkan aterosklerosis. Aterosklerosis adalah penyakit radang kronik kompleks yang mempengaruhi bentuk, menghilangkan elastisitas, dan menginduksi terbentuknya plak pada dinding arteri (Conti dan Shaik-Dasthagirisab, 2015). Seiring berjalannya waktu, aterosklerosis akan bermanifestasi menjadi penyakit jantung koroner yang merupakan penyebab kematian tertinggi di dunia (WHO, 2018). Menurut data *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) tahun 2013 hingga 2016, prevalensi total penyakit kardiovaskuler termasuk jantung koroner meningkat sebesar 48% atau setara 121,5 juta jiwa pada pria dan wanita (AHA, 2019). Berdasarkan data hasil

Risikedas tahun 2018, prevalensi penyakit kardiovaskuler adalah 1,5% dengan 15 provinsi memiliki prevalensi diatas rata-rata nasional (Kementrian Kesehatan RI, 2018).

Obesitas dan hiperlipidemia merupakan faktor risiko penyakit kardiovaskuler (Payne, 2012). Hubungan kedua faktor risiko menyebabkan gangguan metabolisme lipid (Bays dkk., 2013). Komponen lemak utama dalam asupan makanan adalah trigliserida, terdapat sekitar 98% dari total lipid dan 2% terdiri atas kolesterol dan fosfolipid (Putri dan Isti, 2015). Trigliserida akan mengalami proses hidrolisis oleh enzim lipase menjadi asam lemak bebas dan monogliserida agar mudah diabsorpsi oleh tubuh. Apabila terjadi peningkatan jumlah asupan makanan, maka akan terjadi peningkatan aktivitas pemecahan trigliserida oleh enzim lipase. Seiring berjalannya waktu, asam lemak bebas dan monogliserida akan terakumulasi pada jaringan adiposa dan bermanifestasi menjadi aterosklerosis (Nelson dan Cox, 2017). Upaya pengurangan risiko penyakit kardiovaskuler dapat melalui terapi antiobesitas dan antihiperlipidemia.

Salah satu terapi untuk mengatasi hiperlipidemia adalah memperlambat metabolisme asam lemak dengan penghambatan enzim lipase pankreas (Berglund dkk., 2012). Apabila enzim lipase pankreas terhambat maka akan proses metabolisme lemak juga akan terhambat. Orlistat merupakan terapi antiobesitas lini pertama yang memiliki mekanisme kerja berupa penghambatan enzim lipase. Orlistat merupakan turunan terhidrogenasi dari lipstatin dan diproduksi oleh *Streptomyces toxitricinin* (Bhutani dkk., 2014). Namun, penggunaan orlistat jangka panjang dilaporkan menimbulkan efek samping berupa berbagai masalah saluran pencernaan, kemungkinan terbentuknya batu ginjal, dan defisiensi vitamin D (Heck, 2017). Efek samping dari penggunaan orlistat menyebabkan perlunya terapi alternatif yang minim efek samping, seperti terapi herbal dari tanaman obat. Pengobatan herbal telah direkomendasikan oleh WHO sebagai pemeliharaan kesehatan, pencegahan, dan pengobatan penyakit, terutama penyakit degeneratif, seperti hiperlipidemia (Eddouks dkk., 2012). Selain itu, adanya kesadaran dari masyarakat terhadap gaya hidup “*back to nature*” untuk memanfaatkan kekayaan alam sebagai potensi obat herbal.

Indonesia memiliki kekayaan sumber daya alam yang melimpah, seperti keanekaragaman tanaman yang memiliki potensi sebagai obat. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai tanaman obat adalah kepel (*Stelechocarpus burahol*). Kepel memiliki kandungan flavonoid, alkaloid, tannin, polifenol, saponin, terpenoid dan steroid berdasarkan skrining kimia secara kualitatif (Priskasari, 2018). Kandungan isolat flavonoid pada daun kepel telah teridentifikasi yaitu 3,7,3',4'-tetrahidroksi-5metil flavon dan memiliki aktivitas antioksidan terbesar dengan nilai IC₅₀ sejumlah 6,43 µl/mL melalui metode DPPH secara *in vitro* (Sunarni dkk., 2007). Flanovoid memiliki aktivitas penghambatan enzim lipase (Rahim dkk., 2015). Selain itu, daun kepel telah terbukti secara *in vivo* memiliki aktivitas sebagai antidiabetes (Jeany, 2018), antihiperurisemia (Purwantiningsih dkk., 2010), antikolesterol, dan antihiperlipidemia (Haliza, 2018).

Pada penelitian antihiperlipidemia secara *in vivo* menunjukkan bahwa ekstrak daun kepel dapat menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida pada darah mencit yang diabetes karena diinduksi aloksan (Haliza, 2018). Sejauh ini, belum ada penelitian aktivitas antihiperlipidemia daun kepel secara *in vitro* yang dilaporkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas antihiperlipidemia secara *in vitro* pada ekstrak daun kepel melalui metode inhibisi enzim lipase.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah yang dapat diambil pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Apakah ekstrak daun kepel memiliki aktivitas penghambatan enzim lipase secara *in vitro*?
- b. Bagaimanakah aktivitas penghambatan enzim lipase ekstrak daun kepel dibandingkan orlistat?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian yang dilakukan yaitu:

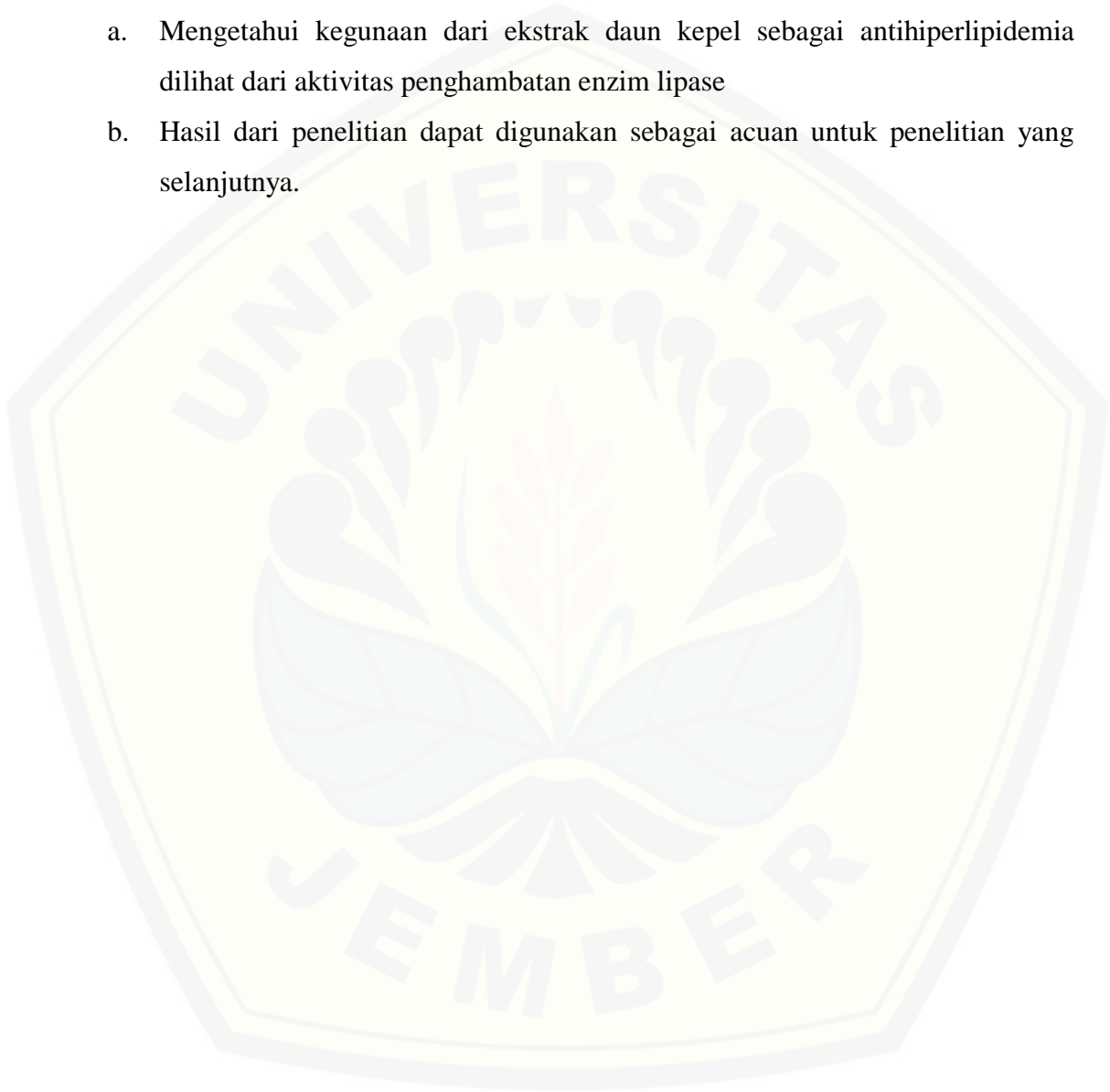
- a. Untuk mengetahui aktivitas penghambatan ekstrak daun kepel terhadap enzim lipase secara *in vitro*

- b. Untuk mengetahui perbandingan aktivitas penghambatan enzim lipase dari ekstrak daun kepel dan orlistat

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian yang dilakukan:

- a. Mengetahui kegunaan dari ekstrak daun kepel sebagai antihiperlipidemia dilihat dari aktivitas penghambatan enzim lipase
- b. Hasil dari penelitian dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian yang selanjutnya.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obesitas

Obesitas merupakan kondisi penumpukan lemak pada jaringan adiposa karena adanya ketidakseimbangan antara asupan dan pengeluaran energi (Dipiro dkk., 2017). Obesitas adalah penyakit kompleks dan multifaktorial yang ditandai dengan kelebihan berat badan oleh akumulasi lemak (Hruby dan Hu, 2015). Penyebab obesitas dapat digolongkan menjadi dua faktor utama, yaitu:

1) Faktor genetik

Faktor genetik menyumbang peluang besar untuk mengalami obesitas anak. Berdasarkan penelitian Whitaker dkk., (1997), seseorang yang mempunyai orang tua obesitas memiliki berisiko dua kali lebih besar mengalami obesitas daripada yang tidak mempunyai orang tua obesitas. Apabila kedua orang tua obesitas, maka risiko anak mengalami obesitas adalah sebesar 80%. Risiko obesitas anak berkurang menjadi 40% jika hanya salah satu orang tua yang mengalami obesitas. Apabila kedua orang tua tidak obesitas, risiko obesitas anak menurun hingga 14% (Permatasari dkk., 2013). Peningkatan risiko obesitas diduga karena adanya mutasi gen, terutama yang terletak di jalur leptin-melanokortin (Thaker, 2017).

2) Faktor lingkungan, faktor psikososial dan lainnya

Pada dasarnya obesitas terjadi karena konsumsi makanan melebihi batas kalori harian serta kurangnya aktivitas fisik yang membutuhkan kalori. Seiring berjalannya waktu, asupan makanan yang berlebih akan menjadi deposit lemak. Akumulasi lemak akan meningkatkan berat badan dan bermanifestasi menjadi obesitas. Selain pola makan dan aktivitas fisik, faktor risiko lain yang dapat mempengaruhi obesitas yaitu, gangguan hormon. Gangguan hormon dapat berupa hipotiroid, hiperadrenalin, dan resistensi hormon leptin atau ghrelin (Pearce, 2012). Hormon leptin dan ghrelin berfungsi sebagai pengontrol nafsu makan sehingga memiliki pengaruh dalam prevalensi obesitas (Limanan, 2013). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa obesitas dapat ditimbulkan oleh efek samping dari obat

golongan kortikosteroid, antidepresan, antipsikotik, beta bloker non selektif, dan pil kontrasepsi (Verrotti dkk., 2011).

Obesitas diklasifikasikan berdasarkan nilai Indeks Massa Tubuh (IMT) melalui metode antropometri (Nuttall, 2015). Metode pengukuran IMT hanya berlaku pada orang dewasa berusia lebih dari 18 tahun, tidak untuk olahragawan, ibu hamil, dan kondisi sakit seperti asites dan edema. Pengukuran nilai IMT merupakan metode skrining sederhana dan cukup efektif untuk mengetahui risiko terhadap obesitas. Berikut adalah rumus perhitungan IMT:

$$\text{Indeks massa tubuh (IMT)} = \frac{\text{berat badan (kg)}}{[\text{tinggi badan (m)}]^2}$$

Nilai IMT tidak menggambarkan kadar lemak total secara langsung, tetapi nilai IMT memiliki hubungan yang bermakna dengan kadar lemak total. Menurut Archilona dkk., (2016), adanya peningkatan lemak akan mempengaruhi berat badan dan nilai IMT seseorang. Menurut WHO, klasifikasi IMT dapat dibagi seperti pada tabel 2.1.

Tabel 2. 1 Klasifikasi IMT kriteria Asia-Pasifik

Klasifikasi	IMT (kg/m ²)
<i>Underweight</i>	<18,5
Normal	18,5 – 22,9
<i>Overweight</i>	23,0 – 24,9
Obesitas I	25,0 – 29,9
Obesitas II	>30,0

Sumber: (WHO, 2000)

Obesitas merupakan salah satu faktor risiko penyakit kronis seperti diabetes mellitus, kanker, dan penyakit jantung koroner (Pi-Sunyer, 2010). Obesitas dapat menyebabkan kelainan metabolik kompleks berupa sindrom metabolik. Sindroma metabolik merupakan kumpulan faktor risiko yang bermanifestasi pada penyakit kardiovaskuler, seperti hiperglikemia, hipertensi, dan hiperlipidemia (Soegondo dan Purnamasari, 2010).

2.2 Lipid

Lipid atau lemak merupakan kelompok besar biomolekul dengan gugus fungsional karboksil (-COOH) atau gugus ester (-COOR) yang larut dalam pelarut organik, seperti eter, kloroform, dan benzena. Lipid berfungsi sebagai sumber energi utama proses metabolisme tubuh, pembentuk membran sel, mengurangi penurunan suhu tubuh, meredam benturan pada organ tubuh, dan komponen sistem endokrin (Fahy dkk., 2012). Lipid dapat diklasifikasikan dalam tiga kelompok besar, yaitu:

1. Lipid sederhana merupakan ester yang terbentuk dari asam lemak dengan beberapa gugus alkohol. Contoh dari lipid sederhana adalah minyak, lilin, dan wax.
2. Lipid kompleks merupakan ester yang terbentuk dari asam lemak yang berikatan dengan gugus lain yang teradisi pada gugus alkohol atau asam lemak. Contoh dari lipid kompleks adalah fosfolipid, glikolipid, aminolipid, dan lipoprotein.
3. Lipid prekursor atau derivat berupa asam lemak, gliserol, hidrokarbon, aldehida lemak, vitamin larut lemak, dan hormon (Fahy dkk., 2012).

Lipid dapat ditemukan pada plasma darah dengan bentuk trigliserida, fosfolipid, kolesterol, dan asam lemak bebas. Lipid memiliki sifat tak larut air sehingga membutuhkan bantuan modifikasi oleh protein. Apoprotein merupakan protein pengikat lipid dalam plasma darah agar dapat diangkut ke sirkulasi darah. (Nelson dan Cox, 2017). Senyawa lipid yang dikelilingi oleh apoprotein disebut lipoprotein. Lipoprotein berfungsi mengangkut lipid dari tempat sintesisnya menuju ke reseptornya. Lipoprotein mempunyai inti yang berisi trigliserida dan kolesterol ester, sedangkan bagian luar berisi fosfolipid, asam lemak bebas (Guyton dan Hall, 2016).

Berdasarkan massa jenisnya, lipoprotein diklasifikasikan menjadi empat golongan yaitu, kilomikron sebagai pengangkut trigliserida dan kolesterol dari usus ke dalam jaringan, *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) sebagai pengangkut trigliserida ke jaringan perifer, *Low Density Lipoprotein* (LDL) sebagai pengangkut kolesterol untuk disintesis oleh jaringan steroidogenik, dan *High Density Lipoprotein* (HDL) sebagai pengangkut kolesterol ester dari jaringan perifer

menuju hati kemudian kolesterol ester akan disekresikan oleh empedu (DiPiro dkk., 2017).

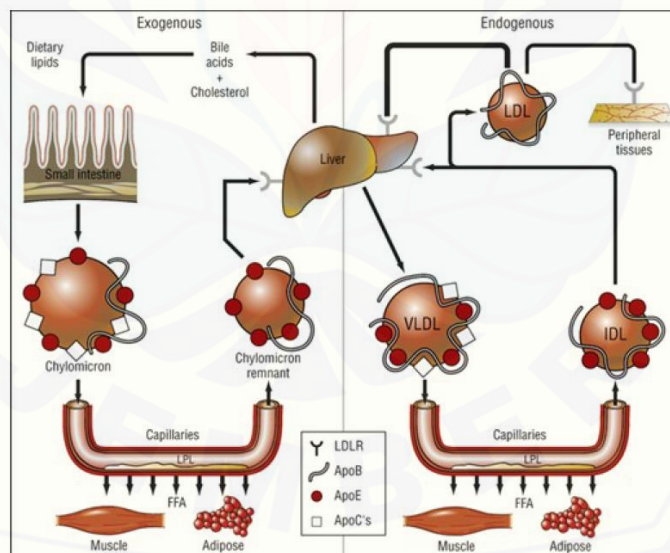
Tabel 2. 2 Karakteristik lipoprotein

Lipoprotein	Massa jenis (g/mL)	Diameter (nm)	Komposisi kolesterol (% b/b)				
			Protein	Trigliserida	Asam lemak bebas	Ester	Fosfolipid
Kilomikron	<0,94	75-1200	1-2	80-95	1-3	2-4	3-9
VLDL	0,94-1,006	30-80	6-10	55-80	4-8	16-22	10-20
LDL	1,006-1,063	18-25	18-22	5-15	6-8	45-50	18-24
HDL	1,063-1,21	5-12	45-55	5-10	3-5	15-20	20-30

Sumber: (DiPiro dkk., 2017)

2.3 Metabolisme lipid

Metabolisme lipid dibagi atas tiga jalur, yaitu eksogen, endogen, dan *Reverse Cholesterol Transport Pathway* (RCTP). Metabolisme eksogen mendegradasi lipid yang berasal dari makanan, sedangkan metabolisme endogen yang berasal dari hasil produksi organ hati (Nelson dan Cox, 2017).



Gambar 2. 1 Metabolisme lemak (DiPiro dkk., 2017)

a. Metabolisme eksogen

Makanan mengandung trigliserida dan kolesterol yang akan diserap oleh sel enterosit pada mukosa usus halus. Trigliserida akan diserap menjadi asam lemak bebas, sedangkan kolesterol diesterifikasi menjadi kolesterol ester. Trigliserida dan

kolesterol akan berikatan dengan fosfolipid berserta apoprotein-B sehingga terbentuk kilomikron (Feingold dan Grunfeld, 2018). Kilomikron masuk ke sirkulasi darah melalui duktus toraksikus pada saluran limfe. Lipoprotein lipase yang berasal dari sel endotel akan menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas. Asam lemak bebas diangkut menuju jaringan adiposa untuk disimpan sebagai cadangan energi. Setelah proses metabolisme trigliserida, maka kilomikron yang terdiri dari kolesterol yang telah teresterifikasi disebut kilomikron *remnant*. Apabila kadar asam lemak bebas tinggi, maka asam lemak bebas dan kilomikron remnant akan diangkut menuju hati untuk diubah kembali menjadi trigliserida (Adam, 2009).

b. Metabolisme endogen

Trigliserida dan kolesterol juga dihasilkan oleh hati. Fosfolipid dan apoprotein-B100 akan berikatan dengan trigliserida dan kolesterol sehingga terbentuk VLDL (Jump, 2012). Kadar trigliserida yang lebih tinggi daripada kolesterol, akan dihidrolisis oleh lipoprotein lipase menjadi *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL). Lipoprotein lipase akan menghidrolisis kembali IDL sehingga terbentuk LDL. Setelah hidrolisis kedua, kandungan kolesterol akan mendominasi daripada trigliserida. Kolesterol pada LDL akan didistribusikan ke jaringan steroidogenik seperti kelenjar adrenal, ovarium, dan testis yang memiliki reseptor kolesterol LDL. Selain itu, kolesterol LDL juga akan diangkut kembali ke hati. Namun, proses distribusi kolesterol LDL akan memicu terjadinya oksidasi kolesterol oleh reseptor *Scavenger-A* (Sr-A) pada makrofag. Apabila oksidasi terjadi secara terus-menerus, maka akan terbentuk sel busa (*foam cell*). Hal ini akan menjadi faktor resiko penyakit aterosklerosis (Conti dan Shaik-Dasthagirisaeab, 2015).

c. Metabolisme *Reverse Cholesterol Transport Pathway* (RCTP)

Hati dan usus memproduksi HDL *nascent*, yaitu HDL yang mengandung apoprotein A, C, dan E dengan kadar kolesterol rendah. HDL *nascent* bertugas untuk menarik kolesterol yang terjebak dalam inti ke permukaan sel busa dengan bantuan *adenosine triphosphate-binding cassette transporter-1* (ABC-1) sehingga

HDL *nascent* akan berubah menjadi HDL *mature* dengan kadar kolesterol tinggi. Kolesterol bebas akan diesterifikasi menjadi kolesterol ester oleh enzim *lecithincholesterol acyltransferase* (LCAT). Kolesterol ester akan menuju ke hati lalu berikatan dengan reseptor *scavenger receptor class B type 1* (Sr-B1) (Adam, 2009). Pada saat perjalanan menuju hati, kolesterol ester dalam HDL dan trigliserida dalam VLDL atau IDL dapat bertukar tempat dengan bantuan *cholesterol ester transfer protein* (CETP) (Jones dan Rideout, 2012)

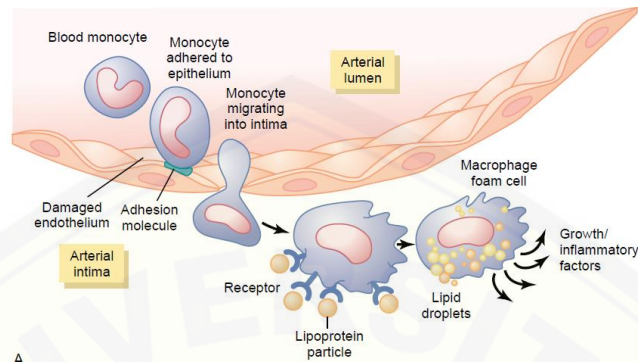
2.4 Hiperlipidemia

Hiperlipidemia adalah kondisi kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan terjadinya peningkatan trigliserida, kolesterol total, LDL, dan penurunan HDL dalam plasma darah (DiPiro dkk., 2017). Makanan tinggi lemak yang dikonsumsi secara berlebihan menyebabkan kadar trigliserida dan kolesterol tinggi (Harikumar dkk., 2013). Kadar LDL yang tinggi mudah terlekat pada dinding endotel. LDL akan menembus lapisan intima pada sel endotel dan merangsang reaksi inflamasi sehingga monosit berubah menjadi makrofag. Makrofag menghasilkan mediator inflamasi berupa sitokin untuk merangsang *scavenger reseptor*. Kolesterol dioksidasi oleh *scavenger reseptor* sehingga akan terbentuk sel busa (Conti dan Shaik-Dasthagirisaeb, 2015).

Apabila inflamasi terjadi secara terus-menerus, sel busa akan menimbulkan aterosklerosis pada lapisan dalam pembuluh darah yaitu intima. Sel-sel otot halus akan mengeras sehingga pembuluh darah mengalami perubahan bentuk dan elastisitas. Aterosklerosis menghambat sirkulasi darah ke jantung sehingga mengakibatkan penyakit jantung koroner (Libby, 2012).

Selain konsumsi makanan tinggi lemak, hiperlipidemia dapat disebabkan oleh riwayat keluarga atau genetik, penyakit penyerta, pola hidup, dan konsumsi obat-obatan. Apabila keluarga memiliki riwayat penyakit jantung atau stroke, maka peluang untuk mengidap hiperlipidemia akan sangat besar. Penelitian membuktikan bahwa kadar trigliserida dan pada anak dengan riwayat keluarga lebih tinggi dibanding kontrol (De Santis Filgueiras dkk., 2019). Penyakit penyerta seperti diabetes mellitus dapat menyebabkan produksi VLDL dan trigliserida yang

berlebihan oleh hati. Hipotiroid mempengaruhi metabolisme lipoprotein sehingga meningkatkan kadar LDL dan trigliserida (Kumar dkk., 2019).



Gambar 2. 2 Proses terbentuk aterosklerosis (Guyton dan Hall, 2006)

Pola hidup sehat memegang peran penting untuk menjaga keseimbangan lipid dalam tubuh. Merokok, konsumsi minuman alkohol, dan jarang beraktivitas atau olahraga, menyebabkan lipid terakumulasi pada jaringan adiposa sehingga kadar LDL akan cenderung tinggi. Obat-obatan dapat mempengaruhi metabolisme lipoprotein seperti contohnya, golongan beta bloker non selektif. Beta bloker non selektif menyebabkan vasokonstriksi perifer sehingga mempengaruhi metabolisme lipid yang mengarah ke peningkatan trigliserida dan penurunan HDL (Sivaji dkk., 2015).

2.4.1 Klasifikasi

Klasifikasi hiperlipidemia berdasarkan etiologinya dibedakan menjadi dua yaitu, hiperlipidemia primer dan sekunder. Hiperlipidemia primer disebabkan oleh kelainan genetik yang dapat menyebabkan kelainan lipid pada darah. Hiperlipidemia sekunder oleh kelainan metabolisme lemak dan lipoprotein yang disebabkan oleh penyakit penyerta seperti diabetes melitus, hati obstruktif, dan gangguan tiroid (Shattat, 2014). Klasifikasi Fredrickson menggolongkan hiperlipidemia berdasarkan karakteristik lipoprotein menjadi lima, yaitu:

Tabel 2. 3 Klasifikasi Fredrickson

Tipe	Peningkatan Lipid	Peningkatan Lipoprotein	dhsPenyebab
I	Hiperkilomikronemia familial	Kilomikron	Defisiensi lipoprotein lipase dan ApoC2
II	a Hiperkolesterolemia familial	LDL	Defisiensi reseptor LDL
	b Kombinasi hiperlipidemia familial	LDL dan VLDL	Penurunan reseptor LDL
III	Disbetalipoproteinemia	IDL	Peningkatan ApoB dan gangguan sintesis ApoE2
IV	Hipertriglisideremia familial	LDL	Ketidakeimbangan produksi dan ekskresi VLDL
V	Hipertriglisideremia endogen	VLDL dan kilomikron	Peningkatan produksi VLDL

Sumber: (Shattat, 2014)

2.4.2 Diagnosis

Diagnosis hiperlipidemia berdasarkan profil lipid dalam plasma menurut *The National Cholesterol Education Panel Third Adult Treatment Panel*, adalah sebagai berikut:

Tabel 2. 4 Klasifikasi profil lipid

	Profil lipid (mg/dl)	Interpretasi
Kolesterol total	<200	Normal
	200-239	Batas normal (<i>border line</i>)
	≥240	Tinggi
LDL	<100	Optimal
	100-129	Batas normal (<i>border line</i>)
	130-159	Batas tinggi (<i>borderline high</i>)
	160-189	Tinggi
	≥190	Sangat tinggi
HDL	<40	Rendah
	≥60	Tinggi
Trigliserida	>150	Normal
	150-199	Batas normal (<i>border line</i>)
	200-499	Tinggi
	≥500	Sangat tinggi

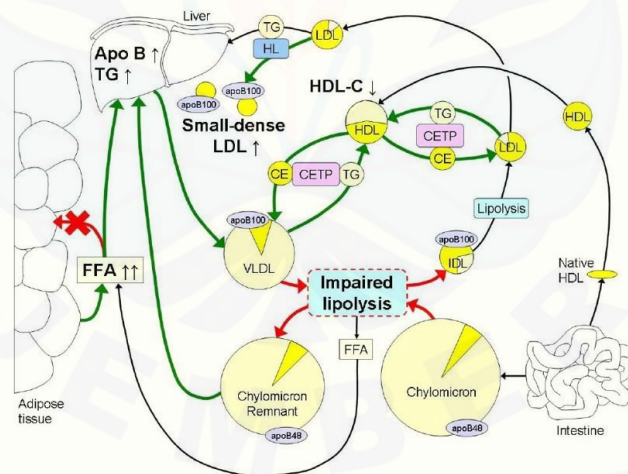
Sumber: (NCEP, 2001)

Penatalaksanaan terapi hiperlipidemia diawali dengan pemeriksaan rutin kolesterol total, LDL dan HDL setiap 4 sampai 6 bulan. Sebelum pemeriksaan, pasien harus berpuasa selama 9-12 jam agar mendapatkan hasil tes yang valid.

Selain itu, pasien melakukan penilaian faktor risiko penyakit jantung seperti riwayat keluarga, riwayat penyakit, umur, jenis kelamin, kebiasaan merokok dan konsumsi alkohol. Jika pasien mempunyai lebih dari dua faktor risiko, maka pasien akan melakukan terapi diet dan obat sesuai dengan anjuran dokter. Pasien harus melakukan pemeriksaan rutin untuk mengetahui efektivitas obat (Hendrani, 2016).

2.5 Hubungan Obesitas dan Hiperlipidemia

Obesitas telah dikaitkan dengan hiperlipidemia. Hiperlipidemia pada obesitas ditandai dengan hipertriglisideremia karena adanya peningkatan asam lemak bebas yang mengarah ke akumulasi trigliserida di hati (Hassing dkk., 2012). Keadaan ini menyebabkan peningkatan produksi VLDL oleh hati dan hambatan pada proses pemecahan VLDL dan kilomikron oleh lipoprotein lipase. Aktivitas lipolisis terhambat karena penurunan ekspresi mRNA yang mengatur lipoprotein lipase pada jaringan adiposa dan otot. Hipertriglisideremia menginduksi aktivitas *cholesterylester-transfer-protein* (CETP) sehingga terjadi peningkatan pertukaran antara kolesterol ester HDL dengan trigliserida VLDL dan LDL (Klop dkk., 2013).



Gambar 2. 3 Patofisiologi hiperlipidemia pada obesitas (Klop dkk., 2013)

2.6 Antihiperlipidemia

Penanganan hiperlipidemia dapat dilakukan secara non-farmakologi dan farmakologi (DiPiro dkk., 2017). Terapi non-farmakologi merupakan pengobatan yang dilakukan dengan modifikasi pola hidup seperti, diet rendah lemak, menjaga berat badan ideal, dan olahraga secara rutin. Terapi farmakologi menggunakan obat

konvensional yang memiliki aktivitas antihiperlipidemia. Tujuan terapi hiperlipidemia adalah untuk mencegah lipoprotein bermanifestasi menjadi penyakit kardiovaskuler .

Berikut adalah golongan obat yang digunakan sebagai antihiperlipidemia:

1) Statin

Obat golongan statin merupakan *first line* terapi hiperlipidemia. Contoh obat dari golongan statin adalah simvastatin, atorvastatin, lovastatin, fluvastatin, dan rosuvastatin. Mekanisme kerja statin adalah menghambat biosintesis kolesterol melalui enzim HMG-CoA reduktase, sehingga kadar kolesterol dalam darah akan turun. Statin menurunkan kadar LDL sekitar 20-50%, menurunkan kadar trigliserida sekitar 5-10%, dan meningkatkan kadar HDL hingga 5-10% tergantung jenis dan dosis yang diberikan. Statin tidak menurunkan kadar trigliserida secara konsisten pada pasien dengan kadar trigliserida diatas ≥ 200 mg/dl (Ramkumar dkk., 2016). Pemakaian jangka panjang statin telah dilaporkan menimbulkan efek samping miopati, rhabdomyolisis, dan mioglobunuria (Hardianto, 2014).

2) Squestran asam empedu

Obat golongan squestran asam empedu berkerja dengan cara mengikat asam empedu melalui pertukaran anion sehingga menyebabkan hambatan pada sirkulasi asam empedu heteropatik (Đanić dkk., 2018). Asam empedu merupakan polimer berstruktur besar yang sukar terabsorbsi dalam usus, sehingga kolesterol langsung dieksresikan bersama tinja. Contoh obat golongan ini adalah kolestiramin, kolestipol, dan kolestimid. Squestran menurunkan kadar LDL sebesar 10-20%. Squestran kontra indikasi dengan pasien kadar trigliserida tinggi (≥ 400 mg/dL) karena justru meningkatkan kadar trigliserida. Efek samping dari squestran menyebabkan konstipasi, nyeri abdomen, mual, dan diare. Penggunaan jangka panjang menimbulkan risiko difisiensi vitamin dan osteoporosis (Staels dkk., 2010).

3) Niasin

Niasin merupakan vitamin B3 kompleks larut air yang digunakan sebagai penurun kadar trigliserida. Penggunaan niasin secara rutin menurunkan kadar

trigliserida plasma hingga 35%, menurunkan kadar LDL hingga 25%, serta menaikkan kadar HDL sekitar 15-35%. Efek samping yang sering ditimbulkan adalah gatal-gatal, sakit kepala, hingga mual dan mutah. Penggunaan jangka panjang niasin dapat menyebabkan hiperurisemia, hiperglikemia, dan hepatotoksik (Boden dkk., 2014).

4) Fibrat

Golongan fibrat merupakan pilihan pertama terapi pada kondisi hipertrigliseridemia atau hiperlipidemia familial. Contoh obat dari golongan adalah fenofibrat, gemfibrozil, benzafibrat, dan klofibrat. Fibrat adalah agonis reseptor PPAR α pada otot dan hati sehingga menyebabkan penurunan produksi apolipoprotein-CIII. Fibrat menurunkan kadar trigliserida sebesar 15-50% dan kadar LDL sebesar 5-10%, serta meningkatkan kadar HDL sebesar 10-35%. Efek samping dari fibrat yang sering terjadi yaitu, mual, diare, dan ruam kulit. Penggunaan jangka panjang fibrat menyebabkan myalgia dan rhinitis (Katsiki dkk., 2013).

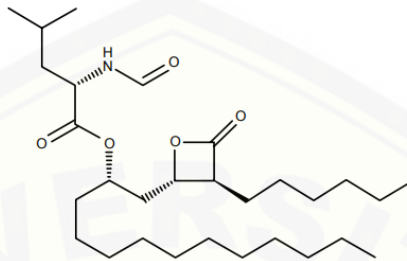
2.7 Antiobesitas

Penanganan obesitas diawali dengan program penurunan berat badan yang dibantu oleh pengawasan dokter. Target penurunan berat badan yang ideal adalah 5-10% dari berat badan awal dengan penurunan 0,5-1 kg perminggu (Yumuk dkk., 2015). Penderita akan dievaluasi secara berkala untuk menentukan keberhasilan terapi dengan parameter tidak mengalami kenaikan kembali berat badan. Program penurunan berat badan dilakukan dengan cara perubahan pola makan dan peningkatan aktivitas fisik (Ismail dan CL., 2000). Apabila terapi nonfarmakologi tidak dapat tercapai dan IMT semakin meningkat, dokter akan memberikan terapi farmakologi berupa konsumsi antiobesitas (Yumuk dkk., 2015). Berikut adalah antiobesitas untuk penggunaan jangka panjang:

1) Orlistat

Orlistat merupakan senyawa turunan lipstatin yang terhidrogenasi dari bakteri *Streptomyces toxytricini*. Orlistat merupakan obat antiobesitas lini pertama

yang telah disetujui oleh FDA sejak tahun 1999. Orlistat bekerja sebagai lipase inhibitor melalui pembentukan ikatan kovalen stabil dengan situs aktif enzim lipase untuk mencegah hidrolisis lemak makanan menjadi asam lemak bebas dan monogliserida (Bhutani dkk., 2014).



Gambar 2. 4 Struktur kimia orlistat

Orlistat mampu mengurangi lemak total hingga 30% dan dieksresikan melalui feses. Kombinasi antara orlistat, diet, dan olahraga dapat menghasilkan penurunan berat badan secara signifikan. Efek orlistat dapat terlihat setelah dua hari konsumsi dengan dosis optimal yaitu 120 mg tiga kali sehari. Efek samping yang sering terjadi adalah gangguan saluran cerna seperti, feses berminyak, perut kembung, mual, diare, dan celiac (Heck, 2017).

2) *Phentermine-topiramate*

Phentermine-topiramate adalah kombinasi obat antiobesitas pertama yang telah disetujui FDA sejak tahun 2012. *Phentermine* memiliki mekanisme amina simpatomimetik. Mekanisme aksi berupa agonis pada reseptor *Trace amine-associated receptor-1* (TAAR1) yang merangsang pelepasan norepinefrin dan epinefrin. *Phentermine* bekerja sebagai penekan nafsu makan (Neoh dan Proietto, 2014). Topiramate adalah agen agonis GABA yang disetujui untuk terapi epilepsi dan profilaksis migrain. Pasien epilepsi menunjukkan penurunan berat badan sehingga dikombinasikan dengan *phentermine*. *Starting dose* penggunaan kombinasi obat adalah 3.75 mg/23 mg dengan target penurunan berat badan hingga 5%. Efek samping *phentermine-topiramate* yang sering muncul adalah denyut jantung meningkat hingga 20 bpm dan hipoglikemia sehingga perlu pengawasan untuk pasien dengan riwayat penyakit jantung dan diabetes mellitus. Selain itu, efek

samping penggunaan jangka panjang dapat berupa akut miopi, insomnia akut, dan batu ginjal (Tak dan Lee, 2020).

3) Bupropion-naltrexone

Kombinasi bupropion dan naltrexone telah disetujui oleh FDA pada tahun 2014. Bupropion merupakan inhibitor reuptake selektif dopamin dan noradrenalin yang memiliki efek mengurangi nafsu makan dan nikotin. Naltrexone adalah reseptor opioid antagonis yang digunakan untuk penderita kecanduan alkohol dan narkotika. Efek sinergis dari kombinasi ini dapat mengurangi nafsu makan. Dosis yang dianjurkan adalah 16 mg/180 mg dua kali sehari. Efek samping yang sering ditemukan adalah sakit kepala, mulut kering, dan gangguan pencernaan. Pasien riwayat penyakit jantung perlu dipertimbangkan aturan pemakaian karena dapat meningkatkan denyut jantung secara signifikan (Tek, 2016).

4) Liraglutid

Liraglutid adalah satu-satunya sediaan injeksi subkutan yang telah disetujui oleh FDA pada tahun 2014 (Daneschvar dkk., 2016). Liraglutid berkerja sebagai agonis *glucagon like peptide-1* (GLP-1) yang dapat memperlambat waktu pengosongan lambung dan mengurangi nafsu makan. Waktu paruh GLP-1 alami hanya 2 menit. Liraglutid dikembangkan melalui modifikasi pergantian *lysin* dan *palmitic acid* menjadi *arginine* sehingga waktu paruh akan lebih lama. Liraglutid memiliki waktu paruh hingga 11-13 jam pada pasien normal maupun diabetes mellitus tipe 2. Dosis liraglutid akan ditingkatkan secara berkala hingga 3 mg perhari. Penurunan berat badan mencapai 5% selama 12 minggu. Efek samping yang ditimbulkan adalah sakit kepala, mual, muntah, dispepsia, dan hipoglikemia (Mehta dkk., 2017).

Tujuan terapi antiobesitas adalah penurunan berat badan dan mencegah berat badan naik kembali. Terapi harus diiringi dengan perubahan pola makan dan olahraga agar mendapatkan hasil yang maksimal. Apabila terapi nonfarmakologis dan farmakologis pada pasien dengan IMT 35 hingga 40 kg/m² tidak berhasil, dokter akan mempertimbangkan tindakan operasi bariatrik. Operasi bariatrik

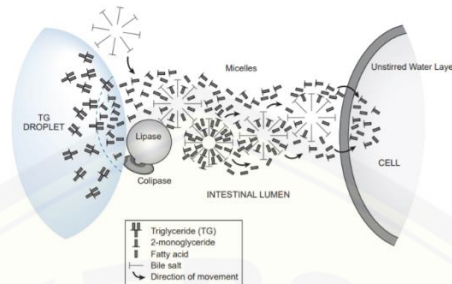
merupakan tindakan restriksi lambung dan malabsorpsi usus halus. Operasi bariatric menurunkan 45% lemak total dalam waktu satu tahun (Wolfe dkk., 2016).

2.8 Enzim Lipase

Enzim merupakan polimer biologis yang bertugas sebagai biokatalisator. Enzim membantu mempercepat suatu reaksi kimia, namun tanpa ikut bereaksi. Klasifikasi enzim berdasarkan *Unit of Biochemist* (IUB) dibagi menjadi enam kelompok yaitu, oksidoreduktase, transferase, hidrolase, liase, isomerase, dan ligase. Enzim lipase termasuk dalam kelompok hidrolase. Mekanisme kerja enzim lipase adalah memecah trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol (Thakur, 2012). Lipase memiliki beberapa jenis yaitu, lipase hati, lipase hormon sensitif, lipoprotein lipase, dan lipase pankreas (Jawed dkk., 2019). Lipase hati berperan dalam pembentukan LDL melalui degradasi trigliserida pada IDL. Lipase hormon sensitif melakukan degradasi trigliserida yang disimpan dalam jaringan adiposit. Lipoprotein lipase bertanggung jawab untuk mendegradasi trigliserida pada kilomikron dan VLDL. Lipase pankreas mendegradasi trigliserida yang berada pada usus kecil (Pirahanchi dan Sharma, 2019). Lipase pankreas mampu menghidrolisis 50-70% total lemak yang diperoleh dari makanan (Kim dkk., 2016).

Proses penyerapan lipid secara luas melalui difusi pasif. Misel yang mengandung lemak dari makanan akan teremulsi oleh garam empedu. Adanya gerakan peristaltik pada usus akan semakin memperkecil misel menjadi butiran lemak halus. Kondisi tersebut memudahkan proses hidrolisis oleh lipase pankreas hingga terbentuk monogliserida dan asam lemak. Monosakarida akan diabsorpsi oleh usus dan diangkut menuju jaringan adiposa. Semakin aktif kerja enzim lipase maka akan menyebabkan peningkatan monosakarida sebagai cadangan makanan (Jones dan Rideout, 2012). Lipase pankreas dapat memecah trigliserida dalam satu menit (Guyton dan Hall, 2016). Pada kondisi hipertrigliserida akan membutuhkan waktu lama untuk mendegradasi trigliserida hingga menjadi LDL, sehingga menyebabkan kadar lipid dalam sirkulasi meningkat atau hiperlipidemia. Enzim lipase harus dihambat dengan inhibitor lipase. Mekanisme kerja inhibitor lipase adalah mengikat enzim lipase secara kovalen dan membentuk kompleks yang stabil

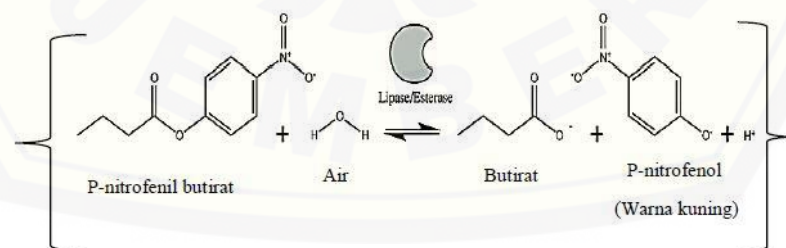
(Bhutani dkk., 2014). Lipase akan menjadi inaktif sehingga mengurangi pemecahan dan penyerapan makanan.



Gambar 2. 5 Digesti lemak (Nelson dan Cox, 2017)

2.9 Pengujian Aktivitas Antihiperlipidemia

Pengujian aktivitas antihiperlipidemia terhadap tanaman tertentu dapat dilakukan dengan metode penghambatan enzim lipase. Metode uji penghambatan enzim lipase yaitu titrimetri, spektroskopi (*photometry*, *fluorometry*, *turbidimetry*, dan *infra red*), kromatografi, elektrik konduktivitas, *interfacial tensiometry*, dan *immunochemistry* (Stoytcheva dkk., 2012). Pengujian aktivitas penghambatan enzim lipase pada penelitian ini menggunakan metode spektroskopi yang dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm (Hamdan dkk., 2019). Prinsip metode spektroskopi adalah menggunakan substrat sintesis yaitu *p-nitrophenyl naphthyl* dari asam lemak rantai panjang yang dapat dihidrolisis dengan enzim menjadi produk akhir yang dapat dideteksi oleh spektroskopi.



Gambar 2. 6 Reaksi hidrolisis enzim lipase (Pliego dkk., 2015)

2.10 Tanaman Kepel

2.10.1 Klasifikasi

Menurut Simpson tahun (2006), klasifikasi tanaman kepel adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Magnoliidae
Ordo	: Magnoliales
Famili	: Annonaceae
Genus	: <i>Stelechocarpus</i>
Spesies	: <i>Stelechocarpus burahol</i> (Bl.) Hook.f. & Th.
Nama daerah	: Burahol (Sunda), kepel (Jawa)



Gambar 2. 7 Tanaman kepel (National Parks Board, 2013)

2.10.2 Deskripsi Kepel

Tanaman kepel (*Stelechocarpus burahol*) adalah flora identitas Daerah Istimewa Yogyakarta. Kepel merupakan tanaman buah khas Indonesia, dengan nama lain, simpel, kecindul (Jawa), turalak (Sunda). Habitat asli tanaman kepel berupa hutan-hutan sekunder dengan ketinggian hingga 600 mdpl. Kepel akan tumbuh baik pada tanah yang terdrainase dengan baik pada pH 5.8-6.7 (Solikin, 2010).

Pohon kepel dapat tumbuh hingga mencapai 25 m dan berdiameter 40 cm. Morfologi batang kepel meliputi batang berkayu coklat hingga kehitaman, tegak, bulat, dan percabangannya monopodial. Kepel memiliki akar tunggang berwarna putih kecoklatan. Bentuk daun kepel yaitu elips hingga bulat telur dengan panjang 8-20 cm dan lebar 4-6 cm. Ujung dan pangkal daun meruncing halus, pertulangan bawah menonjol, dan berwarna hijau yang mengkilap. Bentuk bunga kepel berupa bunga majemuk berbentuk tandan yang tersebar di batang dan cabang, tangkai bunga berbentuk silindris dengan panjang ± 4 cm serta memiliki mahkota, benang sari, putik berwarna kuning. Buah kepel berbentuk buni, bergerombol, kulit kasar, bulat berwarna coklat dengan diameter ± 6 cm. Biji buah kepel berjumlah 3-4 biji berwarna coklat tua hingga kehitaman (Backer dan Bakhuizen, 1963). Kepel tidak dapat berbuah sepanjang tahun daun kepel memiliki peluang untuk dimanfaatkan.

2.10.3 Kandungan dan Manfaat Kepel

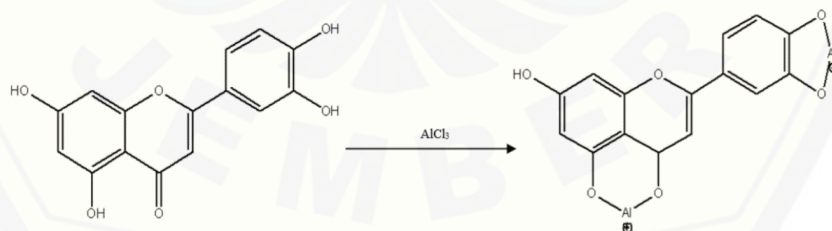
Kepel telah digunakan sebagai pewangi atau penghilang bau nafas, keringat, bahkan air seni sejak zaman keraton (Fachrurozi, 1980). Secara tradisional, kepel juga dimanfaatkan sebagai jamu untuk penurun kolesterol dan asam urat. Ekstrak etanol buah kepel mengandung senyawa diantaranya yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin, triterpenoid, dan kuinon (Sunardi dkk., 2010). Sedangkan pada daun kepel mengandung senyawa terpenoid dan flavonoid. Kandungan flavonoid pada daun kepel terletak pada daun dewasa (Ramadhan dkk., 2016). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Diniatik (2015), ekstrak etanol daun kepel mengandung total flavonoid sebesar 9,3; 9,9; dan 10,1% (b/b). Selain itu, isolate flavonoid yaitu 3,7,3',4'-tetrahidroksi-5-metil flavon pada daun kepel menunjukkan aktivitas antioksidan penangkap radikal DPPH dengan nilai IC_{50} sebanyak 6,43 $\mu\text{g/mL}$ (Sunarni dkk., 2007). Flavonoid memiliki aktivitas sebagai penangkap radikal bebas atau antioksidan. Antioksidan dalam flavonoid akan melepaskan satu atom H dari gugus hidroksinya untuk berikatan dengan radikal bebas. Hal itu akan menyebabkan penghambatan pada oksidasi kolesterol LDL oleh radikal bebas, sehingga kadar kolesterol akan menurun. Ekstrak etanol daun kepel dapat menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida pada mencit yang diinduksi aloksan pada dosis 200 mg/kgBB (Haliza, 2018). Mekanisme kerja flavonoid

ketika menurunkan kadar kolesterol diduga melalui penghambatan enzim HMG-CoA reduktase (Zeka dkk., 2017).

Daun kepel memiliki potensi pengembangan obat bahan alam. Ekstrak etanol daun kepel memiliki aktivitas sebagai antihiperurisemia pada dosis 50-400 mg/kgBB (Purwantiningsih dkk., 2010). Penelitian uji aktivitas antidiabetes menunjukkan ekstrak etanol daun kepel pada dosis 200 mg/kgBB memiliki aktivitas yang setara dengan glibenklamid 1,3 mg/kgBB (Jeany, 2018). Sedangkan hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kepel pada tikus menunjukkan bahwa dengan dosis 5000 mg/kgBB masih belum bersifat toksik (Purwantiningsih dan Nurlaila, 2016).

2.11 Flavonoid Total

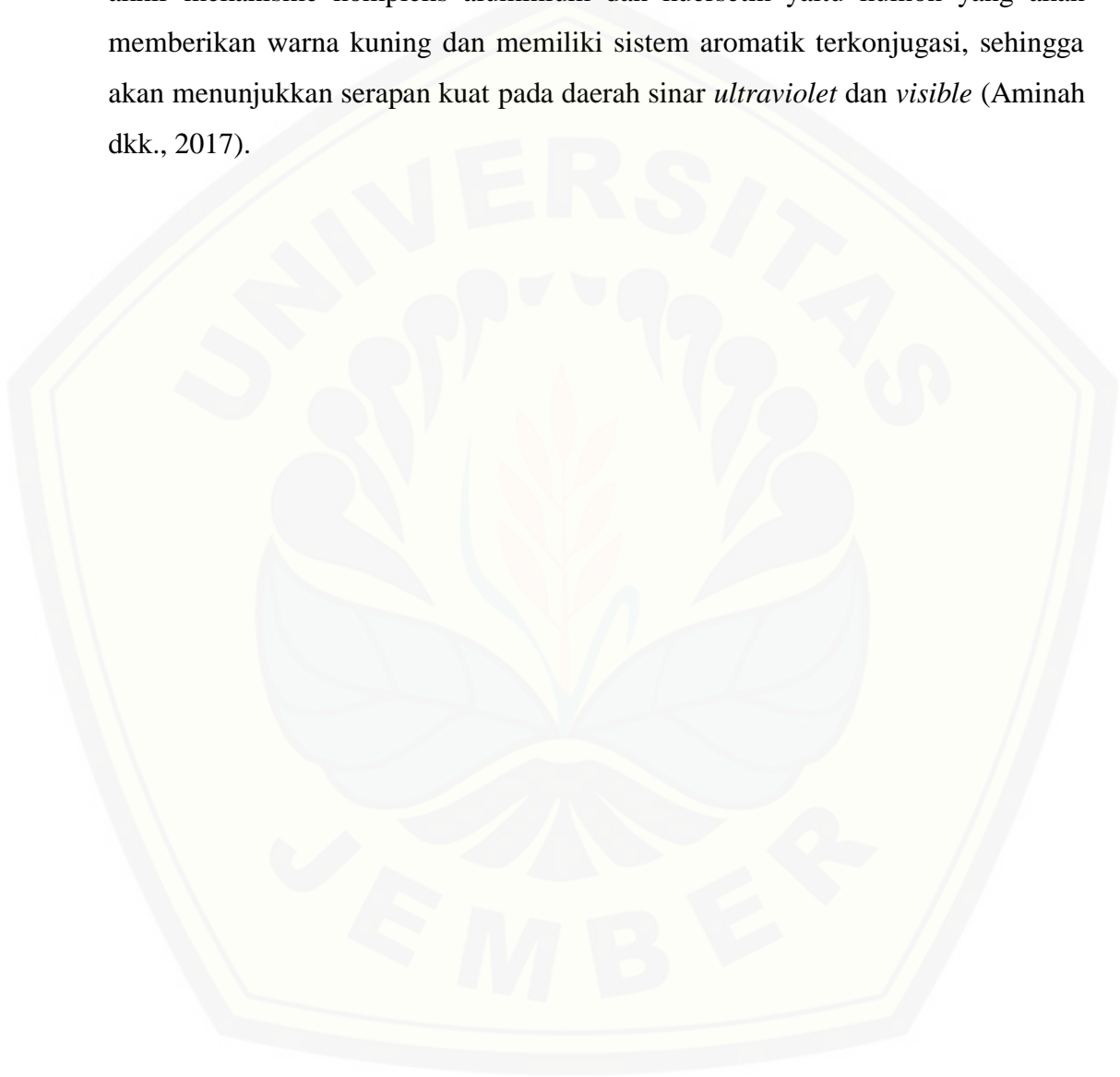
Flavonoid merupakan senyawa fenol terbesar yang terdiri dari 15 atom C dengan 2 cincin aromatik sehingga membentuk susunan C6-C3-C6. Flavonoid dapat ditemukan pada semua bagian tanaman dari daun, akar, batang, bunga, dan biji. Namun, kandungan tertinggi flavonoid terdapat pada daun, karena flavonoid berperan dalam proses fotosintesis (Huang dkk., 2015). Flavonoid memiliki beberapa aktivitas seperti antiinflamasi, hepatoprotektif, dan antioksidan (Panche dkk., 2016). Aktivitas flavonoid sebagai antioksidan yaitu menangkal radikal bebas sehingga sel-sel tidak mengalami stres oksidatif.



Gambar 2. 8 Reaksi kompleks aluminium-flavonoid

Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode aluminium klorida (Pekal dan Pyrzyńska, 2014). Prinsip metode aluminium klorida adalah terbentuknya warna dari reaksi kimia antara AlCl_3 sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang. Adanya penambahan kalium asetat

untuk mempertahankan panjang gelombang hingga dilakukan scan panjang gelombang. Standar yang digunakan adalah kuersetin. Kuersetin memiliki gugus katekol yang akan teroksidasi oleh penambahan natrium nitrit menjadi gugus keton. Gugus keton akan direduksi oleh natrium hidroksida menjadi kuinon. Hasil akhir mekanisme kompleks aluminium dan kuersetin yaitu kuinon yang akan memberikan warna kuning dan memiliki sistem aromatik terkonjugasi, sehingga akan menunjukkan serapan kuat pada daerah sinar *ultraviolet* dan *visible* (Aminah dkk., 2017).



BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah *true experimental laboratories* dengan desain *post test-only control design*. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui kadar total flavonoid pada ekstrak daun kepel dan aktivitas antihiperlipidemia dari ekstrak daun kepel melalui metode inhibisi enzim lipase secara *in vitro*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Oktober tahun 2019 hingga bulan April tahun 2020 di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah kadar ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) dengan variasi konsentrasi 5, 10, 50, 100, dan 150, dan 200 µg/mL.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan pada penelitian ini adalah persen penghambatan enzim lipase terhadap ekstrak daun kepel-

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali yang digunakan pada penelitian ini adalah metode ekstraksi, waktu ekstraksi, jenis pelarut, metode penetapan kadar flavonoid total, dan metode uji aktivitas penghambatan enzim lipase.

3.4 Rancangan Penelitian

3.4.1 Definisi Operasional

Berikut adalah definisi operasional dari variabel-variabel penelitian, yaitu:

- a. Daun kepel yang digunakan berasal dari laboratorium Materia Medica Batu Malang yang telah dideterminasi oleh UPT Laboratorium Herbal Medica Batu dengan nomor surat: 074/265A/102.7/2020.
- b. Metode ekstraksi yang dipilih yaitu metode remaserasi dengan pelarut etanol 70%.
- c. Analisis kandungan kadar flavonoid total menggunakan metode aluminium klorida, kemudian dihitung nilai mg *quercetin equivalent* (QE) per gram ekstrak.
- d. Metode penghambatan enzim lipase dengan *microplate reader* dengan panjang gelombang 405 nm yang kemudian ditentukan nilai IC₅₀.

3.4.2 Rancangan Percobaan

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas penghambatan enzim lipase pada daun kepel. Tahap awal yang dilakukan adalah uji penetapan kadar flavonoid total dengan standart yang digunakan yaitu kuersetin. Tahap selanjutnya dilakukan uji aktivitas penghambatan enzim lipase. Rancangan penelitian ditunjukkan pada gambar 3.1.



Gambar 3. 1 Diagram rancangan penelitian

Keterangan:

SK : Sampel daun kepel

EK : Ekstrak etanol 70% daun kepel

FT : Penetapan kadar flavonoid total

AL : Uji aktivitas penghambatan enzim lipase dengan variasi konsentrasi 5, 10, 50, 100, 150, dan 200 µg/mL dengan tiga replikasi

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Pada penelitian ini menggunakan alat sebagai berikut: *microplate reader* (Biotek ELX 800), spektrofotometer UV-Vis (Labomed, Inc UVD-2950), timbangan analitik (Ohaus), inkubator (Stuart SBS40), mikro pipet (Socorex Swiss), *centrifuge* (Hettich, EBA 20), *stopwatch*, dan alat-alat gelas.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun kepel (*Stelechocarpus burahol*), enzim pankreas lipase (SIGMA L3126), *p*-NPB (*p*-nitrofenil butirat) (SIGMA N9876), orlistat (SIGMA), *Tris (hydroxymethyl) aminomethane* (SIGMA 252859), Asetonitril (Merck), etanol 70%, kuersetin (SIGMA Alridch Q4951-10G), AlCl₃ 10%, NaNO₂ 5%, NaOH 1 M, akuabidestilata, dan akuades.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kepel

Simplisia daun kepel yang digunakan berasal dari laboratorium Materia Medica Batu Malang dan telah dideterminasi oleh UPT Laboratorium Herbal Medica Batu. Simplisia ditimbang sebanyak 300 gram untuk dilakukan proses maserasi dengan etanol 70% sebanyak 1,5 liter selama 2×24 jam. Selanjutnya hasil maserasi dituang dan diperas untuk mendapatkan ampas. Ampas yang diperoleh diremaserasi selama 1×24 jam dengan pelarut yang sama sebanyak 1,2 liter. Maserat dipisahkan dari endapan dengan hati-hati lalu diuapkan dengan *rotavapor* dengan suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak diuapkan pada oven dengan suhu 40°C sampai bobot ekstrak konstan. Ekstrak kental disimpan dalam gelas ekstrak yang ditutup dengan aluminium foil dan disimpan dalam lemari pendingin (Diniatik, 2015).

3.6.2 Penentuan Kadar Total Flavonoid

Penetapan kadar total flavonoid ekstrak daun kepel mengacu pada prosedur penelitian yang dilakukan oleh (Pratiwi dkk., 2010). Ekstrak ditimbang sejumlah 10 mg lalu dilarutkan menggunakan etanol 70% pada labu ukur 10 ml. Larutan ekstrak sejumlah 150 µL dimasukkan ke kuvet 1,5 mL, lalu ditambahkan 45 µL

NaNO₂ 5% dan diinkubasi selama 5 menit. Setelah inkubasi selesai, Sejumlah 45 µL AlCl₃ 10% ditambahkan ke campuran dan diinkubasi selama 6 menit. Kemudian ditambahkan 300 µL NaOH 1 M dan 960 µL akuades ke dalam campuran reaksi. Sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 532 nm. Kurva standar yang digunakan adalah kuersetin dengan seri konsentrasi 10, 25, 50, 100, 200, 300, 400, dan 500 µg/mL. Absorbansi ekstrak daun kepel dimasukkan sebagai y dalam persamaan linier dari kurva standar kuersetin $y = bx + a$, maka akan didapatkan kadar flavonoid total dalam µg/mL. Total flavonoid pada ekstrak daun kepel ditentukan dalam mg *quercetin equivalent* (QE) per gram ekstrak.

3.6.3 Penentuan Aktivitas Penghambatan Enzim Lipase

Penentuan aktivitas antihiperlipidemia daun kepel dilakukan menggunakan metode inhibisi enzim lipase. Berikut adalah tiga tahapan pengujian yang dilakukan:

a. Pembuatan reagen dan larutan

Larutan dan reagen yang diperlukan untuk penentuan aktivitas antihiperlipidemia adalah sebagai berikut:

1) Larutan Dapar Tris HCl pH 7,4

Sejumlah 1,214 g Tris dicampur dengan 29,22 mg NaCl lalu dilarutkan dalam 60 mL akuabidestilata dan dihomogenkan. pH larutan diatur hingga menunjukkan pH 7,4. Setelah itu, larutan dapar ditambahkan pelarut hingga 100 mL.

2) Larutan Subtrat ρ -NPB

Sejumlah 3,52 µL substrat ρ -NPB dilarutkan pada 2 mL asetonitril sehingga didapatkan konsentrasi 10 mM. Larutan substrat 10 mM diencerkan untuk mendapatkan konsentrasi 2 mM.

3) Larutan Kontrol Positif

Sejumlah 5 mg orlistat dilarutkan dengan larutan dapar Tris HCl pH 7,4 pada labu ukur 5 mL hingga tepat tanda untuk mendapatkan konsentrasi induk 1000 µg/mL. Larutan induk diencerkan hingga mendapatkan seri konsentrasi orlistat 1, 5, 10, 25, dan 50 µg/mL.

4) Larutan Enzim Lipase Pankreas

Sejumlah 20 mg enzim pankreas lipase dilarutkan pada 4 mL dapar Tris-HCl pH 7,4 lalu divortex selama 5 menit. Kemudian larutan disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan larutan bening dan keruh. Larutan bening dipisahkan ke vial untuk digunakan dalam uji aktivitas penghambatan lipase.

5) Larutan Ekstrak Daun Kepel

Sejumlah 10 mg ekstrak dilarutkan pada 10 mL dapar Tris-HCl pH 7,4 untuk mendapatkan konsentrasi induk 1000 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian dilakukan pengenceran larutan hingga mendapatkan seri konsentrasi 5, 10, 50, 100, 150, dan 200 $\mu\text{g/mL}$.

b. Pengujian Aktivitas Antihiperlipidemia

Pengujian aktivitas antihiperlipidemia daun kepel menggunakan metode penghambatan enzim lipase yang telah dilakukan oleh Hamdan dkk (2019) dengan beberapa modifikasi. Pengujian ini dilakukan sebanyak tiga replikasi pada larutan sampel yaitu ekstrak daun kepel, kontrol positif (orlistat), kontrol negatif (tanpa inhibitor), serta setiap blanko dari ketiga larutan. Tahap awal pengujian adalah sejumlah 20 μL larutan uji dengan berbagai konsentrasi direaksikan dengan 25 μL larutan enzim. Sejumlah 135 μL dapar Tris-HCl pH 7,4 ditambahkan dan diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 15 menit. Larutan uji ditambahkan 20 μL substrat p -NPB dan diinkubasi pada inkubator suhu 37°C selama 5 menit. Pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 405 nm dengan menggunakan *microplate reader*.

Tabel 3. 1 Preparasi larutan uji

Kelompok Uji (μL)	Ekstrak (μL)	Orlistat (μL)	Enzim (μL)	Dapar (μL)	Substrat (μL)
A	20	-	25	135	20
B	20	-	-	135	20
C	-	20	25	135	20
D	-	20	-	135	20
E	-	-	25	135	20
F	-	-	-	180	20

A = larutan sampel ekstrak daun kepel

B = blanko larutan sampel ekstrak daun kepel

C = kontrol positif (orlistat)

D = blanko kontrol positif

E = kontrol negatif

F = blanko kontrol negatif

c. Perhitungan IC_{50}

Data absorbansi dari masing-masing larutan uji dihitung nilai penghambatan enzim lipase menggunakan persamaan:

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{(G-H)}{G} \times 100\%$$

Keterangan:

G = Absorbansi kontrol negatif (setelah dikurangi dengan blanko kontrol negatif)

H = Absorbansi larutan uji (setelah dikurangi dengan blanko larutan uji)

Selanjutnya nilai persen penghambatan lipase digunakan sebagai sumbu y dan seri konsentrasi sebagai sumbu x untuk dibuat kurva serta diperoleh persamaan regresi $y=bx+a$. Berikut adalah rumus perhitungan IC_{50} :

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji aktivitas penghambatan lipase berupa IC_{50} . Data IC_{50} diuji normalitas dan homogenitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Perbedaan IC_{50} pada daun kepel dan kontrol positif (orlistat) diuji analisis *independent T-Test* berdasarkan nilai $p < 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95%.

BAB 5. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

- 1) Kadar flavonoid total ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) dinyatakan dalam massa ekuivalen kuersetin yaitu sebesar 216,803 mg QE/g ekstrak.
- 2) Ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) memiliki aktivitas penghambatan enzim lipase dengan nilai IC_{50} 195,494 $\mu\text{g/mL}$, namun potensi ekstrak daun kepel lebih rendah dibandingkan dengan orlistat yang memiliki IC_{50} sebesar 12,799 $\mu\text{g/mL}$.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini, ekstrak daun kepel memiliki aktivitas penghambatan enzim lipase, sehingga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut terkait senyawa aktif yang berperan dalam aktivitas tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Aboulsoud, S. 2014. Nicotinic acid: a lipid-lowering agent with unrealized potential. *The Egyptian Journal of Internal Medicine*. 26(1):1.
- Adam, J.M.F 2009. *Dislipidemia*. Dalam Buku Ilmu Penyakit Dalam. Editor A. . Sudoyo, B. Setiyohadi, M. Alwi, M. Simadibarata, dan S. Setiati. Jakarta: Interna Publishing.
- American Heart Association (AHA). 2019. *Heart Disease and Stroke Statistics — 2019*. United States: AHA.
- Aminah, A., N. Tomayahu, dan Z. Abidin. 2017. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit buah alpukat (*Persea americana mill.*) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 4(2):226–230.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC) International. 2016. *Methods of Analysis*. Washington Dc: AOAC.
- Archilona, Z., K. Nugroho, dan N. Puruhita. 2016. Hubungan antara indeks massa tubuh (IMT) dengan kadar lemak total (studi kasus pada mahasiswa kedokteran UNDIP). *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. 5(2):122–131.
- Backer, C. dan R. Bakhuizen. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*. Edisi Vol.1. The Netherlands: NVP Noordhoff, Groningen.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). 2004. *Monografi Ekstrak Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: BPOM.
- Bays, H. E., P. P. Toth, P. M. Kris-Etherton, N. Abate, L. J. Aronne, W. V. Brown, J. M. Gonzalez-Campoy, S. R. Jones, R. Kumar, R. La Forge, dan V. T. Samuel. 2013. Obesity, adiposity, and dyslipidemia: a consensus statement from the national lipid association. *Journal of Clinical Lipidology*. 7(4):304–383.
- Berglund, L., J. D. Brunzell, A. C. Goldberg, I. J. Goldberg, F. Sacks, M. H. Murad, dan A. F. H. Stalenhoef. 2012. Evaluation and treatment of hypertriglyceridemia: an endocrine society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 97(9):2969–2989.
- 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.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181(4617):1199–1200.
- Boden, W. E., M. S. Sidhu, dan P. P. Toth. 2014. The therapeutic role of niacin in

- dyslipidemia management. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. 19(2):141–158.
- Conti, P. dan Y. Shaik-Dasthagirisab. 2015. Atherosclerosis: a chronic inflammatory disease mediated by mast cells. *Central European Journal of Immunology*. 40(3):380–386.
- Daneschvar, H. L., M. D. Aronson, dan G. W. Smetana. 2016. FDA-approved anti-obesity drugs in the united states. *American Journal of Medicine*. 129(8):879.e1-879.e6.
- Danić, M., B. Stanimirov, N. Pavlović, S. Goločorbin-Kon, H. Al-Salami, K. Stankov, dan M. Mikov. 2018. Pharmacological applications of bile acids and their derivatives in the treatment of metabolic syndrome. *Frontiers in Pharmacology*. 9(December):1–20.
- De Santis Filgueiras, M., S. A. Vieira, A. Q. Ribeiro, dan J. F. De Novaes. 2019. Family history is associated with the presence of dyslipidemia in pre-school children. *Revista Paulista de Pediatria*. 37(1):41–48.
- Diniatik. 2015. Penentuan kadar flavonoid total ekstrak etanolik daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (BI.) Hook F. & Th. dengan metode spektrofotometri. *Kartika Jurnal Imliah Farmasi*. II(1):1–5.
- Dipiro, J.R., Talbert, G., Yee, G., Matzke, Wells B.G, dan L. Posey. 2017. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, 10th Edition*. United States: Mc-Graw Hill.
- Eddouks, M., D. Chattopadhyay, V. De Feo, dan W. C. Cho. 2012. Medicinal plants in the prevention and treatment of chronic diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012
- Fachrurozi, Z. 1980. Burahol (*Stelechocarpus Burahol* (BI) Hk.f. & Th.) Deodoran Tempo Dulu Dan Masalah Pelestariannya. Buletiin Kebun Raya. 1980. Halaman 127–130.
- Fahy, E., D. Cotter, M. Sud, dan S. Subramaniam. 2012. Lipid classification, structures, and tools. *Biomedical and Life Sciences*. 29(11):997–1003.
- Fauzana, D. L. 2010. Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi, Dan Perkolasi Terhadap Rendemen Ekstrak Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza Roxb.*). Thesis. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Feingold, K. dan C. Grunfeld. 2018. Introduction to Lipids and Lipoproteins - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305896/> [Diakses pada 4 Mei 2020 pukul 09:10 WIB].
- Firmansyah, D. dan M. S. Bachri. 2016. Pengaruh pemberian ekstrak etanol dan kloroform daun sirsak terhadap kolesterol total dan trigliserida pada tikus yang diinduksi aloksan. *Pharmaciana*. 6(1):47-54.
- Gross, M. 2004. Flavonoids and cardiovascular disease. *Pharmaceutical Biology*.

42(sup1):21–35.

Guyton, A. dan J. Hall. 2006. *Textbook of Medical Physiologi 11st Edition*. USA: Elsevier Saunders.

Guyton, A. dan J. Hall. 2016. *Textbook of Medical Physiology 13th Edition*. Philadelphia (PA): Elsevier, Inc.

Haliza, N. R. N. 2018. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Terhadap Kadar Kolesterol Total Dan Trigliserida Mencit Yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Hamdan, I. I., V. N. Kasabri, Y. M. Al-Hiari, D. El-Sabawi, dan H. Zalloum. 2019. Pancreatic lipase inhibitory activity of selected pharmaceutical agents. *Acta Pharmaceutica*. 69(1):1–16.

Hardianto, D. 2014. Tinjauan lovastatin dan aplikasinya. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*. 1(1):38.

Harikumar, K., S. A. Althaf, B. Kishore Kumar, M. Ramunaik, dan C. Suvarna. 2013. A review on hyperlipidemic. *International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences*. 3(4):69–80.

Harnafi, H. dan S. Amrani. 2007. Flavonoids as potent phytochemicals in cardiovascular diseases prevention. *Section Title: Pharmacology*. 1(2):193–202.

Hassing, H. C., R. P. Surendran, H. L. Mooij, E. S. Stroes, M. Nieuwdorp, dan G. M. Dallinga-Thie. 2012. Pathophysiology of hypertriglyceridemia. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 1821(5):826–832.

Heck, A. M. P. . 2017. Orlistat, a new lipase inhibitor for the management of obesity. *Physiology & Behavior*. 176(5):139–148.

Hendrani, A. D. 2016. Dyslipidemia management in primary prevention of cardiovascular disease: current guidelines and strategies. *World Journal of Cardiology*. 8(2):201.

Hruby, A. P. M. dan F. B. M. P. M. Hu. 2015. The epidemiology of obesity: a big picture. *Pharmacoeconomics*. 33(7):673–689.

Huang, H., X. Xiao, A. Ghadouani, J. Wu, Z. Nie, C. Peng, X. Xu, dan J. Shi. 2015. Effects of natural flavonoids on photosynthetic activity and cell integrity in *microcystis aeruginosa*. *Toxins*. 7(1):66–80.

Ismail, M. dan T. CL. 2000. Prevalence of Obesity in Malaysia. In: *The Asia-Pacific Perspective: Redefining Obesity and Its Treatment*. Geneva, Switzerland: World Health Organization.

Jawed, A., G. Singh, S. Kohli, A. Sumera, S. Haque, R. Prasad, dan D. Paul. 2019. Therapeutic role of lipases and lipase inhibitors derived from natural resources

- for remedies against metabolic disorders and lifestyle diseases. *South African Journal of Botany*. 120:25–32.
- Jeany, L. 2018. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) pada Mencit yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Jones, P. J. H. dan T. Rideout. 2012. *Lipids, sterols, and their metabolites*. In book: *Modern Nutrition in Health and Disease: Eleventh Edition*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Jump, B. D. 2012. Fatty acid regulation of hepatic metabolism. *Journal of Critical Nutrition and Metabolic Care*. 1(12): 115-120.
- Katsiki, N., D. Nikolic, G. Montalto, M. Banach, D. P. Mikhailidis, dan M. Rizzo. 2013. The role of fibrate treatment in dyslipidemia: an overview. *Current Pharmaceutical Design*. 19(17):3124–3131.
- Kementrian Kesehatan RI (Kemenkes RI). 2018. *Hasil Utama Laporan Riskesdas*. Jakarta: Kemenkes RI.
- 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*
- Klop, B., J. W. F. Elte, dan M. C. Cabezas. 2013. Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients*. 5(4):1218–1240.
- Kumar, D. V., D. S. L. Mathur, dan D. R. K. Tuteja. 2019. Effects of thyroid dysfunction on lipid profile. *International Journal of Medical and Biomedical Studies*. 3(6):76–84.
- Lestari, D. A. 2017. Analisis Hubungan Kekerbatan Annonaceae Dari Jawa Timur Koleksi Kebun Raya Purwodadi Berdasarkan Karakter Morfologi Dan Penanda Molekuler DNA (Rbcl, Matkdan, Dan Trnl-F). *Thesis*. Malang. Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
- Libby, P. 2012. History of discovery : inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 32(9):2045–2051.
- Limanan, D. 2013. Hantaran sinyal leptin dan obesitas: hubungannya dengan penyakit kardiovaskuler. *Journal Kedokteran Indonesia*. 1(2):1-10
- Liu, H., Y. Song, dan X. Zhang. 2017. Determination of total flavonoids in leek by AlCl₃ colorimetric assay. *Chemical Engineering Transactions*. 5(9):775–780.
- 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.


- Mehta, A., S. P. Marso, dan I. J. Neeland. 2017. Liraglutide for weight management: a critical review of the evidence. *Obesity Science and Practice*. 3(1):3–14.
- Milugo, T. K., L. K. Omosa, J. O. Ochanda, B. O. Owuor, F. A. Wamunyokoli, J. O. Oyugi, dan J. W. Ochieng. 2013. Antagonistic effect of alkaloids and saponins on bioactivity in the quinine tree (*Rauvolfia caffra sond.*): further evidence to support biotechnology in traditional medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*.
- National Cholesterol Education Program (NCEP). 2001. *ATP III Guidelines at A Glance Quick Desk Reference*. USA: NCEP.
- National Parks Board. 2013. *Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook. f. & Thomson. <https://www.nparks.gov.sg/florafaunaweb/flora/3/3/3344> [Diakses pada 4 April 2020 pukul 23:46 WIB].
- Nelson, D. L. dan M. Cox. 2017. *Lehninger Principles of Biochemistry Seventh Edition*. New York: WH Freeman.
- Neoh, S. L. dan J. Proietto. 2014. Combination phentermine and topiramate for weight maintenance: the first australian experience. *The Medical Journal of Australia*. 201(August):224–226.
- Nn, A. 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*. 04(03):3–8.
- Nurmila, N., H. Sinay, dan T. Watuguly. 2019. Identifikasi dan analisis kadar flavonoid ekstrak getah angkana (*Pterocarpus indicus willd*) di Dusun Wanath Kecamatan Leihitu Kabupaten Maluku Tengah. *Biopendix: Jurnal Biologi, Pendidikan Dan Terapan*. 5(2):65–71.
- Nuttall, F. Q. 2015. Body mass index: obesity, BMI, and health: a critical review. *Nutrition Today*. 50(3):117–128.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). 2017. *Obesity Update 2017*. France: OECD.
- Panche, A. N., A. D. Diwan, dan S. R. Chandra. 2016. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*. 1(5):27
- Parnis, J. M. dan K. B. Oldham. 2013. Beyond the beer-lambert law: the dependence of absorbance on time in photochemistry. *Journal of Photochemistry and Photobiology A Chemistry*. 267(6):1–10.
- Payne, R. A. 2012. Cardiovascular risk. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 74(3):396–410.
- Pearce, E. N. 2012. Thyroid hormone and obesity. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. 19(5):408–413.
- Pękal, A. dan K. Pyrzynska. 2014. Evaluation of aluminium complexation reaction

- for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*. 7(9):1776–1782.
- Permatasari, I., N. Mayulu, dan R. Hamel. 2013. Analisa riwayat orang tua sebagai faktor resiko obesitas pada anak SD di kota manado. *Jurnal Keperawatan UNSRAT*. 1(1):106732.
- Pi-Sunyer, X. 2010. The medical risks of obesity. *Journal of Postgraduate Medicine*. 121(6):21–33.
- Pirahanchi, Y. dan S. Sharma. 2019. *Biochemistry, Lipase*. StatPearls Publishing. *StatPearls*.
- 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.
- Pratiwi, P., M. Suzery, dan B. Cahyono. 2010. Total fenolat dan flavonoid dari ekstrak dan fraksi daun kumis kucing (*orthosiphon stamineus* b.) jawa tengah serta aktivitas antioksidannya. *Jurnal Sains & Matematika (JSM)*. 1–10.
- Priskasari, L. N. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Terhadap Kadar Malondialdehid Plasma Mencit Diabetes Yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Purwantiningsih, A. R. Hakim, dan I. Purwantini. 2010. Anthyperuricemic activity of the kepel [*Stelechocarpus burahol* (BI.) Hook.F & Th.] leaves extract and xanthine oxidase. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2(2):123–127.
- Purwantiningsih dan Nurlaila. 2016. Effect of the kepel leaves extract (*Stelechocarpus burahol* [BI] Hook. F. & Th.) on sprague-dawley rats: an acute toxicity study. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 9(1):304–307.
- Putri, S. R. dan D. Isti. 2015. Obesitas sebagai faktor resiko peningkatan kadar trigliserida. *Universitas Lampung*. 4(9):78–82.
- Rahim, A. T. M. A., Y. Takahashi, dan K. Yamaki. 2015. Mode of pancreatic lipase inhibition activity in vitro by some flavonoids and non-flavonoid polyphenols. *Food Research International*. 7(5):289–294.
- Ramadhan, B. C., S. A. Aziz, dan M. Ghulamahdi. 2016. Potensi kadar bioaktif yang terdapat pada daun kepel (*Stelechocarpus burahol*). *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat*. 26(2):99.
- Ramkumar, S., A. Raghunath, dan S. Raghunath. 2016. Statin therapy: review of safety and potential side effects. *Acta Cardiologica Sinica*. 32(6):631–639.
- Rokholm, B., J. L. Baker, dan T. I. A. Sørensen. 2010. The levelling off of the obesity epidemic since the year 1999 - a review of evidence and perspectives.

- Obesity Reviews*. 11(12):835–846.
- Rosalina, A. N. 2014. Korelasi Kandungan Fenolat Dan Flavonoid Terhadap Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava L.*) dengan Metode DPPH Dan FTC. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Shattat, G. F. 2014. A review article on hyperlipidemia: types, treatments and new drug targets. *Biomedical and Pharmacology Journal*. 7(2):399–409.
- Sebaugh, J. L. 2011. Guidelines for accurate EC50/IC50 estimation. *Pharmaceutical Statistics*. 10(2):128–134.
- Simpson, M. G. 2006. *Plant Systematics*. Canada: Elsevier Academic Press.
- Sivaji, K., G. V Benerji, M. Farid, dan D. Rekha. 2015. Original article : effect of beta blocker – atenolol on lipid profile in hypertensive patients. 1(9):38–45.
- Soegondo, S. dan D. Purnamasari. 2010. *Sindrom metabolik*. Dalam: Sudoyo, Dkk. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Interna Publishing.
- Solikin. 2010. Ecology of Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Hook. F. & Thomsom) in Purwodadi Botanical Garden. Proceeding of International Conference on Medical Plant. Surabaya: 21st July 2010. Surabaya Indonesia.
- Staels, B., Y. Handelsman, dan V. Fonseca. 2010. Bile acid sequestrants for lipid and glucose control. *Current Diabetes Reports*. 10(1):70–77.
- Stoytcheva, M., G. Montero, R. Zlatev, J. A. Leon, dan V. Gochev. 2012. Analytical methods for lipases activity determination: a review. *Current Analytical Chemistry*. 8(3):400–407.
- Sunardi, C., S. A. Sumiwi, dan A. Hertati. 2010. Penelitian antiinflamasi ekstrak etanol daging buah burahol (*Stelechocarpus burahol* Hook F. & Thomson) pada tikus putih. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 4(1):1–8
- Sunarni, T., S. Pramono, dan R. Asmah. 2007. Antioxidant–free radical scavenging of flavonoid from the leaves of *Stelechocarpus burahol* (BI.) Hook F. & Th. *Indonesian Journal of Pharmacy*. 18(3):111–116.
- Tak, Y. J. dan S. Y. Lee. 2020. Anti-obesity drugs: long-term efficacy and safety: an updated review. *The World Journal of Men's Health*. 38:6.
- Tek, C. 2016. Naltrexone hci/bupropion hci for chronic weight management in obese adults: patient selection and perspectives. *Patient Preference and Adherence*. 10:751–759.
- Thaker, V. V. 2017. Genetic and epigenetic causes of obesity. *Adolescent Medicine: State of the Art Reviews*. 28(2):379–405.
- Thakur, S. 2012. Lipases, its sources, properties and applications: a review. *Int. J. Sci. Eng. Res*. 3(7):1–29.

- Tiwari, P., B. Kumar, M. Kaur, G. Kaur, dan H. Kaur. 2011. Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 1:1–9.
- Verrotti, A., C. D'Egidio, A. Mohn, G. Coppola, dan F. Chiarelli. 2011. Weight gain following treatment with valproic acid: pathogenetic mechanisms and clinical implications. *Obesity Reviews*. 12(501):32–43.
- Vilchis-Gil, J., M. Galván-Portillo, M. Klünder-Klünder, M. Cruz, dan S. Flores-Huerta. 2015. Food habits, physical activities and sedentary lifestyles of eutrophic and obese school children: a case-control study. *BMC Public Health*. 15(1):1–8.
- Whitaker, R. C., J. A. Wright, M. S. Pepe, K. D. Sedel, dan W. H. Dietz. 1997. PREDICTING obesity in young adulthood from childhood and parental obesity a bstract background childhood obesity increases the risk. *N Engl J Med*. 337(13):869–873.
- World Health Organization (WHO). 2018. *Global Health Estimates 2016 Summary Tables: Death by Cause, Age and Sex, by World Bank Income Group*. Geneva: WHO.
- World Health Organization (WHO). 2000. *The Asia-Pacific Perspective: Redefining Obesity and Its Treatment*. Sydney
- Wolfe, B. M., E. Kvach, dan R. H. Eckel. 2016. Treatment of obesity: weight loss and bariatric surgery. *Circulation Research*. 118(11):1844–1855.
- Yumuk, V., C. Tsigos, M. Fried, K. Schindler, L. Busetto, D. Micic, dan H. Toplak. 2015. European guidelines for obesity management in adults. *Obesity Facts*. 8(6):402–424.
- Zeka, K., K. Ruparelia, R. Arroo, R. Budriesi, dan M. Micucci. 2017. Flavonoids and their metabolites: prevention in cardiovascular diseases and diabetes. *Diseases*. 5(3):19.
- Zhang, Q. W., L. G. Lin, dan W. C. Ye. 2018. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*. 13(1):1–26.
- Zhang, R., J. Chen, X. Mao, P. Qi, dan X. Zhang. 2019. Separation and lipid inhibition effects of a novel decapeptide from *Chlorella pyrenoidosa*. *Molecules*. 24(19):1–16.
- Zhu, Y. T., Y. W. Jia, Y. M. Liu, J. Liang, L. S. Ding, dan X. Liao. 2014. Lipase ligands in *Nelumbo nucifera* leaves and study of their binding mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62(44):10679–10686.

Lampiran 4.1 Hasil Determinasi Tumbuhan Kepel



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/265A/ 102.7/ 2020
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Kepel**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama / NIM : FINOLA CALYSTA YAKAIN / 162210101007
MONIKA TRI WULANDARI / 162210101077
Fakultas : FARMASI, UNIVERSITAS JEMBER

1. Perihal determinasi tanaman kepel

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Magnoliales
Famili	: Annonaceae
Genus	: <i>Stelechocarpus</i>
Spesies	: <i>Stelechocarpus burahol</i> (Bl.) Hook.f. & Th.
Nama daerah	: Burahol (Sunda), kepel (Jawa).
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33b-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76a-77a-78a-79b-80a-81b-86b-87a-88b-89b-91c-95a-96b-1b-10a-11a-1.

2. Morfologi : Habitus: Pohon, tinggi ± 12 m. Batang: Tegak, bulat, berkayu, percabangan monopodial, coklat. Daun: Tunggal, lonjong, panjang 8-20 cm, lebar 4-6 cm, ujung dan pangkal meruncing, halus, pertulangan bawah menonjol, mengkilat, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk tandan, tersebar di batang dan cabang, tangkai silindris, panjang ± 4 cm, benang sari dan putik halus, kuning, mahkota lonjong, kuning. Buah: Buni, bulat, kulit kasar, diameter ± 5 cm, coklat. Biji: Bentuk ginjal, halus, hitam mengkilat. Akar: Tunggang, putih kotor.

3. Bagian yang digunakan : Daun.


4. Penggunaan : Penelitian (Skripsi).

5. Daftar Pustaka

- Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol 1. N.V.P. Noordhoff, Groningen.

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

Batu, 18 Maret 2020
An. Kepala UPT Lab. Herbal Materia Medica Batu
Kepala Seksi Pelayanan Laboratorium Herbal,


Fitriah Rahmawati, S.Farm., Apt.
NIP.19900430 201403 2 002

Lampiran 4.2 Perhitungan Rendemen Ekstrak

Ekstrak Etanol Daun Kepel

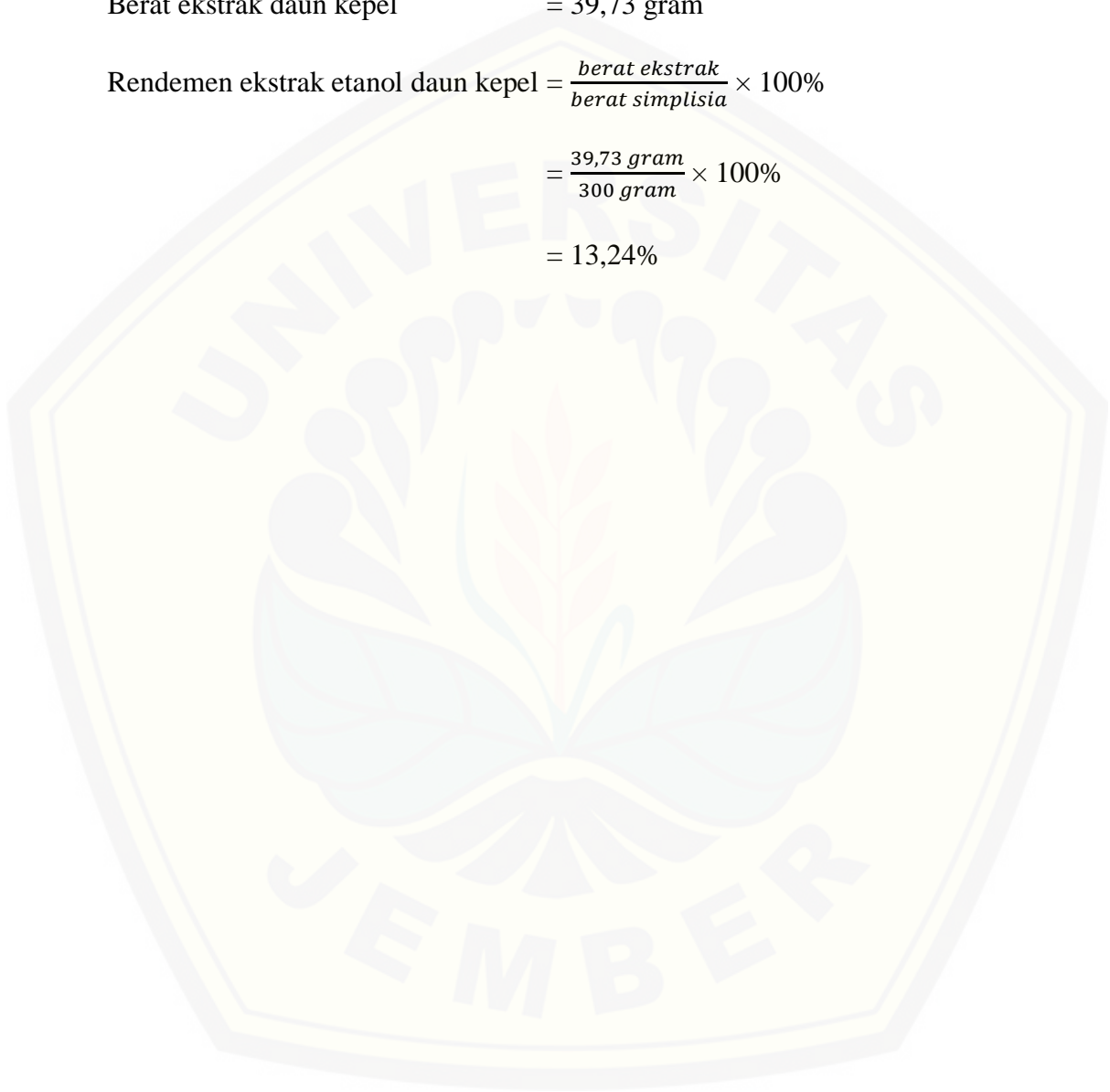
Berat serbuk daun kepel = 300 gram

Berat ekstrak daun kepel = 39,73 gram

Rendemen ekstrak etanol daun kepel = $\frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$

$$= \frac{39,73 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 13,24\%$$



Lampiran 4.3 Penetapan Kadar Flavonoid Total

Lampiran 4.3.1 Pembuatan Reagen

a. Larutan NaOH 1 M

$$N = \frac{\text{massa (gram)}}{Mr} \times \frac{1000}{V (ml)} \times e$$

$$1N = \frac{\text{massa (gram)}}{40} \times \frac{1000}{25} \times 1$$

$$\text{massa} = \frac{40 \times 25}{1000}$$

= 1 gram NaOH dalam 25 ml aquades

b. Larutan AlCl₃ 10%

1 gram AlCl₃ dilarutkan dalam 10 ml metanol pada labu ukur sampai tepat tanda.

c. Larutan NaNO₂ 5%

500 mg NaNO₂ dilarutkan dalam 10 ml aquades pada labu ukur sampai tepat tanda.

Lampiran 4.3.2 Pembuatan Standar Kuersetin

Penimbangan induk standar kuersetin = 10 mg

$$\text{Konsentrasi larutan induk standar kuersetin} = \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 1000 \mu\text{g/mL}$$

Seri konsentrasi standar kuersetin:

$$\text{Konsentrasi 1. } \frac{0,5 \text{ ml}}{50 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 10 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 2. } \frac{0,25 \text{ ml}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 25 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 3. } \frac{0,25 \text{ ml}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 50 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 4. } \frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 100 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 5. } \frac{1 \text{ ml}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 200 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 6. } \frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 300 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 7. } \frac{2 \text{ ml}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 400 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 8. } \frac{2,5 \text{ ml}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 500 \mu\text{g/mL}$$

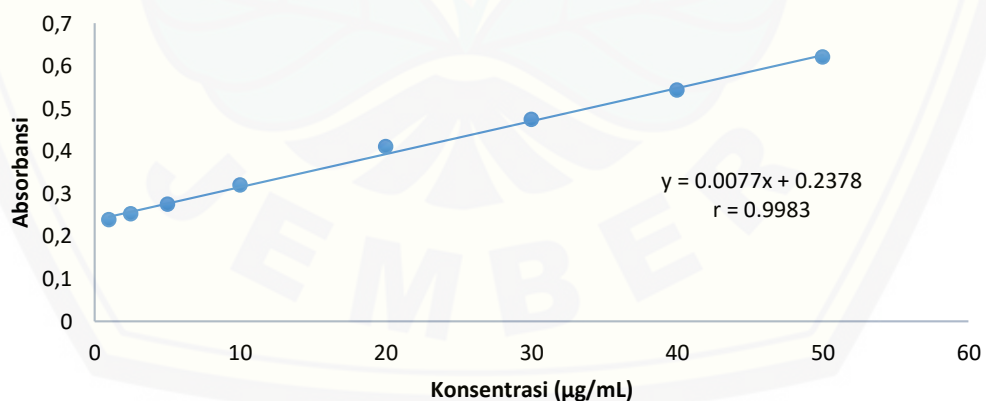
Lampiran 4.3.3 Kurva Standar Kuersetin

Data Absorbansi Standar Kuersetin

Konsentrasi ($\mu\text{l/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{l/mL}$)	Absorbansi tiap replikasi			Rata-rata absorbansi
		1	2	3	
10	1	0,240	0,239	0,236	0,238
25	2,5	0,250	0,253	0,253	0,252
50	5	0,274	0,277	0,273	0,274
100	10	0,317	0,321	0,318	0,320
200	20	0,409	0,411	0,410	0,410
300	30	0,474	0,474	0,476	0,474
400	40	0,539	0,541	0,546	0,542
500	50	0,619	0,623	0,620	0,620

Konsentrasi kuersetin dan absorbansi diplotkan hingga diperoleh persamaan $y = 0,0077x + 0,2378$ dengan nilai $r = 0,9983$.

Kurva Standar Kuersetin



Lampiran 4.3.4 Kadar Flavonoid Total dalam Ekstrak Daun Kepel**d. Pembuatan Sampel Uji**

Penimbangan ekstrak = 10,1 mg

$$\text{Konsentrasi ekstrak} = \frac{10,1 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 1010 \text{ } \mu\text{L/mL}$$

e. Perhitungan Flavonoid Total Sampel Uji

Data Absorbansi Sampel Uji

Replikasi	Absorbansi	Kadar Flavonoid (mg QE/g Ekstrak)	Rata-rata Kadar Flavonoid \pm SD
1	0,403	212,37	216,803 \pm 4,50
2	0,410	221,37	
3	0,408	216,66	

Perhitungan kandungan flavonoid total dalam ekstrak (replikasi 1):

$$y = 0,0077x + 0,2378$$

$$0,403 = 0,0077x + 0,2378$$

$$x = \frac{0,403 - 0,2378}{0,0077}$$

$$= 21,454 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Jumlah flavonoid dalam kuvet} = 21,454 \text{ } \mu\text{g/mL} \times 1,5 \text{ mL} = 32,181 \text{ } \mu\text{g}$$

$$\text{Jumlah flavonoid dalam larutan ekstrak} = \frac{10000 \text{ } \mu\text{L}}{150 \text{ } \mu\text{L}} \times 32,181 \text{ } \mu\text{g} = 2145,4 \text{ } \mu\text{g} = 2,145 \text{ mg}$$

$$\text{Jumlah flavonoid dalam penimbangan ekstrak} = \frac{2,145 \text{ mg}}{10,1 \times 10^{-3} \text{ gram}} \text{ mg QE/g ekstrak}$$

$$\text{Jumlah flavonoid dalam penimbangan ekstrak} = 212,37 \text{ mg QE/g ekstrak}$$

Lampiran 4.4 Uji Penghambatan Enzim Lipase

Lampiran 4.4.1 Persiapan Sampel Uji

a. Preparasi Larutan Dapar Tris-HCl 1 M

Massa Tris(hydroxymethyl)aminomethane 1 M

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

$$\begin{aligned} 1 \text{ M} &= \frac{\text{massa (gram)}}{121,4} \times \frac{1000}{100 \text{ mL}} \\ &= 12,14 \text{ gram} \end{aligned}$$

b. Preparasi Larutan Substrat ρ -NPB

Dilarutkan 3,52 $\mu\text{l/mL}$ substrat ρ -NPB pada 2 mL asetonitril sehingga memperoleh konsentrasi 10 mM. Berikut adalah pengenceran substart ρ -NPB 10 mM menjadi 2 mM:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$10 \text{ mM} \times V_1 = 2 \text{ mM} \times 3 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,6 \text{ mL}$$

c. Preparasi Larutan Enzim Lipase

$$\frac{20 \text{ mg}}{4 \text{ mL}} = 5 \text{ mg/mL (Dilarutkan 20 mg enzim lipase pada dapar 4 mL)}$$

d. Preparasi Larutan Orlistat (Kontrol Positif)

Penimbangan induk orlistat = 5,0 mg

Konsentrasi larutan induk orlistat = $\frac{5,0 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 1000 \mu\text{g/mL}$ (5,0 mg orlistat dilarutkan dalam 1 mL DMSO hingga larut, kemudian ditambah dapar Tris-HCl ad 10 mL)

Seri konsentrasi induk orlistat:

$$\text{Konsentrasi 1} = \frac{0,01 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 2} = \frac{0,05 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 3} = \frac{0,05 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 4} = \frac{0,125 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 25 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 5} = \frac{0,25 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 50 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

e. Preparasi Larutan Ekstrak Etanol Daun Kepel

Penimbangan induk = 10 mg

$$\text{Konsentrasi larutan induk} = \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Seri konsentrasi induk:

$$\text{Konsentrasi 1} = \frac{0,05 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 2} = \frac{0,05 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 3} = \frac{0,25 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 50 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 4} = \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 5} = \frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 500 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 6} = \frac{1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 4.4.2 Perhitungan Nilai IC₅₀ Penghambatan Enzim Lipase

$$\text{Penghambatan lipase (\%)} = \frac{\text{absorbansi kontrol negatif} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol negatif}} \times 100 \%$$

Rata-rata kontrol negatif (K-) = 0,429

Sampel	Kons sampel (µg/mL)	Absorbansi			Penghambatan (%)			Persamaan garis	Nilai IC ₅₀ (µg/ml)
		Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3		
K-		0,429	0,431	0,427					
Orlistat	1	0,245	0,243	0,240	42,890	43,361	44,055	$y_1 = 0,380x + 45,201$ r= 0,975	12,625
	5	0,221	0,225	0,223	48,485	47,552	48,018	$y_2 = 0,398x + 44,720$ r= 0,989	13,407
	10	0,214	0,216	0,216	50,116	49,417	49,417	$y_3 = 0,386x + 45,219$ r= 0,991	12,360
	25	0,190	0,188	0,191	55,711	55,244	55,277		
	50	0,157	0,155	0,154	63,403	63,869	64,102		
Ekstrak Daun Kepel	5	0,323	0,329	0,330	24,708	23,310	23,076	$y_1 = 0,134x + 23,946$ r= 0,991	194,432
	10	0,315	0,310	0,306	26,573	27,738	28,671	$y_2 = 0,129x + 24,354$ r= 0,987	198,844
	50	0,298	0,294	0,292	30,536	31,468	31,934	$y_3 = 0,131x + 24,690$ r= 0,977	193,206
	100	0,276	0,272	0,268	35,664	36,596	37,529		
	150	0,245	0,248	0,251	42,890	42,191	41,491		
	200	0,203	0,207	0,202	52,680	51,748	52,913		
Rata-rata IC ₅₀ ± SD								Orlistat = 12,799 ± 0,544	
								Ekstrak = 195,494 ± 2,965	

Contoh perhitungan IC₅₀ ekstrak daun kepel replikasi (1):

Contoh perhitungan

$$\% \text{ inhibisi konsentrasi } 5 \text{ (}\mu\text{g/mL)} : \frac{0,429-0,323}{0,429} \times 100\% = 24,708\%$$

$$\% \text{ inhibisi konsentrasi } 10 \text{ (}\mu\text{g/mL)} : \frac{0,429-0,315}{0,429} \times 100\% = 26,573\%$$

$$\% \text{ inhibisi konsentrasi } 50 \text{ (}\mu\text{g/mL)} : \frac{0,429-0,298}{0,429} \times 100\% = 30,536\%$$

$$\% \text{ inhibisi konsentrasi } 100 \text{ (}\mu\text{g/mL)} : \frac{0,429-0,276}{0,429} \times 100\% = 35,664\%$$

$$\% \text{ inhibisi konsentrasi } 150 \text{ (}\mu\text{g/mL)} : \frac{0,429-0,245}{0,429} \times 100\% = 42,890\%$$

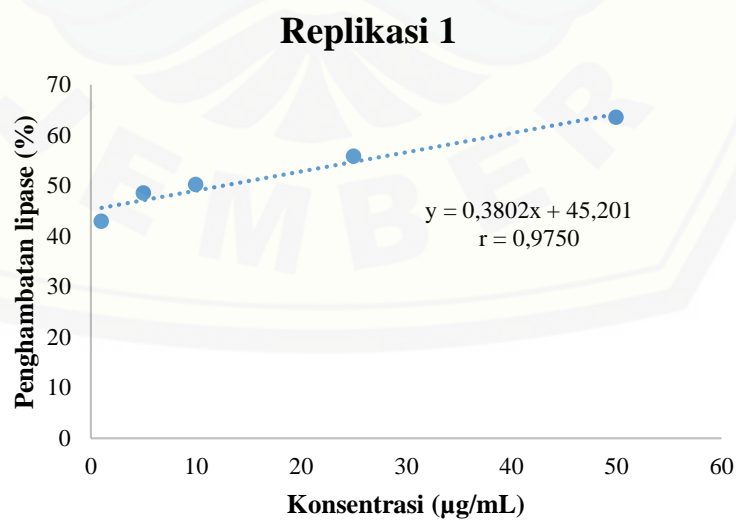
$$\% \text{ inhibisi konsentrasi } 200 \text{ (}\mu\text{g/mL)} : \frac{0,429-0,203}{0,429} \times 100\% = 52,680\%$$

Data konsentrasi ekstrak dan persen penghambatan diplotkan sehingga didapatkan persamaan $y = 0,134x + 23,946$ dengan nilai $r = 0,991$. Selanjutnya ditentukan nilai IC₅₀:

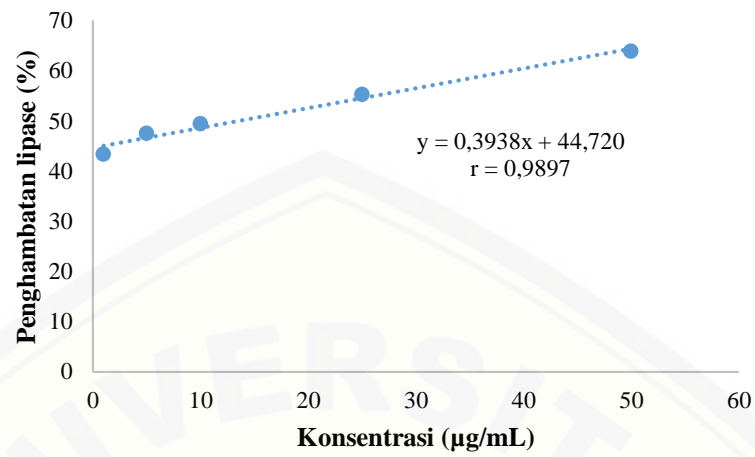
$$IC_{50} = \frac{50-a}{b} = \frac{50-23,946}{0,134} = 194,432 \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 4.4.3 Kurva Penghambatan Enzim Lipase

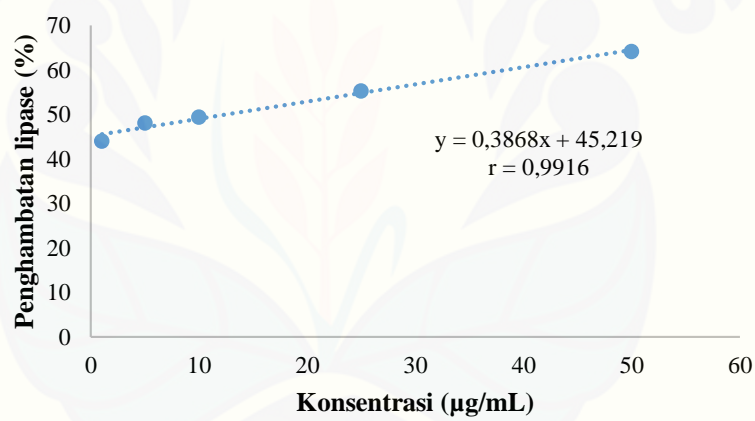
a. Orlistat



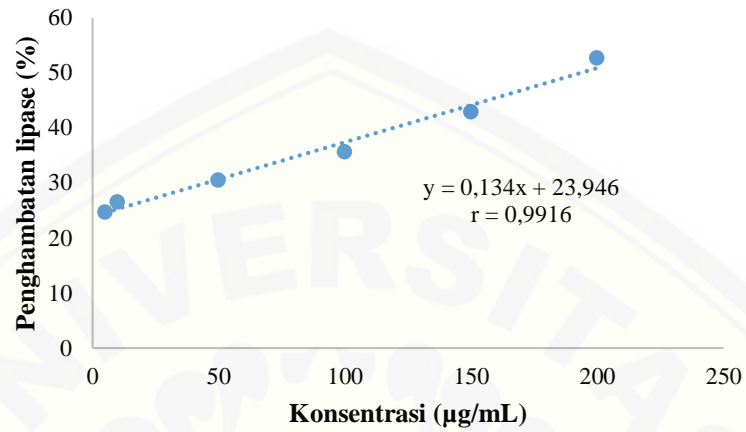
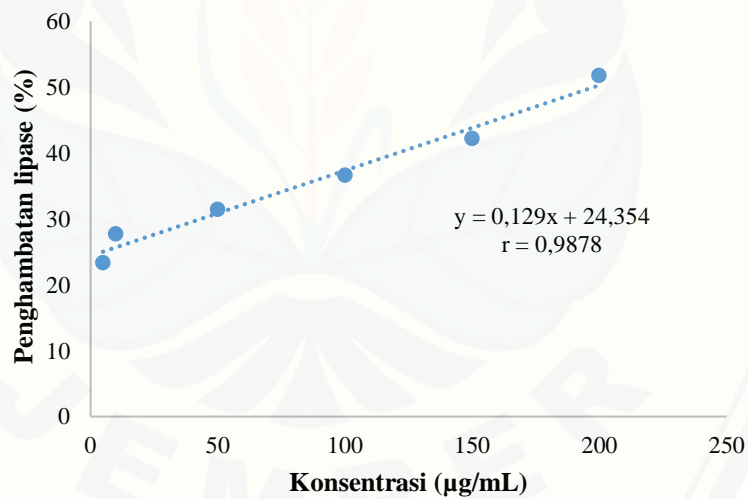
Replikasi 2



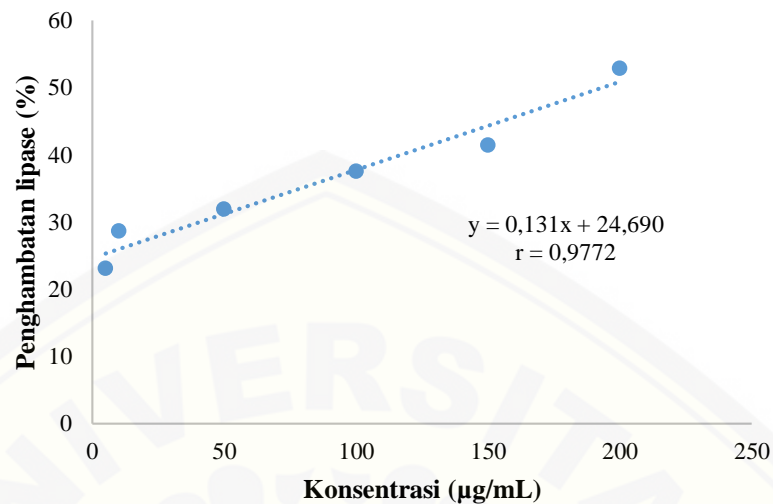
Replikasi 3



b. Ekstrak Daun Kepel

Replikasi 1**Replikasi 2**

Replikasi 3



Lampiran 4.5 Hasil Analisis Statistik Uji Penghambatan Enzim Lipase

Lampiran 4.5.1 Uji Normalitas

Tests of Normality							
	Inhibitor	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50	Orlistat	.291	3	.	.925	3	.470
	Daun kepel	.307	3	.	.904	3	.398

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data normal ($p > 0,05$).

Lampiran 4.5.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
IC50			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.365	1	4	.053

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data homogen ($p > 0,05$), sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *independen T-Test*.

Lampiran 4.5.3 Uji Independen 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
IC50	Equal variances assumed	7.365	.053	-104.962	4	.000	-182.696667	1.740591	-187.529322	-177.864012
	Equal variances not assumed			-104.962	2.135	.000	-182.696667	1.740591	-189.750842	-175.642492

Hasil uji independen T-Test menunjukkan bahwa terdapat perbedaan IC₅₀ yang signifikan antara orlistat dan ekstrak daun kepel (Sig. 2-tailed < 0,05).

Lampiran 4.6 Dokumentasi



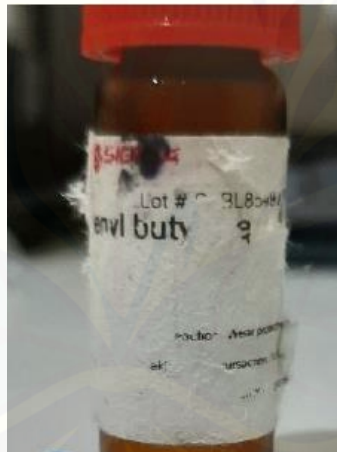
Ekstrak daun kepel



Sampel yang digunakan pada penetapan kadar flavonoid total



Enzim lipase



Substrat p-NPB



Orlistat



Orlistat dalam uji aktivitas antihiperlipidemia dengan beberapa konsentrasi



Ekstrak daun kepel dalam uji aktivitas antihiperlipidemia dengan beberapa konsentrasi



Proses pengujian aktivitas antihiperlipidemia menggunakan *ELISA reader*