
UJI POTENSI FRAKSI ETIL ASETAT KULIT BUAH APEL HIJAU (*Pyrus malus L.*) TERHADAP PENURUNAN KADAR KOLESTEROL SECARA IN VITRO

Devina Ingrid Anggraini¹, Eka Wisnu Kusuma²

¹ Program Studi D3 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKES) Nasional
Jl. Raya Solo-Baki Kwarasan, Grogol, Sukoharjo

² Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKES) Nasional
Jl. Raya Solo-Baki Kwarasan, Grogol, Sukoharjo

*Email: devina.ia@gmail.com

Abstrak

*Kesibukan masyarakat yang semakin meningkat membuat asupan kolesterol di dalam tubuh menjadi semakin tinggi karena banyaknya mengkonsumsi makanan cepat saji. Akumulasi kolesterol total akan membentuk aterosklerosis sehingga mengakibatkan beberapa penyakit komplikasi seperti hipertensi, penyumbatan pembuluh darah di otak, dan jantung. Pada dasarnya limbah kulit apel hijau mengandung kuersetin yaitu zat yang dibutuhkan guna mencegah berbagai macam penyakit. Kuersetin merupakan golongan flavonoid yang paling banyak terdapat di alam dari pada jenis flavonoid yang lain. Di dalam tubuh, flavonoid mampu melunturkan kolesterol yang terdapat pada dinding pembuluh darah. Dengan berkurangnya kadar kolesterol, maka penyakit komplikasi lain yang diakibatkan oleh kolesterol tidak akan muncul. Kajian mengenai uji potensi penurunan kadar kolesterol ini dilakukan dengan skala laboratorium. Penelitian bertujuan untuk menguji potensi fraksi etil asetat kulit buah apel hijau (*Pyrus malus L.*) terhadap penurunan kadar kolesterol dengan memberikan perbedaan konsentrasi dan mencari nilai effective concentration 50 (EC_{50}). Pelarut etil asetat digunakan dalam proses ekstraksi untuk mengambil senyawa aktif dalam kulit buah apel hijau. Analisis potensi penurunan kolesterol fraksi etil asetat kulit buah apel hijau (*Pyrus malus L.*) dilakukan dengan metode Lieberman-Burchard dengan menggunakan spektrofotometri visibel dan menghasilkan nilai EC_{50} sebesar 129,993 mg/L.*

Kata kunci: effective concentration 50 (EC_{50}), flavonoid, kolesterol, kulit buah apel hijau (*Pyrus malus L.*)

PENDAHULUAN

Kemajuan teknologi, meningkatnya pendapatan, serta majunya berbagai segi kehidupan di era modern telah mengubah gaya dan pola hidup masyarakat. Perubahan pola makan pada masyarakat yang menggemari makanan cepat saji (*fast food*) menimbulkan berbagai masalah kesehatan. Gaya hidup yang salah dan kebiasaan buruk yang menjadi rutinitas sehari-hari akan mengakibatkan faktor pendorong meningkatnya kadar kolesterol dalam darah.

Selama ini terapi yang dilakukan untuk mengurangi kadar kolesterol adalah memberikan pengobatan menggunakan obat-obatan sintetik seperti golongan statin. Kelemahan golongan statin adalah memiliki efek samping miopati dan rhabdomyolisis (Azhari, dkk., 2017).

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang terkenal memiliki khasiat sebagai tanaman obat. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa jamur memiliki aktivitas antikolesterol karena mengandung karbohidrat, kitin, hemiselulosa, α dan β glukan, galaktan (Jayachandran, dkk., 2017) dan lovastatin untuk jamur oyster putih (Ernawati, dkk., 2017). Selain jamur, senyawa golongan flavonoid dan terpenoid mempunyai aktivitas antikolesterol seperti yang terdapat dalam daun cerme (Sudjiatmo, dkk., 2013), srikaya (Rofida, dkk., 2015), belimbing wuluh (Azhari, dkk., 2017), serta aktivitas antioksidan yang terdapat dalam daun kersen (Pamungkas, dkk., 2016) maupun daun johar (Ningrum, 2017). Senyawa saponin yang terdapat dalam akar punarnava (Khalid, dkk., 2012) dan rumput kebar (Sambodo, dkk., 2015) mampu menurunkan kadar kolesterol dalam darah.

Selain tanaman dan buah diatas, apel juga diindikasikan memiliki aktivitas antikolesterol. Leontowicz, dkk. (2002) melaporkan diet tambahan dengan apel Israel (*Malus sylvestris*) menunjukkan penurunan kolesterol yang tinggi lebih besar dibandingkan dengan pemberian pear (*Pyrus communis*) dan peach (*Prunus persica*). Sebagian besar masyarakat gemar mengkonsumsi buah apel dengan mengupas kulitnya dan membuang kulit apel tersebut tanpa memanfaatkannya.

Kulit buah apel mengandung flavonoid kuersetin yang berguna mencegah berbagai macam penyakit (Nurchayati, 2014).

Di dalam tubuh, flavonoid mampu melunturkan kolesterol yang terdapat pada dinding pembuluh darah. Dengan tereduksinya kadar kolesterol, maka tidak akan menyebabkan timbulnya penyakit komplikasi lain yang diakibatkan oleh kolesterol, seperti : hipertensi, stroke, dan jantung (Nalole, 2009). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Nadhilah, dkk. (2015) menyebutkan bahwa senyawa fenolik, flavonoid, dan steroid dapat mempengaruhi aktivitas penurunan kadar kolesterol di dalam tubuh. Kulit buah apel hijau diduga mempunyai potensi sebagai penurun kolesterol, karena memiliki senyawa aktif flavonoid, terpenoid, polifenol, tanin, dan saponin (Pertiwi, dkk., 2016).

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu simplisia kulit buah apel hijau (*Phyrus malus L.*) 200 gram, NaOH 10%, FeSO₄, larutan Besi (III) Klorida, aseton, serbuk asam borat, serbuk oksalat, eter, asam klorida 2N, asam klorida 1N, larutan gelatin 0,5%, baku kolesterol, H₂SO₄ pekat, asam asetat anhidrat, kloroform pa, etil asetat, dan etanol pa.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan analitik (Ohaus Pioneer dengan sensitivitas 0,0001 g dan minimal penimbangan 0,1000 g), kertas saring, aluminium foil, sentrifugasi, dan Spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu UV mini-1240), kuvet Hellma *Analytic type* No 100.600 *QG Light path lotum*, alat-alat gelas seperti gelas beker dan labu ukur (pyrex). Selain itu digunakan pula alat-alat penunjang yang lazim digunakan dalam analisis spektrofotometri.

Penyarian Simplisia

Simplisia kulit buah apel hijau (*Pyrus malis L.*) yang sudah halus ditimbang seksama sebanyak 200 gram, dimasukkan dalam wadah tertutup dan ditambahkan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1 : 7,5 bagian sebagai cairan penyari. Simplisia direndam selama 5 hari, sambil sesekali diaduk tiap 3-4 jam perhari. Hasil maserasi disaring hingga terbentuk filtrat dan ampas kemudian ampas diremaserasi selama 24 jam, dienapkan selama 1 hari untuk mengendapkan bahan tidak larut. Setelah dienapkan semua disaring. Filtrat dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 45⁰C sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental dilarutkan dengan 50 ml air dan dipartisi dengan 50 ml etil asetat. Fraksi etil asetat dipisahkan, dikeringkan, dan dilarutkan dengan 25 ml kloroform (Devy, dkk., 2010).

Uji Kualitatif Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Apel Hijau

Uji kualitatif dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi etil asetat kulit buah apel hijau (*Pyrus malus L.*). Uji kualitatif yang akan dilakukan meliputi uji vitamin C menggunakan pereaksi NaOH 10% dan FeSO₄, fenolik menggunakan pereaksi besi (III) klorida, flavonoid menggunakan pereaksi serbuk Zn dan HCl 2N, tanin dengan pereaksi larutan gelatin 0,5 %, dan saponin dengan perlakuan ditambah air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama sepuluh detik, sehingga terbentuk buih setinggi 1 sampai 10 cm.

Uji Potensi Antikolesterol

Larutan Induk Kolesterol

Larutan induk kolesterol dibuat dengan cara melarutkan 108 mg sebuk kolesterol dalam 100 ml kloroform dan diaduk sampai larut, sehingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm.

Kurva Standar

Kurva standar dibuat dengan 5 seri konsentrasi yaitu konsentrasi baku kolesterol 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm. Masing-masing larutan ditambahkan 2,0 ml asam asetat anhidrat dan 0,1 ml H₂SO₄ pekat kemudian dihomogenkan dengan menggunakan sentrifugasi, lapisan luar tabung ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan diukur sesuai dengan panjang gelombang maksimalnya 662,9 nm dan waktu inkubasi 7 menit. Kurva hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi dibuat untuk mengetahui linieritas.

Penentuan Potensi Antikolesterol dari Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Apel Hijau

Masing-masing seri konsentrasi fraksi etil asetat kulit buah apel hijau 35, 70, 105, 140, dan 175 ppm dalam kloroform diambil 5,0 ml dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 5,0 ml baku kolesterol 200 ppm dalam kloroform. Sebanyak 5,0 ml dari campuran tersebut diambil dan disentrifugasi selama 2 menit. Asam asetat anhidrat ditambahkan sebanyak 2,0 ml dan 0,1 ml

H₂SO₄ pekat. Larutan diinkubasi di tempat gelap selama 7 menit hingga terbentuk warna hijau. Penelitian dilakukan triplo. Warna hijau yang diperoleh, dibaca serapannya dengan spektrofotometer visibel pada panjang 662,9 nm.

Dalam penelitian ini menggunakan larutan blangko yang berisi 5 ml kloroform, 2 ml asam asetat anhidrat, dan 0,1 ml H₂SO₄ pekat yang telah dihomogenkan. Sedangkan kontrol positif yang digunakan adalah larutan baku kolesterol dalam kloroform dengan konsentrasi 200 ppm sebanyak 5 ml ditambah asam asetat anhidrat dan H₂SO₄ pekat sebagai pereaksi dengan jumlah yang sama.

Analisis Data

Serapan yang didapatkan dari pengukuran menggunakan spektrofotometer visibel pada sampel fraksi etil asetat kulit buah apel hijau dibandingkan dengan kontrol positif untuk mengetahui persen penurunan kadar kolesterol yang dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$A = \frac{C-B}{C} \times 100\%$$

Keterangan :

A = % penurunan kolesterol

B = Absorbansi kolesterol sisa

C = Absorbansi kontrol positif

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi etil asetat kulit buah apel hijau terhadap penurunan kadar kolesterol secara *in vitro*. Kulit buah apel hijau mengandung senyawa aktif kuersetin yang merupakan golongan flavonoid. Senyawa flavonoid dapat melunturkan kolesterol yang terdapat pada dinding pembuluh darah. Dengan berkurangnya kadar kolesterol pada pembuluh darah, maka penyakit komplikasi yang diakibatkan oleh kolesterol dapat diminimalkan. Penelitian ini diawali dengan determinasi kulit buah apel hijau (*Pyrus malus* L.) yang bertujuan untuk memastikan bahwa kulit buah yang digunakan dalam penelitian merupakan kulit buah apel hijau yang dimaksud, serta dapat menghindari terjadinya kesalahan pada penggunaan buah dalam penelitian. Hasil determinasi menunjukkan bahwa benar kulit buah apel hijau yang diperoleh merupakan kulit buah *Pyrus malus* L. yang berasal dari suku Rosaceae. Sebelum digunakan buah apel hijau (*Pyrus malus* L.) dicuci terlebih dahulu sampai bersih. Buah apel hijau yang sudah bersih disortasi basah yaitu memilih buah dari bagian tanaman lain yang tidak diinginkan. Simplisia dibuat dengan cara mengupas kulit buah apel, mengeringkan kulit buah apel hijau di bawah sinar matahari, dan ditutup dengan menggunakan kain berwarna hitam. Pengerangan bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terdapat dalam sampel karena air merupakan tempat mikroorganisme tumbuh, sehingga dapat menyebabkan penurunan kualitas senyawa aktif yang terkandung didalam sampel. Serbuk simplisia kulit buah apel hijau yang digunakan yaitu serbuk simplisia lolos pada ayakan 60. Ukuran partikel simplisia kulit buah apel hijau (*Phyrus malus* L.) dibuat seragam untuk memudahkan cairan penyari menembus pada saat proses penyarian dan memperluas kontak permukaan antara cairan penyari dengan bahan aktif sehingga proses mengeluarkan senyawa aktif tersebut dapat berjalan dengan maksimal.

Ekstraksi kulit buah apel hijau dilakukan dengan metode maserasi. Metode maserasi merupakan cara ekstraksi dengan merendam seluruh serbuk simplisia dengan cairan penyari yang cocok, dan dilakukan pengadukan per 3-4 jam sekali agar zat aktif dapat bercampur dan masuk kedalam sel. Pengadukan ini berfungsi untuk menghomogenkan simplisia dan cairan penyari sehingga daerah sekitar sel mempunyai konsentrasi yang sama. Pada saat perendaman simplisia, cairan penyari akan masuk ke dalam dinding sel lalu menuju rongga sel yang mengandung zat aktif, kemudian menariknya. Perbedaan konsentrasi yang terjadi di dalam dan di luar rongga sel menyebabkan zat aktif tertarik ke dalam pelarut. Cairan penyari yang digunakan yaitu etanol 70% yang masih mengandung air maka bersifat polar sehingga senyawa flavonoid yang lebih polar seperti aglikon dan glikosida flavonoid dapat tertarik pada cairan penyari. Etanol 70% sangat efektif dalam menghasilkan rendemen yang cukup baik. Hasil ekstraksi yang didapat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45⁰C. Hal tersebut dilakukan untuk menghindari kerusakan zat aktif akibat pengaruh suhu yang relatif tinggi.

Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa berdasarkan pada polaritasnya atau memiliki prinsip “like dissolve like” dimana senyawa polar akan tertarik pada senyawa polar, dan senyawa non polar akan tertarik pada senyawa non polar. Fraksinasi menghasilkan dua lapisan yang terpisah pada masing-masing ekstrak, lapisan atas adalah fase etil asetat dan lapisan bawahnya adalah fase air. Fase air dan fase etil asetat dipisahkan kemudian dilakukan pemekatan pada masing-masing fraksi menggunakan *waterbath* hingga kering untuk menghilangkan pelarut yang digunakan. Fraksi yang digunakan yaitu fraksi etil asetat karena senyawa golongan fenolik yaitu flavonoid terlarut dalam etil asetat.

Identifikasi senyawa dilakukan untuk menguji secara kualitatif ada tidaknya kandungan senyawa aktif pada fraksi etil asetat kulit buah apel hijau yang berpotensi sebagai penurun kolesterol seperti fenolik, flavonoid, vitamin C, saponin, dan tanin. Tujuan dilakukan uji fitokimia pada fraksi etil asetat kulit buah apel hijau yaitu untuk mengetahui pengaruh serangkaian proses ekstraksi terhadap kandungan senyawa kimia dalam sampel. Fraksi etil asetat yang telah dikeringkan dilarutkan dengan kloroform yang mampu melarutkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat dan dapat bercampur dengan reagen-reagen untuk identifikasi senyawa.

Tabel I. Hasil Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Apel Hijau

Senyawa	Pereaksi	Teoritis	Hasil	Keterangan
Vit C	2 tetes NaOH 10% dan 2 ml FeSO ₄	Menghasilkan larutan kuning hingga orange	Berwarna hitam	Negatif
Fenolik	1 ml larutan besi(II) klorida	Membentuk warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam	Membentuk warna hitam	Positif
Flavonoid	Zn dan 2 ml HCl 2N	Menimbulkan warna jingga sampai merah	Membentuk warna jingga	Positif
Tanin	larutan gelatin 0,5%	Terbentuk endapan	Membentuk endapan	Positif
Saponin	air panas + HCl 2 N	Terbentuk buih setinggi 1-10 cm, tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan HCl 2 N	Terbentuk buih	Positif

Hasil identifikasi senyawa pada fraksi etil asetat kulit buah apel hijau mengandung senyawa fenolik, flavonoid, saponin, dan tanin, namun tidak mengandung vitamin C.

Uji penurunan kolesterol dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri visibel menggunakan pereaksi *Lieberman Burchard*. Metode tersebut digunakan untuk mengetahui jumlah kolesterol bebas yang bereaksi dengan pereaksi *Lieberman Burchard* menjadi senyawa berwarna hijau yang dianalisis menggunakan spektrofotometer visibel (Amin, 2015).

Metode *Lieberman Burchard* merupakan metode yang sangat spesifik untuk menganalisis secara kuantitatif kolesterol yang merupakan senyawa golongan steroid. Kloroform digunakan untuk melarutkan baku kolesterol karena kolesterol mempunyai sifat larut dalam pelarut non polar yaitu 4,5 bagian kloroform (Raymond, dkk., 2009). Reaksi yang terjadi dalam proses ini harus bebas dari air karena keberadaan air mempengaruhi proses dan membuat senyawa yang terbentuk menjadi tidak stabil. Pada metode *Lieberman Burchard* menggunakan pereaksi asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Penambahan asam asetat anhidrat bertujuan untuk menghilangkan kandungan air dan memastikan sistem terbebas dari air dan membentuk produk turunan asetil dari steroid. Sedangkan penambahan asam sulfat pekat melalui dinding akan membentuk kompleks berwarna hijau untuk senyawa steroid termasuk didalamnya adalah kolesterol (Xiong, dkk., 2007). Senyawa berwarna hijau tersebut kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer visibel.

Tabel II. Data Penurunan Kadar Kolesterol pada Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Apel Hijau

Konsentrasi fraksi etil asetat (ppm)	Absorbansi sampel	Absorbansi kontrol positif	(%) penurunan	Kadar rata-rata (%)
35	0,5159	0,6582	21,6195	21,5840
	0,5163		21,5587	
	0,5162		21,5739	
70	0,4500		31,6317	31,9708
	0,4470		32,0870	
	0,4463		32,1938	
105	0,3711		43,6189	43,5784
	0,3717		43,5278	
	0,3713		43,5885	
140	0,3123		52,5524	52,4916
	0,3130		52,4308	
	0,3127		52,4916	
175	0,2361	64,1299	64,2914	
	0,2353	64,2509		
	0,2337	64,4940		

Grafik rata-rata persen penurunan kolesterol dari fraksi etil asetat kulit buah apel hijau ditunjukkan pada gambar 2. Semakin besar konsentrasi sampel fraksi etil asetat kulit buah apel hijau maka aktivitas antikolesterol yang dihasilkan semakin tinggi.

Tabel III. Persamaan Regresi Linier

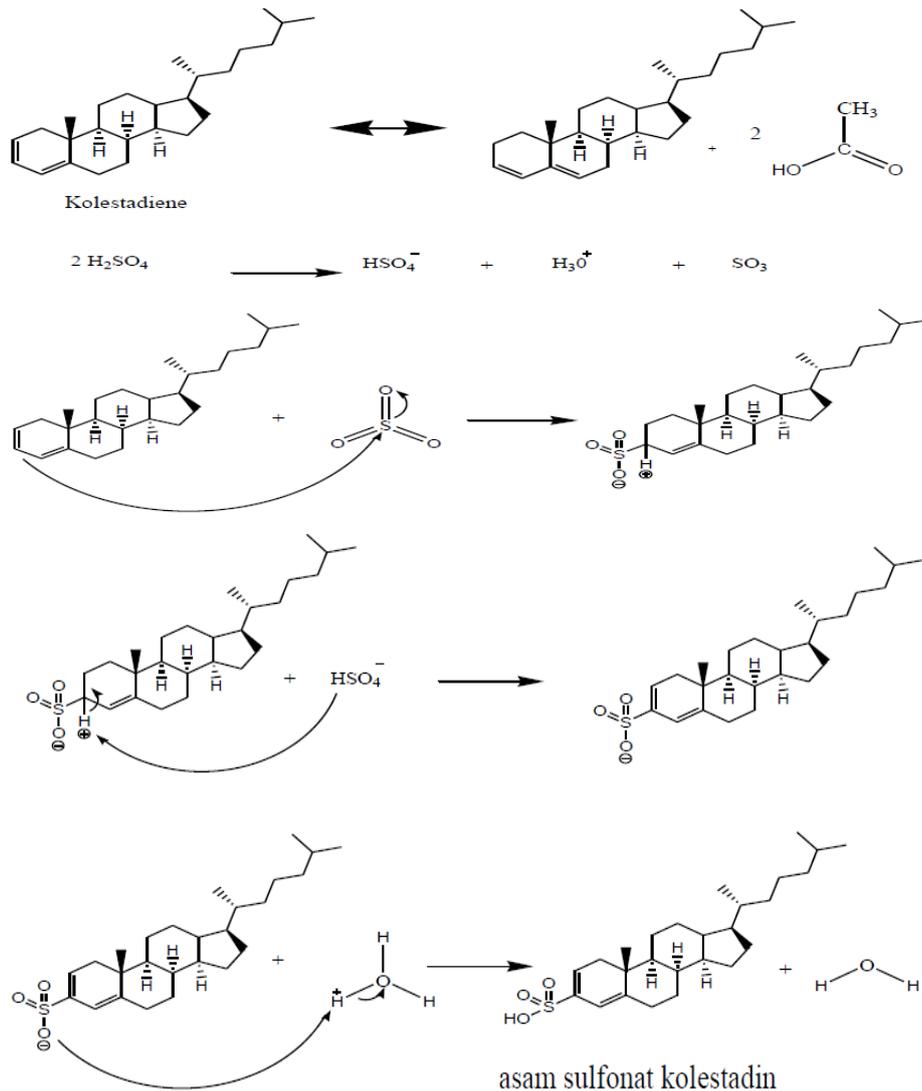
Konsentrasi sampel (X)	Rata – rata inhibisi % (Y)	Persamaan regresi linier	EC ₅₀
35 ppm	21,5840	$Y = 0,29119244X + 11,76626397$ $r = 0,99788$	129,993ppm
70 ppm	31,9708		
105 ppm	43,5784		
140 ppm	52,4916		
175 ppm	64,2914		

Aktivitas fraksi etil asetat kulit buah apel hijau dalam menurunkan kadar kolesterol disebabkan karena keberadaan dari senyawa aktif flavonoid. Reaksi kimia antara kolesterol dengan flavonoid akan terjadi ikatan yang paling kuat pada gugus hidroksil posisi 3-4. Gugus hidroksil yang terdapat pada struktur kolesterol bereaksi dengan gugus keton pada struktur flavonoid (Aggraini, 2018).



Gambar 2. Grafik Rata-rata Persentase Penurunan Kolesterol

Senyawa aktif dalam fraksi etil asetat kulit buah apel hijau yang diduga ikut berperan dalam menurunkan kadar kolesterol adalah tanin. Salah satu tanin terhidrolisis yang terbentuk dari reaksi esterifikasi asam fenolat dan glukosa dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamatori, antimikrobal, dan antidiare. Senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan dalam fraksi etil asetat kulit buah apel diduga juga berperan dalam menurunkan kadar kolesterol. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Latha dan Daisy (2011) menunjukkan jika pemberian tanin dapat menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida hingga mendekati normal. Penelitian lain menunjukkan bahwa asam galat yang termasuk dalam tanin terhidrolisis dapat bertindak sebagai antikolesterol. Jang, dkk., (2008) dalam penelitiannya yang melaporkan bahwa asam galat merupakan agen penurun lipid yang efektif. Tanin yang terkandung dalam fraksi etil asetat kulit buah apel hijau kemungkinan juga bekerja dengan menurunkan kadar kolesterol.



Gambar 3. Mekanisme Reaksi Kolesterol yang Berpotensi Berikatan dengan Flavonoid

Keberadaan senyawa fenolik, flavonoid, tanin, dan saponin dalam fraksi etil asetat kulit buah apel hijau diduga dapat menurunkan kadar kolesterol. Mekanisme reaksi kolesterol yang berpotensi berikatan dengan flavonoid terlihat pada gambar 3. Asam sulfonat kolestadin nantinya akan berikatan dengan flavonoid sehingga berperan dalam penurunan kadar kolesterol dengan menggantikan gugus hidroksil dengan gugus substituen dari flavonoid.

Koefisien variasi merupakan suatu koefisien yang digunakan untuk mengetahui kesesuaian hasil analisis satu dengan hasil analisis lain dari suatu seri pengukuran. Kriteria nilai KV yang baik yaitu 2 % atau kurang (Harmita, 2004). Kelima konsentrasi sampel memiliki nilai KV kurang dari

2 %. Hal tersebut menunjukkan bahwa data tersebut diperoleh dengan tingkat ketelitian kerja yang baik.

Tabel IV. Nilai %KV dari tiap konsentrasi

Konsentrasi sampel (ppm)	SD	%KV
35	0,0316	0,1464
70	0,2985	0,9337
105	0,0463	0,1064
140	0,0608	0,1158
175	0,1856	0,2887

KESIMPULAN

Fraksi etil asetat kulit buah apel hijau (*Pyrus malus* L.) memiliki potensi antikolesterol secara *in vitro* dengan nilai EC_{50} dicapai pada konsentrasi 129,993 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, M. S., 2015, Studi In-vitro ; Efek Antikolesterol dari Ekstrak Metanol Buah Parijoto (*Medinilla speciosa Blume*) Terhadap Kolesterol Total, *Skripsi*, Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah
- Anggraini, D. I. dan Nabillah, L. F., 2018, Activity Test of Suji Leaf Extract (*Dracaena angustifolia* Roxb.) on In Vitro Cholesterol Lowering, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 21, 2, pp. 54 – 58
- Azhari, B., Luliana, S., dan Robianto, 2017, Antihypercholesterolemic Activity of Aqueous Extract of Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) On Hypercholesterolemic Modelling Wistar Male Rats, *Trad. Med. J.*, 22, 1, pp. 57-62
- Devy, N. F., Yulianti, F., dan Andriani, 2010, Kandungan Flavonoid dan Limonoid pada Berbagai Fase Pertumbuhan Tanaman Jeruk Kalamondin (*Cytrus mitis* Blanco) dan Purut (*Cytrus hystrix* D.C.), *J. Hort*, 20, 4, pp. 360-367
- Ernawati, Bangun, H., Delyuzar, Sitorus, J., dan Pane, Y. S., 2017, White Oyster Mushroom Effect Of Lowering Cholesterol Levels And Prevention Atherosclerosis In Wistar Male Rats Are Given High Cholesterol Feed, *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 12, 5, pp. 81-89
- Harmita, 2004, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1, 3, 117-135
- Jang, A, Srinivasan, P., Lee, N. Y., Song, H. P., Lee, J. W., Lee, M., dan Jo, C., 2008, Comparison of Hypolipidemic Activity of Syntetic Galic Acid-linoleic Acid Ester With Mixture of Gallic Acid and Linoleic Acid, Gallic Acid and Linoleic Acid on High-fat Diet Induced Obesity in C57BL/6 Cr Slc Mice, Elsevier, *Chemico-Biological Interactions*, 174, 2, pp. 109-117
- Jayachandran, M., Xiao J., dan Xu, B., 2017, A Critical Review on Health Promoting Benefits of Edible Mushrooms through Gut Microbiota, *Int. J. Mol. Sci.*, 18, pp. 1-12
- Khalid, M. dan Siddiqui, H. H., 2012, Evaluation of Weight Reduction and Anti-Cholesterol Activity of Punarnava Root Extract Against High Fat Diets Induced Obesity in Experimental Rodent, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, pp. 1-6
- Latha, R. C. dan Daisy, P., 2011, Insulin-Secretagogue, Antihyperlipidemic and Other Protective Effects of Gallic Acid Isolated from Terminalia Bellerica Roxb. in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats., *Chem Biol Interact*, 189, 1-2, pp. 112-118
- Leontowicz, H., Gorinstein, S., Lojek, A., Leontowicz, M., Ciz, M., Soliva-Fortuny, R., Park, Y., Jung, S., Trakhtenberg, S., Martin-Belloso, O., 2002, Comparative Content of Some

-
- Bioactive Compound in Apples, Peaches and Pears and Their Influence on Lipid and Antioxidant Capacity in Rats, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13 : 603-610
- Nadhilah dan Bachmid, 2015, Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol Daun Patikan Emas (*Euphorbia prunifolia* Jacq.) pada Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia, *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, 4, 1, pp. 29-35
- Sutjiatmo, A. B., Sukandar, E. Y., Sinaga, R., Hernawati, R., dan Vikasari, S. N., 2013, Efek Antikolesterol Ekstrak Etanol Daun Cerme (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) Pada Tikus Wistar Betina, *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 1, 1, pp. 1-7
- Nalole, R., Djide, M. N., Wahyudin, E., dan Makhmud, A. I., 2009, Uji *In Vitro* Penurunan Kadar Kolesterol Oleh Sari Kedelai Hitam (*Glycine max* Merr), *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 13, 1, pp. 17 – 20
- Ningrum, D. W., Kusriani, D., dan Fachriyah, E. 2017, Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etanol Daun Johar (*Senna siamea* Lamk), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 20, 3, pp. 123 – 129
- Nurchayati, E., 2014, *Khasiat Manfaat dan Dahsyatnya Kulit Apel Untuk Kesehatan dan Penyembuhan*, Jakarta : Jendela Sehat
- Pamungkas, J. D., Anam, K., dan Kusriani D., 2016, Penentuan Total Kadar Fenol dari Daun Kersen Segar, Kering dan Rontok (*Muntingia calabura* L.) serta Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 19, 1, pp. 15-20
- Pertiwi, R. D., Yari, C. E., dan Putra, N. F., 2016, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Limbah Kulit Buah Apel (*Malus domestica* Borkh.) Terhadap Radikal bebas DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil), *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2, 1, pp. 81-92
- Raymond, C., Paul, J., dan Quin, E., 2009, *Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth Edition*, USA : Pharmaceutical Press and American Pharmacists Assosiation
- Rofida, S., Firdiansyah, A., dan Fitriyastuti, E., 2015, Aktivitas Antihiperlipidemia Ekstrak Etanol Daun *Annona squamosa* L., *Journal Of Pharmaceutical Science and Pharmacy Practicce*, 2, 1, pp. 1-3
- Sambodo, P., Tethool, A. N., dan Rumetor, S. D., 2015, Anti-Cholesterol Effect of n-Hexane Fraction of *Biophytum petersianum* Klotszch in Hyperlipidaemic Animal Model, *Jurnal Kedokteran Hewan*, 9, 1, pp. 58-60
- Xiong, Q., Wilson, W. K., dan Pang, J., 2007, The Liebermann–Burchard Reaction: Sulfonation, Desaturation and Rearrangement of Cholesterol in Acid, *Lipids*, 42, pp. 87-96