

Potensi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn.) Sebagai Pengaktif LDL Receptor Dan Penghambat HMG-CoA Reductase Secara Insilico

Nabila Ainur Rochim, Reza Hakim, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) mengandung berbagai macam senyawa aktif yang memiliki efek antihiperlipidemia. Namun, mekanisme dari senyawa aktif daun sirsak sebagai antihiperlipidemia belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur afinitas dari penambatan molekul antara senyawa aktif Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) terhadap aktivasi LDL receptor dan penghambatan HMG-CoA reductase dengan studi *In silico*.

Metode: Studi eksperimental *in silico* dengan metode *molecular docking* antara ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) terhadap protein LDL receptor dan HMG-CoA reductase dibandingkan dengan kontrol obat Simvastatin dalam menentukan afinitas senyawa aktif menggunakan parameter nilai energi bebas, konstanta inhibisi, interaksi permukaan, dan residu asam amino.

Hasil: Rutin memiliki nilai afinitas terbaik dari 10 senyawa aktif yang mampu mengaktifkan LDL receptor. Sedangkan Quercetin 3-O-neohesperidoside memiliki nilai afinitas terbaik diantara 5 senyawa aktif yang mampu menghambat HMG-CoA reductase dibandingkan dengan kontrol obat simvastatin. Senyawa Rutin dan Quercetin 3-O-neohesperidoside dengan nilai energi bebas berturut-turut -9.05 kcal/mol dan -9.56 kcal/mol, nilai konstanta inhibisi $232.27 \times 10^{-3} \mu\text{M}$ dan $97.88 \times 10^{-3} \mu\text{M}$, nilai interaksi permukaan 728,057 Å dan 601.156 Å serta persentase jumlah kesamaan residu asam amino dengan kontrol sebesar 71% dan 67%.

Kesimpulan: Senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) memiliki potensi yang tinggi sebagai antihiperlipidemia pada protein target LDL receptor dan HMG-CoA reductase.

Kata Kunci : Antihiperlipidemia, Daun Sirsak, LDL receptor, HMG-CoA reductase *in silico*, energi bebas, konstanta inhibisi, luas permukaan, residu asam amino.

Ethanollic Extract Potential of Soursop Leaves (*Annona Muricata* Linn.) As LDL Receptor Activator and HMG-CoA Reductase Inhibitor Insilico

Nabila Ainur Rochim, Reza Hakim, Dini Sri Damayanti*
Faculty of Medicine University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Soursop leaves (*Annona muricata* Linn.) contain various active compounds that have anti-hyperlipidemic effects. However, the mechanism of the active compound of soursop leaves as an antihyperlipidemic is unknown. This study aims to measure the affinity of the molecular docking between the active compounds of Soursop Leaves (*Annona muricata* Linn.) on LDL receptor activation and HMG-CoA reductase inhibition with the *In silico* study.

Method: *In silico* Experimental study by molecular docking method between ethanolic extract of soursop leaves (*Annona muricata* Linn.) towards LDL receptor and HMG-CoA reductase in determining the affinity of active compounds by using parameters such as free energy values, inhibition constants, surface interactions, and amino acid residue which are compared to Simvastatin.

Result: Rutin has the best affinity value out of 10 active compounds capable of activating LDL receptors. Meanwhile, Quercetin 3-O-neohesperidoside has the best affinity value among 5 active compounds that can inhibit HMG-CoA reductase which are compared to Simvastatin. Rutin and Quercetin 3-O-neohesperidoside compounds with free energy values of -9.05 kcal / mol and -9.56 kcal / mol, respectively, the inhibition constant values $232.27 \times 10^{-3} \mu\text{M}$ and $97.88 \times 10^{-3} \mu\text{M}$, surface interaction values are 728.057 Å and 601,156 Å and the percentage of the similarity of amino acid residues with the control was 71% and 67%.

Conclusion: Active compounds of soursop leaves (*Annona muricata* Linn.) have high antihyperlipidemic potential through target protein LDL receptor and HMG-CoA reductase.

Keyword: Antihyperlipidemia, Soursop leaves, LDL receptor, HMG-CoA reductase, *in silico*, free energy values, inhibition constants, surface interactions, amino acid residue.

*Correspondence:

Dini Sri Damayanti

Jl MT Haryono 193 Malang City, East Java Indonesia, 65145

Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Hiperlipidemia merupakan suatu kondisi dimana tingginya kadar profil lipid yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total, trigliserida, *Low Density Lipoprotein* (LDL) serta terjadi penurunan *High Density Lipoprotein* (HDL).¹ Di Indonesia, prevalensi hiperlipidemia sebanyak 9,3% pada usia 25-34 tahun dan pada usia 55-64 tahun meningkat hingga 15,5%.² Hiperlipidemia merupakan salah satu faktor risiko dari aterosklerosis, yang memicu terjadinya penyakit jantung koroner, hipertensi dan stroke.³

Penanganan hiperlipidemia selama ini dilakukan pada perubahan gaya hidup dan terapi farmakologis.⁴ Pada terapi farmakologis dapat dipertimbangkan jika kadar profil lipid yang sangat tinggi dengan mekanisme kerja untuk menurunkan kadar profil lipid plasma dan meningkatkan kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) plasma. ACC/AHA 2013 menekankan kepada pemakaian statin dan persentase penurunan LDL (*Low Density Lipoprotein*) dari nilai awal.⁵ Mekanisme kerja dari statin yang merupakan *first line* terapi hiperlipidemia yaitu dengan menghambat kerja enzim HMG-CoA *reductase* dan meningkatkan aktivitas LDL *receptor*.^{6,11}

Namun, penggunaan obat-obat sintetik hiperlipidemia memiliki efek samping yang cukup berbahaya, seperti hepatotoksik, malaise, *rhabdomyolysis*, miopati, hiperglikemia, hiperurisemia, *flushing* dan lain-lain.^{28,5} Adanya efek samping dari penggunaan obat konvensional dalam terapi hiperlipidemia menyebabkan masyarakat beralih menggunakan herbal. Masyarakat beranggapan bahwa herbal dipercaya mempunyai efek terapi, mudah didapat serta dianggap lebih aman.²⁹ Salah satu herbal obat yang digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol darah adalah daun sirsak (*Annona muricata* Linn.). Daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) memiliki senyawa metabolit yang berkhasiat untuk memperbaiki profil lipid yaitu flavonoid, alkaloid, polifenol, terpenoid, tanin dan saponin.^{7,8,9} Senyawa metabolit flavonoid memiliki peran dalam membantu meningkatkan aktivasi LDL *receptor* di hepar serta dapat menghambat enzim HMG CoA *reductase*. Selain itu, senyawa alkaloid, polifenol, dan terpenoid juga memiliki peran dalam menghambat enzim HMG CoA *reductase*.^{9,10}

Oleh sebab itu, untuk membuktikan mekanisme kerja herbal Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) sebagai antikolesterol, maka perlu dilakukan

penelitian lebih lanjut. Penelitian ini menggunakan pendekatan *in silico*, yaitu dengan menambatkan antara ligan senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) dengan protein target LDL *receptor* dan HMG-CoA *reductase*, serta menggunakan kontrol obat Simvastatin. Mengingat studi *in silico* mengenai potensi ekstrak etanol daun sirsak sebagai pengaktif LDL *receptor* dan penghambat HMG-CoA *reductase* belum banyak diteliti, maka penelitian ini perlu dilakukan guna menjelaskan mekanisme kerja Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) sebagai antikolesterol.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode komputasi *molecular docking (in silico)* melalui penambatan 26 senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang didapat dari data GC-MS penelitian sebelumnya yang merupakan senyawa aktif dari flavonoid, alkaloid dan polifenol¹³ terhadap protein target LDL *receptor* dan HMG-CoA *reductase* dan visualisasi menggunakan *software drug discovery*.

Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan alat berupa perangkat keras komputer dengan spesifikasi processor Intel Celeron 4205U Dual core 1.8 GHz base frequency, 4GB RAM, sistem operasi Windows 10 Home x64, koneksi internet, *software* berbasis web autodock 4.0 pada *docking server* (<http://www.dockingserver.com>).

Bahan yang diperlukan dalam melakukan penambatan molekul yaitu struktur senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak yang didapatkan dari PubChem. Struktur obat Simvastatin (CID Pubchem: 54454) yang diunduh melalui website Pubchem (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Struktur tiga dimensi protein target LDL *receptor* (PDB ID: 1N7D) dan HMG-CoA *reductase* (PDB ID: 1HW9) yang diunduh dari website Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/search>).

Teknik Analisis Data

Hasil uji *in silico* diamati dengan parameter energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, interaksi permukaan dan residu asam amino antara ligan dan protein target.

HASIL PENELITIAN

Hasil dan Analisa data Uji *Molecular Docking* Senyawa Daun Sirsak dengan LDL receptor

Berdasarkan hasil *docking* pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa dari 10 senyawa aktif terdapat 3 senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak yang diprediksi mempunyai potensi yang tinggi mengaktifkan LDL receptor. Dari ketiga senyawa aktif tersebut didapatkan urutan tertinggi sampai terendah dalam mengaktifkan LDL receptor adalah Rutin dengan nilai energi bebas yaitu -9.05 kcal/mol, Konstanta inhibisi $232.27 \times 10^{-3} \mu\text{M}$, Interaksi permukaan sebesar 728,057 Å, serta jumlah kesamaan residu asam amino dengan kontrol diantaranya SER131, GLN133, PHE132, ASN135, dan CYS127 yang berjumlah 5 residu asam amino.

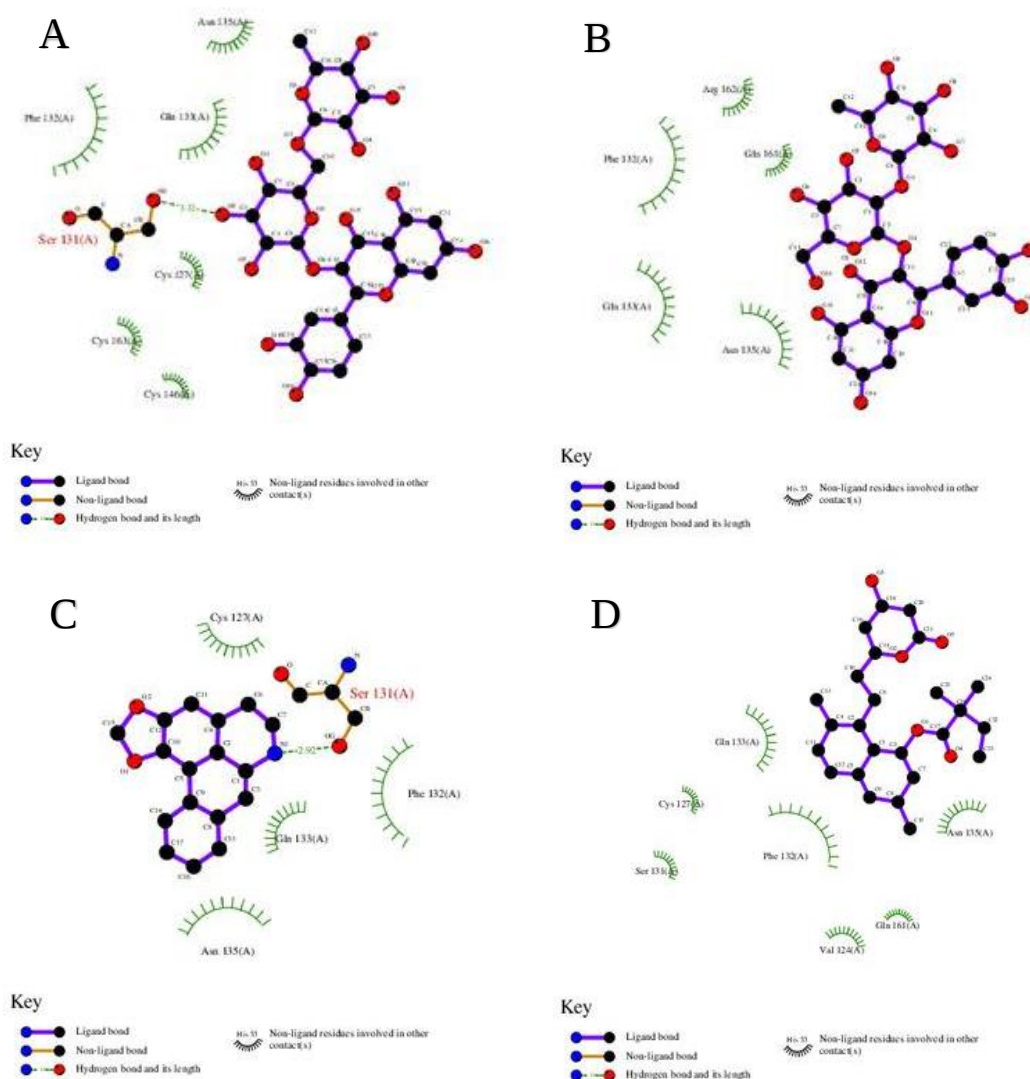
Quaracetin 3-O-neohesperidoside dengan nilai energi bebas yaitu -9.14 kcal/mol, Konstanta inhibisi $200.24 \times 10^{-3} \mu\text{M}$, Interaksi permukaan sebesar 558.798 Å, serta jumlah kesamaan residu asam amino dengan kontrol diantaranya GLN133, PHE132, ASN135, dan GLN161 yang berjumlah 4 residu asam amino dengan persentase 57%. Senyawa aktif Anonaine, dengan nilai energi bebas yaitu -7.11 kcal/mol, Konstanta inhibisi $6.12 \mu\text{M}$, Interaksi permukaan sebesar 490.929 Å, serta jumlah kesamaan residu asam amino dengan kontrol diantaranya SER131, PHE132, GLN133, ASN135, dan CYS127 yang berjumlah 5 residu asam amino dengan persentase 71%. Residu asam amino senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak terhadap LDL receptor ditunjukkan pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil Analisis *Molecular Docking* Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) dan Simvastatin terhadap LDL receptor

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (uM)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Jumlah ikatan hidrogen dibanding Simvastatin	Jumlah Kesamaan residu asam amino yang terikat
Simvastatin	-5.78	57.91	617.648	Kation-pi: PHE132 Hidrofobik: VAL124, CYS127 Lain-lainnya: GLN133, ASN135, SER131, GLN161	0	7 100%
Rutin	-9.05	232.27×10^{-3}	728.057	Ikatan hidrogen: SER131 Polar: GLN133 Hidrofobik: PHE132 Lain-lainnya: ASN135, CYS163, CYS127, CYS146	1	5 71%
Quaracetin 3-O-neohesperidoside	-9.14	200.24×10^{-3}	558.798	Polar: GLN133, ARG162 Kation-pi: PHE132 Lain-lainnya: ASN135, GLN161	0	4 57%
Anonaine	-7.11	6.12	490.929	Ikatan hidrogen: SER131 Kation-pi: PHE132 Lain-lainnya: GLN133, ASN135, CYS127	1	5 71%
Isolaureline	-6.70	12.33	554.693	Ikatan hidrogen: CYS127, SER131 Polar: GLN133 Kation-pi: PHE132 Lain-lainnya: ASN135, GLN161	1	5 71%
Xylopine	-6.52	16.56	542.69	Ikatan hidrogen: SER131 Polar: GLN133 Kation-pi: PHE132 Hidrofobik: CYS127 Lain-lainnya: ASN135, GLN161	1	5 71%
Stepharine	-6.38	21.03	473.842	Ikatan hidrogen: GLN133 Polar: ASN135, SER131 Kation-pi: PHE132 Lain-lainnya: GLN161, CYS127	1	5 71%
Reticuline	-6.36	21.71	577.461	Ikatan hidrogen: SER131 Hidrofobik: PHE132, CYS127 Lain-lainnya: GLN133, ASN135, ARG162	1	5 71%
Anomuricine	-6.06	35.84	459.937	Ikatan hidrogen: GLN133 Kation-pi: PHE132 Hidrofobik: CYS127 Lain-lainnya: ASN135, SER131, ARG162, GLN161	1	5 71%
Coclaurine	-6.02	38.37	532.686	Ikatan hidrogen: SER131 Polar: GLN133 Kation-pi: PHE132 Hidrofobik: CYS127 Lain-lainnya: ASN135, VAL124	1	5 71%
Atherosperminine	-6.01	39.02	581.914	Polar: ARG162 Kation-pi: PHE132 Hidrofobik: CYS127 Lain-lainnya: ASN135, SER131, GLN161	0	4 57%

Keterangan: Data yang ditampilkan merupakan hasil dari penambatan dari 26 senyawa zat aktif, hanya ada 10 senyawa zat aktif yang memiliki nilai energi bebas diatas -6 kcal/mol, dengan kontrol Simvastatin.

Gambar 1 Interaksi Senyawa Aktif Daun Sirsak dan Simvastatin dengan LDL receptor



(A) Rutin; (B) Quercetin 3-O-neohesperidoside; (C) Anonaine; (D) Simvastatin (Kontrol). Dari penambahan dari 26 senyawa zat aktif, hanya ada 3 senyawa zat aktif yang memiliki afinitas tertinggi ditinjau dari 4 parameter penelitian.

Hasil dan Analisa data Uji Molecular Docking Senyawa Daun Sirsak dengan HMG-CoA reductase

Berdasarkan hasil *docking* pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa dari 5 senyawa aktif terdapat 3 senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak yang diprediksi mempunyai potensi yang tinggi menghambat HMG-CoA reductase. Dari ketiga senyawa aktif tersebut didapatkan urutan tertinggi sampai terendah dalam menghambat HMG-CoA reductase adalah Quercetin 3-O-neohesperidoside dengan nilai energi bebas yang dimiliki yaitu -9.56 kcal/mol, Konstanta inhibisi $97.88 \times 10^{-3} \mu\text{M}$, Interaksi permukaan $601.156 \text{ \AA}$, serta jumlah kesamaan residu asam amino dengan kontrol

berjumlah 4, diantaranya ALA564, ARG568, VAL720, dan LYS722 dengan persentase 67%. Senyawa Rutin memiliki nilai energi bebas yaitu -9.22 kcal/mol, Konstanta inhibisi $97.88 \times 10^{-3} \mu\text{M}$, Interaksi permukaan sebesar $601.156 \text{ \AA}$, serta jumlah kesamaan residu asam amino dengan kontrol yang berjumlah 4 residu asam amino ARG571, ASN567, ARG568, dan ALA564 dengan persentase 67%. Senyawa Quercetin, dengan nilai energi bebas yaitu -6.53 kcal/mol, Konstanta inhibisi $16.47 \mu\text{M}$, Interaksi permukaan sebesar $515.147 \text{ \AA}$, serta jumlah kesamaan residu asam amino dengan kontrol diantaranya LYS722, ARG568, ARG571, ASN567, VAL720 yang berjumlah 5 residu asam amino dengan persentase 83%. Residu asam amino

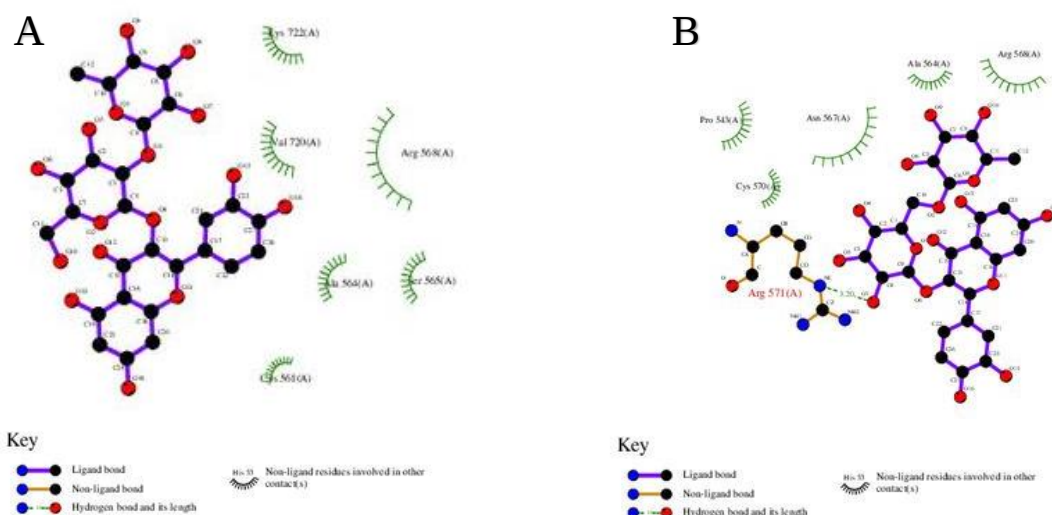
senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak terhadap LDL *receptor* ditunjukkan pada **Gambar 2**.

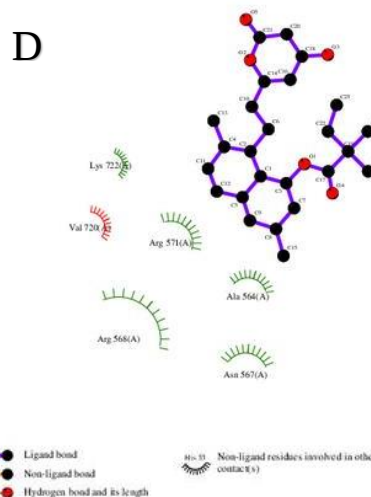
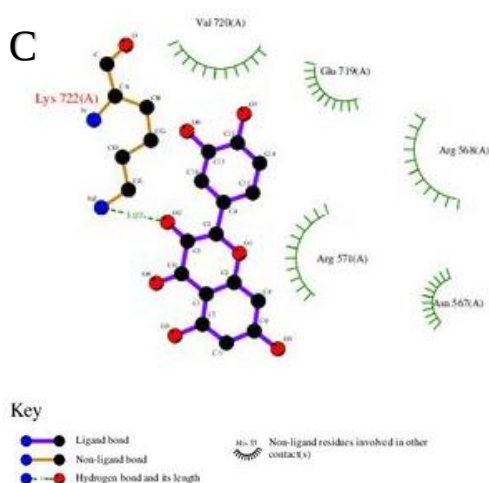
Tabel 2. Hasil Analisis *Molecular Docking* Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) dan Simvastatin terhadap HMG-CoA *reductase*

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (uM)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Jumlah ikatan hidrogen dibanding Simvastatin	Jumlah Kesamaan residu asam amino yang terikat
Simvastatin	-4.99	221.42	556.817	Polar: ARG568 Hidrofobik: ALA564, VAL720 Lain-lainnya: ARG571, ASN567, LYS722	0	6 100%
Quercetin 3-O-neohesperidoside	-9.56	97.88 x 10 ⁻³	601.156	Hidrofobik: ALA564 Lain-lainnya: ARG568, VAL720, LYS722, SER565, CYS561	0	4 67%
Rutin	-9.22	175.89 x 10 ⁻³	649.206	Ikatan hidrogen : ARG571 Polar: ASN567, ARG568 Hidrofobik: PRO543, CYS570 Lain-lainnya: ALA564	1	4 67%
Quercetin	-6.53	16.47	515.147	Ikatan hidrogen: LYS722 Polar: ARG568, ARG571, GLU719, ASN567 Hidrofobik: VAL720	1	5 83%
Chlorogenic acid	-5.97	42.27	523.229	Ikatan hidrogen: CYS561 Polar: ARG568, ARG571, ASN567, LYS722 Lain-lainnya: VAL720, ALA564	1	6 100%
Catechine	-5.91	46.38	503.331	Polar: ARG571, ASN567 Hidrofobik: PRO543 Lain lain : CYS545	1	2 33%

Keterangan: Data yang ditampilkan merupakan hasil dari penambatan dari 26 senyawa zat aktif, hanya ada 3 senyawa zat aktif yang memiliki nilai energi bebas diatas -6 kcal/mol, dengan kontrol Simvastatin.

Gambar 2 Interaksi Senyawa Aktif Daun Sirsak dan Simvastatin dengan HMG-CoA *reductase*





(A) *Quercetin 3-O-neohesperidoside*; (B) *Rutin*; (C) *Quercetin*; (D) *Simvastatin* (Kontrol). Dari penambatan dari 26 senyawa zat aktif, hanya ada 3 senyawa zat aktif yang memiliki afinitas tertinggi ditinjau dari 4 parameter penelitian.

PEMBAHASAN

Uji *Molecular Docking* Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.)

Potensi senyawa aktif daun sirsak dalam penelitian ini diprediksi menggunakan metode *molecular docking*. *Molecular docking* merupakan studi tentang bagaimana dua atau lebih struktur molekul bergabung satu sama lain. *Molecular docking* digunakan untuk memprediksi struktur kompleks antarmolekul yang terbentuk antara dua atau lebih molekul. Ada beberapa kemungkinan di mana ia mengikat protein. Dalam metode ini, peneliti harus mempelajari kualitas dan kuantitas energi antara partikel yang berinteraksi.¹⁴

Dalam melakukan penelitian berbasis komputasi *molecular docking*, hasil dari *docking* dilihat melalui beberapa parameter diantaranya Energi ikatan bebas (ΔG), Konstanta inhibisi (K_i), Interaksi permukaan dan Residu asam amino untuk penentuan afinitas ligan terhadap reseptor. Afinitas ikatan merupakan aspek penting yang harus diperhatikan dalam interaksi antara ligan dan reseptor.³⁰ Energi ikatan bebas (ΔG) yang merupakan parameter stabilitas konformasi antara ligan dan reseptor dalam satuan kkal/mol. Ligan-reseptor yang berinteraksi seringkali berada pada keadaan energi paling rendah, kondisi ini membuat molekul dalam keadaan stabil, oleh karena itu semakin kecil nilai ΔG maka semakin stabil interaksi antara ligan dan reseptor.¹⁶ Konstanta inhibisi (K_i), parameter ini dari interaksi ligan dengan protein yang menunjukkan adanya proses penghambatan, semakin rendah nilai K_i , maka semakin efektif aktivitas penghambatannya dikarenakan konsentrasi

molekul yang dibutuhkan untuk menghambat semakin kecil.^{15,17} Interaksi permukaan merupakan parameter dari interaksi ligan dengan protein yang dapat menilai potensial yang tinggi untuk saling berinteraksi. Semakin besar nilai interaksi permukaan maka ikatan yang terjadi semakin stabil dan menghasilkan aktivitas biologis yang tinggi, sebaliknya semakin kecil nilai maka ikatannya semakin rendah. Residu asam amino, diperkirakan jumlah kesamaan posisi ikatan terhadap residu asam amino yang sama dengan kontrol memiliki ikatan yang kuat dan aktivitas biologis yang sama seperti kontrol.¹⁸

Dengan demikian semakin rendah nilai energi bebas dan nilai konstanta inhibisi, semakin tinggi nilai luas permukaan serta semakin banyak jumlah residu asam amino yang sama yang terikat dibandingkan kontrol, maka diprediksi suatu senyawa aktif tersebut mempunyai potensi menyerupai kontrol.

Potensi Senyawa Aktif Daun Sirsak Dalam Mengaktifkan LDL *receptor*

Berdasarkan hasil penambatan, menunjukkan bahwa senyawa aktif daun sirsak yang diidentifikasi terdapat 10 senyawa yang memiliki afinitas tinggi terhadap protein target LDL *receptor*. Diantara 10 senyawa yang memiliki afinitas yang tinggi, diambil tiga senyawa yang tertinggi berdasarkan empat parameter penelitian, yaitu *Rutin*, *Quercetin 3-O-neohesperidoside* dan *Anonaine* (Tabel 1).

Senyawa *Quarcetin 3-O-neohesperidoside*, *Rutin* dan *Anonaine* adalah senyawa aktif daun sirsak yang memiliki nilai energi bebas terendah dan dibawah kontrol simvastatin jika dibandingkan dengan senyawa aktif daun sirsak yang lain. Nilai energi bebas yang diperoleh tersebut menjelaskan bahwa senyawa daun sirsak telah berikatan dengan *active site* dari protein target. Nilai energi bebas yang rendah ini akan mampu mengikat molekul dengan kuat dan menimbulkan potensi aktifitas biologis.²⁰ Hal tersebut didukung oleh pernyataan Damayanti *et al.*, (2017) yang menyatakan bahwa energi bebas yang memiliki nilai -7 kcal/mol atau lebih kecil menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki afinitas yang tinggi terhadap protein target dan melakukan suatu ikatan pada *active site* dari protein target.¹⁵

Berdasarkan nilai interaksi permukaan yang didapatkan senyawa *Rutin*, *Quarcetin 3-O-neohesperidoside* dan *Anonaine* memiliki nilai interaksi permukaan tertinggi dari senyawa aktif yang lainnya. Nilai interaksi permukaan yang tinggi akan memberikan peluang tinggi bagi senyawa aktif untuk berinteraksi dengan protein target, serta menunjukkan adanya aktifitas biologis yang terjadi lebih tinggi.^{20,21}

Nilai konstanta inhibisi (K_i) terendah didapatkan pada senyawa *Quarcetin 3-O-neohesperidoside* dan *Rutin* yang mencapai skala nanomolar. Semakin tinggi nilai K_i yang ada, kesetimbangan reaksi yang terjadi cenderung menuju kearah penguraian. Hal ini menyebabkan ikatan ligan dan reseptor terjadi cenderung lebih lemah dan tidak stabil.¹⁷ Nilai K_i yang rendah menunjukkan bahwa hambatan antara ligan dan protein target yang kecil sehingga mudah terjadi ikatan, terbentuk suatu kompleks ligan protein dan semakin stabil.²² Namun, semakin kecil nilai K_i yang dimiliki oleh suatu senyawa aktif, maka dosis yang dibutuhkan untuk menimbulkan efek farmakologis juga semakin kecil. Sehingga senyawa aktif ini beresiko untuk menimbulkan efek toksik.²¹ Nilai K_i dari senyawa *Quarcetin 3-O-neohesperidoside*, *Rutin* dan *Anonaine* yang lebih kecil dari kontrol menunjukkan bahwa adanya penghambatan dalam ikatan antara senyawa aktif dengan protein target LDL *receptor* lebih kecil daripada simvastatin.

Senyawa *Rutin* dan *Anonaine* memiliki 71% jumlah kesamaan residu asam amino terhadap *active site* dari simvastatin dan ditemukan adanya ikatan hidrogen (**Gambar 1**). Menurut Bintari (2018) adanya ikatan hidrogen pada saat proses

penambatan dan tingginya jumlah kesamaan residu asam amino dibandingkan kontrol diprediksi memiliki ikatan yang kuat.²³ Sedangkan pada senyawa *Quarcetin 3-O-neohesperidoside* hanya memiliki 57% kesamaan residu asam amino dengan kontrol (**Gambar 1**). Residu asam amino yang dihasilkan antara ligan dan reseptor dibandingkan dengan kontrol menunjukkan bahwa ligan berpotensi memiliki fungsi yang sama dengan kontrol.²⁰ Pada residu asam amino senyawa aktif daun sirsak yang berbeda dengan kontrol menunjukkan posisi *active site* asam amino yang berbeda memungkinkan memiliki potensi biologis yang berbeda.²⁴

Pada penelitian ini digunakan kontrol obat Simvastatin. Simvastatin merupakan terapi *first line* dari terapi hiperlipidemia. Simvastatin merupakan obat antihiperlipidemia untuk LDL kolesterol dan menurunkan kolesterol total yang memiliki mekanisme kerja dengan meningkatkan aktivitas LDL *receptor* di permukaan sel hati. Selama proses sintesis kolesterol di hati, simvastatin dapat meningkatkan aktivitas LDL *receptor*, sehingga mempercepat laju metabolisme LDL di hati dan mengurangi simpanan LDL plasma.¹¹ Mekanisme ini dibuktikan pada penelitian yang dilakukan Harini (2009) pada tikus putih yang diinduksi oleh diet tinggi lemak dan diberikan simvastatin dosis 0,18 mg/hari/200 g BB menunjukkan hasil adanya penurunan pada kadar LDL pada hari ke-14 sampai hari ke-28.¹⁹ Oleh sebab itu, peneliti memakai simvastatin sebagai kontrol dan protein target LDL *receptor* dalam penelitian ini.

Berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan tiga senyawa aktif daun sirsak yaitu *Rutin*, *Quercetin 3-O-neohesperidoside* dan *Anonaine* terhadap protein target LDL *receptor* yang merupakan senyawa turunan flavonoid dan alkaloid memiliki peran dalam mengaktivasi LDL *receptor* di permukaan sel hati guna menghasilkan peningkatan pengambilan kembali LDL kolesterol dari darah, sehingga kadar LDL kolesterol menurun.¹⁰ Senyawa aktif dapat bekerja sebagai obat karena senyawa aktif tersebut memiliki mekanisme yang sama seperti obat konvensional. Pernyataan ini sesuai dengan pendapat peneliti lain bahwa senyawa aktif daun sirsak yaitu rutin 10 mg/kg dapat menurunkan kadar LDL kolesterol sebanyak 48,4% pada percobaan menggunakan tikus yang diinduksi oleh diet tinggi lemak.²⁵

Meskipun proses penambatan dari senyawa aktif daun sirsak berhasil dan memiliki nilai afinitas

yang baik, ada kemungkinan pada uji *in vivo* memiliki efek yang tidak diharapkan yaitu tidak dapat mengaktifkan LDL *receptor*, dikarenakan struktur molekul dari senyawa aktif daun sirsak berbeda dengan simvastatin. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan secara *in vivo* untuk membuktikan bahwa senyawa aktif daun sirsak yang lain memiliki mekanisme kerja yang sama dengan simvastatin.

Potensi Senyawa Aktif Daun Sirsak Dalam Menghambat HMG-CoA *reductase*

Berdasarkan hasil penambatan, menunjukkan bahwa senyawa aktif daun sirsak yang diidentifikasi terdapat 5 senyawa yang memiliki afinitas tinggi terhadap protein target LDL *receptor*. Diantara 5 senyawa yang memiliki afinitas yang tinggi, diambil tiga senyawa yang tertinggi berdasarkan empat parameter penelitian, yaitu *Quercetin 3-O-neohesperidoside*, *Rutin* dan *Quercetin*.

Nilai energi ikatan bebas terendah adalah *Quercetin 3-O-neohesperidoside*, *Rutin* dan *Quercetine* yang dibawah kontrol simvastatin jika dibandingkan dengan senyawa aktif daun sirsak yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa ligan memiliki afinitas tinggi untuk dapat menimbulkan potensi menghambat enzim atau protein target HMG-CoA *reductase*, dimana berdasarkan teori mengenai nilai energi bebas yaitu semakin rendah nilai energi ikatan bebas yang dimiliki maka nilai afinitas ikatan ligan dan reseptor semakin tinggi. Nilai energi ikatan bebas yang rendah mampu berikatan dengan protein target dengan kuat dan menimbulkan potensi aktifitas biologis²¹ sehingga protein target HMG-CoA *reductase* merupakan target obat yang baik dari simvastatin dalam menghambat pembentukan kolesterol di tubuh.

Berdasarkan nilai interaksi permukaan didapatkan urutan dari terbesar berturut-turut adalah senyawa *Rutin* dan *Quercetin 3-O-neohesperidoside*. Sedangkan pada senyawa *Quercetin* memiliki nilai interaksi permukaan dibawah nilai kontrol simvastatin. Nilai interaksi permukaan yang tinggi akan memberikan peluang tinggi bagi senyawa aktif untuk berinteraksi dengan protein target, serta menunjukkan adanya aktifitas biologis yang terjadi lebih tinggi.^{20,21}

Nilai konstanta inhibisi (Ki) terendah didapatkan pada senyawa *Quercetin 3-O-neohesperidoside* dan *Rutin* yang mencapai skala nanomolar. Nilai Ki yang rendah menunjukkan bahwa hambatan antara ligan dan protein yang kecil

sehingga mudah terjadi ikatan, terbentuk suatu kompleks ligan protein dan semakin stabil.²² Senyawa aktif ini beresiko untuk menimbulkan efek toksik, karena semakin kecil nilai Ki yang dimiliki oleh suatu senyawa aktif, maka dosis yang dibutuhkan untuk menimbulkan efek farmakologis juga semakin kecil.²¹ Nilai Ki dari senyawa *Quarcetin 3-O-neohesperidoside*, *Rutin* dan *Quercetin* yang lebih kecil dari kontrol menunjukkan bahwa adanya penghambatan dalam ikatan antara senyawa aktif dengan protein target HMG-CoA *reductase* lebih kecil daripada simvastatin.

Senyawa *Quercetin* memiliki 83% kesamaan residu asam amino dengan kontrol. Sedangkan *Quarcetin 3-O-neohesperidoside* dan *Rutin* hanya memiliki 67% jumlah kesamaan residu asam amino terhadap *active site* dari simvastatin (**Gambar 1**). Pada senyawa *Rutin* dan *Quercetin* ditemukan adanya 1 ikatan hidrogen (**Gambar 1**). Dimana adanya ikatan hidrogen menunjukkan bahwa ikatan hidrogen mempengaruhi kuat afinitas ligan terhadap protein target.²⁷ Residu asam amino yang dihasilkan antara ligan dan reseptor dibandingkan dengan kontrol menunjukkan bahwa ligan mampu menghambat aktifitas protein target dan berpotensi memiliki fungsi yang sama dengan kontrol.²⁰

Pada penelitian ini digunakan kontrol obat Simvastatin. Simvastatin merupakan terapi *first line* dari terapi hiperlipidemia. Simvastatin merupakan obat antihiperlipidemia untuk menurunkan kolesterol total dan LDL yang memiliki mekanisme kerja dengan cara menghambat enzim *3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A* (HMG-CoA) *reductase*. Obat ini menginhibisi aktivitas enzim HMG-CoA *reductase* yang mengubah Asetil-CoA menjadi asam mevalonate sehingga kolesterol tidak terbentuk.¹¹ Mekanisme ini dibuktikan pada penelitian yang dilakukan oleh Ariantari (2010) pada tikus putih diinduksi diet tinggi lemak dan diberikan simvastatin 0,9 mg/kg BB menunjukkan adanya penurunan kadar kolesterol.²⁶ Oleh sebab itu, peneliti memakai simvastatin sebagai kontrol dan protein target HMG-CoA *reductase* dalam penelitian ini.

Hasil penambatan menunjukkan bahwa tiga senyawa daun sirsak yaitu *Quercetin 3-O-neohesperidoside*, *Rutin* dan *Quercetin* yang diidentifikasi memiliki afinitas yang tinggi terhadap protein target HMG-CoA *reductase*. Peneliti menduga afinitas yang tinggi dari senyawa daun sirsak tersebut yang merupakan senyawa turunan

flavonoid memiliki peran dengan menghambat enzim HMG-CoA *reductase* pada proses sintesis mevalonate di hati sehingga produksi kolesterol terhambat. Senyawa aktif dapat digunakan sebagai obat karena senyawa aktif tersebut memiliki mekanisme yang sama dengan obat konvensional. Pernyataan ini sesuai dengan penelitian secara *in vivo* yang melaporkan bahwa senyawa aktif daun sirsak yaitu rutin 10 mg/kg dapat mengurangi kadar kolesterol total plasma tikus yang diinduksi oleh diet tinggi lemak.²⁵

Meskipun proses penambatan dari senyawa aktif daun sirsak berhasil dan memiliki nilai afinitas yang baik, ada kemungkinan pada uji *in vivo* memiliki efek yang tidak diharapkan yaitu tidak dapat menghambat enzim HMG-CoA *reductase*, dikarenakan struktur molekul dari senyawa aktif daun sirsak berbeda dengan simvastatin. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan secara *in vivo* untuk membuktikan bahwa senyawa aktif daun sirsak yang lain memiliki mekanisme kerja yang sama dengan simvastatin.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil studi *in silico* didapatkan bahwa senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak mempunyai potensi sebagai antikolesterol dengan cara mengaktifkan LDL *receptor* secara berturut-turut dari mulai yang terbesar adalah *Quercetin 3-O-neohesperidoside*, *Rutin* dan *Anonaine*. Selain itu, senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak juga memiliki potensi menghambat enzim HMG-CoA *reductase* secara berturut-turut adalah *Quercetin 3-O-neohesperidoside*, *Rutin* dan *Quercetin*. Afinitas senyawa aktif tersebut lebih baik dibandingkan dengan kontrol Simvastatin.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan secara *In vivo* mengenai potensi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) pada tikus dengan diet tinggi lemak terhadap aktivasi LDL *receptor* dan penghambat HMG-CoA *reductase* untuk mempelajari apakah efek fisiologinya benar sesuai dengan harapan yaitu ekstrak etanol daun sirsak mengaktifkan LDL *receptor* dan menghambat enzim HMG-CoA *reductase*.
2. Perlu dilakukan penelitian lain mengenai mekanisme kerja lain dari senyawa aktif daun sirsak sebagai antihiperlipidemia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada dosen pembimbing, civitas akademik, Ikatan Orang tua

Mahasiswa (IOM) dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, serta tim kelompok penelitian yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dwizella, N., Berawi, K. N. and Wahyudo, R. Khasiat Bekatul dalam Menurunkan Kadar Lemak Darah pada Pasien Hiperlipidemia Efficacy of Rice Bran for Decreasing Blood Fat Levels in Hyperlipidemia Patient. *Majority*, 7, 2018. pp. 209–213.
2. Carolia, N. and Ghaisani, U. M. Psidium guajava sebagai Antihipertensi dan Antihiperlipidemia: Efek pada Penurunan Tekanan Darah dan Pengontrol Profil Lipid. *Jurnal Majority*, 5(1), pp. 134–139. Available at: <http://jke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/993>. 2016.
3. Wake, M., Oh, A., Onishi, Y., *et al.* Adherence and persistence to hyperlipidemia medications in patients with atherosclerotic cardiovascular disease and those with diabetes mellitus based on administrative claims data in Japan. *Atherosclerosis*. Elsevier, 282(September 2018), 2019. pp. 19–28.
4. National Cholesterol Educational Program (NCEP). Executive Summary of the Third Report of the national Cholesterol Educational Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III), American medical Association. *JAMA*, May 16 2001 – Vol 285, No. 19. 2001.
5. Arsana, P.M., Rosandi, R., Manaf, A., Budhiarta, A.A.G., Permana, H., *et al.* Panduan Pengelolaan Dislipidemia di Indonesia, PB.PERKENI, 2, 50. 2015.
6. Fox, B., and Olsen, M. Hyperlipidemia. Office Care of Women (pp. 453-467). Cambridge: Cambridge University Press. 2016.
7. Maulana, Adnanda. Efek Infusa Daun Sirsak terhadap Kadar LDL dan HDL Serum Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktosa. *Jurnal Kedokteran Komunitas*. 2019. pp. 117-123.
8. Rahman, F. A., Haniastuti, T. and Utami, T. W. Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(1), p. 1. 2017.
9. Na'i, A., Rakanita, Y. and Mulyani, S. Uji Efek Kombinasi EEDS dan DPW terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Tikus Putih Jantan Hiperkolesterolemia-Diabetes. *Farmakologika Jurnal Farmasi*, 16(1), pp. 1–12. 2019.
10. Aprilia, C. A. Efektivitas Hipolipidemia dan Antioksidan Ekstrak Daun Binahong pada Tikus Putih yang Diinduksi Pakan

- Hiperkolesterol, *YARSI Medical Journal*, 25(3), p. 150. 2018.
11. Wulandari, R. L., Susilowati, S. and Asih, M. Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn.) Dan Simvastatin Terhadap Kadar Kolesterol Total Dan Low Density Lipoprotein (LDL) Tikus Yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak, *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, (Ldl), pp. 24–32. 2015.
 12. Damayanti, D.S., Kusuma, C.H.M.S., Nurdiana, *et al.* Effects of Soursop (*Annona muricata*) Leaf Water Extract (SLWE) on Body Weight, Leptin and TNF α Plasma Levels of Rats with High Fat and High Fructose (HFHF) Diet. *Journal of Global Pharma Technology*. 2019.
 13. Moghadamtousi, S. Z., Fadaeinasab, M., Nikzad, S., *et al.* *Annona muricata* (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(7), 2015. pp. 15625–15658.
 14. Kaapro A and Ojanen J. Protein docking. Diunduh tanggal 20 November 2020 pukul 13.23 dari <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/summary?doi=10.1.1.117.529>. 2002.
 15. Damayanti DS, Utomo DH, Kusuma C. Revealing the potency of *Annona muricata* leaves extract as FOXO1 inhibitor for Diabetes Mellitus Treatment through Computational study. Malang. *In Silico Pharmacol.* 2017. 5(3).
 16. Febriantara, S., Ruslin and Yamin. Studi In Silico Senyawa 2-amino-5-(3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxy-benzoyl) guanidino) pentanoic acid dan Turunannya sebagai Inhibitor Phosphodiesterase-5. *Majalah Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 2(1), 2014. pp. 22–26.
 17. Arrasyid, M. A. A., Damayanti, D. S. and Lestari, R. D. Studi In Silico Senyawa Aktif Ekstrak Rimpang Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Rosc.) terhadap Penghambatan Asetilkolinesterase, β -Tubulin dan Aktivasi Kanal Kalsium sebagai Antelmintik In Silico Study on Compound Activities of Emprit Ginger Rhizomes. *Jurnal Kedokteran Komunitas*. 2020. pp. 147–158.
 18. Mubarika, S. A. Z., Damayanti, D. S. and Dewi, A. R. Studi In Silico: Potensi Anthelmintik Senyawa Aktif Bawang putih (*Allium sativum* L.) dalam Menghambat Protein Target Acetylcholinesterase, Beta tubulin dan Aktivasi Voltage dependent L type Calcium Channel. *Jurnal Kedokteran Komunitas*. 2020. pp. 83–93.
 19. Harini, M. and Astirin, O. P. Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemik setelah Perlakuan VCO, *Nusantara Bioscience*, 1, 2009. pp. 53–58.
 20. Arfi, A.S., Lestari, R. D., and Damayanti, D. S. Studi In Silico Senyawa Aktif Rimpang Kunyit (*Curcuma Domestica*) Terhadap Penghambatan Acetylcholinesterase, Microtubulin (Beta Tubulin), Dan Aktivasi Calcium Channel Sebagai Terapi Antelmintik. *Jurnal Kedokteran Komunitas*. 2020. pp. 36–47.
 21. Purnomo, Y., Soeatmadji, D.W., Sumitro, S.B., *et al.* Anti Diabetic Potential of *Urena lobata* leaf Through Inhibition of DPP-IV Activity. *Asian Pac J Trop Biomed.* 5(8). 2015.
 22. McConkey, B., Sobolev, V., & Edelman, M. The performance of current methods in ligand–protein docking. *Current Science*, 2002. 83(7), 845–856. Retrieved June 24, 2020, from www.jstor.org/stable/24107087.
 23. Bintari, Y.R. Studi In Silico Potensi Ekstrak Lipida *Tetraselmis chuii* sebagai Antioksidan. *Jurnal Ketahanan Pangan*. 2018. 2(1);76–81.
 24. Syahputra, G., Ambarsari, L., and Sumaryada, T. I. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*. 2014. 10 (1): 55–67.
 25. Ziaee, A., Zamansoltani, F., Nassiri-Asl, M., *et al.* Effects of rutin on lipid profile in hypercholesterolaemic rats, *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 104(3), 2009. pp. 253–258.
 26. Ariantari, N., Chandra Yowani, S. and Swastini, D. Uji Aktivitas Penurunan Kolesterol Produk Madu Herbal Yang Beredar Di Pasaran Pada Tikus Putih Diet Lemak Tinggi, *Jurnal Kimia*, 4(1), 2010. pp. 15–19.
 27. Damayanti DS, Utomo DH, Kusuma C. Revealing the potency of *Annona muricata* leaves extract as FOXO1 inhibitor for diabetes mellitus treatment through computational study. *In Silico Pharmacol.* 5(3):1-7. 2017.
 28. Yuniarti, L., Dewi, M. K., Lantika, U. A., *et al.* Potensi Ekstrak Air Daun Sirsak sebagai Penurun Kolesterol dan Pengendali Bobot Badan. *Acta Veterinaria Indonesiana*, 4(2), 2016. pp. 82–87.

29. Rosmanita, I. and Saharuddin, S. The Relationship Between Community Knowledge and Management of TOGA. ***Jurnal Sains Komunikasi dan Pengembangan Masyarakat [JSKPM]***, 1(3), p. 359. 2017.
30. Muttaqin, F. Z. Molecular Docking and Molecular Dynamic Studies of Stilbene Derivative Compounds As Sirtuin-3 (Sirt3) Histone Deacetylase Inhibitor on Melanoma Skin Cancer and Their Toxicities Prediction. ***Journal of Pharmacopolium***, 2(2), 2019. pp. 112–121.