



# **KAJIAN IN SILICO DAN IN VITRO *Piper crocatum* Ruiz & Pav SEBAGAI INHIBITOR HMG-KoA REDUKTASE SERTA AKTIVITAS PENGHAMBATAN TERBENTUKNYA MALONDIALDEHIDA**

**BELLA FATIMA DORA ZAELANI**



**BIOKIMIA  
SEKOLAH PASCASARJANA  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2021**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



*@Hak cipta milik IPB University*

**IPB University**



**IPB University**  
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis berjudul Kajian In Silico dan In vitro *Piper crocatum* Ruiz & Pav sebagai Inhibitor HMG-KoA Reduktase serta Aktivitas Penghambatan Terbentuknya Malondialdehida adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juni 2021

*Bella Fatima Dora Zaelani*  
G851190111

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## RINGKASAN

BELLA FATIMA DORA ZAELANI. Kajian In Silico dan In vitro *Piper crocatum* Ruiz & Pav sebagai Inhibitor HMG-KoA Reduktase serta Aktivitas Penghambatan Terbentuknya Malondialdehida. Dibimbing oleh MEGA SAFITHRI dan DIMAS ANDRIANTO.

Penimbunan plak kolesterol dalam dinding pembuluh darah terjadi akibat molekul LDL (*Low Density Lipoprotein*) teroksidasi oleh radikal bebas, yang merupakan salah satu faktor resiko terjadinya penyakit jantung koroner. Enzim yang berperan dalam pembentukan kolesterol adalah enzim hidroksil metilglutaril-KoA reduktase (HMG-KoA reduktase). Enzim ini berperan mereduksi HMG-CoA menjadi mevalonat yang selanjutnya diubah menjadi kolesterol. Dalam kondisi hiperlipidemia, terjadi peningkatan *reactive oxygen species* (ROS), sehingga menimbulkan peroksidasi lipid di dalam tubuh dan menghasilkan produk oksidasi yaitu malondialdehida (MDA). Keberadaan ROS dapat dinetralisir dengan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan.

Pemanfaatan tanaman herbal menjadi alternatif dalam mengobati berbagai penyakit. Sirih merah mengandung senyawa aktif yang berpotensi sebagai inhibitor HMG-KoA reduktase dan antioksidan, seperti flavonoid, alkaloid, polifenol, fenolik, tanin, dan minyak atsiri. Penelitian sebelumnya telah banyak dilakukan penghambatan HMG-KoA reduktase secara *in vivo*. Penemuan obat dapat dipermudah dan dipercepat dengan prediksi pengikatan molekul ligan pada protein secara komputasi. Penelitian sebelumnya telah berhasil melakukan analisis senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi sirih merah. Penelitian mengenai penghambatan HMG-KoA reduktase secara *in silico* dan *in vitro* oleh sirih merah belum dilakukan. Penelitian ini menguji potensi senyawa ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksan sirih merah sebagai inhibitor HMG-KoA reduktase secara *in silico* dan *in vitro* serta penghambatan pembentukan malondialdehida.

Senyawa sirih merah dilakukan *virtual screening* menggunakan PyRx dan dilanjutkan analisis kelarutan dan toksisitas ligan. Penambatan molekul senyawa uji dilakukan menggunakan autodock vina terhadap ligan dengan energi afinitas tertinggi terhadap HMG-KoA reduktase (kode PDB: 1HWK) berdasarkan *virtual screening*. Ekstraksi sirih merah dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%, kemudian difraksinasi bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan air. Penghambatan HMG-KoA reduktase *in silico*, kemudian dibuktikan secara *in vitro* dengan konsentrasi akhir sampel 50 ppm, 100 ppm dan 200 ppm. Atorvastatin digunakan sebagai kontrol positif. Penghambatan pembentukan malondialdehida dilakukan dengan metode tiobarbituric acid (TBA) untuk melihat potensi aktivitas antioksidan sampel.

Hasil *virtual screening* menunjukkan ligan terpilih yaitu glabrescione, galokatekin, schisandrin B, 4-(4-methoxy-phenylamino)-2,3-dihydro-1H-4a,9-diaza-cyclopenta[b]fluorene-10-carbonitrile, 4-({4,6-Bis[(3R,5S)-3,5-diamino-1-piperidinyl]-1,3,5-triazin-2-yl} amino)benzenesulfonamide, dan 1,1'-(1,4-Butanediyl)bis{2,6-dimethyl-4-[(3-methyl-1,3-benzothiazol-2(3H)-ylidene)methyl]pyridinium} dan senyawa dengan energi afinitas tertinggi yaitu 4-({4,6-Bis[(3R,5S)-3,5-diamino-1-piperidinyl]-1,3,5-triazin-2-yl} amino)benzenesulfonamide sebesar -8.3 kkal/mol, berinteraksi dengan residu asam amino Ser684, Asp690, Lys691, Lys692, Lys735. Penghambatan terbesar HMG-KoA reduktase secara *in vitro* terdapat pada fraksi etil asetat 200 ppm yaitu sebesar 94% dan aktivitas tertinggi penghambatan pembentukan malondialdehida pada fraksi etil asetat serta terendah pada semua konsentrasi adalah fraksi air.

*Kata kunci: Senyawa bioaktif; HMG-KoA reduktase; sirih merah*

## SUMMARY

BELLA FATIMA DORA ZAELANI. In Silico and In vitro Study of *Piper crocatum* Ruiz & Pav as HMG-CoA Reductase Inhibitor and Inhibition Activity of Malondialdehyde Formation. Supervised by MEGA SAFITHRI and DIMAS ANDRIANTO.

The buildup of Cholesterol plaque in artery walls occurs due to oxidation of LDL (Low Density Lipoprotein) molecules by free radicals, which is a risk factor for coronary heart disease. The enzyme that plays a role in the formation of cholesterol is the hydroxyl methylglutaril-CoA reductase (HMG-CoA reductase) enzyme. In hyperlipidemic conditions, there is an increase in reactive oxygen species (ROS), causing lipid peroxidation in the body and producing oxidation products, malondialdehyde (MDA). The presence of ROS can be neutralized with compounds that may act as antioxidants.

Utilization of herbal plants is an alternative in treating various diseases. Red betel contains active compounds that have the potential to act as HMG-CoA reductase inhibitors, such as flavonoids, alkaloids, polyphenols, phenolics, tannins, and essential oils. Previous studies have carried out the inhibition of HMG-CoA reductase in vivo. Drug discovery can be facilitated and accelerated by computationally predictive of binding of protein and ligand molecules. Previous research has succeeded in analyzing the active compounds contained in the extract and fraction of red betel. Research on the inhibition of HMG-CoA reductase in vitro and in silico by red betel has not been carried out. This study aimed to predict potential of ethanol extract compounds, water fraction, ethyl acetate fraction, and red betel n-hexane fraction as HMG-CoA reductase inhibitors in silico and in vitro method.

Virtual screening was performed to 34 red betel compound using PyRx and continued with analysis of the solubility and toxicity of the ligand. The binding of compounds was carried out using autodock vina against the ligand with the highest energy affinity for HMG-CoA reductase (code PDB:1HWK) based on virtual screening. Extraction of red betel was carried out by maceration method using 70% ethanol, then fractionated gradually using n-hexane, ethyl acetate, and water as solvents. In silico inhibition of HMG-CoA reductase was then proven in vitro with the final sample concentrations of 50 ppm, 100 ppm and 200 ppm. Atorvastatin was used as a positive control. The inhibition of malondialdehyde formation was carried out using the thiobarbituric acid (TBA) method to see the potential antioxidant activity of the sample.

Virtual screening prediction results showed that the best ligands were galbrecone, galocatechins, schisandrin B, 4-(4-methoxy-phenylamino)-2,3-dihydro-1H-4a,9-diaza-cyclopenta[b]fluorene-10-carbonitrile, 4 - ({4,6-Bis [(3R, 5S) -3,5-diamino-1-piperidinyl] -1,3, 5-triazine-2-yl} amino) benzenesulfonamide, and 1,1'-(1,4-Butanediyl) bis {2,6-dimethyl-4 - [(3-methyl-1,3-benzothiazol-2 ( 3H) -ylidene) methyl] pyridinium} and the compound with the highest energy affinity, 4 - ({4,6-Bis [(3R, 5S) -3,5-diamino-1-piperidinyl] -1,3,5-triazine -2-yl} amino) benzenesulfonamide of -8.3 kcal/mol that interacting with amino acid residues Ser684, Asp690, Lys691, Lys692, Lys735. HMG-CoA reductase inhibition in vitro, the largest percentage of inhibition was found in the ethyl acetate fraction 200 ppm, which was 94% and inhibition of malondialdehyde formation had the highest activity in the ethyl acetate fraction and the lowest at all concentrations was the air fraction.

**Keywords:** Bioactive compounds; HMG-CoA reductase; red betel



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2021

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

*Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.*

*Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.*

**KAJIAN IN SILICO DAN IN VITRO *Piper crocatum* Ruiz & Pav  
SEBAGAI INHIBITOR HMG-KoA REDUKTASE SERTA  
AKTIVITAS PENGHAMBATAN TERBENTUKNYA  
MALONDIALDEHIDA**

**BELLA FATIMA DORA ZAELANI**

Tesis  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Magister Sains pada  
Program Studi Biokimia

**BIOKIMIA  
SEKOLAH PASCASARJANA  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2021**





**@Hak cipta milik IPB University**

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

1 Dr Laksmi Ambarsari, MS





Judul Tesis : Kajian In Silico dan In vitro *Piper crocatum* Ruiz & Pav sebagai Inhibitor HMG-KoA Reduktase serta Aktivitas Penghambatan Terbentuknya Malondialdehida

Nama : Bella Fatima Dora Zaelani  
NIM : G851190111

Disetujui oleh

Pembimbing 1:

Dr Mega Safithri, SSi MSi



Pembimbing 2:

Dr Dimas Andrianto, SSi MSi



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:  
Dr drh. Hasim, DEA  
NIP 196103281986011002



Dekan Sekolah Pascasarjana :  
Prof Dr Ir Anas Miftah Fauzi, M Eng  
NIP 196004191985031002



Tanggal Ujian : 29 April 2021

Tanggal Lulus:

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Agustus sampai Desember 2020 ini ialah pemanfaatan senyawa metabolit sekunder daun sirih merah, dengan judul “Kajian In Silico dan In vitro *Piper crocatum* Ruiz & Pav sebagai Inhibitor HMG-KoA Reduktase serta Aktivitas Penghambatan Terbentuknya Malondialdehida”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Dr Mega Safithri, SSi MSi, dan Dr Dimas Andrianto, SSi MSi, atas arahan, bimbingan dan ilmu yang telah diberikan. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada moderator seminar Dr Mohamad Rafi MSi, dan Dr Laksmi Ambarsari MS sebagai penguji luar komisi pembimbing. Di samping itu, penulis sampaikan terima kasih kepada staf laboratorium dan komdik yang telah membantu administrasi selama penelitian dan perkuliahan. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada orang tua penulis serta Ari, Yoga, Gita, Asrul, dan Elgi yang telah memberikan dukungan dan bantuan selama penelitian.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan pengetahuan.

Bogor, Juni 2021

*Bella Fatima Dora Zaelani*

## DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vi
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
1.5 Ruang Lingkup	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Sirih Merah	3
2.2 HMG-KoA Reduktase	4
2.3 Penambatan Molekuler	5
III METODE PENELITIAN	6
3.1 Alat dan Bahan	6
3.2 Prosedur Penelitian	7
IV HASIL	11
4.1 <i>In Silico</i>	11
4.1.1 Kelarutan Senyawa Bioaktif Sirih Merah	11
4.1.2 Toksisitas Senyawa Bioaktif Sirih Merah	13
4.1.3 Kualitas Struktur HMG-KoA Reduktase	14
4.1.4 Validasi Metode Penambatan Molekuler	15
4.1.5 Penambatan Molekul dan Visualisasi Ligan Uji	15
4.2 <i>In Vitro</i>	18
4.2.1 Kadar Air, Rendemen Ekstrak dan Fraksi Sirih Merah	18
4.2.3 Penghambatan Aktivitas HMG-KoA Reduktase	18
4.2.2 Penghambatan Pembentukan Malondialdehida oleh Sirih Merah	19
V PEMBAHASAN	20
5.1 <i>In Silico</i>	20
5.1.1 Kelarutan Senyawa Bioaktif Sirih Merah	20
5.1.2 Toksisitas Senyawa Bioaktif Sirih Merah	21
5.1.3 Kualitas Struktur HMG-KoA Reduktase	23
5.1.4 Validasi Metode Penambatan Molekuler	24
5.1.5 Penambatan Molekul dan Visualisasi Ligan Uji	26
5.2 <i>In Vitro</i>	28
5.2.1 Kadar Air, Rendemen Ekstrak dan Fraksi Sirih Merah	28
5.2.3 Aktivitas Penghambatan HMG-KoA Reduktase	29
5.2.2 Pengambatan Pembantuan Malondialdehida oleh Sirih Merah	32

VI SIMPULAN DAN SARAN	36
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	44

### DAFTAR TABEL

1 Ligan senyawa ekstrak dan fraksi daun sirih merah	6
2 Sistem reaksi inhibisi HMG-KoA reduktase	11
3 Ligan terpilih hasil <i>virtual screening</i>	12
4 Kelarutan senyawa bioaktif sirih merah berdasarkan aturan lipinski	12
5 Toksisitas ligan uji senyawa sirih merah dan ligan kontrol atorvastatin	13
6 Energi afinitas pengikatan ligan-reseptor	15
7 Ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik ligan terhadap reseptor	16
8 Rendemen ekstrak dan fraksi daun sirih merah	18

### DAFTAR GAMBAR

1 Daun sirih merah	3
2 Jalur biosintesis kolesterol dan penghambatan HMG-KoA reduktase	4
3 Sisi aktif HMG-KoA reduktase (kode PDB: 1HWK)	5
4 Diagram ramachandran HMG-KoA reduktase	14
5 Penghambatan Aktivitas HMG-KoA reduktase	19
6 Penghambatan Pembentukan Malondialdehida	20
7 Visualisasi struktur HMG-KoA reduktase sebelum dan sesudah preprasi,25 serta binding pocket HMG-KoA reduktase	25

### DAFTAR LAMPIRAN

1 Bagan alur penelitian <i>in silico</i>	45
2 Bagan alur penelitian <i>in vitro</i>	46
3 Nilai RMSD hasil validasi <i>native ligand</i> dengan reseptor	47
4 Visualisasi penambatan molekul ikatan ligan dengan reseptor	47
5 Kadar air, rendemen ekstrak dan fraksi daun sirih merah	48
6 Absorbansi inkubasi asam linoleat terhadap waktu	49
7 Kurva standar 1,1,3,3-tetrametoksipropana (TMP)	50