

UJI AKTIVITAS ANTIHIPERKOLESTEROLEMIA EKSTRAK ETANOL BUNGA PUKUL EMPAT (*MIRABILIS JALAPA L*) TERHADAP TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI MAKANAN LEMAK TINGGI

Denih Agus Setia Permana*¹, Annikmah Isna Oktaviani², Nikmah Nuur Rochmah³
^{1,2,3} Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Sains dan Teknologi, Universitas Al – Irsyad Cilacap,
Indonesia
e-mail: ¹denihagus@gmail.com, ²annikmahoktaviani30@gmail.com, ³nikmah.nuur@gmail.com

ABSTRACT

*In Indonesia, the incidence of hypercholesterolemia at the age of more than 25 years reached 36% there was an increase at the age of 55-64 years to 15.5%. The therapy used is to use statin-group drugs. The four o'clock flower ethanol extract (*Mirabilis jalapa L*) is thought to be efficacious as an antihypercholesterolemia, because it contains compounds that can inhibit HMG-CoA reductase which is efficacious as an antihypercholesterolemia. The purpose of this study was to determine the presence of antihypercholesterolemia activity of ethanol extract of flowers at four o'clock (*Mirabilis jalapa L*) against a decrease in cholesterol levels in male white rats induced by high fat food. This study was an experimental study using a pre-post test with control group design using 25 male white rats of the wistar strain which are divided into 5 groups of 5 rats each. Data analysis using repeated measures ANOVA. Results showed no significant differences meaningfully with *p* values >0.05, namely in extract doses of 300 mg / kgBB, 600 mg / KgBB, 1200 mg / KgBB with significant values of *p* 0.118, *p* 0.125 and *p* 0.653. The most effective extract in lowering total cholesterol levels was found in extracts at a dose of 1200mg/ KgBB with a significant value of *p* 0.653 with a mean difference of 2.800 and did not differ significantly from simvastatin.*

Keywords: *Hypercholesterol, Four o'clock Flowers, Repeated ANOVA*

PENDAHULUAN

Obesitas merupakan salah satu awal mula terjadinya seluruh penyakit degeneratif. Dimana angka kejadian obesitas di Indonesia secara global meningkat sebesar 19,7% pada laki laki dan 32,9% terjadi pada wanita^[1]. Menurut WHO angka kejadian hiperkolesterolemia mengalami peningkatan total di beberapa wilayah antara lain 48% di Amerika, 54% di Eropa Barat, dan 30% di Asia Tenggara. Di Indonesia kejadian hiperkolesterolemia pada usia ≥ 25 tahun mencapai 36% sedangkan pada usia 55-64 tahun terjadi peningkatan mencapai 15,5%^[2]^[3].

Obat yang paling sering digunakan merupakan obat golongan statin, dimana obat golongan ini bekerja dengan cara menghambat HMG-CoA reduktase yang merupakan enzim yang mengkatalisis sesi yang membatasi jalan pada biosintesis kolesterol^[4]. Berbagai tanaman memiliki macam-macam kandungan senyawa, salah satunya antosianin yang mekanisme kerjanya sama dengan obat golongan statin^[5]^[2]

Di Indonesia terdapat berbagai macam tumbuhan yang dapat dijadikan pengobatan. Salah satu tanaman yang memiliki khasiat obat, namun masih kurang dimanfaatkan adalah bunga pukul empat^[6]. Bunga pukul empat ini memiliki kandungan seperti glikosida, saponin, alkaloid, tannin, antosianin, dan flavonoid^[7]. Kadar kandungan antosianin yang terdapat dalam bunga pukul empat adalah 3,91% dalam 10 gram bunga pukul empat^[8]. Tanaman lain yang memiliki kandungan antosianin antara lain rosella^[2], daun binahong^[9], ketan hitam^[5]. Bunga pukul empat ini akan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol^[5]^[7]^[10]. Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas dari ekstrak etanol bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa L*) terhadap penurunan kadar kolesterol pada tikus putih jantan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini di laksanakan pada bulan Januari hingga Juli 2022. Pembuatan ekstrak bunga pukul empat dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi dan perlakuan terhadap hewan uji dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi, Sains, dan Teknologi Universitas Al-Irsyad Cilacap.

c. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah *rotary evaporator*, *waterbath* (B-ONC), Seperangkat Alat Gelas (*pyrex*), pipet, timbangan analitik digital (*Matrix AJ302B*), blender (*miyako*), spuit injeksi (*Onemed*), pinset, kandang hewan, kertas saring, sarung tangan (*Sensi*), *alcohol swab* (*Sensi*), fotometer (*caretium NB-201 no.seri 1100308*), *sentrifuge*, tabung hematokrit (*marienfeld*), tabung vacutainer (*vaculeb*).

Bahan yang digunakan adalah simplisia bunga pukul empat, pakan standar pelet ayam Bangkok (*HI-PRO-VITE A594K*), makanan lemak tinggi (kuning telur bebek, mentega (*blueband*), minyak kelapa (*cap ikan dorang*)), etanol 96% (*cv.kimia jaya labora*), aquadest, CMC-Na 0,5% (*cv.kimia jaya labora*), simvastatin (*kimia farma*), reagen kit CHOP-PAP (*Glory® diagnostics*), hewan uji yang digunakan yaitu tikus putih jantan galur wistar berumur 2-3 bulan dengan berat badan \pm 150-250 gram, lempeng silika gel (plat KLT), asam asetat, HCl.

d. Prosedur Penelitian

Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga Pukul Empat

Pembuatan ekstrak etanol bunga pukul empat dilakukan dengan cara menimbang serbuk simplisia sebanyak 300 gram kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 5 x 24 jam dengan perbandingan 1:7,5. Selanjutnya, dilakukan penyarian untuk memisahkan residu dengan filtrat dan dilakukan evaporasi menggunakan rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak pekat^[7]. Kemudian dilakukan skrining fitokimia dan uji KLT untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol bunga pukul empat^[6]^{[11][12]}.

Persiapan Hewan Uji

Hewan uji aklimatisasi selama 7 hari. Dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok, dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Hewan uji yang telah dikelompokkan diberi makanan lemak tinggi (MLT) satu kali sehari selama 12 hari. Kelompok I diberi MLT dan Na-CMC 0,5% sebagai kontrol negatif, kelompok II diberi MLT dan Simvastatin sebagai kontrol positif, dan kelompok III, IV, V diberi MLT serta ekstrak etanol bunga pukul empat dengan dosis 300, 600, 1200 mg/KgBB. Ekstrak bunga pukul empat diberikan satu kali sehari selama 12 hari pada tikus hiperkolesterolemia.

Kadar kolesterol total pada hari ke- 8, 20, dan 32 diperiksa menggunakan alat fotometer dengan reagenkit CHOD-PAP. Tikus dipuasakan terlebih dahulu selama \pm 10-12 jam sebelum pemeriksaan. Selanjutnya, darah tikus diambil melalui *pleksus retro orbitalis* (mata) sebanyak 1-2 ml. Sampel darah diletakkan pada tabung dan dipisahkan antara darah dan serum melalui *sentrifuge*. Kemudian serum darah digunakan untuk pengukuran kadar kolesterol. Pemeriksaan kadar kolesterol total dilakukan dengan mengambil sampel serum darah tikus sebanyak 5 μ L kemudian di tambah dengan 500 μ L reagen kit CHOD-PAP[13].

2.3 Analisis Data

Analisis data dengan menggunakan uji *repeated measures* ANOVA. Uji ini dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan Sampel

Tanaman yang dimanfaatkan sebagai bahan aktif pengujian yaitu tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa L.*) bagian yang diambil yaitu bagian bunga yang terdapat dalam tanaman bunga pukul empat. Pengambilan bunga dilakukan di wilayah desa Klapagading Kecamatan Wangon pada malam hari bulan maret 2022.

Determinasi

Hasil determinasi bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa L*) yaitu dengan nomor sertifikat B/269/UN.23.6.10 /TA.00.01/2022 dengan kode 1708/ 2203117.

Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga Pukul Empat

Bunga pukul empat diblender dengan tujuan agar memaksimalkan pengambilan zat aktif pada saat proses maserasi. Bunga pukul empat yang digunakan tanpa melalui proses pengeringan. Pada proses ini menggunakan pelarut etanol 96% dengan tujuan agar zat aktif dapat tertarik dengan maksimal [7]. Proses maserasi berlangsung selama 5 hari dengan dilakukan pengadukan selama 6 jam sekali. Setelah proses maserasi selesai, dilanjutkan dengan penguapan ekstrak menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan penguapan diatas cawan dengan *waterbath* hingga menghasilkan ekstrak cair pekat^[14].

Bunga pukul empat yang digunakan sebanyak 300 gram dengan pelarut etanol sebanyak 2,25 liter menghasilkan ekstrak cair pekat sebanyak 35,6 gram. Ekstrak cair pekat dilakukan perhitungan rendemen dengan hasil persentase rendemen diperoleh sebesar 11,89% dan kadar air 9%.

Hasil Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia yang terdapat dalam ekstrak etanol bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa L.*) dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 15. Hasil Uji Skrining Fitokimia

Uji fitokimia	Pereaksi	Standar Warna	Hasil	Keterangan
1. Alkaloid	HCl, Reagen Dragendroff	Orange/ Merah	+	Orange
2. Flavonoid	Mg, HCl pekat	Merah/ Jingga	+	Merah
3. Tanin	FeCl ₃	Hijau/ Biru	+	Hijau tua
4. Saponin	Ditambahkan Air Panas	Berbusa	+	Berbusa
5. Antosianin	NaOH	Kecoklatan	+	Kecoklatan

Keterangan : (+) Positif : Terdeteksi mengandung senyawa

(-) Negatif : Terdeteksi tidak mengandung senyawa

Hasil Uji KLT

Dari hasil uji KLT senyawa antosianin diperoleh noda dan nilai Rf sebesar 0,58 pada eluen. Kemudian hasil dibandingkan dengan Rf literatur dan hasilnya berupa senyawa antosianin jenis sianidin 3-rhamnosid [15].



Gambar 5. Uji KLT

Aktivitas Antihiperkolesterolemia Ekstrak Etanol Bunga Pukul Empat

Pada penelitian ini pemeriksaan kadar kolesterol total tikus dilakukan di Klinik Universitas Muhammadiyah Purwokerto (UMP) menggunakan alat fotometer dengan metode CHOD-PAP. Metode CHOD-PAP merupakan metode enzimatik yang banyak dipergunakan di laboratorium klinik karena hasilnya lebih teliti [16]. Sampel serum darah tikus dikemas dengan menggunakan tabung *vacutainer* dan dimasukkan kedalam karton yang berisi es batu dengan tujuan untuk menghindari kerusakan pada sampel.

Pemeriksaan kadar kolesterol total tikus dilakukan sebanyak 3 kali pemeriksaan yaitu pemeriksaan pertama sebelum tikus diinduksi makanan lemak tinggi sebagai *pre-test* untuk mengetahui kadar kolesterol awal, pemeriksaan kedua setelah tikus diinduksi makanan lemak tinggi *post-test* untuk dibandingkan dengan kadar kolesterol awal sekaligus menjadi *pre-test* untuk sebelum perlakuan pengobatan, dan pemeriksaan ketiga setelah tikus diberikan perlakuan pengobatan sebagai *post-test* kadar kolesterol akhir.

Pemeriksaan kadar kolesterol total kedua dilakukan untuk memastikan induksi makanan lemak tinggi dengan campuran kuning telur bebek, mentega dan minyak kelapa memberikan peningkatan kadar kolesterol yang efektif dengan perbandingan 1:1:1, sehingga tikus menjadi hiperkolesterol ^{[17][18]}. Hasil pemeriksaan kedua menunjukkan adanya peningkatan kadar kolesterol total pada tikus setelah pemberian induksi makanan lemak tinggi selama 12 hari sebanyak 2 ml perhari (**Tabel.2**).

Tabel 16. Hasil Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total (mg/dl)

Kelompok	Sebelum Induksi	Sesudah Induksi	Setelah Perlakuan	Selisih
Kontrol Negatif	57	Mati	Mati	Mati
	73	94	68	26
	89	136	76	60
	22	44	77	33
	67	144	63	81
Kontrol Positif	46	71	18	53
	81	176	27	149
	29	126	16	110
	61	115	40	75
	55	151	20	131
Ekstrak Dosis 300 mg	20	91	33	58
	30	105	39	66
	18	156	42	114
	35	167	30	137
	36	181	36	145
Ekstrak Dosis 600 mg	75	106	44	62
	25	119	23	96
	28	157	34	123
	30	118	41	77
	35	93	32	61
Ekstrak Dosis 1200 mg	67	117	27	90
	79	106	19	87
	79	92	30	62
	63	132	26	106
	78	163	33	130

Berdasarkan **Tabel 2**. Terjadi penurunan kadar kolesterol pada seluruh kelompok termasuk pada kelompok kontrol normal dan kontrol negatif. Seharusnya pada kedua kelompok tersebut data yang diharapkan tetap stabil dan tidak terjadi penurunan kadar kolesterol. Hal ini kemungkinan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti waktu pada saat inkubasi dan suhu inkubasi karena dapat mempengaruhi kadar suatu zat yang ditentukan ^{[19][20]}. Pada penelitian ini diduga terdapat kesalahan pada saat proses inkubasi dimana suhu yang digunakan tidak stabil. Kenaikan suhu 10°C akan mempercepat reaksi kimia sesuai dengan hukum van't Hoff ^[21].

Penurunan kadar kolesterol total darah tikus dapat dilihat dengan pembandingan kontrol positif yaitu simvastatin. Simvastatin digunakan sebagai pembandingan karena merupakan suatu obat sintesis yang pada umumnya digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol dan memiliki mekanisme kerja yang sama dengan ekstrak bunga pukul empat yang digunakan. Mekanisme kerja dari simvastatin dalam menurunkan kadar kolesterol yaitu dengan cara menghambat enzim *3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-CoenzymeA (HMG-CoA) reductase*, enzim ini bekerja dengan mengkatalisis sesi yang membatasi jalan pada biosintesis kolesterol [4]. Pada ekstrak bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa L.*) senyawa yang memiliki mekanisme kerja yang sama dengan simvastatin yaitu antosianin [5]. Antosianin merupakan suatu senyawa yang termasuk ke dalam golongan senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan dan dapat menyembuhkan penyakit degenerative [22].

ANALISIS DATA

Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total di analisis menggunakan SPSS 17.0 dengan menggunakan analisis *repeated measures* ANOVA. Syarat untuk melakukan analisis *repeated measures* ANOVA yaitu data yang digunakan harus terdistribusi dengan normal atau nilai nilai signifikan pada uji normalitas harus $p > 0,05$ [6]. Berdasarkan hasil dari perhitungan nilai signifikan yang diperoleh yaitu data terdistribusi dengan normal atau $p > 0,05$, hal ini sesuai dengan syarat sebelum melakukan uji *repeated measures* ANOVA.

Tabel 17. Hasil Uji Analisis *Repeated Measures* ANOVA

(I) KADAR KOLESTEROL	(J) KADAR KOLESTEROL	Mean Difference (I-J)	95% Confidence Interval for Difference ^a		Sig. ^a
			Lower Bound	Upper Bound	
Normal	Induksi MLT	-38.400*	-68.272	-8.528	.023*
	Negatif	-8.250	-58.256	41.756	.636
	Positif	35.200*	6.650	63.750	.027*
	Ekstrak 300 mg/KgBB	23.400	-11.890	58.690	.139
	Ekstrak 600 mg/KgBB	24.600	-10.449	59.649	.123
	Ekstrak 1.200 mg/KgBB	32.400	-5.268	70.068	.075
Induksi MLT	Normal	38.400*	8.528	68.272	.023*
	Negatif	33.500	-45.726	112.726	.271
	Positif	73.600*	30.708	116.492	.009*
	Ekstrak 300 mg/KgBB	61.800*	5.380	118.220	.038*
	Ekstrak 600 mg/KgBB	63.000*	8.685	117.315	.032*
	Ekstrak 1.200 mg/KgBB	70.800*	12.963	128.637	.027*
Positif	Normal	-35.200*	-63.750	-6.650	.027*
	Induksi MLT	-73.600*	-116.492	-30.708	.009*
	Negatif	-45.750*	-71.387	-20.113	.011*
	Ekstrak 300 mg/KgBB	-11.800	-28.282	4.682	.118
	Ekstrak 600 mg/KgBB	-10.600	-4.597	25.797	.125
	Ekstrak 1.200 mg/KgBB	-2.800	-18.831	13.231	.653

Negatif	Ekstrak 300 mg/KgBB	35.000*	32.402	37.598	.000
	Ekstrak 600 mg/KgBB	35.500*	11.596	59.404	.018
	Ekstrak 1.200 mg/KgBB	45.500*	31.658	59.342	.002
Ekstrak 300 mg/KgBB	Ekstrak 600 mg/KgBB	1.200	-13.633	16.033	.833
	Ekstrak 1.200 mg/KgBB	9.000*	.220	17.780	.047
Ekstrak 600 mg/KgBB	Ekstrak 1.200 mg/KgBB	7.800	-1.874	17.474	.089

Hasil uji analisis *repeated measures* ANOVA menunjukkan nilai signifikan apabila mendapatkan hasil $p < 0,05$. Uji ini dilakukan dengan tujuan untuk menguji apakah terdapat perbedaan yang signifikan (nyata) dari berbagai hasil pengukuran berulang dan berpasangan. Hasil dari analisis dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Berdasarkan hasil analisis *repeated measures* ANOVA yang telah dilakukan bahwa pada sebelum tikus diinduksi (*pre-test*) dibandingkan dengan sesudah diinduksi (*post-test*) diperoleh nilai signifikan $p 0,023 < 0,05$, yang artinya berbeda bermakna secara signifikan pada setiap perlakuan terhadap kenaikan kadar kolesterol total pada tikus putih jantan karena pemberian makanan lemak tinggi (MLT) yang berhasil. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mutia *et al.*, (2018), bahwa makanan lemak tinggi dapat menaikkan kadar kolesterol total. Hasil kadar kolesterol tikus sesudah diinduksi (*pre-test*) yang telah dilakukan terdapat dengan dibandingkan dengan kontrol positif, ekstrak dosis 300 mg/KgBB, ekstrak dosis 600 mg/KgBB, dan ekstrak dosis 1.200 mg/KgBB (*post-test*) terdapat perbedaan yang bermakna atau nilai signifikan $p < 0,05$ terhadap penurunan kadar kolesterol total pada tikus putih jantan.

Hasil dapat dilihat pada **Tabel 3**. bahwa untuk menentukan dosis yang paling efektif dalam menurunkan kadar kolesterol total yaitu dengan membandingkan kontrol positif dengan kontrol negatif, ekstrak dosis 300,600 dan 1.200 mg/KgBB. Berdasarkan hasil diperoleh nilai signifikan pada kontrol positif dengan kontrol negatif memiliki perbedaan yang bermakna karena nilai signifikan $p 0,011 < 0,05$. Hal ini sesuai karena pada kontrol negatif hanya diberi perlakuan Na-CMC 0,5% yang sifatnya sebagai penstabil. Pada kontrol positif dibandingkan dengan ekstrak dosis 300, 600, dan 1.200 mg/KgBB diperoleh nilai signifikan $p > 0,05$ yaitu $p 0,118$; $p 0,125$; dan $p 0,653$. Pada dosis tersebut, ekstrak etanol bunga pukul empat mempunyai aktivitas anti hiperkolesterolemia yang sebanding dengan simvastatin. Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya perbedaan yang bermakna antara kontrol positif simvastatin dengan ekstrak dosis 300, 600, dan 1200 mg/KgBB. Penurunan kadar kolesterol pada tikus putih jantan yang paling efektif terdapat pada ekstrak etanol bunga pukul empat dosis 1200 mg/KgBB dengan nilai signifikan 0,653 dan *mean difference* 2.800. Penurunan kadar kolesterol ini dipengaruhi karena adanya aktivitas dari senyawa antosianin yang terdapat pada ekstrak etanol bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa L.*) dengan cara menghambat enzim HMG-CoA reduktase sebagai katalis dalam pembentukan kolesterol [2][5][17].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan tentang uji aktivitas antihiperkolesterolemia ekstrak etanol bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa L.*) terhadap tikus putih jantan yang diinduksi makanan lemak tinggi dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa L.*) dapat digunakan dalam menurunkan kadar kolesterol total pada

tikus putih jantan yang telah diinduksi dengan Makanan Lemak Tinggi (MLT). Konsentrasi dari ekstrak etanol bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa L.*) yang menunjukkan tingkat keefektifan paling tinggi dalam menurunkan kadar kolesterol yaitu ekstrak dengan dosis 1200mg/KgBB.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] I. Rahman and D. Utami, "Hubungan Obesitas dengan Kadar Kolesterol Pada Mahasiswa Kedokteran Universitas Malahayati," *J. Med. Malahayati*, vol. 1, no. 4, pp. 185–191, 2014.
- [2] S. K. Octavia, S. Surdijati, and L. Soegianto, "Pengaruh Pemberian Infus Kelopak Kering Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) Terhadap Kadar Kolesterol Total Serum Darah Tikus Hiperkolesterolemia," *J. Farm. Sains dan Terap.*, vol. 2, no. 2, pp. 1–5, 2015, [Online]. Available: <http://jurnal.wima.ac.id/index.php/JFST/article/view/715>.
- [3] R. Depkes, *Profil Kesehatan Indonesia 2017*. Jakarta: Kemenkes RI, 2018.
- [4] N. A. Teguh and I. P. A. S. Panji, *Obat Penurun Lipid*. Denpasar: Universitas Udayana, 2017.
- [5] F. A. Fajrin, "Aktivitas Ekstrak Etanol Ketan Hitam Untuk Menurunkan Kadar Kolesterol," *J. Farm. Indones.*, vol. 5, no. 2, pp. 63–69, 2010.
- [6] Oktafiana, "Efektivitas Ekstrak Daun Bunga Pukul Empat (*Mirabilis jalapa*) Sebagai Ovisida Nyamuk *Aedes aegypti*," *SKRIPSI*, pp. 1–125, 2018.
- [7] N. Erlina and F. Satria, "Mutu Fisik Dan Penerimaan Volunter Terhadap Lotion Ekstrak Bunga Pukul Empat (*Mirabilis jalapa L.*)," *Akad. Farm. Putra Indones. Malang*, pp. 1–10, 2017.
- [8] I. Sangadji, M. Rijal, and Y. A. Kusuma, "Kandungan Antosianin Di Dalam Mahkota Bunga Beberapa Tanaman Hias," *Biosel Biol. Sci. Educ.*, vol. 6, no. 2, p. 118, 2017, doi: 10.33477/bs.v6i2.163.
- [9] C. A. Aprilia and M. Dewiastuti, "Efektivitas Hipolipidemia dan Antioksidan Ekstrak Daun Binahong pada Tikus Putih yang Diinduksi Pakan Hiperkolesterol," *Yars. Med. J.*, vol. 25, no. 3, p. 150, 2018, doi: 10.33476/jky.v25i3.362.
- [10] D. P. Krestianto, S. W. Jatmiko, and R. S. Bestari, "Efek Penurunan Kolesterol Total Pada Tikus Putih Galur Wistar Dari Ekstrak Akar Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness)," pp. 99–107, 2020.
- [11] D. Agustin and Ismiyanti, "Pengaruh Konsentrasi Pelarut Pada Proses Ekstraksi Antosianin Dari Bunga Kembang Sepatu," *KONVERSI*, vol. 4, no. 2, pp. 9–16, 2015.
- [12] W. Arifuddin, "Aktivitas Antioksidan Senyawa Antosianin dari Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*)," *Celeb. Biodiversitas*, vol. 1, no. 2, pp. 26–29, 2018.
- [13] Murniata, "Perbedaan Kadar Kolesterol Berdasarkan Waktu Inkubasi 10, 15, dan 20 Menit," *Tugas Akhir*, p. 11, 2019.
- [14] Muthmainnah B, "Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum L.*) Dengan Metode Uji Warna," *Media Farm.*, vol. 13, no. 2, pp. 23–28, 2017, [Online]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.07.012>[http://www.capsulae.com/media/Microen capsulation - Capsulae.pdf](http://www.capsulae.com/media/Microen%20capsulation%20-%20Capsulae.pdf)<https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2019.05.001>.
- [15] D. T. Santos, R. N. Cavalcanti, M. A. Rostagno, C. L. Queiroga, M. N. Eberlin, and M. Angela A. Meireles, "Extraction of Polyphenols and Anthocyanins from the Jambul (*Syzygium cumini*) Fruit Peels," *Food Public Heal.*, vol. 3, no. 1, pp. 12–20, 2013, doi: 10.5923/j.fph.20130301.02.
- [16] D. Purbayanti, "Pengaruh Waktu Pada Penyimpanan Serum Untuk Pemeriksaan Kolesterol Total," *J. Surya Med.*, vol. 1, no. 1, 2015.
- [17] S. Mutia, Fauziah, and Z. Thomy, "Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fruticosa (L.) A. Chev*) Terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia," *J. Bioleuser*, vol. 2, no. 2, pp. 29–35, 2018.
- [18] N. Jannah, Y. Yustina, D. N. Mahedra, T. S. Sumantri, and R. A. Husna, "Pengaruh

- Pemberian Ekstrak Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.) Terhadap Penurunan Kolesterol pada Tikus Jantan Putih Galur Wistar,” *Al-Kauniah J. Biol.*, vol. 11, no. 1, pp. 33–40, 2018, doi: 10.15408/kauniah.v11i1.5656.
- [19] M. Tuntun, W. . Wulan, D. Setiawan, and A. Nuryati, *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) : Kendali Mutu*, vol. 59. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- [20] K. Indranila, *Kontrol Kualitas Laboratorium Klinik*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, 2018.
- [21] D. Wulansari, “Perbedaan Suhu dan Waktu Inkubasi Pada Pemeriksaan Glukosa,” *SKRIPSI*, 2017.