



**AKTIVITAS PENGHAMBATAN OKSIDASI  
KOLESTEROL LDL DARI EKSTRAK  
KLIKA ONGKEA (*Mezettia parviflora* Becc.)  
SECARA IN VITRO**

**ENDANG SUMANTI  
N111 05 205**



SKR-<sup>F</sup>AP10  
SUM  
a

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2010**

**AKTIVITAS PENGHAMBATAN OKSIDASI KOLESTEROL LDL  
DARI EKSTRAK KLIKA ONGKEA (*Mezzettia parviflora* Becc.)  
SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**ENDANG SUMANTI  
N111 05 205**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2010**

AKTIVITAS PENGHAMBATAN OKSIDASI  
KOLESTEROL LDL DARI EKSTRAK KLIKA ONGKEA  
(*Mezzettia parviflora* Becc.) SECARA IN VITRO

ENDANG SUMANTI

N111 05 205

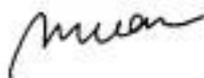
Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



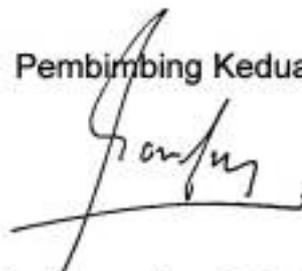
Mufidah, S. Si., M. Si., Apt.  
NIP. 19730309 199903 2 022

Pembimbing Pertama,



Prof. Dr. rer.nat. Marianti A. Manggau, Apt.  
NIP. 19670319 199203 2 002

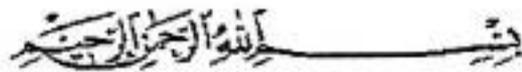
Pembimbing Kedua,



dr. Isman Jusuf, Sp.S.  
NIP. 19780703 200604 1 003

Pada tanggal : Juli 2010

## UCAPAN TERIMA KASIH



Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penelitian dengan judul "Aktivitas Penghambatan Oksidasi Kolesterol LDL dari Ekstrak Klika Ongkea (*Mezzettia Parviflora* Becc.) Secara In Vitro" telah rampung sebagai skripsi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.

Dalam rangka penyusunan skripsi ini banyak kendala yang dihadapi penulis, namun berkat bantuan serta dukungan yang telah diberikan oleh berbagai pihak akhirnya kendala-kendala tersebut dapat dilewati dengan baik. Oleh karena itu, atas berbagai bantuan serta dukungan tersebut, penulis menghanturkan banyak terima kasih.

Terima kasih penulis ucapkan pada:

1. Ibu Prof. Dr. Elly wahyudin, DEA, Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Unhas,
2. Ibu Mufidah, S.Si.,M.Si.,Apt sebagai pembimbing utama yang ditengah kesibukannya telah membimbing, memberikan arahan, saran dan pendapat serta kritikan yang menjadi pemicu semangat, Ibu Prof. Dr. rer. nat. Marianti A. Manggau, Apt sebagai pembimbing pertama dan Bapak dr. Isman Jusuf, Sp.S sebagai pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu, memberikan petunjuk, pemikiran, bimbingan dan saran kepada penulis,

1. Bapak Drs. Hi. Ali Kaku, M.Pd, selaku ketua program kerjasama Farmasi UNG-UNHAS, semoga kerjasama antara UNHAS dengan UNG dapat lebih ditingkatkan lagi di tahun-tahun mendatang,
2. Bapak ibu dosen serta seluruh staf Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, atas curahan ilmu pengetahuan dan segala bantuan yang diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan, penelitian, hingga selesainya skripsi ini,
3. Bapak ibu dosen serta seluruh staf Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo, atas limpahan ilmu serta bantuan yang telah diberikan,
4. Kak Lukman Muslimin, Kak Rusdi, atas bimbingan, masukan, waktu, serta semangatnya,
5. Kepada teman-teman angkatan 2005 UNG-UNHAS, yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang senantiasa memberiku dukungan,
6. Sahabatku Yudi Setiawan Mbuinga dan teman-teman baikku (Christian Modundo, Dewi Yusnita Bakung, Yentriyani Koniyo, Dwi Agustin Mohamad, Siska Ismail, Noval Riyanto Samad, Karmila Abuba, Ibu Indah Singgih, Ibu Rathiana Abd. Samad, Ibu Rita Bambang, dan Analia L. Alade) atas bantuan tenaga dan pikirannya serta dorongan semangat kepada penulis untuk membantu penyusunan skripsi ini, kalian selalu ada disaat suka maupun duka dan membuatku memahami makna persahabatan.

Teramat khusus, rasa bangga dan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada **Ayahanda Katiren dan Ibunda Kaseh yadi** tercinta yang telah menghadirkan saya ke dunia ini, memberikan dorongan moril dan bantuan material, serta doa yang tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Kepada kakakku tersayang **Titiek Puji Rahayu dan Rahmad Firdaus Raden Affandy**, serta **keluarga besarku** atas bantuan, cinta dan doanya.

Akhirnya penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan kelemahan, oleh karena itu kritik dan saran sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang membuka dan membacanya.

Makassar, Juli 2010

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian uji aktivitas penghambatan oksidasi kolesterol LDL dari ekstrak Etanol dan ekstrak tidak larut Aseton klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) secara in vitro. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol dan ekstrak tidak larut aseton terhadap aktivitas penghambatan oksidasi kolesterol LDL. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dan selanjutnya dipartisi dengan aseton. Metode diena terkonjugasi merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas penghambatan oksidasi berdasarkan inisiasi logam  $\text{Cu}^{2+}$ . Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tidak larut aseton mampu menghambat oksidasi LDL lebih baik dibandingkan ekstrak etanol klika Ongkea.

## ABSTRACT

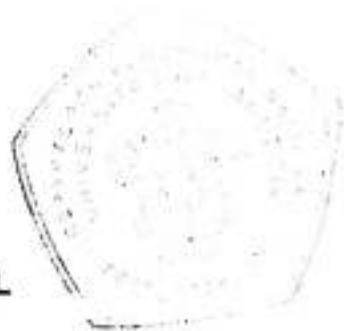
A research concerning activity of in vitro oxidation inhibition of LDL cholesterol from Ethanol extract and Acetone insoluble extract of klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) had been done. The aim of this research was to determine the effect of Ethanol extract and Acetone insoluble extract in inhibition on LDL cholesterol oxidation. Extraction was done by maceration method by using ethanol solvent and then be partitioned using acetone. Conjugated diene methode was the method that can be used to know the activity of oxidation inhibition based on  $\text{Cu}^{2+}$  metal initiation. The results showed that acetone insoluble extract can inhibit LDL oxidation better than the ethanol extract klika ongkea.

## DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
II.1 Uraian Tanaman.....	3
II.1.1 Klasifikasi.....	3
II.1.2 Nama Daerah.....	3
II.1.3 Morfologi.....	3
II.1.4 Kandungan Kimia.....	4
II.1.5 Kegunaan Tanaman.....	4
II.2 Uraian Umum.....	4
II.2.1 Kolesterol.....	4
II.2.2 Mekanisme Oksidasi LDL.....	11
II.2.3 Aterosklerosis.....	13
II.3 Antioksidan.....	14

II.3.1 Pengertian.....	14
II.3.2 Mekanisme Kerja Antioksidan.....	15
II.4 Penghambatan Oksidasi Kolesterol LDL dengan Metode Dena Terkonjugasi .....	16
II.5 Metode Ekstraksi Bahan Alam .....	17
II.5.1 Pengertian Ekstrak.....	17
II.5.2 Ekstraksi .....	17
II.5.3 Tujuan Ekstraksi .....	18
II.5.4 Jenis-Jenis Ekstraksi.....	18
II.5.5 Ekstraksi Secara Maserasi.....	19
II.6 Spektrofotometer UV-VIS.....	19
II.6.1 Prinsip Dasar .....	20
II.6.2 Serapan Oleh Senyawa .....	21
II.6.3 Peralatan Spektrofotometer .....	21
II.7 Hipotesis.....	23
<b>BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN.....</b>	<b>24</b>
III.1 Alat dan Bahan yang digunakan .....	24
III.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel.....	24
III.2.1 Pengambilan Sampel.....	24
III.2.2 Pengolahan Sampel.....	24
III.3 Ekstraksi .....	25
III.4 Prosedur Uji Penghambatan Oksidasi LDL.....	25
III.5 Analisis Data.....	26

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
IV.1 Hasil Penelitian.....	27
IV.2 Pembahasan .....	27
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	32
V.1 Kesimpulan.....	32
V. 2 Saran.....	32
Daftar Pustaka .....	33



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Persentase Penghambatan Oksidasi LDL oleh ekstrak etanol dan ekstrak tidak larut aseton klika ongska ( <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.) ..... .....	27
2. Data hasil perhitungan nilai aktivitas penghambatan peroksidasi lipid dari ekstrak etanol dan ekstrak tidak larut aseton klika ongska ( <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.) ..... .....	38

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Kolesterol .....	5
2. Reaksi dasar peroksidasi lipid .....	12
3. Reaksi pembentukan kromogen MDA-TBA .....	12
4. Aterosklerosis .....	14
5. Kurva pengukuran oksidasi LDL (A) dan HDL (B) dengan metode diena terkonjugasi pada panjang gelombang 234 nm. 1, fase lag; 2, fase propagasi; 3, fase dekomposisi .....	17
6. Diagram Sederhana Spektrofotometer .....	23
7. Grafik Aktivitas penghambatan ekstrak etanol dan ekstrak tidak larut aseton ( <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.) terhadap peroksidasi LDL yang di induksi dengan ion $Cu^{2+}$ yang dimonitor berdasarkan pembentukan diena terkonjugasi .....	29
8. Kurva absorbansi ekstrak Klika Ongkea ( <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.) .....	39
9. Profil KLT ekstrak Klika Ongkea ( <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.) .....	40
10. Tanaman Ongkea ( <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.) .....	41

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja pengolahan sampel klika ongkea ( <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.) .....	36
2. Skema Kerja Aktivitas Penghambatan Oksidasi LDL Ekstrak Klika Ongkea ( <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.).....	37
3. Data hasil perhitungan nilai aktivitas penghambatan peroksidasi lipid dari ekstrak etanol dan ekstrak tidak larut aseton klika ongkea ( <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.).....	38
4. Kurva absorbansi.....	39
5. Profil KLT ekstrak etanol, ekstrak aseton dan ekstrak tidak larut aseton Klika Ongkea ( <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.) .....	40
6. Gambar Tanaman Ongkea ( <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.).....	41

## BAB I

### PENDAHULUAN

Aterosklerosis merupakan penyebab utama kematian dan kecacatan di negara maju. Penyakit yang mempengaruhi arteria koronaria ini merupakan penyebab terpenting morbiditas dan mortalitas. Menurut American Heart Association, penyakit ini menyebabkan 466.101 kematian di Amerika Serikat pada tahun 1997 dan tetap merupakan penyebab utama kematian. (1) Pada tahun 2005 angka kematian akibat penyakit kardiovaskuler mencapai 17,5 juta, sekitar 7,6 juta diantaranya terjadi karena penyakit jantung koroner dan 5,7 juta karena stroke. (2)

Pembentukan aterosklerosis dipengaruhi oleh peningkatan kadar lipid darah, terutama kadar darah kolesterol, peningkatan berat badan dan aktifitas merokok. Pada pasien hiperkolesterolemia, kadar lipoprotein densitas rendahnya (LDL) dalam darah 10 kali lebih tinggi daripada di dalam serum. Kolesterol termasuk dalam jenis lipid plasma bersama-sama dengan lemak netral (trigliserida), fosfolipida, ester kolesterol dan asam lemak bebas. (3) Karena lipid tidak larut dalam air, maka di dalam darah bersama lipid akan ditransportasi tidak dalam bentuk bebas melainkan dalam bentuk terikat pada protein pembawa yang disebut apolipoprotein. (4)

Jika penyakit aterosklerosis dapat disebabkan oleh oksidasi LDL, maka penggunaan antioksidan untuk menghambat oksidasi LDL akan

mengurangi insiden penyakit ini. (5) Beberapa penelitian membuktikan bahwa penggunaan senyawa-senyawa antioksidan endogen maupun eksogen dapat mencegah oksidasi lipid. (6)

Salah satu tanaman yang telah diteliti antioksidannya adalah klika ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.). Klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) adalah salah satu tanaman familia Annonaceae yang oleh masyarakat Sulawesi Tenggara secara empiris digunakan untuk mengobati berbagai penyakit degeneratif antara lain antidiabetes dan antiinfeksi. (7)

Antioksidan yang terkandung dalam *M. parviflora* diduga berefek menghambat oksidasi LDL. Telah diuji efek antioksidan ekstrak tidak larut aseton *M. parviflora* terhadap radikal bebas DPPH, pemudaran  $\beta$ -karoten, dan pengikatan radikal NO diperoleh  $IC_{50}$  berturut-turut adalah 63,99 bpj, (8) 56,23 bpj, (9) 229,09 bpj. (10)

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek dari ekstrak etanol dan ekstrak tidak larut aseton klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) dalam menghambat oksidasi kolesterol LDL secara in vitro dengan menggunakan metode diena terkonjugasi.

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat melengkapi informasi tentang tumbuhan, agar terus dikembangkan sebagai tumbuhan yang berkhasiat obat dan menjadi alternatif yang berpotensi baik sebagai antioksidan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Uraian Tanaman *Mezzettia parviflora* Becc.

##### II.1.1 Klasifikasi

Regnum	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Class	: Angiospermae
Subclass	: Dialypetalae
Ordo	: Ranales
Famili	: Annonaceae
Genus	: <i>Mezzettia</i>
Spesies	: <i>Mezzettia parviflora</i> Becc. (11)

##### II.1.2 Nama Daerah

Buton	: Ongkea
Palembang	: Makai
Bangka	: Limang. (12)

##### II.1.3 Morfologi

*Mezzettia* sp. merupakan pohon, tinggi sampai 30 meter dan diameter batang 90 cm, di Sumatera Selatan sering ditemukan di daerah pantai. Batangnya tumbuh tegak lurus, bulat, menghasilkan kayu yang

agak berat tetapi mudah dikerjakan, warna kayu putih kotor, dari kayu tersebut dapat dibuat papan yang digunakan di dalam ruangan. Kulitnya mudah dikupas, tebal, digunakan sebagai dinding rumah. Buahnya dapat menyebabkan pusing dan muntah. (12)

#### **II.1.4 Kandungan Kimia**

Telah dilaporkan bahwa sekitar 75 spesies yang termasuk 50 genus Annonaceae ternyata mengandung alkaloid. Hampir semua alkaloid yang terdapat pada Annonaceae adalah dari kelompok isokuinolin. Annonaceae juga menghasilkan berbagai senyawa non-alkaloid, seperti terpenoid dan flavonoid, disamping minyak atsiri, asam amino, protein, karbohidrat, dan lemak. (13, 7)

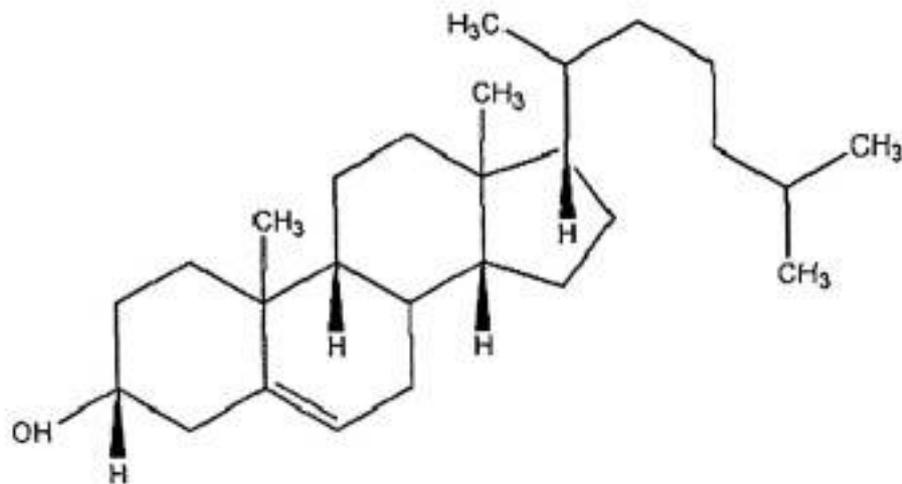
#### **II.1.5 Kegunaan Tanaman**

Ongkea telah digunakan secara turun temurun oleh masyarakat kabupaten Buton sebagai obat diabetes, asma, kolesterol, tekanan darah tinggi, kanker, dan dapat menurunkan berat badan. (14)

### **II.2 Uraian Umum**

#### **II.2.1 Kolesterol**

Kolesterol (bahasa Yunani : *Chole* = empedu ; *Streos* = padat) adalah salah satu diantara jenis-jenis lemak dalam aliran darah dan semua sel tubuh. Kolesterol tersebar luas dalam semua sel tubuh tetapi khususnya dalam jaringan saraf. Kolesterol merupakan lilin lemak yang berwarna kuning, bentuknya lembut dan mirip lilin.



Gambar 1. Struktur Kolesterol. (15)

Kolesterol sangat penting bagi tubuh terutama untuk memproduksi :

1. Hormon seks (yang penting bagi perkembangan dan fungsi organ seksual)
2. Hormon korteks adrenal (sangat penting bagi metabolisme dan keseimbangan garam dalam tubuh).
3. Vitamin D (tanpa vitamin D kita tidak bisa menyerap kalsium untuk tubuh kita).
4. Garam empedu (yang membantu usus menyerap lemak).
5. Membentuk dinding sel dan berbagai jaringan tubuh.

Begitu kolesterol dan trigliserida dicerna, keduanya terikat dalam suatu ikatan yang membawanya ke berbagai tempat yang berbeda diseluruh tubuh. Kolesterol digunakan untuk membangun dinding sel dan membangun hormon. Trigliserida adalah molekul lemak yang menyediakan energi bagi tubuh. Baik kolesterol maupun trigliserida dibawa melalui darah oleh lipoprotein. (15)



Kolesterol dalam darah ditransportasikan sebagai lipoprotein. Lipoprotein adalah suatu kompleks molekul yang merupakan penggabungan lipid dan protein yang beredar dalam darah, berbentuk bola yang bagian dalamnya terdiri dari trigliserida dan kolesterol ester, dikelilingi oleh permukaan yang bersifat polar dan terdiri dari apolipoprotein, ester fosfolipid dan kolesterol bebas. Adanya komponen inilah yang menyebabkan lipoprotein dapat larut dalam plasma.

Lemak dan kolesterol tidak larut dalam cairan darah. Jika lemak dan kolesterol harus larut agar dapat dikirim keseluruh tubuh, perlu dikemas bersama protein menjadi partikel yang disebut lipoprotein. Jadi lipoprotein bisa dianggap sebagai pembawa lemak dan kolesterol didalam darah.

Ada 5 jenis lipoprotein utama yaitu: (16)

#### 1. Kilomikron

Lipoprotein dengan berat molekul terbesar ini lebih dari 80% komponennya terdiri dari trigliserida dan kurang dari 5% kolesterol ester. Kilomikron membawa trigliserida dari makanan ke jaringan lemak dan otot rangka, juga membawa kolesterol makanan ke hati. Trigliserida dan kilomikron akan mengalami hidrolisis oleh lipoprotein lipase (LPL), sehingga lipoprotein ini mengecil.

#### 2. Lipoprotein Densitas Tinggi (HDL, *High Density Lipoprotein*)

HDL merupakan senyawa lipoprotein yang berat jenisnya tinggi. Membawa lemak total rendah, protein tinggi, dan dibuat dari lemak

endogenus di hati. Oleh karena kandungan kolesterol yang lebih rendah dari LDL dan fungsinya sebagai pembuangan kolesterol maka HDL ini sering disebut kolesterol baik. HDL ini digunakan untuk mengangkut kolesterol berlebihan dari seluruh jaringan tubuh untuk dibawa ke hati. Dengan demikian, HDL merupakan lipoprotein pembersih kelebihan kolesterol dalam jaringan. Kalau kadar HDL dalam darah cukup tinggi, terjadinya proses pengendapan lemak pada dinding pembuluh darah pun dapat dicegah. Kolesterol yang diangkut ke hati terutama berupa kolesterol yang akan dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan empedu dan hormon. Kandungan HDL dikatakan rendah jika kurang dari 35 mg pada pria dan kurang dari 42 mg pada wanita.

HDL dalam plasma darah akan mengikat kolesterol bebas maupun ester kolesterol dan mengangkutnya kembali ke hati. Selanjutnya, kolesterol yang terikat akan mengalami perombakan menjadi cadangan kolesterol untuk sintesis VLDL. Tingginya kadar HDL dalam darah akan mempercepat proses pengangkutan kolesterol ke hati, sehingga mengurangi kemungkinan terjadinya penimbunan kolesterol dalam pembuluh darah.

Sebagai kolesterol dalam tubuh diekskresikan dalam bentuk empedu, baik empedu bebas maupun asam empedu. Asam empedu yang disintesis hati dengan bantuan enzim  $7\alpha$ -hidroksilase, akan diekskresikan dalam usus, diserap kembali oleh hati melalui sirkulasi portal. Sebagian

kecil empedu yang tidak diserap kembali akan dikeluarkan dari tubuh bersama feses.

### 3. Lipoprotein Densitas Sedang (IDL, *Intermediate Density Lipoprotein*)

IDL adalah zat perantara yang terjadi sewaktu VLDL dikatabolisme menjadi LDL.

### 4. Lipoprotein Densitas Rendah (LDL, *Low Density Lipoprotein*)

LDL merupakan senyawa lipoprotein yang berat jenisnya rendah. Lipoprotein ini membawa lemak dan mengandung kolesterol yang sangat tinggi, dibuat dari lemak endogenus dihati. LDL ini diperlukan tubuh untuk mengangkut kolesterol dari hati ke seluruh tubuh. LDL berinteraksi dengan reseptor pada membran sel membentuk kompleks LDL-reseptor. Kompleks LDL-reseptor masuk ke dalam sel melalui proses yang khas, yaitu dengan pengangkutan aktif atau dengan endositosis.

LDL merupakan kolesterol jahat karena memiliki sifat aterogenik (mudah melekat pada dinding sebelah dalam pembuluh darah dan mengurangi pembentukan reseptor LDL). Hal ini akan menyebabkan terjadinya kenaikan kadar kolesterol LDL. Kelebihan kolesterol dalam pembuluh darah akan dikembalikan oleh HDL ke hati dan mengeluarkannya bersama empedu.

### 5. Lipoprotein Densitas Sangat Rendah (VLDL, *Very Low-Density Lipoprotein*)

VLDL merupakan senyawa lipoprotein yang berat jenisnya sangat rendah. Jenis ini memiliki kandungan lipid tinggi kira-kira 20% kolesterol

terbuat dari lemak endogenus di hati. Di dalam tubuh senyawa ini difungsikan sebagai pengangkut trigliserida dari hati ke seluruh tubuh. Sisa kolesterol yang tidak diekskresikan dalam empedu akan bersatu dengan VLDL sehingga menjadi LDL. Dengan bantuan enzim lipoprotein lipase, VLDL diubah menjadi IDL selanjutnya menjadi LDL.

Lipid darah diangkut dengan 2 cara:

#### 1. Jalur Eksogen

Trigliserida dan kolesterol yang berasal dari makanan dalam usus dikemas sebagai kilomikron. Kilomikron ini akan diangkut dalam saluran limfe lalu ke dalam darah via duktus torasikus. Di dalam jaringan lemak, trigliserida dalam kilomikron mengalami hidrolisis oleh lipoprotein lipase yang terdapat pada permukaan sel endotel. Akibat hidrolisis ini maka akan terbentuk asam lemak dan kilomikron remnan. Asam lemak bebas akan menembus endotel dan masuk ke dalam jaringan lemak atau sel otot untuk diubah menjadi trigliserida kembali (cadangan) atau dioksidasi (energi).

Kilomikron remnan adalah kilomikron yang telah dihilangkan sebagian besar trigliseridanya sehingga ukurannya mengecil tetapi jumlah kolesterolnya tetap. Kilomikron remnan ini akan dibersihkan oleh hati dalam sirkulasi dengan mekanisme endositosis oleh lisosom. Hasil metabolisme ini berupa kolesterol bebas yang akan digunakan untuk sintesis berbagai struktur (membran plasma, mielin, hormon steroid dsb.), disimpan dalam hati sebagai kolesterol ester lagi atau diekskresi ke dalam

empedu (sebagai kolesterol atau asam empedu) atau diubah menjadi lipoprotein endogen yang dikeluarkan ke dalam plasma. Kolesterol juga dapat disintesis dari asetat di bawah pengaruh enzim HMG-CoA reduktase yang menjadi aktif jika terdapat kekurangan kolesterol endogen. Asupan kolesterol dari darah juga diatur oleh jumlah reseptor LDL yang terdapat pada permukaan sel hati. (17)

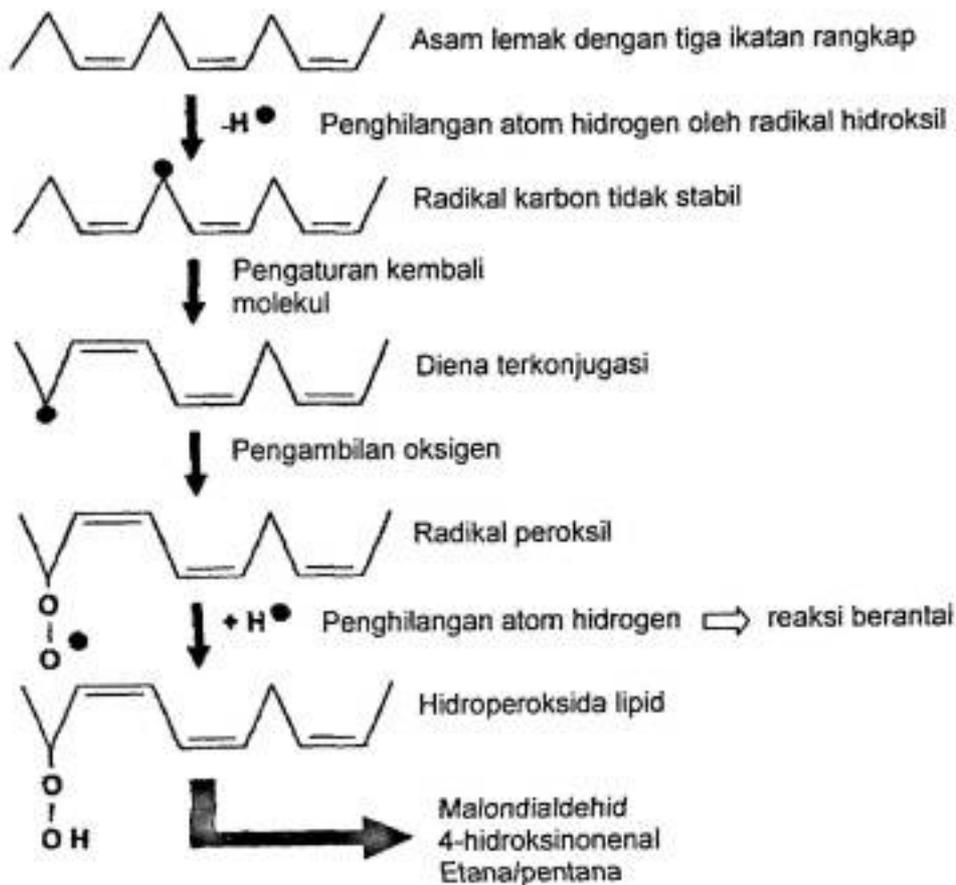
## 2. Jalur Endogen

Trigliserida dan kolesterol yang disintesis oleh hati diangkut secara endogen dalam bentuk VLDL kaya trigliserida dan mengalami hidrolisis dalam sirkulasi oleh lipoprotein lipase yang juga menghidrolisis kilomikron menjadi partikel lipoprotein yang lebih kecil yaitu IDL dan LDL. LDL merupakan lipoprotein yang mengandung kolesterol paling banyak (60-70%). LDL mengalami katabolisme melalui reseptor seperti di atas dan jalur non reseptor. Jalus katabolisme reseptor dapat ditekan oleh produksi kolesterol endogen. HDL berasal dari hati dan usus sewaktu terjadi hidrolisis kilomikron dibawah pengaruh enzim *lecithin: cholesterol acyltransferase* (LCAT). Ester kolesterol ini akan mengalami perpindahan dari HDL kepada VLDL atau IDL sehingga dengan demikian terjadi kebalikan arah transpot kolesterol dari perifer menuju ke hati untuk dikatabolisme. Aktivitas ini mungkin berperan sebagai sifat aterogenik. (17)

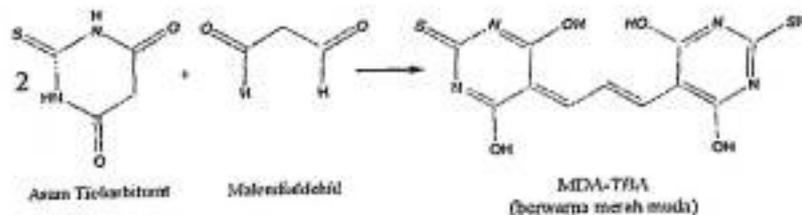
## II.2.2 Mekanisme Oksidasi LDL

Oksidasi LDL oleh radikal bebas adalah reaksi awal yang bertanggung jawab dalam dalam reaksi rantai peroksidasi. Peroksidasi lipid diawali dengan radikal bebas yang menyerang ikatan ganda yang terhubung dengan asam lemak tidak jenuh. Hasilnya menghilangkan atom hidrogen dari gugus metilen ( $-\text{CH}_2-$ ), tahap awal ini merupakan tahap kunci. Penyusunan kembali molekul karbon-karbon radikal yang tidak stabil menjadi konfigurasi yang lebih stabil (diena terkonjugasi). Diena terkonjugasi bereaksi cepat dengan molekul oksigen dan radikal peroksida yang dihasilkan. Asam lemak tidak jenuh radikal peroksida dapat menghilangkan atom hidrogen dari asam lemak tidak jenuh membentuk hidroperoksida dan lemak radikal lainnya, reaksi ini merupakan reaksi propagasi. Penghilangan atom hidrogen oleh radikal peroksida dari asam lemak lainnya termasuk kolesterol biasanya oksisterol. Lipid hidroperoksida menjadi rantai aldehida yang lebih pendek termasuk malondialdehida dan 4-hidroksinonenal. (18)

Malondialdehid (MDA) adalah senyawa dialdehida yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid dalam tubuh. Senyawa yang memiliki tiga rantai karbon, dengan rumus molekul  $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$  MDA juga merupakan produk dekomposisi dari asam amino, karbohidrat kompleks, pentosa dan heksosa. Selain itu, MDA juga merupakan produk yang dihasilkan oleh radikal bebas melalui reaksi ionisasi dalam tubuh dan merupakan produk akhir oksidasi lipid membran. (19)



Gambar 2. Reaksi Dasar Peroksidasi Lipid (18)



Gambar 3. Reaksi Pembentukan Kromogen MDA-TBA (19))

Aldehida reaktif ini dapat mengikat gugus amino dari apoB-100 memberikan protein yang meningkatkan muatan negatif. Reseptor LDL mengenali muatan positif dari lisin, histidin dan arginin pada apoB-100. Penanganan hal ini menyebabkan kegagalan pengikatan reseptor apo B / E dan meningkatkan permukaan muatan negatif pada apoB-100 menyebabkan tingginya pengenalan oleh reseptor scavenger.

Dengan adanya antioksidan pada fase pemutusan rantai seperti  $\alpha$ -tokoferol, radikal peroksida dapat ditangkap. Radikal tokoferol yang dihasilkan mempunyai reaktifitas yang lemah dan dapat menjadi terminasi rantai. LDL yang terpapar stres oksidatif secara in vitro tidak akan menghasilkan hidroperoksida dengan adanya antioksidan. Studi in vitro oksidasi LDL telah membuktikan existensi dari "fase lag", sementara oksidasi LDL tidak terdeteksi merujuk pada fase propagasi setelah antioksidan endogen dikonsumsi. (18)

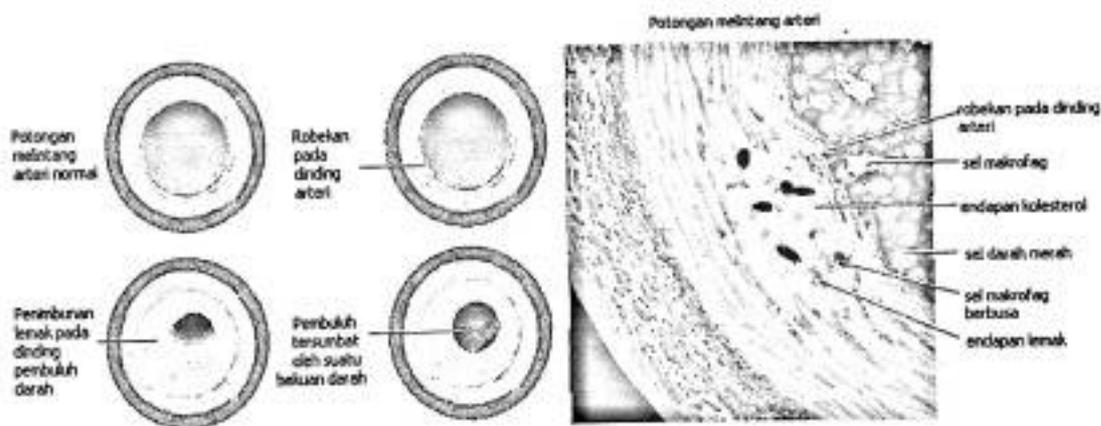
### II.2.3 Aterosklerosis

Istilah aterosklerosis berasal dari bahasa Yunani, yang berarti penebalan tunika intima arteri (*sclerosis*, penebalan) dan penimbunan lipid (*athere*, pasta) yang mencirikan lesi yang khas. Aterosklerosis menyebabkan penimbunan lipid dan jaringan fibrosa dalam arteri koronaria sehingga secara progresif mempersempit lumen pembuluh darah. Bila lumen menyempit maka resistensi terhadap aliran darah akan meningkat dan membahayakan aliran darah miokardium. Bila penyakit ini semakin lanjut, maka penyempitan lumen akan diikuti perubahan pembuluh darah yang mengurangi kemampuan pembuluh untuk melebar. Dengan demikian keseimbangan antara penyediaan dan kebutuhan oksigen menjadi tidak stabil sehingga membahayakan miokardium yang terletak disebelah distal dari daerah lesi. (1)

Setelah terjadi luka pada lapisan endothelium pembuluh darah, monosit (salah satu jenis sel darah putih) dan juga leukosit (sel darah

putih) akan melekat pada bagian yang terluka tersebut. Selanjutnya monosit tersebut bermigrasi menembus lapisan endothelium menuju lapisan intima dan disana berubah menjadi makrofag. Proses ini berjalan terus hingga makrofag menjadi sel busa atau (*foam cell*). Dengan semakin banyaknya sel busa yang terbentuk, maka akan diikuti oleh lapisan lemak (*fatty streak*) dibawah lapisan endothelium. Akhirnya lapisan lemak (*fatty streak*) tersebut merusak lapisan endothelium yang berada di atasnya. Hal ini menyebabkan luka yang lebih besar pada lapisan endothelium. Luka yang baru ini selanjutnya mengulangi proses melekatnya monosit dan seterusnya. Hingga terbentuknya plak yang mempersempit penampang pembuluh darah. Hal ini selanjutnya akan menimbulkan akibat yang fatal.

(20)



Gambar 4. Aterosklerosis. (21)

## II.3 Antioksidan

### II.3.1 Pengertian

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (electron donor) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu

menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat.

Berkaitan dengan reaksi oksidasi di dalam tubuh, status antioksidan merupakan parameter penting untuk memantau kesehatan seseorang. Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara kontinu dibentuk sendiri oleh tubuh. Bila jumlah senyawa oksigen reaktif (ROS) melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh, kelebihanannya akan menyerang komponen lipid, protein, maupun DNA sehingga mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut stress oksidatif. (19)

### **II.3.2 Mekanisme Kerja Antioksidan**

Antioksidan digolongkan menjadi tiga berdasarkan kerja dalam mencegah proses oksidasi yaitu: (22)

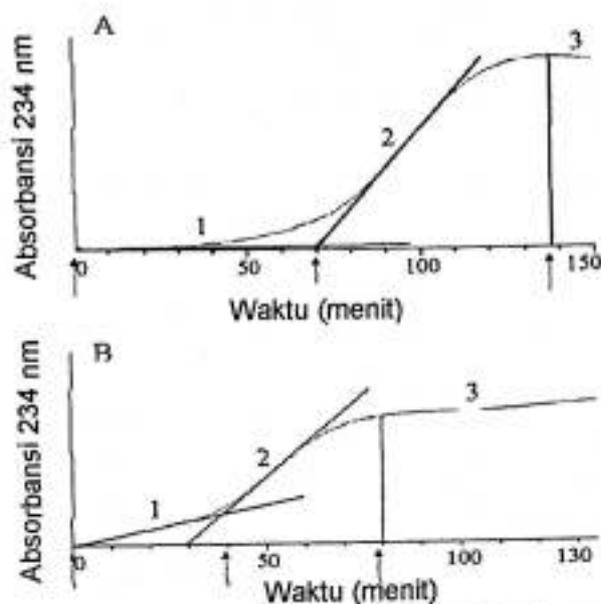
1. Antioksidan gugus fenol dan aminaromatik yang bereaksi dengan radikal bebas dari sistem membentuk produk substrat non radikal antioksidan
2. Antioksidan yang dapat menghilangkan molekul-molekul hidoksida dan substrat tetapi tanpa melibatkan radikal bebass
3. Antioksidan yang dapat menginaktikan logam untuk mempercepat reaksi oksidasi

#### II.4 Pengamatan Oksidasi Kolesterol LDL dengan Metode Diena Terkonjugasi

Metode diena terkonjugasi merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas penghambatan oksidasi LDL berdasarkan inisiasi logam  $\text{Cu}^{2+}$  pada panjang gelombang 234 nm. Metode ini tidak mengukur keberadaan produk oksidasi lipoprotein, tetapi memberikan ukuran dari kerentanan intrinsik (waktu lag) dari lipoprotein yang akan teroksidasi. Kinetika oksidasi dapat menggambarkan tiga fase pada proses oksidasi, yaitu fase lag, fase propagasi, dan fase dekomposisi. Fase lag merupakan fase sebelum atau mulai terjadinya oksidasi diukur dari mulai penambahan  $\text{CuSO}_4$  dengan titik perpotongan tangen fase propagasi yang diekstrapolasikan terhadap waktu, fase lag dinyatakan dalam menit.

Dengan adanya radikal peroksil yang mampu mengambil atom H dari molekul lemak tidak jenuh lain yang berdekatan, khususnya jika terdapat logam seperti tembaga atau besi, menyebabkan reaksi berantai autokatalisis. Radikal peroksil bersama atom H akan membentuk hidroperoksida lemak. Reaksi ini sebagai karakteristik dari tahapan propagasi.

Dekomposisi atau berakhirnya pembentukan hidroperoksida terjadi dengan bereaksinya radikal peroksil dengan antioksidan penangkap radikal sebagai molekul yang menghentikan rantai reaksi pembentukan peroksida lemak. (21)



Gambar 5. Kurva pengukuran oksidasi LDL (A) dan HDL (B) dengan metode diena terkonjugasi pada panjang gelombang 234 nm. 1, fase lag; 2, fase propagasi; 3, fase dekomposisi. (21)

## II.5 Metode Ekstraksi Bahan Alam

### II.5.1 Pengertian Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan mengesktraksi simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok diluar pengaruh cahaya matahari langsung, (23) kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. (24)

### II.5.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian komponen kimia atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis hewan termasuk biota laut. Komponen kimia yang terdapat pada tanaman, hewan dan beberapa jenis ikan pada umumnya mengandung senyawa-senyawa yang mudah

larut dalam pelarut organik. Pelarut organik yang paling umum digunakan untuk mengekstraksikan komponen kimia dari sel tanaman adalah metanol, etanol, kloroform, heksan, eter, aseton, benzen dan etil asetat.

Proses pengekstraksian komponen kimia dalam sel tanaman adalah pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel. (24)

### **II.5.3 Tujuan Ekstraksi**

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan dan biota laut dengan pelarut organik tertentu. Proses ekstraksi ini berdasarkan pada kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat ini akan larut kedalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan antara konsentrasi di dalam dan diluar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif keluar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan diluar sel. (24, 25)

### **II.5.4 Jenis-Jenis Ekstraksi**

Proses ekstraksi dapat dilakukan dengan secara panas dan secara dingin. Ekstraksi secara panas yaitu dengan metode refluks dan destilasi

uap air, sedangkan ekstraksi secara dingin yaitu dengan maserasi, perkolasi dan soxhletasi. (24)

### **II.5.5 Ekstraksi Secara Maserasi**

Metode maserasi merupakan cara penyaringan yang sederhana, yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur yang terlindung oleh cahaya. Keuntungan cara penyaringan dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah didapat. Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia atau dengan campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok kedalam sebuah bejana, dituangi dengan 75 bagian penyari, dan ditutup, serta dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya sambil sekali-kali diaduk, diserkai dan peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya sampai diperoleh 100 bagian. Pindahkan kedalam bejana tertutup, biarkan di tempat sejuk dan terlindung dari cahaya selama 2 hari. (24)

### **II.6 Spektrofotometer UV-VIS**

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat untuk mengukur transmitans dan serapan suatu contoh sebagai fungsi panjang gelombang. Pengukuran terhadap suatu deretan contoh pada suatu panjang gelombang tunggal mungkin juga dapat dilakukan. (25)



### II.6.1 Prinsip Dasar

Apabila radiasi elektromagnetik pada daerah ultraviolet dan sinar tampak melalui senyawa yang memiliki ikatan-ikatan rangkap, sebagian dari radiasi biasanya diserap oleh senyawa. Jumlah radiasi yang diserap tergantung pada panjang gelombang radiasi dan struktur senyawa. Penyerapan sinar radiasi disebabkan oleh pengurangan energi dari sinar radiasi pada saat elektron-elektron dalam orbital berenergi rendah tereksitasi ke orbital berenergi tinggi. (26)

Hubungan antara kadar dengan intensitas sinar yang diserap oleh contoh yang dianalisis dinyatakan oleh hukum Lambert-Beer :

$$\text{Log} \frac{I_0}{I} = A = a \cdot b \cdot c$$

Dimana :  $I_0$  = intensitas sinar sebelum melewati contoh

$I$  = intensitas sinar setelah melewati contoh

$A$  = absorban

$a$  = absorpsivitas molekul

$b$  = ketebalan kuvet

$c$  = konsentrasi larutan

Oleh karena  $a$  dan  $b$  nilainya tetap, maka  $A$  berbanding lurus dengan  $C$ . Dalam penurunan hukum ini dianggap bahwa: (1) radiasi yang masuk adalah monokromatik, (2) spesies penyerap berkelakuan tidak tergantung satu sama lain dalam proses penyerapan, (3) penyerapan terjadi dalam volume yang mempunyai luas penampang yang sama, (4)

dengan radiasi tenaga adalah cepat, dan (5) indeks bias tak tergantung pada konsentrasi (tidak berlaku pada konsentrasi yang tinggi). (26)

### **II.6.2 Serapan Oleh Senyawa**

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet dan terlihat tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Spektra UV dan Visibel dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik. Oleh karena itu, serapan radiasi ultraviolet/visibel sering dikenal sebagai spektrokopi elektronik. Transisi-transisi biasanya antara orbital ikatan atau orbital pasangan bebas dan orbital non ikatan tak jenuh atau orbital anti ikatan. Panjang gelombang serapan merupakan ukuran dari pemisahan tingkatan-tingkatan tenaga dari orbital-orbital yang bersangkutan. (28)

### **II.6.3 Peralatan Spektrofotometer**

Komponen-komponen pokok dari spektrofotometer meliputi :

#### **1. Sumber Tenaga Radiasi**

Sumber radiasi yang ideal untuk pengukuran serapan harus menghasilkan spektrum kontinyu dengan intensitas yang seragam pada keseluruhan kisaran panjang gelombang yang sedang diamati. Sumber-sumber radiasi UV yang kebanyakan digunakan adalah hidrogen atau lampu deuterium. Terdiri dari sepasang elektroda yang terselebung dalam tabung gelas dan diisi dengan hidrogen atau deuterium pada tekanan

yang rendah dengan panjang gelombang 180-350 nm dan digunakan juga lampu xenon, tetapi lampu xenon tidak seestabil lampu hidrogen.

## 2. Monokromator

Dalam spektrofotometer, radiasi polikromatik diubah menjadi monokromatik. Ada dua jenis alat yang digunakan yaitu penyaring dan monokromator. Monokromator merupakan serangkaian alat optik yang menguraikan reaksi polikromatik menjadi jalur-jalur yang efektif atau panjang gelombang tunggal.

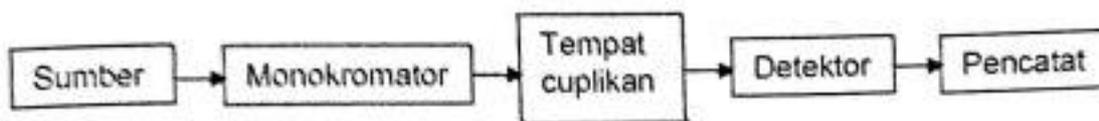
## 3. Tempat Cuplikan

Larutan ditempatkan dalam sel atau kuvet. Untuk daerah visibel digunakan gelas biasa atau quartz. Sel untuk larutan mempunyai panjang 1-10 cm. Sebelum sel dipakai, harus dibersihkan dengan air atau jika dikehendaki dapat dicuci dengan larutan deterjen atau asam sitrat panas.

## 4. Detektor dan Pencatat

Detektor menyerap tenaga foton yang mengenai cuplikan dan merubah tenaga tersebut untuk diukur secara kuantitatif seperti sebagai arus listrik atau perubahan-perubahan panas.

Kebanyakan detektor menghasilkan sinyal listrik yang dapat mengaktifkan meter atau pencatat. Persyaratan-persyaratan penting untuk detektor meliputi: (1) sensitivitas tinggi hingga dapat mendeteksi tenaga cahaya yang mempunyai tingkatan rendah sekalipun, (2) waktu respon yang pendek, (3) stabilitas yang panjang/lama untuk menjamin respon secara kuantitatif, dan (4) sinyal elektronik yang mudah diperjelas. (27)



Gambar 6. Diagram Sederhana Spektrofotometer (26)

## II.7 Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka dan permasalahan yang ada, maka hipotesis yang dikemukakan adalah ekstrak klika onkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) memiliki aktivitas penghambatan oksidasi kolesterol LDL.

### BAB III

## PELAKSANAAN PENELITIAN

### III.1 Alat dan Bahan yang digunakan

Alat-alat yang digunakan adalah gelas ukur (Pyrex®), labu tentukur 5 ml dan 10 ml (Iwaki®), mikropipet (biohit), spektrofotometer Uv-Vis (Hewlett Packard), timbangan analitik (Sartorius), inkubator (Mettler).

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.), LDL precipitant (Diasys), phosphate-buffered saline pH 7.4, etanol 70%, DMSO, CuSO<sub>4</sub> (E merck®), Aseton (E merck®), air suling.

### III.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

#### III.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel klika ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) diambil dari kabupaten Buton, Sulawesi Tenggara.

#### III.2.2 Pengolahan Sampel

Sampel klika ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) dicuci bersih kemudian dipotong-potong kecil, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada tempat yang tidak terkena cahaya matahari langsung, lalu diserbukkan dengan alat penghalus sampel.

### III.3 Ekstraksi

Sebanyak 1500 gram sampel yang telah diserbukkan dimasukkan kedalam wadah maserasi lalu ditambahkan etanol 70% hingga seluruh sampel terendam. Wadah lalu ditutup rapat dan dibiarkan selama 1 hari sambil dilakukan pengadukan beberapa kali. Campuran kemudian disaring dan ampasnya ditambah lagi dengan pelarut etanol 70 %. Proses penyarian selanjutnya dilakukan sebanyak 4 kali. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan pelarutnya diuapkan hingga diperoleh ekstrak etanol kering. Selanjutnya sebanyak 2 gram ekstrak etanol kering dipartisi padat cair dengan aseton hingga didapatkan ekstrak larut aseton dan ekstrak tidak larut aseton.

### III.4 Prosedur Uji Penghambatan Oksidasi LDL

#### 1. Penyiapan Larutan Stok Sampel

Dibuat larutan stok sampel dengan cara menimbang 10 mg ekstrak kemudian ditambahkan 50  $\mu$ l DMSO, campuran diaduk dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 ml. Volume larutan dicukupkan dengan PBS hingga 10 ml

#### 2. Pembuatan Phospate-buffered saline pH 7.4 (30)

Larutan buffer fosfat dibuat dengan melarutkan 8 gram NaCl, 0.2 gram KCl, 1.44 gram  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dalam 800 mL aquades. Di atur pH dengan HCl hingga pH 7.4 kemudian dicukupkan volumenya hingga 1000 ml.

### 3. Pembuatan Larutan $\text{CuSO}_4$ 1 mM. (30)

Larutan  $\text{CuSO}_4$  dibuat dengan melarutkan 16 mg  $\text{CuSO}_4$  ke dalam air suling dan dicukupkan volumenya hingga 10 ml.

### 4. Pengukuran Aktivitas Penghambatan Oksidasi Kolesterol LDL dengan Metode Dena Terkonjugasi

Aktivitas penghambatan oksidasi LDL diukur berdasarkan penghambatan terbentuknya produk oksidasi lipid LDL yaitu dena terkonjugasi pada  $\lambda$  234 nm. LDL precipitant dipipet sebanyak 500  $\mu\text{l}$  lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 ml selanjutnya ditambahkan larutan stok 250  $\mu\text{l}$  dan PBS 4 ml. Oksidasi diinisiasi dengan penambahan  $\text{CuSO}_4$  sebanyak 50  $\mu\text{l}$  ke dalam labu tentukur dan volume dicukupkan hingga batas tanda dengan PBS. Campuran diinkubasi pada suhu 37° C. Absorbansi larutan diukur pada interval waktu 10 menit selama 360 menit menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

### III.5 Analisis Data

Data dikumpulkan dari pengukuran serapan untuk masing-masing ekstrak. Besarnya persen penghambatan peroksidasi lipid dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Persen penghambatan peroksidasi lipid} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV.1 Hasil Penelitian

Tabel 1. Persentase Penghambatan Oksidasi LDL oleh ekstrak etanol dan ekstrak tidak larut aseton klika ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)

Waktu (menit)	Persentase penghambatan oksidasi LDL oleh:	
	Ekstrak etanol (%)	Ekstrak tidak larut aseton (%)
5	0	0
30	8,08	13,95
60	10,47	18,70
120	18,65	36,35
180	20,95	45,48
240	18,20	48,55
300	17,02	50,66
360	18,11	53,26

#### IV.2 Pembahasan

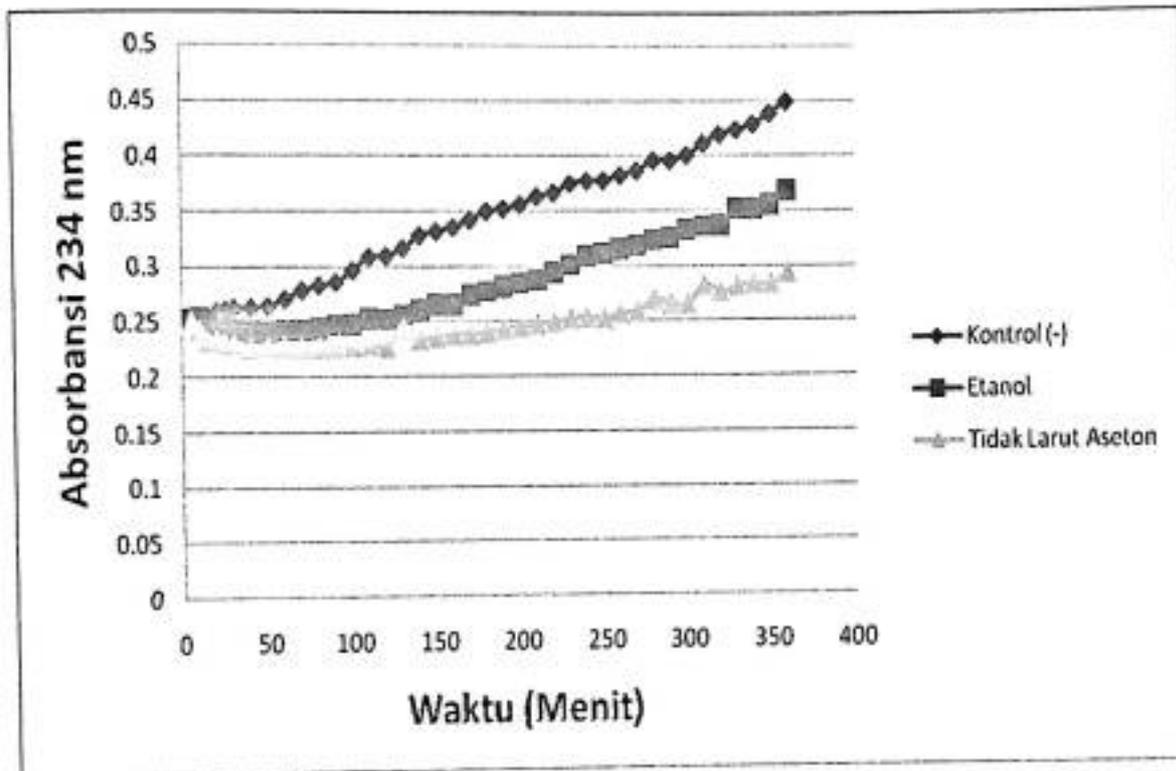
Pengujian Aktivitas penghambatan oksidasi LDL pada penelitian ini dilakukan terhadap ekstrak klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.). Sampel kulit kayu yang telah kering digiling dengan tujuan agar luas permukaan menjadi lebih besar sehingga lebih banyak senyawa yang dapat ditarik keluar sel. Sampel yang telah halus kemudian dimaserasi dengan menggunakan cairan penyari etanol 70%. Etanol 70 % dipergunakan sebagai pelarut karena senyawa yang ingin diekstraksi merupakan senyawa polar, seperti yang telah dilaporkan pada penelitian sebelumnya. Ekstrak etanol kering lalu dipartisi menggunakan pelarut

aseton untuk memisahkan senyawa yang non polar yang masih terdapat di dalam ekstrak etanol 70%. Ekstrak larut aseton tidak dilanjutkan ke uji selanjutnya karena tidak memiliki daya antiradikal bebas yang diinginkan.(8, 9, 10, 14) Profil KLT ekstrak etanol, ekstrak aseton dan ekstrak tidak larut aseton dapat dilihat pada Lampiran 3.

Oksidasi LDL dapat dibagi menjadi tiga fase yaitu fase lag, fase propagasi, dan fase dekomposisi. Fase lag merupakan fase awal yaitu fase interval antara penambahan  $\text{CuSO}_4$  dengan saat terjadinya proses oksidasi lipid-LDL yang sangat cepat. Pada awal penambahan  $\text{CuSO}_4$  reaksi oksidasi lipid berjalan lambat karena di dalam LDL masih terdapat antioksidan endogen-LDL misalnya tokoferol dan beta-karoten yang akan melindungi lipid dari serangan radikal bebas. Namun menjelang berakhirnya fase lag antioksidan alami ini semakin berkurang sehingga produk peroksidasi lipid semakin meningkat yang ditunjukkan oleh peningkatan absorbansi diena terkonjugasi yang tajam pada fase propagasi. Sedangkan pada fase dekomposisi terjadi penurunan absorbansi secara perlahan karena diena akan mengalami reaksi peroksidasi lipid lebih lanjut.

Uji aktivitas penghambatan oksidasi LDL pada penelitian ini dilakukan dengan memonitoring penghambatan pembentukan diena terkonjugasi pada LDL yang diinduksi oksidasinya oleh  $\text{CuSO}_4$  pada perlakuan dengan ekstrak dibandingkan dengan kontrol negatif. Berikut ini

adalah grafik hubungan antara waktu (menit) dengan absorbansi diena terkonjugasi pada 234 nm:



Gambar 7. Grafik Aktivitas penghambatan ekstrak etanol dan ekstrak tidak larut aseton (*Mezzettia parviflora* Becc.) terhadap peroksidasi LDL yang di induksi dengan ion  $\text{Cu}^{2+}$  yang dimonitor berdasarkan pembentukan diena terkonjugasi.

Grafik di atas memperlihatkan bahwa absorbansi dengan cepat meningkat pada kontrol negatif dibandingkan dengan perlakuan dengan ekstrak etanol maupun ekstrak tidak larut aseton. Hal ini berarti bahwa level diena terkonjugasi yang merupakan produk reaksi oksidasi bagian asam lemak tidak jenuh pada LDL lebih tinggi pada kontrol negatif dibandingkan dengan kedua ekstrak yang diuji.

Namun penentuan fase lag sulit dilakukan karena absorbansi telah meningkat pada menit kelima khususnya pada kontrol negatif. Selain itu pada semua perlakuan tidak menunjukkan peningkatan absorbansi yang

tajam (fase propagasi). Kedua hal ini menyulitkan dalam penentuan fase lag karena fase lag hanya dapat ditentukan jika fase inisiasi oksidasi berjalan perlahan dari waktu ke waktu dan fase propagasi nampak jelas.

Tidak jelasnya fase inisiasi dapat disebabkan oleh kandungan antioksidan-endogen di dalam LDL sangat rendah sehingga reaksi oksidasi lipid segera terjadi pada saat penambahan logam  $\text{Cu}^{2+}$ , atau jika LDL mengandung lipid tidak jenuh dalam jumlah yang kecil sehingga fase lag akan sangat singkat sehingga sulit terdeteksi. (30) Sedangkan terhambatnya fase propagasi dan tidak teramatinya fase stasioner-dekomposisi bahkan sampai pengamatan selama 6 jam diduga disebabkan oleh terdapatnya bahan penstabil di dalam larutan LDL-terpresipitasi yang digunakan yang sengaja ditambahkan oleh produsen pada saat isolasi LDL. Namun semua dugaan ini membutuhkan konfirmasi lebih lanjut.

Berdasarkan uraian di atas maka aktivitas besarnya penghambatan LDL ditentukan berdasarkan persentase penghambatan oksidasi ekstrak dibandingkan dengan kontrol negatif pada menit-menit tertentu. Hasil perhitungan persentase penghambatan oksidasi-LDL dapat dilihat pada Tabel 1 yang menunjukkan bahwa suplementasi ekstrak etanol dan tidak larut aseton akan menekan reaksi oksidasi LDL masing-masing sebesar 18,11% dan 53,26%. Ekstrak tidak larut aseton mampu menghambat oksidasi LDL lebih baik dibandingkan ekstrak etanol klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.). Kemampuan sebagai antioksidan LDL diduga

disebabkan oleh senyawa kimia polar khususnya polifenol yang lebih terkonsentrasi di dalam ekstrak tidak larut aseton dibandingkan dengan ekstrak etanol. (8)

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### V.1 Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tidak larut aseton mampu menghambat oksidasi LDL lebih baik dibandingkan ekstrak etanol klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)

#### V. 2 Saran

Sebaiknya dilakukan penelitian uji lanjutan terhadap fraksi dan isolat ekstrak tidak larut aseton klika Ongkea ( *Mezzettia parviflora* Becc).

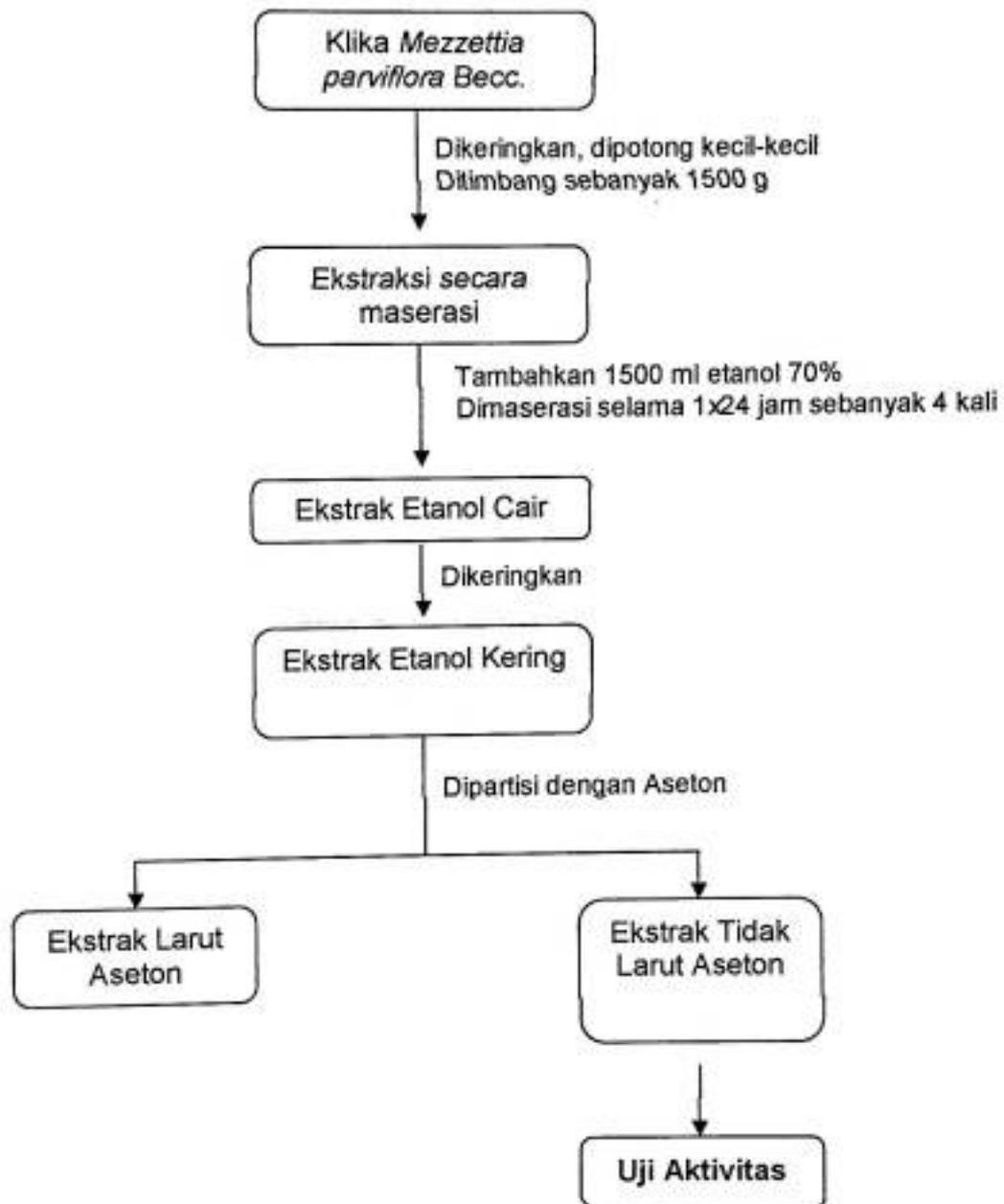
## DAFTAR PUSTAKA

1. Price SA, Wilson LM.. *Patofisiologi, Konsep Kimia Klinis Proses-proses Penyakit*. Terjemahan oleh Pendit UB. Hartanto H. Wulandari P. Dan Mahanani DA Jakarta;EGC penerbit Buku kedokteran. 2004.
2. World Health Organization. *Cardiovaskular Disease*. [serial on the internet] 16 april 2008 [dikutip 16 juni 2009]; Available from: [http://www.who.int/cardiovascular\\_diseases/en/](http://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/).
3. Mutschler E. Geisslinger G.Kroemer HK. Schaefer-Korting M. *Mutschler Arzneimittelwirkungen, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*. 8 Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart. 2002.
4. Murray RK. Granner DK. Victor. Rodwell VW. *Harper's Illustrated Biochemistry*. Ed. 27. The McGraw-Hill Companies. USA. 2006. pp. 667-690.
5. Macdonald-Wicks I. Garg M. *Oxidized LDL and Antioxidants in Atherosclerosis* edited by Cheema SK. Springer. New York. 2006. pp. 519-541
6. Trilaksana W. *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*. Makalah disajikan dalam Situs Internet Graduate Program S3. Institut Pertanian Bogor. Posted 11 Juni 2003
7. Hakim, E.H. Profil Kimia Annonaceae, *Bull Soc. Nat. Prod. Chem*, Vol. 1 No. 1, Januari-Juni 2001'
8. Mufidah. Tayeb R. Manggau M. Alam G. *Scavenging Activity Potency of Ongkea (Mezzettia parviflora Free Radical Becc.) woodbark*. International Symposium, Biology, Chemistry, Pharmacology and Clinical Studies of Asian Plants. 2007
9. Samad, N.R. Uji Efek Antioksidan Ekstrak Klika Ongkea (*Mezzettia parviflora Becc.*) dengan metode pemudaran  $\beta$ -karoten. *Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin*. Makassar. 2010
10. Husain, F. Uji Aktifitas pengikatan Radikal Bebas Nitrit Oksida Ekstrak Aseton Klika Ongkea (*Mezzettia parviflora Becc.*) Secara In Vitro. *Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin*. Makassar. 2010

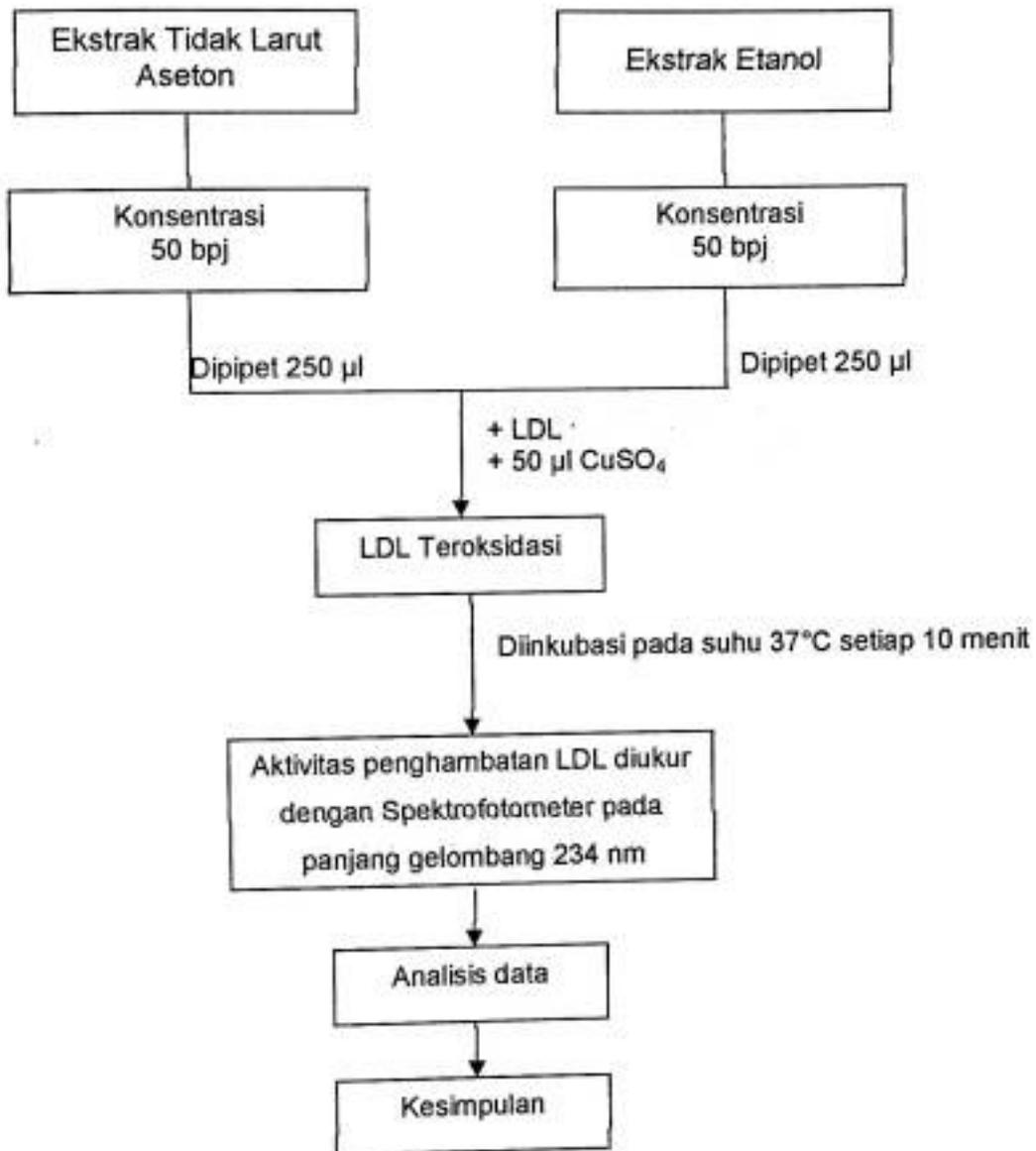
11. Keng, H. 1978. *Order and Families of Malayan Seed Plants*. Singapore University Press. Singapore
12. Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid II. Cetakan ke-1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Jakarta. 771
13. Cui. B., Chai. H., Santisuk. T., Reutrakul. V., Fransworth. N. R, Pezzuto. J.M. Lunghorn. A. D. 1998. Novel Cytotoxic Acetylated Oligorhamnosida From *Mezzettia parviflora*. *Journal of Natural Product*. 61 (12). Pp 1535-1538
14. Abdul, Rahman. Fraksinasi dan Uji Aktivitas Anti Radikal Bebas Ekstrak Aktif Klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) Secara In Vitro. *Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin*. Makassar. 2008. hal. 5-6
15. Tan HT, dan Rahardja K. *Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan, dan Efek Sampingnya*. Edisi IV. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 2002. Hal. 420-421.
16. Muchtadi, D. *Metabolisme Zat Gizi: Sumber, Fungsi, dan Kebutuhan Bagi Tubuh Manusia*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan. 1993.
17. Mayes PA. *Harper Biokimia*. Ed 20 EGC. Jakarta. 1987. Hal. 216-230.
18. Young, I.S. and McEneny J. Lipoprotein Oxidation and Atherosclerosis. *Biochemical Society Transactions* (2001), Volume 29, part 2.
19. Winarsi, Hery. *Antioksidan alami dan Radikal Bebas; Potensi dan Aplikasinya Dalam Kesehatan*. Kanisius: Yogyakarta. 2002
20. Muchtadi, Deddy. *Gizi Anti Penuaan Dini*. Penerbit Alfabeta. Bandung. 2008. Hal. 76
21. Ming L. *LDL Oxidation and LDL Particle Size in the Development of Atherosclerosis*. University Press. Helsinki. 2002
22. Percival, Mark. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights, Advanced Nutrition Publications, Inc.*, NUT031 1/96, Rev. 10/98
23. Departemen Kesehatan RI. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen kesehatan RI. Jakarta. 1995. Hal. 7

24. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 1986
25. Harborne JB. 1984. *Metode Fitokimia*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. 1987. Bandung: Penerbit ITB
26. Day. Jr.R.A and Underwood. A.L terjemahan oleh R. Soendoro. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Edisi kelima. Erlangga. Jakarta. 1989. Hal. 383-417
27. Harmita. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Departemen Farmasi FMIPA. Universitas Indonesia. 2006. Hal. 129
28. Sastroamidjojo H. *Spektroskopi*. Penerbit Liberty. Yogyakarta. 1985. hal.11-15
29. Roth, JH. *Analisis Farmasi*. Terjemahan oleh kisman dan Ibrahim S. Gadjah madha University Press. Yogyakarta. 1994.
30. Young, B.R. Low Density Lipoprotein Antioxidant Flavonoid from Roots of *Sophora Flavescens*. *Biol. Pham. Bull.* 2008. 31(11) 2097-2102

**Lampiran 1**  
**Skema kerja pengolahan sampel klica ongeka**  
**(*Mezzettia parviflora* Becc.)**



**Lampiran 2**  
**Skema Kerja Aktivitas Penghambatan Oksidasi LDL Ekstrak Klika**  
**Ongkea (*Mezettia parviflora* Becc.)**



## Lampiran 3

Tabel 2. Data hasil perhitungan nilai aktivitas penghambatan peroksidasi lipid dari ekstrak etanol dan ekstrak tidak larut aseton klika onkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)

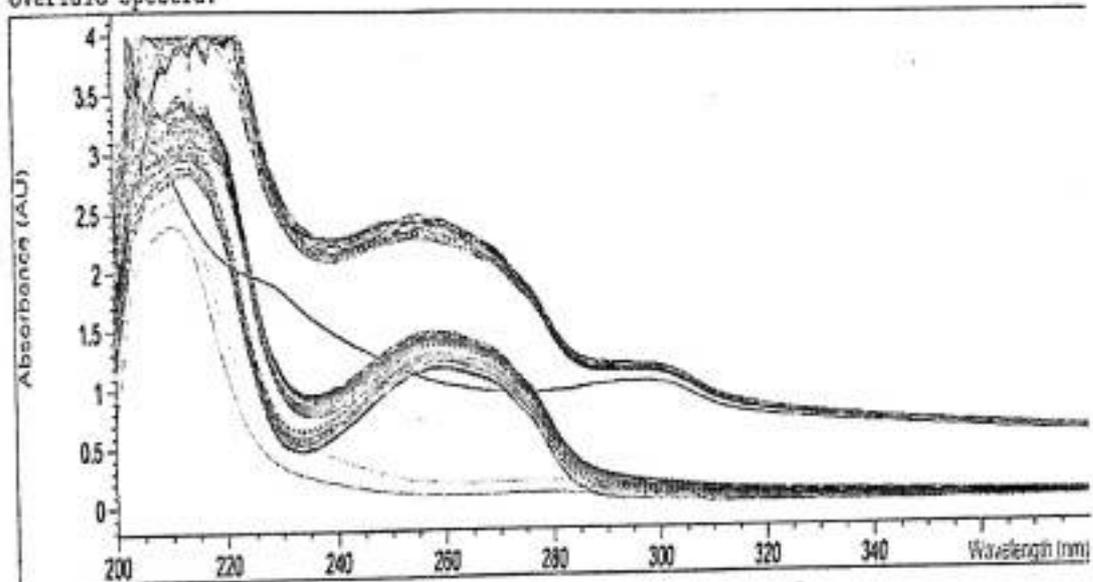
Waktu (Menit)	Serapan Kontrol negatif	Serapan Etanol	Serapan Tidak Larut Aseton	Serapan Kontrol negatif - Sampel		Nilai aktivitas penghambatan (%)	
				Etanol	Tidak Larut Aseton	Etanol	Tidak Larut Aseton
5	0.25254	0.25254	0.25254	0	0	0	0
30	0.2629	0.24165	0.23071	0.02125	0.03219	8.08	13.95
60	0.27052	0.24219	0.22791	0.02833	0.04261	10.47	18.70
120	0.30968	0.25194	0.22712	0.05774	0.08256	18.65	36.35
180	0.34989	0.27658	0.24051	0.07331	0.10938	20.95	45.48
240	0.37746	0.30877	0.2541	0.06869	0.12336	18.20	48.55
300	0.40073	0.33254	0.26598	0.06819	0.13475	17.02	50.66
360	0.4493	0.36793	0.29316	0.08137	0.15614	18.11	53.26

Keterangan :

Persen penghambatan peroksidasi lipid =  $\frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$

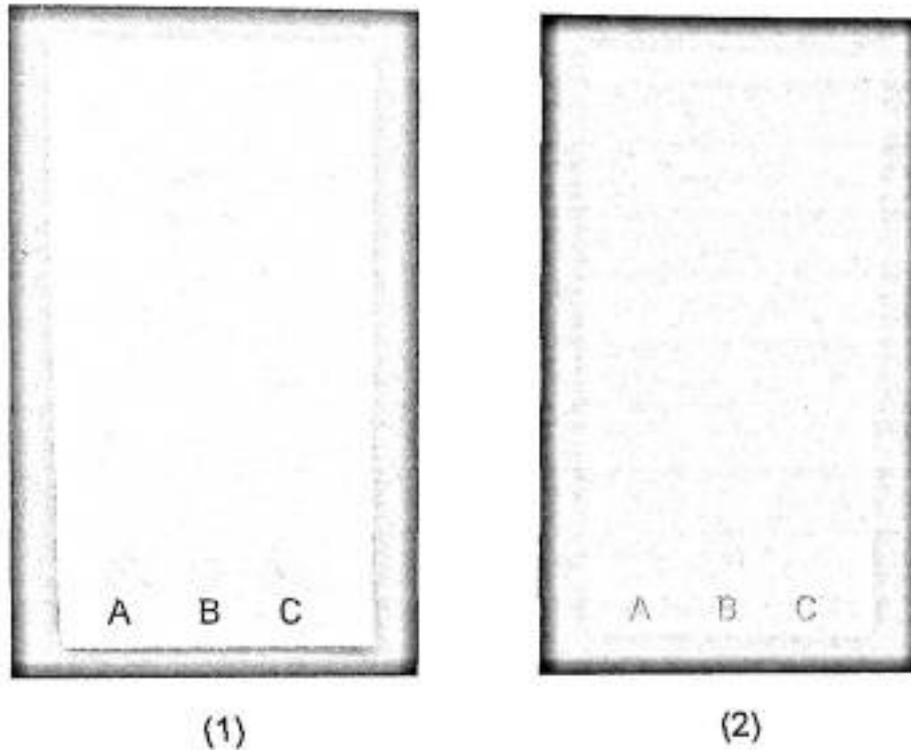
Lampiran 4  
Kurva Absorbansi

Overlaid Spectra:



Gambar 8. Kurva Absorbansi Ekstrak Klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)

**Lampiran 5**  
**Profil KLT ekstrak etanol, ekstrak aseton dan ekstrak tidak larut**  
**aseton Klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)**



Gambar 9. Profil KLT Ekstrak Klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)

Keterangan gambar :

- A. Ekstrak Etanol
- B. Ekstrak larut Aseton
- C. Ekstrak tidak larut Aseton

Fase gerak	: Metanol : Air (4:1)
Fase diam	: Lempeng silika gel 60 F 254
Penampakan noda	: (1) UV 254 nm
	: (2) UV 366 nm

Lampiran 6  
Gambar Tanaman Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)



Gambar 10. Tanaman Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)

