


Kode>Nama Rumpun Ilmu: 304/Ilmu Biomedik	
Bidang Fokus	: Pengembangan Teknologi Kesehatan dan Obat

**LAPORAN AKHIR PENELITIAN TERAPAN
UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**



**PENELUSURAN CAMPURAN SENYAWA AKTIF
EKSTRAK AIR BAWANG PUTIH, JAHE GAJAH, DAN
LEMON LOKAL: POTENSI PENGATUR PROFIL LIPID
PADA TIKUS TUA YANG TERPAPAR PAKAN TINGGI
LEMAK**

TIM PENGUSUL

Dr. Arief Budi Yulianti, Dra., MSi/0409076001

Dr. Maya Tejasari, dr., MKes/0417077001

Miranti Kania Dewi, dr., MSi/0412127803

Annisa Rahmah Furqaani, SSI., M. Biomed/0404078406

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM BANDUNG**

NOVEMBER 2018

LAPORAN AKHIR
PENELITIAN TERAPAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Penelusuran Campuran Senyawa Aktif Ekstrak Air Bawang Putih, Jahe Gajah, dan Lemon Lokal: Potensi Pengatur Profil Lipid pada Tikus Tua yang Terpapar Pakan Tinggi Lemak

Ketua Peneliti
a. Nama Lengkap : Dr. Arief Budi Yulianti, Dra., MSi
b. NIDN : 0409076001
c. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
d. Program Studi : Program Pendidikan Sarjana Kedokteran
e. No HP : 089675780986
f. Alamat Surel : budi.yulifk@gmail.com

Anggota Peneliti (1)
a. Nama Lengkap : Dr. Maya Tejasari, dr., MKes
b. NIDN : 0417077001
c. PT : Unisba

Anggota Peneliti (2)
a. Nama Lengkap : Miranti Kania Dewi, dr., MSi
b. NIDN : 0412127803
c. PT : Unisba

Anggota Peneliti (3)
a. Nama Lengkap : Annisa Rahmah Furqaani, SSI., M.Biomed
b. NIDN : 0404078406
c. PT : Unisba

Institusi Mitra (Jika ada) :
Nama Institusi Mitra :
Alamat :
Penanggungjawab :
Tahun Pelaksanaan : Tahun Pertama
Biaya Tahun Berjalan : Rp. 87.840.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp. 751.300.000

Bandung, 14 November 2018

Mengetahui
Ketua LPPM Universitas Islam Bandung



Prof. Dr. Hj. Atie Rachmiate, Dra., MSi
NIP.195903301986012002

Ketua Peneliti



Dr. Arief Budi Yulianti, Dra., MSi
NIDN: 0409076001

RINGKASAN

Lipid adalah salah satu biomolekul yang sangat dibutuhkan tubuh dalam jumlah tertentu. Banyak faktor yang mempengaruhi profil lipid alam darah, diantaranya adalah diet tinggi karbohidrat dan rendah serat, kebiasaan merokok dan minum alkohol, juga karena faktor usia. Hal tersebut memicu penyakit-penyakit yang berhubungan dengan metabolisme lipid seperti penyakit kardiovaskular. Pengaturan profil lipid ditawarkan dengan menggunakan obat-obatan herbal yang dirasakan lebih murah dan aman. Pengembangan bahan alam menjadi bahan baku obat menjadi unggulan penelitian Unisba. Penelitian ini bertujuan menelusuri senyawa-senyawa aktif dari ekstrak air bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal yang berasal dari Jawa Barat. Pada tahun pertama ini dilakukan ekstrak air bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal, kemudian hasil ekstraksi difraksinasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis, sehingga didapat partisi-partisi. Setiap partisi dipurifikasi, dikarakterisasi, dan dideterminasi struktur kimianya. Hasil penelitian ini adalah fraksi etil asetat jahe gajah tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap terhadap profil lipid mencit tua yang diberi pakan tinggi lemak, tetapi mempengaruhi mikrostruktur jaringan hati terutama sinusoid dan hepatosit juga terhadap mikrostruktur dinding jantung dan dinding pembuluh darah koroner. Fraksi etil asetat lemon berpengaruh terhadap kadar kolesterol total mencit tua yang diberi pakan tinggi lemak, tetapi tidak mempengaruhi fungsi hati, walaupun mempengaruhi mikrostruktur jaringan hati dan jantung terutama diameter arteri koronari. Fraksi air lemon memengaruhi pada mikrostruktur jaringan hati dan ginjal. Uji fitokimia dari ekstrak air, fraksi air dan fraksi etil asetat menunjukkan isolat yang terdapat pada bawang putih, lemon, dan jahe gajah sangat banyak dan mempunyai potensi untuk mengatur profil lipid.

Kata Kunci: Bawang putih, jahe gajah, lemon lokal, lipid, senyawa aktif

PRAKATA

Alhamdulillah laporan kemajuan Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi (PTUPT) tahun pertama yang berjudul Penelusuran Campuran Senyawa Aktif Ekstrak Air Bawang Putih, Jahe Gajah, dan Lemon Lokal: Potensi Pengatur Profil Lipid pada Tikus Tua yang Terpapar Pakan Tinggi Lemak dapat diselesaikan. Targetan untuk mendapatkan luaran berupa artikel yang terindeks Scopus sedang dalam proses, sedangkan paten sederhana belum diajukan, karena masih menunggu hasil dari partisi senyawa aktif yang sedang dilakukan, karena paten yang akan dilakukan adalah metoda penentuan senyawa dengan menggunakan sistem docking.

Pada kesempatan ini Tim Peneliti mengucapkan terimakasih pada Bapak Kemenristek Dikti beserta jajarannya yang sudah memberikan bantuan untuk menyelenggarakan penelitian ini. Ucapan terimakasih juga ditujukan kepada Ketua LPPM Universitas Islam Bandung beserta jajarannya yang sudah membantu dalam proses kelancaran penelitian ini. Ucapan terimakasih juga diberikan kepada Dekan Fakultas Kedokteran dan jajarannya yang sudah memberikan bantuan sehingga penelitian ini dapat berjalan. Ucapan terimakasih dihaturkan kepada Ketua Lab. Sentral Unpad yang sudah membantu dalam penyediaan fasilitas dalam melaksanakan penelitian ini. Ucapan terimakasih juga kami haturkan kepada semua pihak yang sudah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

Harapan selanjutnya adalah penyelesai target tahun pertama untuk mengisolasi senyawa aktif dari jahe gajah, lemon, dan bawang putih dengan harapan pada tahun selanjutnya penelitian ini tetap dapat diselenggarakan dengan bantuan dari Kemenristek dengan tujuan dapat mendapatkan obat herbal terstandar pengatur profil lipid.

Bandung, 14 November 2018

Ketua Tim Peneliti

DAFTAR ISI

	Hal
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Profil Lipid	5
2.2 Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> . L)	5
2.3 Jahe (<i>Zingiber officinale</i> . R)	6
2.4 Lemon (<i>Citrus lemon</i> . L)	6
2.5 Peta Jalan	7
BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	10
3.1 Tujuan Penelitian	10
3.2 Manfaat Penelitian	10
BAB 4 METODE PENELITIAN	11
4.1 Pembuatan Ekstrak dan Fraksinasi	11
4.2 Perlakuan	11
4.3 Analisis Data	12
4.4 Uji Fitokimia	12
BAB 5 HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI	13
5.1 Jahe Gajah	13
5.2 Lemon Lokal	14
5.3. Bawang Putih	17
5.4 Fitokimia	17

	5.5 Luaran	18
BAB 6	RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	19
	6.1 Penyelesaian Tahun Pertama	19
	6.2 Tahan Selanjutnya	19
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN	21
	7.1 Kesimpulan	21
	7.2 Saran	21
	DAFTAR PUSTAKA	22
	LAMPIRAN	24



DAFTAR TABEL

Tabel 1 Hasil Analisis Fitokimia

Hal
18



DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 2.1 Bawang Putih Lokal Ciwidey	6
Gambar 2,2 A Jahe Gajag B Lemon Lokal	7
Gambar 2.3 Peta Jalan penelitian	8
Gambar 4.1 Alur Penelitian	12



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Draft Artikel	Hal 24
Lampiran 2 Draft Paten Sederhana	25





BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit kardiovaskular penyebab kematian peringkat pertama hampir di seluruh dunia (Vasan dkk., 2016). Penyakit jantung koroner adalah salah satu penyakit kardiovaskular dengan prevalensi di Indonesia berdasarkan data tahun 2013 adalah sebesar 0,5 % dengan prevalensi tertinggi terjadi di Provinsi Jawa Barat. Prevalensi penyakit jantung koroner terus meningkat dari tahun ke tahun dan diperkirakan akan menjadi 1,5% di tahun 2030 (Depkes, 2014). Penyakit ini erat kaitannya dengan profil lipid, yaitu kadar lemak dalam darah dengan parameter kolesterol total, *high density lipoprotein* (HDL), *low density lipoprotein*, dan trigliserida (Bonow, 2002)

Lipid adalah salah satu biomolekul yang merupakan senyawa rantai karbon panjang dengan beberapa ikatan rangkap yang bersifat hidrofobik. Senyawa ini sangat dibutuhkan tubuh dalam kadar tertentu, seperti misalnya kadar kolesterol total normal dalam darah adalah kurang dari 200 mg/dL yang diatur dalam regulasi metabolisme lipid. Faktor-faktor yang memengaruhi tingginya kadar kolesterol di dalam darah adalah antara lain: pola makan tinggi karbohidrat dan rendah serat, kebiasaan merokok dan minum alkohol, jarang berolah raga, juga karena faktor usia saat usia bertambah kecepatan metabolisme menurun (Bonow, 2002).

Penuaan adalah fenomena alami yang dialami setiap makhluk hidup. Karakteristik penuaan yang khas dan melibatkan semua sel, jaringan dan organ dalam inflamasi ringan yang terjadi secara kronik mengarah pada degenerasi secara progresif (Fransceschi dan Campisi, 2014). Dalam kondisi ini lemak tubuh akan cenderung meningkat apalagi bila diikuti dengan diet tinggi lemak. Hal ini akan memicu timbulnya arteriosklerosis. Arteriosklerosis merupakan penyakit degeneratif yang sulit untuk dipulihkan, sehingga penderita akan tergantung pada obat-obatan selama hidupnya. Obat-obat herbal dipilih karena harganya relatif murah dan dianggap lebih aman karena tidak ada efek samping. Beberapa obat herbal yang sering

digunakan untuk penyakit pembuluh darah ini antara lain bawang putih (*Allium sativum*. L), jahe gajah (*Zingiber officinale*. R) dan lemon (*Citrus lemon*. L)

Banyak penelitian menyatakan bahwa peran bawang putih dapat memperbaiki sistem imun, hepatoprotektor, antimikrobial, dan antioksidan (Benerjee dan Maulik, 2002). Bawang putih banyak digunakan dalam pengobatan penyakit jantung dan pembuluh darah karena perannya dalam mengatur metabolisme lemak. Zat aktif dari bawang putih adalah alisin (diallyl tiosufinat) dan glutathione (γ -L-glutamyl-S-alkyl-L-cysteine). Glutathione adalah antioksidan yang akan menekan radikal bebas *reactive oxygen species* (ROS) (Yulianti dkk., 2012, 2015, 2016).

Jahe memiliki efek sebagai antioksidan dan berperan dalam meningkatkan kapasitas antioksidan total dan menurunkan oksidasi lipid dan protein pada keadaan stres oksidatif. Stres oksidatif adalah kondisi di dalam sel atau jaringan saat radikal bebas lebih tinggi daripada antioksidan di dalam sel (Yulianti, dkk, 2012). Jahe pun memiliki efek anti inflamasi dan menekan ekspresi sitokin pro inflamasi seperti TNF- α dan menghambat kaskade asam arakidonat. Jahe mengandung gingerol dan shogaol yang menghambat biosintesis prostaglandin dan leukotriene dengan cara menekan 5-lipooksigenase sintetase. Jahe juga memiliki efek protektif terhadap cathepsin G, fibrosis dan proliferasi otot jantung pada tikus model diabetes. (Ikhanizadeh dkk., 2016)

Ekstrak jahe secara signifikan meningkatkan kadar apoA. Apo B membawa lipid dari hepar dan usus ke jaringan yang menggunakan lipid sedangkan apoA mengandung partikel yang memediasi transpor lipid kembali dan membawa lipid yang berlebih dari jaringan perifer ke hepar. Ratio apoB/apoA menggambarkan tingginya kadar lipoprotein aterogenik yang dideposit di dinding pembuluh darah (Ikhanizadeh dkk., 2016).

Limonoid (jus jeruk) dan kulitnya memiliki efek sebagai antioksidan dan menghambat proses aterogenesis, yaitu suatu proses penimbunan lemak di arteri, sehingga terjadi penyumbatan pembuluh darah. Jus dan kulit jeruk mengandung

fenol dan flavonoid. Tipe flavonoid pada jus dan kulitnya berbeda, pada jus jeruk terdapat hesperidin, narigin, dan eriocitin. Flavonoid pada kulit jeruk terdiri dari polimetoksilat flavon, limonoid, dan diosmin. Pada penelitian dengan menggunakan kelinci sebagai hewan coba didapatkan hasil bahwa kapasitas antioksidan serum total pada kelinci yang diberi jus atau kulit jeruk lebih tinggi daripada kontrol. Efeknya secara signifikan lebih tinggi pada yang diberi jus daripada yang diberi kulit jeruk (Boshtam dkk., 2013).

Bawang putih, jahe, dan jeruk adalah antioksidan yang dapat menekan radikal bebas, sehingga dapat menekan terjadinya stres oksidatif. Efek tunggal dari bawang putih, jahe dan jeruk ternyata memberikan hasil yang signifikan terhadap penurunan kadar lemak dalam darah (Benerjee dan Maulik, 2002, Boshtam dkk., 2013, Ikhanizadeh dkk., 2016). Campuran dari ekstrak bawang putih, jahe gajah, dan lemon yang dikonsumsi bersamaan diharapkan dapat memberikan hasil yang lebih baik, karena campuran antioksidannya lebih lengkap dan masing-masing antioksidan bekerja dengan cara yang berbeda.

Bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal memiliki khasiat masing-masing, sampai sejauh ini masih berperan sebagai obat tradisional atau jamu. Penelitian ini bertujuan mengisolasi senyawa aktif dari ekstrak air bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal, kemudian mengkombinasikan senyawa aktif tersebut sehingga mendapatkan dosis terapeutik untuk menekan metabolisme lipid. Tujuan berikutnya adalah menyiapkan obat-obat yang herbal yang halal, karena dari semua proses tidak bersentuhan dengan barang-barang yang haram.

Peningkatan kualitas obat tradisional menjadi obat fitofarmaka memerlukan penelitian yang sangat mendalam mulai dari penelusuran senyawa murni yang berasal dari ekstrak air bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal dengan metode fraksinasi, karakterisasi, dan determinasi. Masing-masing hasil fraksinasi harus melalui uji toksisitas dan sitotoksitas untuk mendapatkan senyawa aktif. Senyawa aktif harus melalui uji preklinik baik secara *in vitro* atau pun *in vivo* untuk mendapatkan mekanisme kerja obat dan efek samping. Langkah selanjutnya adalah

uji klinis dengan menggunakan manusia sebagai subjek penelitian. Pada tahun pertama penelitian ini kami fokus pada penelusuran campuran senyawa-senyawa murni yang diisolasi dari ekstrak air bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal yang berasal dari perkebunan di Jawa Barat yang dapat mengatur profil lipid.

1.2 Rumusan Masalah

Pada penelitian tahun pertama ini adalah pada tahanan isolasi senyawa murni dari ekstrak air bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal yang berperan terhadap pengaturan profil lipid. Beberapa pertanyaan yang difokuskan pada penelitian ini adalah: (1) Senyawa murni apa saja yang dapat diisolasi dari ekstrak air bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal; (2) Bagaimana karakter dari senyawa murni tersebut; (3) Berapa banyak senyawa murni yang berpotensi sebagai senyawa aktif; (4) Bagaimana mekanisme kerja dari masing-masing senyawa aktif tersebut.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Profil Lipid

Lipid adalah salah satu biomolekul yang sangat berperan bagi tubuh, lipid sebagai komponen utama membran sel, otak, dan hormon. Lipid sebagai senyawa non-polar yang tidak larut dalam air, disintesis secara intraselular yang berfungsi sebagai energi cadangan dalam metabolisme dan sistem isolasi terhadap perubahan suhu. Kelebihan lipid di dalam tubuh dapat disebabkan asupan makanan yang berlebih atau terjadi kelainan metabolisme lipid.

Lipid yang berlebih akan menyebabkan berbagai jenis penyakit terutama penyakit-penyakit degeneratif, seperti hipertensi, diabetes, stroke (Yaghi and Elkind, 2015). Pemantauan kondisi lipid dapat dilakukan pemeriksaan profil lipid yang terdiri dari kadar kolesterol total, *high density lipoprotein* (HDL), *low density lipoprotein* (LDL), dan trigliserida. Pengaturan metabolisme lipid umumnya dengan mengatur konsumsi asupan makanan dan pemberian obat-obatan sintetik yang diresepkan dokter atau menggunakan obat-obat tradisional berupa jamu yang diwariskan secara turun-temurun.

Di Indonesia penggunaan jamu untuk menurunkan kadar kolesterol di dalam darah sudah sangat umum, karena dipercaya dapat menyembuhkan penyakit tanpa menimbulkan efek samping. Beberapa tumbuh-tumbuhan yang berfungsi sebagai jamu untuk menurunkan kadar kolesterol, antara lain adalah bawang putih, jahe, lemon.

2.2. Bawang Putih (*Allium sativum*. L)

Bawang putih merupakan tanaman yang mudah diperoleh dan sudah sangat lama digunakan sebagai bumbu. Bawang putih ini termasuk dalam famili Amaryllidaceae dengan aroma yang khas (Gambar 2.1). Zat aktif yang sudah diketahui dalam bawang putih adalah *alliin* sebagai senyawa sulfur tidak beraroma dan merupakan prekursor aroma bawang putih yang khas. Diduga senyawa sulfur ini yang terdapat dalam bawang putih seperti pada zat aktif *ajoene*, *allicin*, *alliin*,

allixin, γ -glutamyl-S-2-propenyl cysteine, diallyl disulfide, methyl allyl disulfide, S-allyl-cysteine, dan 1,2-vinyldiithin (Martins dkk, 2016) berperan dalam biosintesis glutation yang berperan sebagai antioksidan yang dapat dapat menekan terjadinya stres oksidatif (Benerjee dan Maulik, 2002)



Gambar 2.1 Bawang putih lokal Ciwidey (*Allium sativum*. L)

2.3 Jahe Gajah (*Zingiber officinale*. Roscoe)

Jahe gajah merupakan tanaman berimpang dan mudah ditemukan di daerah tropis (Gambar 2.2.A). Jahe gajah digunakan sebagai bumbu dan obat herbal. Jahe digunakan untuk menghangatkan tubuh dapat dicampur dengan minuman hangat. Jahe merupakan obat anti muntah, menekan kadar gula dalam darah, dan berperan dalam metabolisme lemak. Jahe juga merupakan antioksidan yang dapat menekan terjadinya stres oksidatif (Ikhanizadeh dkk., 2016). Zat aktif yang terdapat dalam ekstrak jahe adalah polifenol, flavonoid, tannin, dan β karoten dengan potensi sebagai antioksidan. Gingerol adalah zat aktif yang menyebabkan jahe beraroma khas dan rasa pedas (Adel dan Prakash, 2010).

2.4 Lemon (*Citrus lemon*)

Lemon adalah jeruk dengan kulit tebal (Gambar 2.2. B) digunakan sebagai bumbu dan bahan obat. Jeruk ini banyak mengandung vitamin C yang fungsi meningkatkan sistem imun. Jeruk dapat digunakan sebagai obat penawar racun, antihelmin, obat

muntah, obat batuk. Jeruk pun mengandung antioksidan yang dapat menekan terjadinya stres oksidatif (Boshtam dkk., 2013). Minyak atsiri lemon mengandung *DL-limonene*, *b-pinene*, *L-a-terpineol*, *b-myrcene*, *a-pinene*, dan *b-linalool* (Jabri dan Hossain, 2014).



A

B

Gambar 2.2 A Jahe Gajah (*Zingiber officinale*)

B Lemon lokal (*Citrus lemon*)

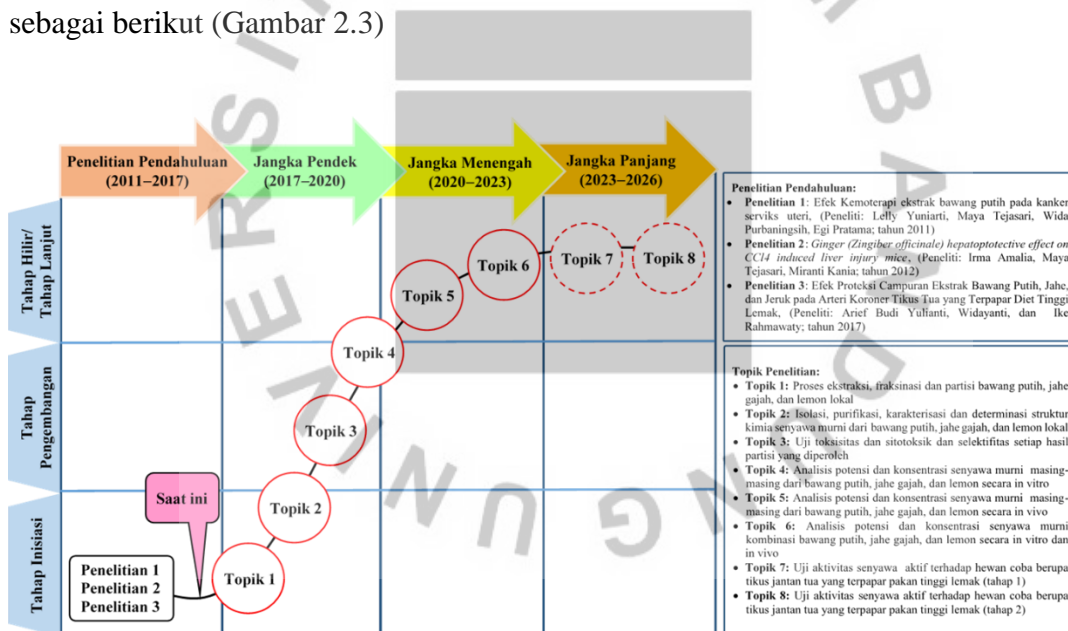
2.5 Peta Jalan.

Fokus penelitian kami adalah penyakit-penyakit degeneratif, yaitu penyakit kronik yang progres. Penyakit ini terjadi karena kemunduran metabolisme tubuh, karena terjadi timbunan radikal bebas sementara antioksidan selular sudah tidak mampu menekan timbunan radikal bebas. Kondisi ini yang disebut dalam kondisi stres oksidatif. Stres oksidatif dapat merusak biomolekul yang ada di dalam sel. Pada penelitian sebelumnya stres oksidatif terjadi di otak dan yang menjadi fokus penelitian adalah protein yang menjadi marker terjadinya degenerasi (Yulianti, 2015).

Penelitian yang sedang berjalan saat ini adalah pemberian campuran ekstrak air bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal pada tikus jantan tua yang terpapar pakan

tinggi lemak. Pada kondisi terjadi penuaan, saat kemampuan metabolisme menurun, asupan makanan akan cenderung ditimbun sebagai lemak, saat yang bersamaan timbunan radikal bebas sebagai hasil samping metabolisme pun semakin meningkat atau dapat dikatakan pada kondisi terjadi penuaan terjadi stres oksidatif. Hasil sementara dari penelitian ini adalah bahwa pemberian campuran ekstrak air bawang putih dan lemon lokal menyebabkan terjadinya penurunan berat badan, patut diduga terjadinya penurunan lemak tubuh akan berkorelasi dengan kadar kolesterol total dan tumbukan jaringan adiposa di abdomen (Hasil belum dipublikasi). Beberapa penelitian tim kami tentang bawang putih dan jahe sebagai obat pencegah penyakit kanker.

Penelitian ini bertujuan mencari potensi tumbuhan lokal yang dapat menjadi obat fitofarmaka menekan metabolisme lipid. Peta jalan dalam 10 tahun kedepan adalah sebagai berikut (Gambar 2.3)



Gambar 2.3. Peta Jalan Penelitian

Tahun pertama dari penelitian ini adalah proses ekstraksi, fraksinasi dan partisi bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal. Penelitian dilanjutkan dengan isolasi, purifikasi, karakterisasi, dan determinasi struktur kimia senyawa murni dari bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal. Pada tahun kedua dan ketiga penelitian pada

tingkat uji toksisitas, sitotoksitas, dan seleksitifitas hasil partisi yang diperoleh. Pada tahun keempat penelitian pada tingkat analisis potensi dan konsentrasi senyawa murni masing-masing dari bawang putih, jahe gajah, lemon lokal secara in vitro. Pada tahun kelima pada level uji in vivo dengan menggunakan hewan coba. Pengujian campuran senyawa murni dari hasil partisi bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal secara in vitro dan in vivo akan dilanjutkan pada tahun keenam dan ketujuh dan dilanjutkan dengan uji aktivitas zat aktif terhadap hewan coba tahap satu dengan menggunakan tikus jantan tua dan tahap dua menggunakan kelinci. Tahap preklinis selesai dilakukan pada tahun kedelapan. Tahun ke 9 baru memasuki tahap pemeriksaan klinis.



BAB 3

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

1. Menganalisis senyawa murni yang dapat diisolasi dari ekstrak air bawang putih, jahe gajah dan lemon lokal
2. Menganalisis karakter senyawa murni dari ekstrak air bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal
3. Menganalisis potensi senyawa murni sebagai senyawa aktif pengatur profil lipid
4. Menganalisis mekanisme kerja dari masing-masing senyawa aktif yang berpotensi sebagai pengatur profil lipid

3.2 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian terapan unggulan perguruan tinggi ini adalah penelusuran campuran senyawa aktif dari ekstrak air bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal yang berasal dari perkebunan di Jawa Barat sebagai obat herbal terstandar yang berpotensi menekan metabolisme lipid. Tujuan jangka panjang penelitian ini adalah menghasilkan produk obat fitofarmaka yang dapat menekan metabolisme lipid. Penggunaan herbal sebagai pengobatan sudah lama digunakan masyarakat seperti halnya jamu yang diketahui secara turun temurun. Untuk meningkatkan mutu obat tradisional memerlukan serangkaian penelitian mulai dari ekstrak air bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal, fraksinasi dan setiap partisi yang didapat dilakukan karakterisasi dan determinasi struktur kimia senyawa murni. Uji toksisitas, sitotoksitas dan selektifitas untuk mengisolasi senyawa murni. Setelah senyawa murni diperoleh dilanjutkan dengan uji potensi baik in vitro dan in vivo untuk mendapatkan senyawa aktif. Langkah selanjutnya adalah uji aktivitas senyawa aktif secara in vitro dan in vivo dan penentuan dosis terapeutik. Langkah berikutnya adalah baru dicobakan pada pasien dengan serangkaian uji klinis.

BAB 4. METODE PENELITIAN

Penelitian penelusuran campuran senyawa aktif ekstrak air bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal yang berpotensi pengatur profil lipid pada tikus tua yang terpapar pakan tinggi lemak yang akan dilakukan selama lima tahun kedepan (Gambar 4.1) Pada tahun pertama adalah:

4.1 Pembuatan Ekstrak dan Fraksinasi

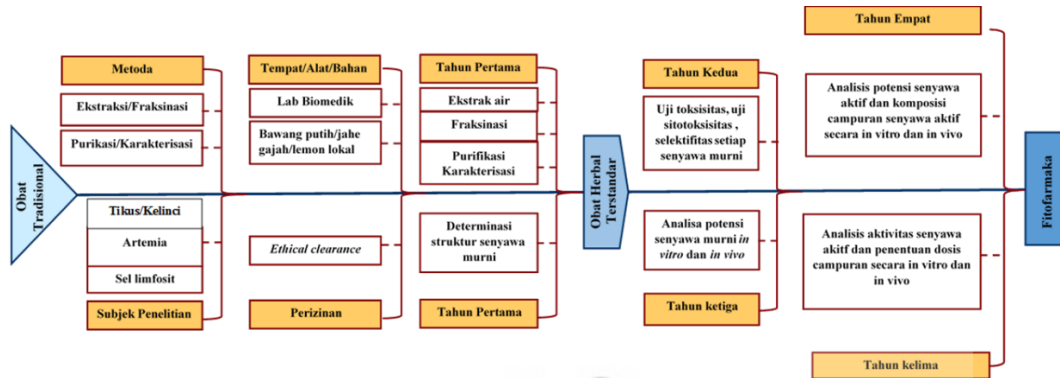
Lemon lokal berasal dari Lembang sedangkan jahe gajah dan bawang putih berasal dari Ciwidey. Tanaman ini diambil masing-masing sebanyak 30–40 kg. Sebelum diekstrak lemon lokal, jahe gajah, dan bawang putih diidentifikasi di Departemen Biologi Unpad. Pembuatan ekstrak dan fraksinasi dilakukan di Lab. Sentral Unpad.

Pertama-tama yang diekstrak adalah jahe gajah dicuci bersih, diiris tipis-tipis kemudian dimasukkan dalam ekstraktor direndam aquades sampai semua bahan terendam (100 L), suhu yang digunakan antara 40–45⁰C dan ekstraktor dijalankan selama 8 jam. Langkah selanjutnya adalah pemekatan dengan menggunakan konsentrator dengan suhu 45⁰C, selama 5 jam. Hasilnya berupa pasta langsung difraksinasi dengan menggunakan n-heksan untuk mendapatkan senyawa nonpolar, dilanjutkan dengan etil asetat untuk mendapatkan senyawa yang semi polar dan terakhir fraksi air. Tahap selanjutnya dengan langkah yang sama dilakukan untuk lemon lokal dan bawang putih.

4.2. Perlakuan

Untuk melihat potensi masing-masing fraksi dilakukan pengujian profil lipid pada mencit galur DDY yang berasal dari Biofarma, jantan, umur antara 50–55 minggu, berat antara 40-50 g. Penelitian ini sudah sesuai dengan etik penelitian kesehatan yang dikeluarkan oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung. Adaptasi dan perlakuan dilakukan Laboratorium Hewan Sekolah Farmasi ITB, Dosis yang digunakan 2n, 4n dan 8n dengan n adalah dosis yang digunakan pada manusia (4g/KgBB) dan dikonversi ke dosis mencit dengan faktor 0,0026. Perlakuan diberikan selama 24 hari, kemudian mencit

dikorbankan diukur profil lipid plasma darah dan gambaran mikro struktur dari organ hati, jantung, dan ginjal.



Gambar 4.1. Alur Penelitian

4.3. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan IBM SPSS 21. Untuk melihat pengaruh perlakuan dilakukan dengan menggunakan analysis of variance (ANOVA) sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

4.4. Analisa Fitokimia

Analisa fitokimia dilakukan di Lab. Bahan Alam, Farmasi, Universitas Islam Bandung. Analisa fitokimia untuk ekstrak air dan fraksi etil asetat dan air.

BAB 5

HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1 Jahe Gajah

Ekstrak air jahe gajah dalam bentuk pekat diperoleh sebanyak 2 liter. Hasil fraksi n-hexan jahe gajah (nonpolar) berupa pasta sebanyak 3 mL, fraksi etil asetat (semi polar) berupa pasta sebanyak 23 mL, dan fraksi air (polar) berupa pasta sebanyak 580 mL.

Mencit jantan yang diberi perlakuan dengan fraksi etil asetat jahe gajah tidak terdapat pengaruh yang bermakna secara signifikan terhadap profil lipid, seperti kadar kolesterol-total, trigliserida, HDL, dan LDL. Sama seperti penelitian sebelumnya yang menunjukkan hasil kadar profil lipid yang berbeda pada kelompok yang diberi jahe dengan kelompok kontrol, namun perbedaannya belum signifikan secara statistik ($p = 0,317$). Terdapat adanya hubungan yang relatif sangat kecil antara konsentrasi fraksi jahe gajah dengan kadar HDL dan LDL.

Berbeda dengan penelitian lainnya yang menunjukkan hasil yang bermakna secara signifikan. Hasil yang berbeda diduga karena pemilihan hewan uji coba pada tingkat yang lebih tinggi, seperti pada penelitian (Abdul Hussein, 2014) yang dilakukan pada kelinci dan penelitian (Al-noory, Amreen & Hymoor 2013) pada tikus.

Waktu pemberian terapi yang hanya 28 hari diduga mengakibatkan kurangnya efek jahe gajah, sehingga diperlukan waktu yang lebih lama untuk melihat pengaruh yang lebih efektif. Penentuan lamanya waktu penelitian mengikuti penelitian sebelumnya (Yulianti, Widayanti, & Rahmawati, Ike, 2017) dan memberikan hasil yang sama yaitu belum bermakna secara signifikan. Pengaruh lainnya adalah kurangnya jumlah mencit yang dipakai, karena jika semakin banyak data yang didapatkan akan semakin bagus nilai yang dihasilkan dalam statistik karena banyaknya data yang bervariasi.

Hasil dari pengamatan mikrostruktur jaringan hati pada kelompok kontrol menunjukkan gambaran jaringan hati yang mulai kehilangan susunan radier lempeng hepatosit, *central vein* yang tampak utuh dan tidak ada area nekrosis. Disamping itu, ditemukan adanya hepatosit yang mengalami pembengkakan, hepatosit dengan droplet lemak (steatosis) dan pelebaran dari sinusoid hati. Kekacauan susunan lempeng hepatosit dapat terjadi akibat adanya pembengkakan sel. Setelah pemberian fraksi etil asetat jahe gajah menunjukkan bahwa terdapat perbaikan kerusakan mikrostruktur jaringan hati pada kelompok mencit yang diberi fraksin etil asetat dengan dosis 2n dan 4n dan dengan gambaran lempeng hepatosit yang radier mengelilingi vena sentral yang masih utuh dan tidak ditemukan area nekrosis. Selain itu ditemukan adanya sel steatosis dengan sinusoid yang melebar. Berbeda halnya dengan kelompok dengan dosis 8n menunjukkan hasil yang mendekati kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi yang terlalu tinggi dapat menyebabkan *Drug Induced Liver Injury* (DILI) sehingga tidak boleh diberikan dalam konsentrasi yang terlalu besar. Secara keseluruhan fraksi etil asetat jahe gajah dalam penelitian ini dapat mempengaruhi mikrostruktur jaringan hati pada mencit tua yang diberi pakan tinggi lemak.

Pada pemeriksaan mikrostruktur jaringan jantung menunjukkan lapisan epikardium dengan pembesaran 400x pada kelompok perlakuan seluruhnya lebih tipis dibandingkan lapisan epikardium kelompok kontrol. Gambaran mikrostruktur dinding arteri koroner dengan pembesaran 1000x pada kelompok perlakuan menunjukkan gambaran pembuluh darah normal (bentuk bulat dan tidak kolaps) sedangkan arteri koroner pada kelompok kontrol menunjukkan gambaran yang kolaps.

5.2 Lemon Lokal

Ekstrak air lemon lokal dalam betuk pekat diperoleh sebanyak 21 liter. Hasil fraksi n-hexan jahe gajah (nonpolar) berupa pasta sebanyak 1,5 mL, fraksi etil asetat (semi polar) berupa pasta sebanyak 58 mL, dan fraksi air (polar) berupa pasta sebanyak 7200 mL.

Mencit tua yang diberi fraksi etil asetat lemon lokal menunjukkan berat badan secara keseluruhan diatas berat normal dan pemberian perlakuan dosis 2n mengalami penurunan berat badan ($p=0.658$). Kolesterol tertinggi pada kontrol positif dan terendah pada kolompok yang diberi dosis 2n ($p=0.042$). Trigliserida tertinggi pada kelompok sebelum perlakuan dan terendah pada kelompok yang diberi dosis 2n ($p=0.148$). HDL tertinggi pada kelompok positif dan terendah pada kelompok yang diberi dosis 2n ($p=0.278$). LDL indirect dalam kondisi yang sangat ideal 3 kali HDL. Fraksi etil asetat lemon lokal pada dosis 2n dapat mengatur profil lipit mencit tua yang diberik pakan tinggi lemak.

Pemeriksaan fungsi hati memperlihatkan rata-rata kadar SGOT kelompok sebelum perlakuan 190,2 dan kelompok setelah perlakuan I – V adalah 180,8, 144,0, 125,8, 242,8, 179,5 dan 258,4 sedangkan hasil rata-rata kadar SGPT kelompok sebelum perlakuan 93,4 dan kelompok setelah perlakuan I – V adalah 64,8, 57,3, 38,8, 82,3, dan 62,0 ($p > 0,05$).

Pemeriksaan mikrostruktur jaringan hati memperlihatkan pada kelompok kontrol negatif didapatkan organ hati yang sudah mulai mengalami perlemakan yang ditandai dengan warna merah yang tidak terlalu jelas. Pemeriksaan mikroskop memperlihatkan jaringan hati yang sudah mengalami perubahan, sel hepatosit yang mulai terdapat perlemakan atau membentuk steatosis. Pada kelompok kontrol positif didapatkan organ hati yang sudah mulai mengalami perlemakan yang ditandai dengan adanya warna putih di sekitar sel yang menandakan perlemakan. Pemeriksaan mikroskop memperlihatkan jaringan hati yang sudah mengalami perubahan, sel hepatosit yang mulai terdapat perlemakan atau membentuk steatosis. Pada kelompok perlakuan dosis 2n pemeriksaan makroskopis organ hati didapatkan warna yang lebih pucat, permukaan hati tidak halus dan berkilau. Beberapa hati terlihat lebih besar dibandingkan yang lainnya dan ditemukan gambaran perdarahan dan pada pemeriksaan mikroskopis, didapatkan gambaran jaringan hati yang mulai kehilangan susunan radier lempeng hepatositnya. Kelompok mencit yang diberi perlakuan 4n secara makroskopis, organ hati kelompok ini memiliki karakteristik yang menyerupai organ hati pada kelompok yang diberi perlakuan 2n. Terlihat pada

beberapa hati sudah mengalami perdarahan. Preparat jaringan hati memperlihatkan gambaran arsitektur hati yang sudah rusak, pembengkakan menjadi lebih sedikit karena kerusakan hepatosit sudah semakin jauh. Sudah banyak terbentuk sel steatosit. Pada kelompok yang diberi perlakuan 8n secara makroskopis, organ hati kelompok ini memiliki karakteristik yang menyerupai organ hati pada kelompok perlakuan sebelumnya mengalami perdarahan. Preparat jaringan hati memperlihatkan gambaran arsitektur hati yang sudah rusak dengan jumlah vena sentral yang masih utuh lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok sebelumnya, pembengkakan menjadi lebih sedikit karena kerusakan hepatosit sudah semakin jauh. Terbentuk sel steatosit yang banyak dan terdapat beberapa inti yang pecah.

Pada pemeriksaan mikrostruktur jantung, diameter arteri koroner pada kelompok kontrol positif 39,76 μm . Sementara kelompok perlakuan dengan dosis 2n, 4n, dan 8n secara berurutan adalah 64,95, 45,98 dan 47,45 μm (0,001). Pemberian dosis 2n memberikan pengaruh paling bermakna pada diameter koroner jantung mencit yang diberi pakan tinggi lemak.

Pemberian fraksi air lemon menunjukkan bahwa terdapat gambaran hepatosit dengan droplet lemak dan *hepatocyte ballooning* baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Hasil pengamatan memperlihatkan bahwa jaringan hati pada semua kelompok dengan memberikan gambaran arsitektur lobulus hati yang terdiri hepatosit tersusun secara radier mengelilingi vena sentral, tanpa adanya area nekrosis. Pada seluruh kelompok ditemukan hepatosit dengan droplet lemak dengan karakteristik ditemukannya area pucat dengan batas tidak tegas pada sitoplasma, ada cenderung terjadi penurunan jumlah sel hepatosit dengan droplet lemak seiring dengan meningkatnya konsentrasi fraksi air buah lemon yang diberikan walaupun tidak signifikan secara statistik ($p > 0.05$). Selain parameter jumlah hepatosit dengan droplet lemak, pada penelitian ini juga dilakukan pengamatan terhadap jumlah hepatosit yang mengalami pembengkakan. Kriteria sel hepatosit yang mengalami pembengkakan (*hepatocyte ballooning*) pada penelitian ini adalah hepatosit dengan diameter lebih besar dari 20–30 μm . Rata-rata jumlah hepatosit yang mengalami pembengkakan lebih rendah dibandingkan

dengan kelompok kontrol, tetapi hasil ini tidak signifikan secara statistik ($P > 0,05$). Hal ini mengindikasikan bahwa ketiga dosis fraksi air lemon yang diberikan pada penelitian ini berpotensi untuk menurunkan jumlah hepatosit yang mengalami pembengkakan.

Gambaran mikrostruktur ginjal pada kelompok mencit yang diberi fraksi air memperlihatkan bahwa jumlah *renal corpuscle* menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok perlakuan

5.3. Bawang Putih

Ekstrak air bawang putih dalam bentuk pekat diperoleh sebanyak 3 liter. Hasil fraksi n-hexan bawang putih (nonpolar) berupa pasta sebanyak 4,5 mL, fraksi etil asetat (semi polar) berupa pasta sebanyak 6 mL, dan fraksi air (polar) berupa pasta sebanyak 2062 mL.

5.4. Fitokimia

Hasil uji fitokimia untuk fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari jahe gajah, lemon, dan bawang putih adalah sebagai berikut:

Tabel 5.1 Hasil Analisa fitokima

Isolat	Ekstrak air			Fraksi etil asetat			Fraksi air		
	BP	JG	LL	BP	JG	LL	BP	JG	LL
Alkaloid	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Polifenolat	+	-	+	+	+	++	+	-	+
Flavonoid	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kuinon	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponin	++	+	++	-	-	-	++	+	++
Tanin terkondensasi	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Tanin terhidrolisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Monoterpen	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Sekuiterpen	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Triterpenoid	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Steroid	-	-	-	-	-	+	-	-	-

Keterangan: BP: Bawang putih, JG: Jahe gajah, LL: Lemon lokal

5.4. Luaran

Satu draft artikel yang diseminarkan dalam *International conferernce Science and Technology Research Forum* (SiRes 2018) yang diselenggarakan di Grand Tjokro Hotel pada tanggal 22-23 Oktober 2018. Hasil dari konferensi ini adalah artikel akan dipublikasikan pada jurnal yang terindeks Scopus (Lampiran 3)

Paten sederhana yang diklaim adalah metoda penentuan bahan isolat yang tepat dengan target obat yang diharapkan. Hal ini akan memotong waktu yang diperlukan dan mengurangi serangkaian uji potensi dan uji toksisitas. Hal ini pun berdampak pada pengurangan biaya penelitian. Pencarian bahan alam dari kelompok alkaloid dari lemon lokal, jahe gajah, dan bawang putih yang merupakan ligan dari Apolipoprotein A, sehingga dapat meningkatkan kadar HDL di dalam plasma. Metoda yang digunakan adalah protein docking virtual (Lampiran 4)

BAB 6

RENCANA DAN TAHAPAN BERIKUTNYA

6.1 Penyelesain Tahun Pertama

- Uji pengaruh fraksi etil asetat dan air terhadap profil lipid mencit tua yang diberi pakan tinggi lemak
- Uji toksisitas untuk pemakaian jangka panjang.
- Uji fitokimia
- Isolasi bahan aktif dari bawang putih, jahe gajah dan lemon lokal dari masing-masing fraksi dengan metode kromatografi lapis tipis (TLC) dengan menggunakan komposisi pelarut polar dan semipolar.
- Pemurnian isolate

6.2 Tahap Selanjutnya

1. Tahun kedua
 - Virtual docking senyawa alkaloid, flavonoid, dan polifenol yang berasal dari bawang putih, jahe gajah, dan lemon lokal dengan protein-protein yang berperan dalam metabolisme lipid, salah satunya adalah ApoA yang berperan dalam biosintesis HDL.
 - Uji toksisitas dan uji sitotoksitas dari senyawa yang dihasilkan berdasarkan virtual docking
2. Tahun ketiga
 - Analisis potensi senyawa murni terseleksi secara in vitro
 - Analisis potensi senyawa murni terseleksi secara in vivo
3. Tahun keempat
 - Analisis potensi senyawa murni dan penentuan komposisi campuran senyawa murni secara in vitro
 - Analisis potensi senyawa murni dan penentuan komposisi campuran senyawa murni secara in vivo
4. Tahun kelima

- Analisis aktifitas senyawa aktif dan penentuan dosis campuran secara in vitro
- Analisis aktifitas senyawa aktif dan penentuan dosis campuran secara in vivo



BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

- Fraksi etil asetat jahe gajah tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap terhadap profil lipid mencit tua yang diberi pakan tinggi lemak, tetapi mempengaruhi mikrostruktur jaringan hati terutama sinusoid dan hepatosit juga terhadap mikrostruktur dinding jantung dan dinding pembuluh darah koroner
- Fraksi etil asetat lemon berpengaruh terhadap kadar kolesterol total mencit tua yang diberi pakan tinggi lemak, tetapi tidak mempengaruhi fungsi hati, walaupun mempengaruhi mikrostruktur jaringan hati dan jantung terutama diameter arteri koronari
- Fraksi air lemon memengaruhi pada mikrostruktur jaringan hati dan ginjal
- Uji fitokimia dari ekstrak air, fraksi air dan fraksi etil asetat menunjukkan isolat yang terdapat pada bawang putih, lemon, dan jahe gajah sangat banyak dan mempunyai potensi untuk mengatur profil lipid, bahkan perlu dikembangkan untuk pengobatan penyakit lainnya, antra lain anti kanker atau penyakit-penyakit dengan gangguan hormonal.

7.2 Saran

- Penelitian penelusuran potensi zat aktif yang terkandung dalam bahan alam yang menjadi potensi lokal harus terus dikembangkan sehingga Indonesia mempunyai kekuatan pembuatan obat yang berasal dari tanaman herbal khas daerah yang ada di Indonesia
- Bawang putih lokal yang berasal dari Ciwidey sulit untuk diperoleh karena tidak menguntungkan secara ekonomi, perlu sarana budidaya tanaman lokal yang berpotensi sebagai bahan baku obat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adel S, Prakas J, 2010 Chemical composition and antioxidant properties of ginger root (*Zingiber officinale*). *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(24), 2674–9.
2. Al-Jabri NN, Hossain, 2014, Comparative chemical composition and antimicrobial activity study of essential oils from two imported lemon fruits samples against pathogenic bacteria. *Beni-suef university journal of basic and applied sciences* 3,247–253
3. Benerjee SK, Maulik SK, 2002, Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review, *Nutrition Journal*, 1(4), 1–14.
4. Bonow RO, 2002, Primary Prevention of Cardiovascular Disease. A Call to Action *Circulation*. 2002; 106:3140–41
5. Boshtam M, Asgary S, Moshtaghian J, Nadari G, Jafari-Dinani N, 2013, Impacts of fresh lime juice and peel on atherosclerosis progression in an animal model, *Impacts of fresh lime juice and peel on atherosclerosis progression in an animal model*, *ARYA Atheroscler* 2013, 9(6), 357–62.
6. Departement Kesehatan, 2013, Situasi kesehatan jantung, *Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Indonesia*.
7. Franceschi C, Campisi J, 2014, Advances in Geroscience: Impact on Healthspan and Chronic Disease Perspective Chronic Inflammation (Inflammaging) and Its Potential Contribution to Age-Associated Diseases, *Journals of Gerontology: biological sciences*, 69(S1), S4–S9.
8. Comparative chemical composition and antimicrobial activity study of essential oils from two imported lemon fruits samples against pathogenic bacteria Najwa Nasser AL-Jabri, Mohammad Amzad Hossain
9. Libby P, Theroux P, 2005, Pathophysiology of Coronary Artery Disease, *Circulation*, 111,3481–8.

10. Martins N, Petropoulos S, Ferreira ICFR, 2016. Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre- and post-harvest conditions: A review. *Food Chemistry*, 211, 41–50
11. McEniery CM, Wilkinson IB, 2013, The Pressures of Aging, Hypertension, 262:823–4)
12. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Brown BG, Ganz P, Vogel, RA, Crowe T, Howard G, Cooper CJ, Brodie B, Grines CL, DeMaria AN, 2004, Effect of Intensive Compared with Moderate Lipid-Lowering Therapy on Progression of Coronary Atherosclerosis A Randomized Controlled Trial, *American Medical Association*, 291(9), 1071–80.
13. Vasan RS, Benjamin EJ. 2016. The Future of Cardiovascular Biomedicine. The Future of Cardiovascular Epidemiology. *Circulation*, 133:2626–33
14. Yaghi S and Elkind SV. 2015. Lipids and Cerebrovascular Disease. *Research and Practice, Stroke* 46:3322-332.
15. Shadi Yaghi, MD; Mitchell S.V. Elkind, MD, MS
16. Yulianti AB, Sumarsono SH, Ridwan A, Yusuf AT, 2012, Increase of oxidative stress and accumulation of α -synuclein in Wistar rat's midbrain treated with rotenone. *ITB Journal of Science*,44A(4):317–32.
17. Yulianti AB, Sumarsono SH, Ridwan A, Yusuf AT, 2015, Hubungan *reactive oxygen species* (ROS) dan *superoxide dismutase* (SOD) dengan Protein α -sinuklein-larut air pada batang otak tikus yang diinduksi rotenon.
18. Yulianti AB, Sumarsono SH, Ridwan A, Yusuf AT, 2016, Decrease of Glutathione-total Concentration as Early Indicators Neuron Damage in Wistar rat's Brainstem treated with rotenone, *Asia Future Conference (AFC) 2016, Kitakyushu Japan*.

Lampiran 1. Draf Artikel

Semi Polar Compounds from Lemon-local. Focus on Lipid Metabolism Profile

Arief Budi Yulianti^{1,4*}, Sofhyanka Intan Raudina^{2,4}, Rifqi Mauludin Amrulloh^{2,4},
R.A. Retno Ekowati^{1,4}, Anissa Rahmah Furqaani^{1,4}, Maya Tejasari^{1,4},
Miranti Kania Dewi^{3,4}

¹Department of Histology & Medical Biology.

²Student of Faculty Medicine

³Department of Medical Rehabilitation.

³Department of Pharmacology.

⁴Faculty of Medicine, Bandung Islamic University, 22 Taman Sari Street, Bandung 40116, West Java, Indonesia

^{*)} Correspondent authors: budi.yulifk@gmail.com

Abstract. Natural herbs bioactivity study on potentially active compounds is main topic in our study. Lemon-local is one of the potential herbs. The objective was analyzed the potential of semi polar compounds from lemon-local on old mice lipid profile with high fat dietary. Experimental study using DDY mice, males, 50–55 weeks. Five of 30 mice were sacrificed before treatment (group6), group1 (negative control), groups2,3,4 and 5 were fed high fat dietary, group3, 4 and 5 were treated doses1, 2 and 3, respectively, orally. Parameters measured were body weight, HDL, TAG, total cholesterol. The results showed body weight of mice were above normal and dose2 treatment cause weight loss ($p=0.658$). The highest cholesterol level was in positive control and the lowest was in the group given doses2 ($p=0.042$). The highest triglycerides level was in the pretreatment group and the lowest was in the group given doses2 ($p=0.148$). The highest HDL was in the positive group and the lowest was in the group given doses2 ($p=0.278$). Semi polar compound from lemon-local at dose2 could be regulated profile lipid on old mice with high fat dietary. This research needs to be improved, especially biomechanism of active substances.

Keywords: Active compounds, lemon, lipid profile, old, semi polar.

1. Introduction

Lemon-local (*Citrus lemon*) are plants originating from India and Pakistan (1). Lemons are widely used in dishes and drinks, especially the role of enhancing the taste of food. Lemon is also used as a medicine because it is known to contain lots of vitamin C which acts as an antioxidant. Lemon is used as a medicine, especially as a drug to prevent obesity, diabetes mellitus, hypertension, cardiovascular disease and cancer (2) even though the mechanism is unclear. A lot of bio compound in lemons, especially from flavonoids, polyphenol, and alkaloid.

Flavonoids in juice are hesperidin, naringin (3), and eriocitrin, but in peel are polyethoxylated, flavones, limonoid, and disomic. In a study using rabbits as experimental animals it was obtained total serum antioxidant capacity in rabbits given juice or orange peel was higher than the control. The effect was same in juice or peel. (4).

Previous research has emphasized that lemon as a correction of taste for certain herbs that are not palatable, such as bitter taste or a pungent odour (5). The study of bioactivity of natural compound for medicine is a main topic of our research. Are the semi-polar compounds contained in lemon-locals potentially in lipid metabolism? This study aims to analyse the potential of semi polar compound of lemon-local to regulate lipid profiles of old mice high-fat fed dietary.

2. Methods

Semi polar compound from lemon-local were isolation in Central Laboratory, Padjadjaran University. Experiment animal was DDY mice, male, age 50–55 weeks, weight 40–50 g, from Biopharma. The ethics clearance got from Ethics Commission of the Faculty of Medicine, Bandung Islamic University. Adaptation and treatment were carried out in Animal Laboratory, School of Pharmacy, ITB. The dose used was 2n, 4n and 8n with n is the dose used in humans (4g/ Kg BW) (5) and converted to the dose with factor of 0.0026 (6) and converted to ratio semi polar compound to total fractionation. The treatment was given for 24 days, then the mice were sacrificed and measured blood plasma lipid profile. Five of 30 mice were sacrificed before treatment (group6), group1 (negative control), groups2,3,4 and 5 were fed high fat dietary, group3, 4 and 5 were treated doses1, 2 and 3, respectively, orally. Parameters measured were body weight before and after, high density lipoprotein (HD)L, triglyceride (TAG), and cholesterol-total. Analyse data using IBM SPSS 21.

3. Result

Average body weight before and after treatment respectively were 48.60 ± 0.52 , 49.16 ± 0.52 g ($p=0.658$) (Figure 1).

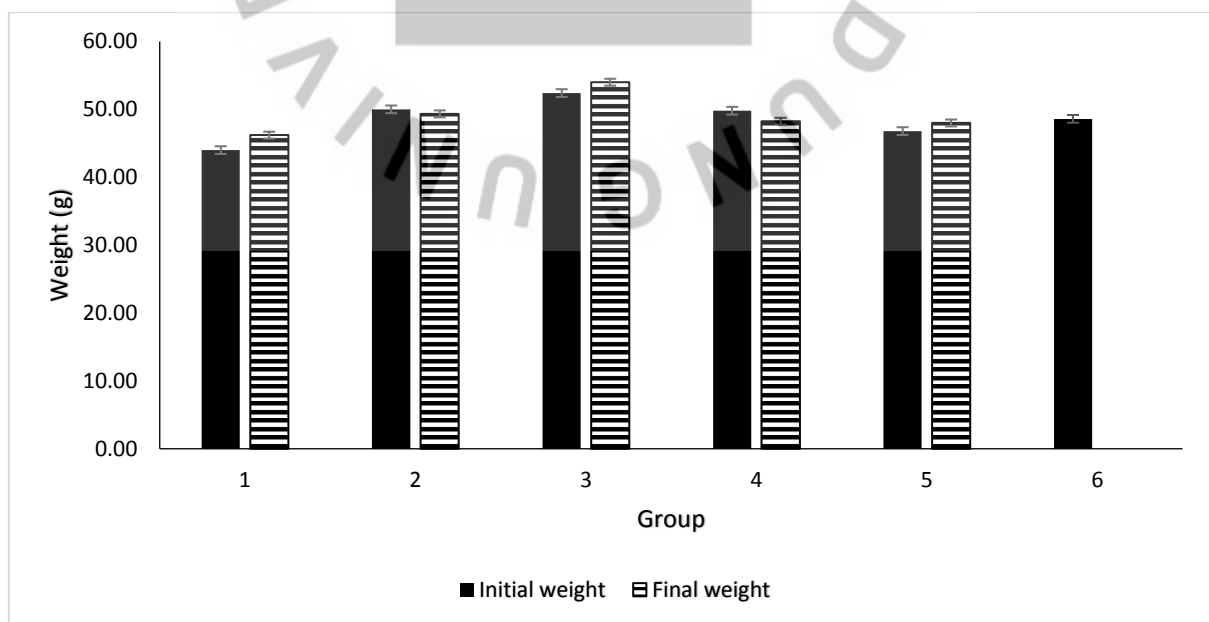


Figure 1. Mice body weight before and after treatment.

The average cholesterol-total was 95.84 mg/dL, with highest cholesterol-total level was in positive control and the lowest was in the doses2 group ($p=0.042$) (Figure 2)

The average of triglyceride (TAG) was 126.04 ± 3.87 mg/dL the highest triglycerides level was in the pre-treatment group and the lowest was in the doses2 group ($p=0.148$) (Figure2)

The average high-density lipoprotein (HDL) was 67.45 ± 1.55 mg/dL, the highest HDL was in the positive group and the lowest was in the doses2 group ($p=0.278$). (Figure 2).

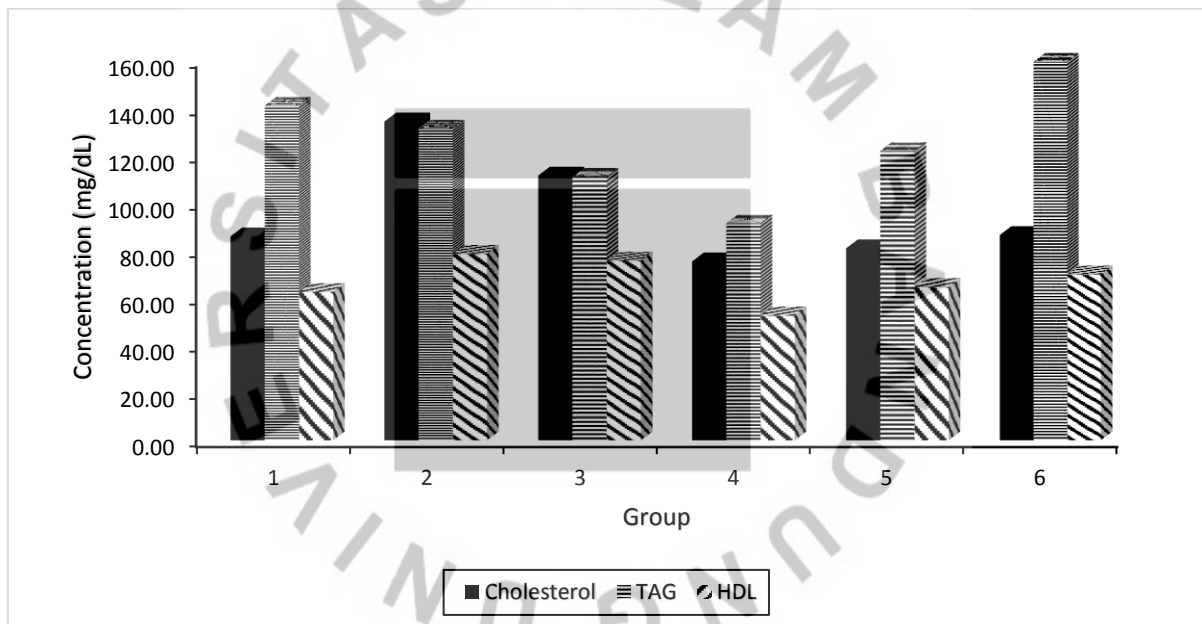


Figure 2. Cholesterol-total, TAG, and HDL DDY old mice with high fat fed dietary.

4. Discussion

The weight of old mice is not more than 40 g (7). In this study the average of mice body weight more than 40 g. Thus, the mice body weight would not be affected by the treatment, but it might be affected their lipid profile.

In this study, administration of semi-polar lemon-local had a positive effect on reducing total cholesterol levels, especially in mice treated with a dose 0.292 mg/Kg BW, likewise with TAG and HDL.

The active compound in semi-polar fraction of lemons-local are mainly alkaloids, flavonoids, and polyphenols. Alam et al, 2014 said that naringin, flavonoid family could fat accumulation through pathways suppressing LDL receptors (LDLR)(3). It was same with our research that semi polar compound from lemon-local decrease cholesterol-total levels. Thus, further study is needed, especially related to the active compound of genuine herbs.

In this study, the mice used were old with high-fat dietary. In predictable that profile lipid in blood plasma increase, cause of decreased of metabolism rate with high-fat dietary. So that the administration of semi-polar fraction from lemon-local could regulate the lipid.

5. Conclusion

Semi polar compound from lemon-local with dose 0.292 mg/Kg BW could be regulated profile lipid on old mice with high-fat dietary

6. References

- (1) Solomon IP, Oyebadejo SA, Ebenso IE, Otoho EA. Biochemical Effect of Citrus lemon Juice on the Liver of Growing Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Sch J Agric Vet Sci*. 2015;2(5):356–61.
- (2) González-Molina E, Domínguez-Perles R, Moreno, DA, García-Viguera C. Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health. *J Pharm Biomed Anal*. 2010;51:327–45.
- (3) Alam MA, Subhan N, Rahman MM, Uddin SJ, Reza HM, Sarker SD. Effect of Citrus Flavonoids , Naringin and Naringenin , on Metabolic Syndrome and Their. 2014;404–17.
- (4) Boshtam M, Asgary S, Moshtaghian J, Naderi G, Jafari-Dinani N, Sobhan A. Impacts of fresh lime juice and peel on atherosclerosis progression in an animal model. *ARYA Atheroscler*. 2013;9(6):357–62.
- (5) Yulianti AB, Rahmawaty I. Efek Proteksi Campuran Ekstrak Bawang Putih, Jahe Gajah dan Lemon Terhadap Kadar Kolesterol Total Darah Pada Tikus Tua Yang Terpapar Diet Tinggi Lemak. *Proceeding Unisba*. 2017;3:215–21.
- (6) Sundari D, Nuratmi B, Winarno MW. Toksisitas akut LD50 dan uji gelagat ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) Kunze) pada mencit. *Media Litbang Kesehat*. 2009;19(4):198–203.
- (7) Gargiulo S, Gramanzini M, Megna R, Greco A, Albanese S, Manfredi C, et al. Evaluation of growth patterns and body composition in c57bl/6j mice using dual energy x-ray absorptiometry. *Biomed Res Int*. 2014;2014.

7. Acknowledgments

This research was supported by Kemenristek DIKTI Funds. Acknowledgments are addressed to Kemenristek DIKTI and chairman of LPPM and staff, Bandung Islamic University.



Lampiran 2 Paten Sederhana

Deskripsi

Isolasi Alkaloid Lemon Lokal dengan Metode in Silico terhadap Protein ApoA

Bidang Teknik Invensi

Isolasi senyawa alkaloid dari lemon lokal (*Citrus lemon*) yang berpotensi sebagai pengatur profil lipid mencit tua yang diberi pakan tinggi lemak yang merupakan modifikasi pakan standar CP551 yang diperkaya dengan lemak sapi tidak larut dan kuning telur bebek (Yulianti dkk, 2017). Metode mengisolasi alkaloid yang kompatibel dengan protein ApoA dilakukan secara in silico.

Latar Belakang Invensi

Uraian Singkat Invensi

Uraian Lengkap Invensi

Klaim

Abstrak

**Isolasi Alkaloid Lemon Lokal dengan Metode in Silico
terhadap Protein ApoA**





