

EFEKEKSTRAK AIR DAUN (*Annona muricata* L.) TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL DAN TRIGLISERIDA SERUM TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI DIET TINGGI LEMAK DAN TINGGI FRUKTOSA

Dewi Fitri Indriyani, Fenti Hidayah, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan : Ekstrak air daun sirsak(EADS) memiliki potensi memperbaiki profil lipid darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak air daun sirsak terhadap kadar kolesterol total dan trigliserida serum tikus wistar yang diinduksi diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa (DTLF).

Metode : Desain penelitian *post test group control only*. Penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan usia 8-10 minggu, berat badan 175-200g dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 1 (100mg/kgBB), perlakuan 2 (200mg/kgBB), perlakuan 3 (400mg/kgBB) (n=5 ekor). DTLF digunakan sebagai induksi dislipidemia pada semua kelompok perlakuan kecuali kontrol negatif. Pemberian EADS secara perorangan selama 10 minggu bersama DTLF. Kadar kolesterol total dan trigliserida serum diukur dengan metode *colorimetri* dengan *Total Cholesterol dan Triglyceride Assay Kit*. Pengukuran data Kolesterol total dianalisa menggunakan Kruskal Wallis dan Mann Whitney, sedangkan pengukuran data Trigliserida dianalisa menggunakan Oneway ANOVA dan LSD dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$.

Hasil : Pemberian DTLF menaikkan kadar kolesterol total secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok negatif. Pemberian EADS pada dosis 100mg/kgBB dan 400 mg/kgBB meningkatkan kadar kolesterol secara signifikan berturut-turut sebanyak 0,28 mg/dL dan 0,34 mg/dL dibandingkan kontrol positif ($p > 0,05$). Pemberian DTLF dan pemberian EADS tidak berpengaruh terhadap kadar trigliserida ($p > 0,05$).

Kesimpulan : EADS tidak mampu menurunkan kadar kolesterol total dan kadar trigliserida serum pada tikus dengan DTLF.

Kata kunci : dislipidemia, ekstrak air daun sirsak, kolesterol total, trigliserida.

EFFECTS OF SOURSOP (*Annona muricata* L.) LEAVES WATER EXTRACT ON TOTAL CHOLESTEROL AND TRIGLYCERIDE SERUM LEVELS OF WISTAR RATS INDUCED HIGH FAT AND HIGH FRUCTOSE DIET

Dewi Fitri Indriyani, Fenti Hidayah, Dini Sri Damayanti*
Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Soursop leaves water extract (SLWE) has a potential effect to improve blood lipid profile. The aim of the study was to determine the effect of soursop leaf to reduce total cholesterol and triglyceride levels in wistar rats which were induced by high-fat and high-fructose diet (HFFD).

Method: Design of study was a post test group control only. This experiment used male wistar rats aged 8-10 weeks, weight of 175-200g divided into 5 groups named negative control, positive control, treatment 1 (100mg/kg B.W.), treatment 2 (200mg/kg B.W.), treatment 3 (400mg/kg B.W.) (n = 5 tails). The HFFD was given to induce a dyslipidemic condition in all groups except negative control. The administration of SLWE with feeding tube and HFFD for 10 weeks. Serum total cholesterol and triglyceride levels were measured by the *colorimetric* method with *Total Cholesterol and Triglyceride Assay Kit* from the Biosystem. Data analysis used Kruskal Wallis and Mann Whitney for total cholesterol data and Oneway ANOVA and LSD for Triglyceride data with a significance level of $p < 0.05$.

Results: The administration HFFD significantly increased total cholesterol levels ($p < 0.05$) compared to the negative control. The administration SLWE at a dose of 100mg/kg B.W and 400mg/kg B.W significantly increased total cholesterol levels ($p < 0.05$) by 0,28 mg/dL and 0,34 mg/dL compared to positive control. The HFFD and the effect of SLWE did not affect triglyceride levels.

Conclusion: SLWE did not reduce serum total cholesterol levels and the serum triglyceride levels of rats induced by HFFD.

Keywords: dyslipidemic, soursop leaves water extract, total cholesterol, triglycerides.

*Correspondence:

Dini Sri Damayanti

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Address : Jl. MT Haryono 193, Malang City, East Java, Indonesian, 65145

e-mail:

dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Dislipidemia merupakan suatu kondisi yang terjadi akibat adanya kelainan dalam metabolisme lipid yang biasanya ditandai dengan adanya peningkatan pada kadar kolesterol total, *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan trigliserida (TG) yang disertai penurunan dari *High Density Lipoprotein* (HDL). Penderita dislipidemia di dunia menurut *American College of Cardiology/American Heart Association* berdasarkan tingginya tingkat LDL dan TG banyak ditemui pada negara-negara asia dan penduduk yang berkulit putih. Di Indonesia prevalensi dislipidemia berdasarkan kadar kolesterol total >200 mg/dL yaitu sekitar 39,8% penduduk sedangkan untuk kadar LDL, TG dan HDL berturut-turut yaitu sebesar 15,9%, 11,9% dan 22,9%^{1,2}.

Dislipidemia merupakan salah satu faktor resiko terjadinya berbagai macam penyakit yang mengancam jiwa seperti diabetes tipe 2, penyakit kardiovaskular, stroke dan aterosklerosis. Kondisi dislipidemia dapat mempengaruhi perubahan sintesis *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) pada hepar dan gangguan pada *Lipoprotein Lipase* (LPL) sehingga terjadi peningkatan kadar TG dan kolesterol total dalam tubuh³. Pada dislipidemia terjadi peningkatan kadar kolesterol total yang disebabkan oleh kenaikan kolesterol yang terdapat pada VLDL dan LDL karena peningkatan TG yang besar dalam sirkulasi sehingga terjadi penumpukan lemak berlebihan di dalam tubuh dan terjadinya hiperkolesterolemia⁴.

Penumpukan lemak berlebihan pada penderita dislipidemia mengakibatkan peningkatan jumlah asam lemak bebas yang dihidrolisis oleh LPL endotel. Peningkatan ini memicu produksi oksidan yang menimbulkan efek negatif terhadap retikulum endoplasma dan mitokondria. *Free Fatty Acid* (FFA) yang dilepaskan karena adanya penimbunan lemak yang berlebihan juga menghambat terjadinya lipogenesis sehingga menghambat klirens serum triasilgliserol sehingga mengakibatkan peningkatan kadar TG darah dan terjadinya hipertrigliseridemia⁵.

Obat-obatan seperti golongan statin, fibrat, asam nikotinat dan inhibitor absorpsi kolesterol sering digunakan untuk keperluan pengobatan dislipidemia dan komplikasinya tetapi efek samping yang ditimbulkan oleh penggunaan jangka panjang obat-obatan sintetik serta semakin meningkatnya kebutuhan terhadap obat-obatan mendorong masyarakat untuk mencari bahan-bahan alam yang memiliki harga yang murah dan mudah untuk dijumpai sebagai alternatif pengobatan, salah satu tanaman herbal yang sering dimanfaatkan adalah daun sirsak.

Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan salah satu tanaman yang banyak di temukan di negara dengan iklim tropis dan subtropis yang terdiri dari kurang lebih 130 genus dan 2300 spesies⁶. Secara empiris daun sirsak telah digunakan masyarakat untuk menurunkan kolesterol dan jus buah sirsak untuk menurunkan berat badan⁷. Daun sirsak (*Annona muricata*) memiliki kandungan beragam senyawa. Diantaranya senyawa

acetogenins, alkaloid, triterpenoid, kumarin, saponin dan flavonoid. Khususnya senyawa flavonoid dan saponin yang berperan sebagai antioksidan terhadap mekanisme perbaikan profil lipid⁸. Penelitian daun sirsak (*Annona muricata*) pernah dilakukan oleh peneliti sebelumnya Wurdianing et al., (2014) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) pada hewan coba tikus yang diinduksi diet tinggi lemak menunjukkan adanya perubahan profil lipid yang ditandai dengan penurunan kadar kolesterol.

Berdasarkan latar belakang diatas maka peneliti tertarik untuk membuktikan efek ekstrak air daun sirsak (EADS) untuk mengatur profil lipid, dengan mekanisme menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida serum hewan coba tikus Wistar Jantan yang diinduksi diet tinggi lemak dan diet tinggi fruktosa (DTLF).

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian eksperimental ini menggunakan desain penelitian *post test group only* secara *in vivo*. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan 1 Agustus sampai 10 Oktober 2018 dimulai dari proses aklimatisasi selama 2 minggu dan perlakuan selama 10 minggu yang dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Patologi Klinik Universitas Brawijaya dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unisma. Penelitian ini telah disetujui secara etik oleh komisi etik Universitas Brawijaya Malang dengan sertifikat etik No.202/EC/KEPK-S1/08/2018 pada tanggal 5 September 2018.

Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jenis *Rattus norvegicus* galur wistar jantan usia 8-10 minggu dengan berat badan berkisar antara 125-150 gr. Jumlah hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 25 tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok terdiri dari kontrol negatif (KN), kontrol positif (KP), perlakuan 1 (KP1), perlakuan 2 (KP2) dan perlakuan 3 (KP3).

Perlakuan dan Pemeliharaan Hewan Coba

Tikus jenis *Rattus norvegicus* galur wistar jantan usia 8-10 minggu dengan berat badan berkisar antara 125-150 gr dilakukan aklimatisasi di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya selama 2 minggu. Randomisasi dilakukan pada hari ke 14 dengan membagi tikus menjadi 5 kelompok yaitu KN (diet normal+air), KP (DTLF+air), KP1 (DTLF+EADS 100mg/kgBB), KP2 (DTLF+EADS 200mg/kgBB) dan KP3 (DTLF+EADS 400mg/kgBB). Perlakuan tikus dilakukan selama 70 hari. Setiap tikus ditempatkan pada satu kandang yang berbeda dan pemberian infusa diberikan secara perorangan lambung yang diberikan bersamaan dengan induksi diet yang bertujuan sebagai tindakan preventif.

Pembuatan Pakan Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktosa

Pakan dibuat dengan cara mencampurkan 20 g PARS dengan 10 g tepung terigu, 0,8 g kolesterol, 0,08 g asam kolat, 1 ml minyak babi, dan 10 ml air serta 10% fruktosa (4 g) untuk 1 ekor tikus. Total diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa yang diberikan pada tikus adalah 45,88 gr yang dibulatkan menjadi 45 gr⁹. Pemberian fruktosa 10% pada hewan coba mengacu pada pemberian ke manusia berdasarkan pada WHO (2015) yang mengatakan bahwa pemberian fruktosa disarankan < 10% dari total kebutuhan kalori. Pembuatan diet normal dengan cara mencampurkan 22,5 g PARS, 10 g tepung dan 10 ml air untuk tiap ekor tikus. Pemberian minum pada hewan coba dilakukan secara *ad libitum*.

Pembuatan Ekstrak Air Daun Sirsak

Daun sirsak yang sudah dipilah kemudian dicuci dan dilakukan proses pengeringan. Daun yang sudah kering selanjutnya dilakukan penggilingan sehingga terbentuk serbuk. Serbuk daun kering kemudian dimasukkan dalam panci dekok dan ditambahkan air dengan perbandingan serbuk : air adalah 1:10. Selanjutnya air panci dekok bagian bawah diisi air dan dididihkan sampai 100 derajat. Panci yang berisi serbuk daun sirsak dan air diletakkan diatas rebusan air selama 15 menit sambil diaduk. Setelah dingin, ekstrak disaring menggunakan kertas Whatman nomor 1¹⁰. Filtrat selanjutnya divacum menggunakan evaporator pada suhu 60 °C¹¹. Ekstrak pekat selanjutnya dilakukan *freeze drying* untuk menghasilkan ekstrak dalam bentuk serbuk kering^{12,13}.

Pengambilan Sampel Serum

Tikus dilakukan pembedahan pada hari ke 71 dengan dilakukan anestesi menggunakan injeksi ketamin 5 mg/kgBB secara intramuskular (IM). Setelah tikus dipastikan sudah dibawah pengaruh anestesi, tikus difiksasi pada tempat operasi, selanjutnya dengan menggunakan pisau diseksi dan forceps dibuat irisan bentuk V dari genital dilanjutkan ke arah atas sampai diaphragma untuk membuka abdomen secara komplet dan lanjut membuka thorak. Pengambilan sampel darah dilakukan melalui pungsi di ventrikel kiri sebanyak 3 cc dan dimasukkan kedalam *vacutainer* didiamkan selama 30 menit, selanjutnya di sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm untuk mendapatkan serum.

Pengukuran Kadar Kolesterol Total

Serum diambil menggunakan pipet sebanyak 50 µl dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan larutan pereaksi kolesterol sebanyak 50 µl lalu dihomogenkan menggunakan vortex, diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit. Pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 540-570 nm menggunakan alat *automatic biochemistry analyser* Horiba-Medical ABX Pentra C200³⁸.

Pengukuran Kadar Trigliserida Serum

Serum diambil menggunakan pipet sebanyak 10 µl dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan larutan pereaksi trigliserida sebanyak 90 µl lalu dihomogenkan menggunakan vortex, diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 540-570 nm menggunakan alat *automatic biochemistry analyser* Horiba-Medical ABX Pentra C200³⁸.

Teknik Analisa Data

Data yang didapatkan dilakukan uji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu. Pada kadar trigliserida dilakukan uji statistik *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji LSD sedangkan pada kadar kolesterol total dilakukan uji statistik *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*. Hasil analisa data dinyatakan bermakna apabila nilai $p < 0,05$. Analisa data dilakukan dengan memakai software statistik SPSS versi 16.

HASIL DAN ANALISA DATA PENELITIAN

Efek Pemberian EADS terhadap Kadar Kolesterol total serum Tikus dengan DTLF

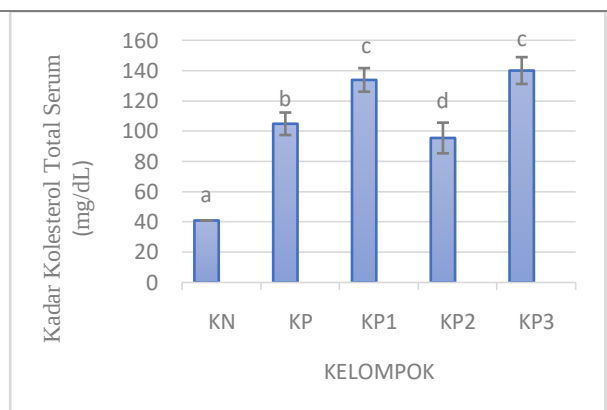
Hasil pemeriksaan dan analisa data kadar kolesterol total serum pada kelompok kontrol dan perlakuan yang diberi EADS dan DTLF dapat dilihat pada **Gambar 1**. Analisa data menggunakan uji statistik *Kruskal Wallis*, hal ini dikarenakan hasil data tidak memenuhi syarat normalitas dan homogenitas ($p > 0,05$).

NO	KELOMPOK	N	Rerata ± SD Kolesterol serum (mg/dL)
1	KN	5	41,00 ± 8,46 ^a
2	KP	5	105,00 ± 18,80 ^b
3	KP1	5	134,00 ± 10,12 ^c
4	KP2	5	95,60 ± 25,69 ^d
5	KP3	5	140,20 ± 27,03 ^c

Tabel 1. Rata-Rata Kadar Kolesterol Total Serum Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktosa

Keterangan: Data dalam rata-rata ± standar deviasi (SD). Pada uji statistik didapatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Data dalam rata-rata ± SD. (a) berbeda signifikan ($p < 0,05$) terhadap (b), (c) dan (d), (b) berbeda signifikan ($p < 0,05$) terhadap (c), (d) berbeda signifikan ($p < 0,05$) terhadap (c).

NO	KELOMPOK	N	Rerata $\pm$ SD Triglicerida serum (mg/dL)
1	KN	5	92,80 $\pm$ 57,30
2	KP	5	121,20 $\pm$ 55,71
3	KP1	5	111,40 $\pm$ 68,52
4	KP2	5	67,20 $\pm$ 23,94
5	KP3	5	126,00 $\pm$ 36,96



Gambar 1. Histogram Kadar Kolesterol total Serum Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

Keterangan: Data dalam rata-rata $\pm$ standar deviasi (SD). Pada uji statistik didapatkan perbedaan yang signifikan ($p<0,05$). Data dalam rata-rata $\pm$ SD. (a) berbeda signifikan ($p<0,05$) terhadap KP, KP1, KP2 dan KP3, (b) berbeda signifikan ($p<0,05$) terhadap KP1 dan KP3, (d) berbeda signifikan ($p<0,05$) terhadap KP1 dan KP3.

Kadar kolesterol total pada kelompok KN, KP, KP1, KP2, dan KP3 adalah 41,00 $\pm$ 8,46 mg/dL, 105,00 $\pm$ 18,80 mg/dL, 134,00 $\pm$ 10,12 mg/dL, 95,60 $\pm$ 25,69 mg/dL, dan 140,20 $\pm$ 27,03 mg/dL. Berdasarkan uji Kruskal Wallis didapatkan perbedaan signifikan pada Kolesterol total serum tikus antarkelompok penelitian ($p<0,05$). Uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa pemberian DTLF pada KP, KP1, KP2 dan KP3 menyebabkan peningkatan kadar kolesterol total secara signifikan ($p<0,05$) berturut-turut sebanyak 1,56 mg/dL, 2,27 mg/dL, 1,31 mg/dL, dan 2,41 mg/dL dibandingkan KN, hal ini menunjukkan bahwa induksi DTLF dapat meningkatkan kadar kolesterol total serum pada tikus. Pemberian EADS dosis 100mg/kgbb dan 400mg/kgbb menyebabkan peningkatan kadar kolesterol berturut-turut sebanyak 0,28 mg/dL dan 0,34 mg/dL secara signifikan ($p<0,05$) dibandingkan KP, namun pada dosis 200mg/kgbb didapatkan penurunan kadar kolesterol sebanyak 0,09 mg/dL secara tidak signifikan ($p>0,05$) dibandingkan dengan KP. Pada kelompok KP2 juga didapatkan

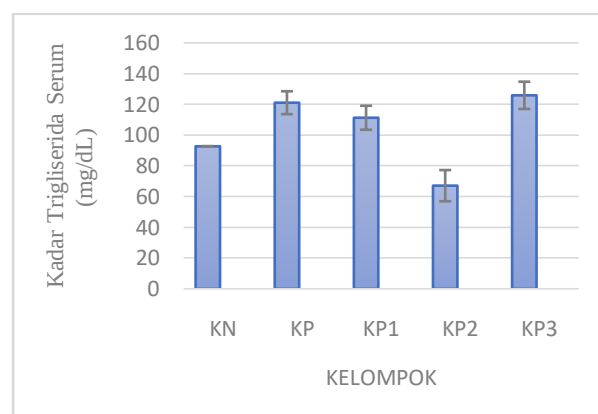
perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) terhadap kelompok KP1 dan KP3, namun tidak didapatkan perbedaan signifikan ($p>0,05$) antara KP1 dan KP3.

Efek Pemberian EADS terhadap Kadar Triglicerida serum Tikus dengan DTLF

Hasil pemeriksaan dan analisa data kadar triglicerida serum pada kelompok kontrol dan perlakuan yang diberi EADS dan DTLF dapat dilihat pada **gambar 2**. Analisa data menggunakan uji statistik *One Way ANOVA*, hal ini dikarenakan hasil data memenuhi syarat normalitas dan homogenitas ($p>0,05$).

Tabel 2. Rata-Rata Kadar Triglicerida Serum Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktosa

Keterangan: Data dalam rata-rata $\pm$ standar deviasi (SD). Pada uji statistik tidak didapatkan perbedaan yang signifikan ($p>0,05$). Tanpa notasi : tidak didapatkan perbedaan signifikan antar kelompok.



Gambar 2. Histogram Kadar Triglicerida Serum Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

Keterangan: Data dalam rata-rata $\pm$ standar deviasi (SD). Pada uji statistik tidak didapatkan perbedaan yang signifikan ($p>0,05$). Tanpa notasi : tidak didapatkan perbedaan signifikan antar kelompok.

Kadar triglicerida pada kelompok KN, KP, KP1, KP2, dan KP3 adalah 92,80 $\pm$ 57,30 mg/dL, 121,20 $\pm$ 55,71 mg/dL, 111,40 $\pm$ 68,52 mg/dL, 67,20 $\pm$ 23,94 mg/dL, dan 126,00 $\pm$ 36,96 mg/dL. Berdasarkan uji One Way Anova dan LSD tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antar kelompok ($p>0,05$). Berdasarkan hasil analisa data didapatkan bahwa pemberian DTLF pada kadar triglicerida serum terdapat kecenderungan peningkatan pada KP dibandingkan dengan KN sebesar 0,30 mg/dL secara tidak signifikan ($p>0,05$) dibandingkan KP. Pemberian EADS cenderung menurunkan kadar triglicerida serum sebesar 0,08 mg/dL dan 0,44 mg/dL pada dosis 100mg/kgBB dan 200mg/kgBB kemudian meningkat pada dosis 400mg/kgBB sebesar 0,03 mg/dL secara tidak signifikan ($p>0,05$) dibandingkan dengan KP. Kadar triglicerida serum antarkelompok perlakuan yaitu KP1,

KP2 dan KP3 juga tidak didapatkan perbedaan yang signifikan ($p>0,05$).

PEMBAHASAN

Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktosa terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Serum.

Pada penelitian ini pemberian diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa menunjukkan peningkatan signifikan pada kadar kolesterol total serum ($p<0,05$) dan peningkatan secara tidak signifikan pada kadar trigliserida serum tikus ($p>0,05$) antara kelompok KN terhadap KP. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Murwani et al., (2013) yang menunjukkan bahwa pemberian diet tinggi lemak pada hewan coba selama 8 minggu mampu menginduksi terjadinya perubahan profil lipid dalam darah yaitu meningkatkan kadar kolesterol dalam darah. Komposisi minyak babi yang mengandung lebih banyak asam lemak jenuh dibandingkan minyak nabati atau hewani yang apabila dikonsumsi sebanyak 1% dari total energi sehari diduga dapat meningkatkan kadar kolesterol sampai 2,7mg/dl¹⁴. Menurut penelitian Ková (2009) juga disebutkan bahwa pemberian kolesterol dalam diet tinggi lemak mampu meningkatkan kadar kolesterol dalam darah. Penambahan asam lemak pada diet tinggi lemak, akan menginduksi peningkatan dari kadar LDL dan menurunkan kadar HDL dalam darah, sehingga kombinasi dari pemberian kolesterol, asam lemak dan minyak babi dalam diet tinggi lemak berperan dalam terjadinya peningkatan kadar kolesterol total dan trigliserida dalam darah. Pernyataan ini diperkuat dengan hasil penelitian (Maulana data belum dipublikasi) yang membuktikan bahwa pemberian diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa mampu meningkatkan kadar LDL dan menurunkan HDL.

Pemberian diet tinggi lemak akan menyebabkan peningkatan dari absorpsi lemak dalam saluran cerna sehingga akan menyebabkan peningkatan konsentrasi kilomikron dalam plasma¹⁵. Kompleks trigliserida dan kilomikron tersebut selanjutnya dipecah kembali oleh enzim lipase menjadi *free fatty acid* (FFA) dan kilomikron remnant. Trigliserida pada kilomikron remnant tersebut sebagian diangkut ke hati dan digunakan sebagai bahan baku pembuatan trigliserida endogen. Penumpukan TG yang berlebihan dan terus-menerus dalam hepar juga akan menyebabkan stress oksidatif pada mitokondria sel hepar dan memicu mediator pro inflamasi pada hepar. Kondisi ini memicu peningkatan produksi lipoprotein yaitu peningkatan pembentukan VLDL di hepar sehingga LDL darah tinggi¹⁶. Selain itu, pemberian diet tinggi lemak akan menghambat faktor transkrip sintesis Apo-A1 yang menyebabkan penurunan dari HDL-nascent sehingga kadar HDL dalam darah akan mengalami penurunan¹⁷.

Pemberian diet fruktosa 10% dalam kombinasi diet akan direspon oleh tubuh dengan cara meningkatkan proses absorpsi di usus halus yang kemudian akan ditranspor ke dalam hepar dengan bantuan GLUT 2. Pada hepar, fruktosa akan mengalami perubahan gugus

kimia oleh enzim fruktokinase menjadi fruktosa-1-fosfat. Selanjutnya dengan bantuan enzim hepatic aldolase fruktosa-1-fosfat akan mengalami proses pemecahan menjadi gliseraldehid-3-fosfat dan dihidroaseton fosfat. Hasil dari proses pemecahan ini akan mengalami perubahan menjadi Asetil CoA yang kemudian akan menghasilkan produk berupa ATP dan juga dapat menghasilkan trigliserida dengan membentuk gliserol-3-fosfat sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan kadar trigliserida serum dalam darah¹⁸. Berdasarkan fakta tersebut diatas, pemberian diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa selama 10 minggu pada penelitian ini telah mampu meningkatkan kadar kolesterol total, namun tidak meningkatkan kadar trigliserida.

Kegagalan menginduksi peningkatan trigliserida diduga disebabkan waktu pemberian diet yang kurang lama, hal ini terlihat dari hasil rerata pada kelompok KP yang cenderung meningkat dibandingkan dengan KN namun masih dalam batas normal. Hasil ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Heriansyah (2013) menyatakan bahwa pemberian diet tinggi lemak selama 8 minggu dapat meningkatkan kadar trigliserida dibandingkan dengan KN namun masih dalam batas normal (< 150 mg/dL) sedangkan pemberian selama 16 minggu hanya mampu meningkatkan sedikit kadar trigliserida dari nilai normal. Antara pemberian diet tinggi lemak pada rentang waktu 8 minggu dan 16 minggu juga didapatkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p>0,05$) antara 2 kelompok tersebut.

Efek Ekstrak Air Daun Sirsak terhadap Kadar Kolesterol Total Serum Tikus yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktosa.

Berdasarkan hasil uji analisa statistik kruskall wallis dan Mann Whitney didapatkan bahwa pemberian ekstrak air daun sirsak pada dosis 100 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB menyebabkan peningkatan kadar kolesterol total secara signifikan dibandingkan KP, namun dosis 200 mg/kgBB tidak berbeda signifikan dengan KP. Hal ini menunjukkan bahwa EADS tidak mampu menurunkan kadar kolesterol pada tikus yang diberi DTLF selama 10 minggu. Pada penelitian sebelumnya oleh Levelsofwhite (2017) didapatkan sebagian besar kandungan dalam daun sirsak berupa zat metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid dan tanin. Zat-zat ini dapat berperan sebagai antidiabetes, antikanker, serta memiliki potensi terhadap penurunan kadar kolesterol darah. Zat aktif lain yang juga banyak ditemukan dalam daun sirsak yang memiliki efek sebagai zat antioksidan adalah senyawa fenol¹⁹. Pada penelitian yang dilakukan oleh Listianasari et al.,(2017) dijelaskan bahwa senyawa fenol mampu menurunkan kadar kolesterol total dalam darah melalui mekanisme menghambat proses esterifikasi kolesterol dan menurunkan sekresi lipoprotein pada hati dan usus. Senyawa lain yang juga ikut berperan dalam mekanisme menurunkan kadar kolesterol dalam darah adalah senyawa golongan flavonoid.

Pada penelitian sebelumnya oleh Sri Luliana (2017), disebutkan bahwa dalam menurunkan kadar kolesterol total dalam darah, flavonoid bekerja melalui mekanisme inhibisi dari enzim HMG Co-A reduktase dan menghambat sekresi dari ApoB. Adanya efek antioksidan dalam senyawa flavonoid juga ikut berperan dalam mereduksi kadar kolesterol total dalam tubuh yaitu dengan inhibisi proses absorpsi dalam usus halus dan meningkatkan proses ekskresi asam empedu²⁰. Senyawa flavonoid juga dapat meningkatkan ekskresi getah empedu dengan mengaktifkan enzim p-450 sehingga akan menyebabkan kadar kolesterol dalam darah juga akan mengalami penurunan²¹.

Terjadinya peningkatan kadar kolesterol total pada kelompok KP1 dan KP3 diduga karena kandungan bahan aktif pada ekstrak air daun sirsak yaitu senyawa antioksidan seperti flavonoid dan fenol. Dosis pemberian ekstrak air daun sirsak diduga berperan dalam terjadinya peningkatan kadar kolesterol total pada kelompok KP1 dan KP3, pada pemberian dosis kecil akan menyebabkan kurangnya efek antioksidan sedangkan pada pemberian dosis tinggi akan meningkatkan efek oksidan. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kim et al., (2016) didapatkan bahwa senyawa aktif pada ekstrak daun sirsak pada berbagai macam konsentrasi tidak dapat menurunkan mediator inflamasi namun dapat mengaktifkan mRNA dari sitokin khususnya TNF α dan IL-1 β yang berperan sebagai proinflamasi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Yuniarti (2016) disebutkan bahwa pemberian ekstrak air daun sirsak pada dosis 400 mg/kgBB tidak didapatkan penurunan kadar kolesterol total secara signifikan dibandingkan dengan dosis 200 mg/kgBB, hal diduga pada dosis tinggi memicu efek antagonis dari interaksi beberapa senyawa yang terkandung dalam daun sirsak sehingga semakin tinggi dosis yang diberikan akan semakin meningkatkan efek antagonis pada ekstrak air daun sirsak.

Efek pemberian diet tinggi lemak dan diet tinggi fruktosa dalam jangka waktu yang cukup lama akan menginduksi terjadinya inflamasi pada saluran cerna khususnya pada sel epitel usus halus akibat adanya perubahan pada komposisi bakteri normal dalam usus halus. Adanya akumulasi lemak dan fruktosa yang berlebih dalam saluran cerna akan menyebabkan penurunan jumlah dari bakteri normal dalam usus halus sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan dari bakteri patogen. Adanya perubahan komposisi bakteri dalam usus halus akan memicu bakteri patogen untuk menghasilkan zat yang bersifat endotoksin yaitu lipopolisakarida dan kemudian akan mengaktifkan mediator inflamasi yaitu TNF α dan IL-1 β sehingga akan menyebabkan penurunan dari permeabilitas antar sel-sel sehingga sistem barrier dalam usus halus akan rusak dan meningkatkan radikal bebas dalam usus²². Terganggunya permeabilitas dalam usus akibat adanya proses inflamasi akan berdampak terhadap proses metabolisme lemak dalam usus. Adanya kerusakan

intermembran sel dalam usus akan menginduksi terjadinya inflamasi sistemik dan mengaktifkan meningkatkan proses lipolisis dari jaringan adiposa yang dapat meningkatkan *Free Fatty Acid* (FFA). FFA kemudian akan masuk hepar dan mengalami oksidasi menjadi asetil-KoA yang berperan dalam proses sintesis kolesterol yang ditandai dengan adanya peningkatan pembentukan VLDL di hepar sehingga LDL darah tinggi. Adanya inflamasi pada jaringan hepar menyebabkan penurunan *reverse cholesterol transport* sehingga HDL darah turun sehingga kadar kolesterol total dalam darah akan meningkat.

Senyawa aktif dalam ekstrak air daun sirsak yaitu flavonoid dapat menurunkan kadar kolesterol total bekerja sebagai antioksidan, antibakteri dan anti-inflamasi. Flavonoid bekerja dengan cara melawan bakteri patogen dalam usus dan meningkatkan fungsi bakteri normal dalam usus yang berperan dalam metabolisme asam lemak rantai pendek seperti propionat, asetat, dan butirir²³. Peningkatan fungsi bakteri normal dalam usus akan meningkatkan sekresi hormon dalam usus sehingga akan meningkatkan metabolisme lemak. Fungsi antioksidan dan antiinflamasi pada senyawa flavonoid bekerja melalui mekanisme inhibisi dari mediator inflamasi terutama TNF α dan IL-1 β pada usus sehingga protein claudin-1 akan mengalami peningkatan dan meningkatkan permeabilitas antar sel dalam usus²⁴. Senyawa polifenol dalam ekstrak air daun sirsak juga ikut berperan sebagai antibakteri dengan cara menghambat penyerapan protein sel dan menghancurkan dinding sel dari sel bakteri²⁵. Fungsi antioksidan dan antiinflamasi pada senyawa ini melalui aktivitas *free radical scavenger*²⁶.

Berdasarkan fakta tersebut diatas dapat diduga ketidakmampuan EADS menurunkan kadar kolesterol dan TG dalam darah diduga disebabkan rendahnya potensi antiinflamasi senyawa aktif daun sirsak serta kurangnya waktu pemberian EADS. Dugaan ini didukung oleh hasil penelitian Damayanti (2019) yang membuktikan bahwa EADS tidak mampu menurunkan kadar TNF alfa plasma yang merupakan mediator utama yang berperan dalam proses inflamasi di intestinal.

Efek Ekstrak Air Daun Sirsak terhadap Kadar Trigliserida Serum Tikus yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktosa.

Berdasarkan hasil uji analisa statistik menggunakan *OneWay ANOVA* dan *LSD*, pemberian ekstrak air daun sirsak tidak memberikan hasil yang signifikan ($p > 0,05$) pada kelompok KP1, KP2 dan KP3 dibandingkan dengan KP, namun jika melihat rerata pada kelompok KP1 dan KP2 didapatkan rata-rata yang lebih rendah dibandingkan dengan KP. Kandungan zat aktif pada ekstrak air daun sirsak diduga berperan dalam proses penurunan dari kadar trigliserida serum pada tikus. Pada penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa kandungan senyawa fenol dapat menurunkan kadar trigliserida dalam darah melalui 2 mekanisme yaitu yang pertama dengan cara menghambat proses

esterifikasi kolesterol sehingga kolesterol ester akan mengalami penurunan, yang kedua adalah melalui mekanisme inhibisi Apo B-48 dan Apo B-100 dalam enterosit dan hepar sehingga pembentukan kilomikron, VLDL, IDL, dan LDL akan mengalami penurunan dan kadar trigliserida dalam darah akan mengalami penurunan²⁷. Kandungan senyawa flavonoid juga ikut berperan dalam menurunkan kadar trigliserida dalam darah melalui mekanisme meningkatkan aktivitas dari lipoprotein lipase sehingga asam lemak, monogliserida, kolesterol diabsorpsi melalui sel mukosa usus dan menghambat transporter GLUT5 sehingga proses penyerapan fruktosa menurun dan kadar trigliserida dalam darah juga ikut turun^{20,29}. Senyawa alkaloid pada daun sirsak juga memiliki efek menghambat aktivitas enzim lipase, sehingga dapat menghambat proses pemecahan lemak yang mengakibatkan jumlah lemak yang diabsorpsi dalam usus juga ikut berkurang²¹. Hasil ini juga didukung oleh (Sari *unpublished*) yang mengatakan bahwa tidak didapatkan adanya perbedaan yang signifikan pada SGPT hepar pada semua kelompok akibat adanya induksi diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa yang kurang lama sehingga belum menimbulkan efek kronis pada hepar.

Pada hasil penelitian ini juga didapatkan peningkatan kadar trigliserida serum secara tidak signifikan ($p > 0,05$) pada kelompok KP3 bila dibandingkan dengan KP. Adanya kecenderungan peningkatan kadar trigliserida dengan dosis 400 mg/kgBB pada KP3 disebabkan karena efek flavonoid yang berlebihan akan menyebabkan terjadinya peningkatan potensi pembentukan radikal bebas. Pada saluran cerna apabila terjadi peningkatan radikal bebas akan menyebabkan inflamasi sistemik dan menginduksi peradangan di berbagai organ seperti pembuluh darah, hati, otot rangka, pankreas dan jaringan adiposit sehingga akan mengganggu metabolisme lipid salah satunya kadar trigliserida²³. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kim et al., (2016) didapatkan bahwa senyawa aktif pada ekstrak daun sirsak pada berbagai macam konsentrasi tidak dapat menurunkan mediator inflamasi namun dapat mengaktifkan mRNA dari sitokin khususnya TNF α dan IL-1 β yang berperan sebagai proinflamasi. Hasil yang berbeda pada penelitian ini mungkin disebabkan karena penggunaan pelarut yang berbeda dan proses ekstraksi yang berbeda atau perbedaan senyawa aktif pada ekstrak air daun sirsak pada penelitian yang berbeda, namun belum diketahui secara pasti mekanisme peran senyawa aktif ekstrak daun sirsak yang memperantarai aktivasi mediator proinflamasi³⁰. Selain berdasarkan fakta tersebut diatas adanya hasil yang tidak signifikan terhadap kadar trigliserida pada semua kelompok diduga juga disebabkan adanya standar deviasi yang tinggi sehingga bisa menjadi salah satu faktor bias dari penelitian ini.

KESIMPULAN

kesimpulan

Berdasarkan dari hasil analisa data dan pembahasan pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa :

1. Diet tinggilemakdantinggifruktosadapatmeningkatkan kadar kolesterol total namun tidak meningkatkan kadar trigliserida.
2. Pemberianekstrak air daunsirsaktidak mampu menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida serum tikus yang diinduksi diet tinggilemakdantinggifruktosa.

Saran

Saran yang dapat diberikan pada pengembangan penelitian ini, yaitu :

1. Perludilakukanpenelitianlebihlanjut diet tinggilemakdantinggifruktosapadawaktu yang lebih lama untukmembuatefek kronis.
2. Dibutuhkanpenelitianlebihlanjut terhadap efek dan dosis ekstrak air daunsirsak menggunakan metode ekstraksi selain infusadan menggunakan pelarut selain air.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada IOM dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah memberikan dana penelitian, dan tim penelitian yang telah membantu pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. PERKI (Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia). Panduan Tata Laksana Dislipidemia tahun 2018. *Jurnal Kardiologi Indonesia*; 2017.
2. Depkes. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). Jakarta : Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2013
3. Segula, D. *Complications of obesity in adults: a short review of the literature. Malawi Medical Journal*.2014; **26**(1); 20–24.
4. Hastuty, Y. D. Perbedaan kadar kolesterol orang yang obesitas dengan orang yang non obesitas. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Malikussaleh*.2015; 47–56.
5. Putri, S. R. Obesitas sebagai Faktor Resiko Peningkatan Kadar Trigliserida Obesity as Risk Factor of Higher Triglyceride Level. *Majority*.2015; **20**(07); 78.
6. Moghadamtousi, S. Z., Fadaeinasab, M., Nikzad, S., Mohan, G., Ali, H. M., & Kadir, H. A. *Annona muricata (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. International Journal of Molecular Sciences*. 2015; **16**(7); 15625–15658.
7. Yuniarti, L. Potensi Ekstrak Air Daun Sirsak Sebagai Penurun Kolesterol dan Pengendali Bobot Badan. 2016; **4**(2); 82–87.
8. Dharma, S., Supanda, O., dan Elisma. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sirsak

- (*Annona muricata* L.) Terhadap Kadar LDL pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Farmasi Higea*.2014;**6**(1), 68–77.
9. Sri Murwani, Mulyohadi Ali, K. M. Diet Aterogenik Pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus* Strain Wistar) Sebagai Model Hewan Aterosklerosis.*Jurnal Kedokteran Brawijaya*.2013; **11**.
 10. Félix-Silva, J., Souza, T., Menezes, Y. A. S., Cabral, B., Câmara, R. B. G., Silva-Junior, A. A., Fernandes-Pedrosa, M. F. Aqueous leaf extract of *Jatropha gossypifolia* L. (*Euphorbiaceae*) inhibits enzymatic and biological actions of *Bothrops jararaca* snake venom.*PLoS ONE*.2014;**9**(8).
 11. Oyediji, O., Taiwo, F. O., Ajayi, O. S., & Oziegbe, M. Biocidal and Phytochemical Analysis of Leaf Extracts of *Annona muricata* Biocidal and Phytochemical Analysis of Leaf Extracts of *Annona muricata* (Linn.). *International Journal of Sciences : Basic and Applied Research(IJBSR)*.2015; **24**(7); 76-87.
 12. Yi, W., & Wetzstein, H. Y. Effects of drying and extraction conditions on the biochemical activity of selected herbs. *HortScience*. 2011; **46**(1); 70–73.
 13. Sophia, C., & Timmermann, S.. Effect Of Pelletization On Sc-Co 2 Extraction Of Rosemary Antioxidant Compounds.*Pontificia Universidad Catolica De Chile*. 2015; 1-94.
 14. Nurmawati, T. Hubungan Berat Badan Dan Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Setelah Diberikan Diet Tinggi Lemak.*Jurnal Ners dan Kebidanan*. 2016; **3**(3); 202–206.
 15. Harsa, I. M. S. Efek Pemberian Diet Tinggi Lemak Terhadap Profil Lemak Darah Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Kedokteran*. 2014; **3**(1); 21–28.
 16. Guyton, Arthur C. dan Hall, John E. Fisiologi Kedokteran Edisi 12. Jakarta; EGC; 2014. P 326-328,436,352,905.
 17. Srivastava, R. A. K., Srivastava, N., Aversa, M. Dietary Cholic Acid Lowers Plasma Levels Of Mouse And Human Apolipoprotein A-I Primarily Via A Transcriptional Mechanism. *Eur. J. Biochem*. 2000; 4280: 4272–4280.
 18. Desmawati. Pengaruh Asupan Tinggi Fruktosa Terhadap Tekanan Darah. *Majalah Kedokteran Andalas*. 2017; **40**(1); 31–39.
 19. Coria-Téllez, A. V., Montalvo-Gonzalez, E., Yahia, E. M., & Obledo-Vázquez, E. N. *Annona Muricata: A Comprehensive Review On Its Traditional Medicinal Uses, Phytochemicals, Pharmacological Activities, Mechanisms Of Action And Toxicity*. *Arabian Journal Of Chemistry*.2018; **11**(5); 662–691.
 20. Yuliana,Amanda Rambu M. A. P. Efek Pemberian Seduhan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Terhadap Kadar Trigliserida Tikus Sprague Dawley Dislipidemia. *Journal Of Nutrition*.2016; **5**; 428–437.
 21. Andriani, Berta.,Sumarny, Ros Y. S. Pemeriksaan Parameter Mutu Dan Aktivitas Antihiperlipidemia Ekstrak Etanol Biji Srikaya (*Annona Squamosa* L.) Pada Tikus Hiperlipidemia.Fakultas Farmasi Universitas Pancasila. 2017.
 22. Duan, Y., Zeng, L., Zheng, C., Song, B., Li, F., & Kong, X. Inflammatory Links Between High Fat Diets And Diseases.*Frontiers in Immunology*. 2018; **9**; 1–10.
 23. Lecomte, V., Kaakoush, N. O., Maloney, C. A., & Raipuria, M. Changes In Gut Microbiota In Rats Fed A High Fat Diet Correlate With Obesity-Associated Metabolic Parameters.*PLoS ONE*.2015; **10**(5); 1-22.
 24. Gulhane, M., Murray, L., Lourie, R., Tong, H., Sheng, Y. H., Wang, R., Hasnain, S. Z. High Fat Diets Induce Colonic Epithelial Cell Stress And Inflammation That Is Reversed By IL-22. *Nature Publishing Group*. 2016; 1–17.
 25. Sumantri, IndroG. P. H. dan H. L. Ekstraksi Daun Sirsak (*Annona Muricata* L) Menggunakan Pelarut Etanol.Momentum. 2014; **10**(1); 34–37.
 26. Zeka, K., Ruparelia, K., Arroo, R. R. J., Budriesi, R., & Micucci, M. Flavonoids And Their Metabolites : Prevention In Cardiovascular Diseases And Diabetes.*Diaseses*. 2017; 1–18.
 27. Listianasari, Y., Dirgahayu, P., Wasita, B., & Patriadi, M.. Efektivitas Pemberian Jus Labu Siam (*Sechium Edule*) Terhadap Profil Lipid Tikus (*Rattus Novergicus*) Model Hiperlipidemia. *Penelitian Gizi Dan Makanan (The Journal Of Nutrition And Food Research)*. 2018;**40**(1); 35–43.
 28. Bary Azhari, Sri Luliana, R. Uji Aktivitas Antihiperkolesterolemia Ekstrak Air Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn.) Pada Pemodelan Tikus Jantan Galur Wistar Hiperkolesterolemia.*Traditional Medicine Journal*.2017; **22**(1); 57-62.
 29. Gauer, JS. Tumova S, Lippiat JD, Kerimi A, Williamson G.*Differential Patterns Of Inhibition Of The Sugar Transporters Glut2, Glut5 And Glut7 By Flavonoids*. *Biochem Pharmacol*. 2018; **152**: 11-20.
 30. Mariam, S., Wahab, A., Jantan, I., Haque, A., & Arshad, L. Exploring The Leaves Of *Annona Muricata* L . As A Source Of Potential Anti-Inflammatory And Anticancer Agents.*Front. Pharmacol*. 2018;**661**(9); 1–20.
 31. Heriansyah, T. Pengaruh Berbagai Durasi Pemberian Diet Tinggi Lemak Terhadap Profil Lipid Tikus Putih (*Rattus Novergicus* Strain Wistar) Jantan. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*.2013; **13**(3); 144–150.

32. Kim, G., Khoi, N., Tran, S., Choi, E., Song, Y., Song, J., Park, T. *Immunomodulatory Efficacy Of Standardized Annona Muricata (Graviola) Leaf Extract Via Activation Of Mitogen-Activated Protein Kinase Pathways In Raw Immunomodulatory Efficacy Of Standardized Annona Muricata (Graviola) Leaf Extract Via Activation Of Mitogen-Activated Protein Kinase Pathways In Raw* 264.7 *Macrophages. Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2016; 1-10.
33. Ková, J. Ř., Tonar, Z., Heczková, M., & Poledne, R. *Prague Hereditary Hypercholesterolemic (Phhc) Rat – A Model Of Polygenic Hypercholesterolemia. Physiol. Res.* 2009; **58**(2); 95–99.
34. Levelsofwhite, B., & Mice, M.. Uji Efektifitas Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Dengan Menggunakan Beberapa Jenis Pelarut Terhadap Kadar Kolesterol Total Darah Mencit Putih Jantan. 2017; **1**(2); 37–43.
35. Wurdianing, I., Nugraheni, S. A., & Rahfiludin, Z. Efek ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap profil lipid tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*). *Jurnal Gizi Indonesia.* 2014;**3**(1); 7–12.
36. Maulana, Adnanda. Efek Infusa Daun Sirsak terhadap Kadar LDL dan HDL Serum Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktosa. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Malang. 2019. *Unpublished*
37. Damayanti, Dini S. Efek Ekstrak Air Daun Sirsak (EADS) Terhadap Berat Badan, Kadar Leptin dan TNF alfa serum Tikus dengan Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktose (TLTF). Desertasi. Universitas Brawijaya. Malang. 2019. *Unpublished*.
38. Horiba-Medical. ABX Pentra C200; *Automatic Biochemistry Analyzer/Compact. Motpellier.* France; 2013.

