

EFEK INFUSA KOMBINASI JATI BELANDA, KEMUNING, MURBEI, DAN BANGLE TERHADAP LDL DAN HDL SERUM TIKUS HIPERLIPIDEMIA

Ika Rakhma Ningtyas Ayu Prasetyo¹, Merlita Herhani², Doti Wahyuningsih²

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

²Staf Pengajar Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

Email: ikarakhmaningtyas3@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: High-fat diet (HFD) may lead to hyperlipidemic condition increasing the risk of atherosclerosis. *Jati belanda*, *kemuning*, *murbei* and *bangle* (JKMB) contain active compounds such as flavonoid, saponin, tannin, and triterpenoid which empirically used as antihyperlipidemia. This study aim to examine the effect of JKMB water extract combination on serum level of LDL and HDL in male wistar rats receiving high fat diet (HFD).

Methods: Experimental laboratory, in vivo with control group post test only design. Twenty five male wistar rats were divided into 5 groups namely: a negative control (KN), a positive control (KP), and three treated groups (D1, D2, D3). The groups of KP, D1, D2, D3 treated with HFD for 12 weeks. The groups of D1, D2, D3 simultaneously received doses of 189 mg/200gBB, 378 mg/200gBB, and 756 mg/200gBB respectively everyday for 12 weeks peroral. Serum level of LDL and HDL were measured by homogeneous enzymatic colorimetric assay. Data HDL were statistically analyzed with One-way ANOVA followed by Least Significant Difference (LSD) test. Data LDL were statistically analyzed with kruskall wallis test followed by mann whitney test.

Results: Levels of LDL in the KP group was higher than KN group ($p < 0.05$). LDL dose group 378 mg / 200gBB and 756 mg / 200gBB lower than the KP group but not significant ($p > 0.05$). The levels of HDL in the KP group was lower than the KN group, but not significantly ($p > 0.05$). All the doses of the given water extract JKMB did not significantly increase HDL ($p > 0.05$).

Conclusion: Administration of JKMB infusion has no effect on LDL reduction and HDL increase in HFD-treated mice.

Keywords: high-fat diet, LDL, HDL, JKMB

PENDAHULUAN

Diet tinggi lemak secara terus menerus disertai kurangnya berolahraga dapat menyebabkan hiperkolesterolemia, hiperlipidemia, atau dislipidemia¹. Kondisi hiperlipidemia secara kronis dapat menyebabkan komplikasi yaitu penyakit kardiovaskular ditandai dengan pembentukan aterosklerosis². Hasil survei *World Health Organization* (WHO) diperkirakan 17,5 juta kematian pada tahun 2012 disebabkan oleh penyakit kardiovaskular. Pengendapan plak aterosklerosis di dalam pembuluh darah, kejadiannya mencapai 213 kasus dari tiap 100.000 orang berusia diatas 30 tahun. Pada Tahun 2013, Risesdas mendata prevalensi penyakit kardiovaskular berdasarkan diagnosis dokter di Indonesia sebesar 0,5% dan berdasarkan gejala sebesar 1,5%.

Aterosklerosis merupakan suatu kondisi adanya plak ateroma pada dinding pembuluh darah besar dan sedang akibat tingginya kadar kolesterol dalam darah. Peningkatan LDL merupakan faktor penting yang berperan dalam proses aterogenesis, sedangkan HDL berperan sebagai anti aterogenik^{4,5}. Patogenesis awal aterosklerosis dimulai dengan adanya disfungsi endotel yang dikenal dengan istilah *response to injury hypothesis*. Disfungsi endotel ini kemudian berubah menjadi lesi yang progresif

karena interaksi antara lipoprotein termodifikasi, makrofag, limfosit T dan kandungan seluler normal dinding arteri. Pada kondisi kronis, LDL yang beredar pada pembuluh darah menumpuk dan bertemu dengan radikal bebas pada sel endotel yang mengalami disfungsi kemudian menyebabkan terjadinya oksidasi LDL. Terbentuknya oksidasi LDL menjadi lebih kuat jika kadar HDL rendah. Oksidasi LDL dapat mempercepat timbulnya aterosklerosis. LDL yang teroksidasi difagositosis oleh makrofag sehingga membentuk sel busa. Akumulasi sel busa menyebabkan pembentukan plak pada pembuluh darah⁶.

Upaya untuk memperbaiki kondisi tersebut dapat dilakukan secara nonfarmakologi, seperti pengontrolan terhadap kadar kolesterol agar selalu dalam batas normal, pengendalian berat badan, modifikasi diet rendah kolesterol, dan olahraga teratur. Apabila terapi nonfarmakologi tidak berhasil maka dapat diberikan terapi farmakologi menggunakan obat⁷. Beberapa golongan obat anti hiperlipidemia seperti statin, resin, asam nikotinat, derivat asam fibrat dan golongan lain seperti neomisin sulfat, serta beta sitosterol cenderung mahal dan menimbulkan efek samping. Golongan statin merupakan obat anti hiperlipidemia yang paling sering digunakan oleh masyarakat. Statin bekerja dengan cara menghambat enzim *HMG-COA*

reductase sehingga menurunkan sintesis kolesterol. Hasilnya dapat terjadi penurunan kolesterol dan peningkatan reseptor LDL di hepar, sehingga kadar LDL dalam sirkulasi darah menurun. Penggunaan obat anti hiperlipidemia jangka panjang dapat menimbulkan beberapa efek samping seperti penurunan daya ingat, tremor, nyeri abdomen, disfungsi pankreas dan hepar, hingga diabetes^{6,7}. Oleh karena itu, masyarakat memilih penggunaan bahan alami sebagai terapi.

Bahan alam yang dipercaya dapat menurunkan adalah daun jati belanda, daun kemuning, daun murbei, dan rimpang bangle (JKMB)⁸. Herbal ini secara empirik digunakan untuk memperbaiki kondisi hiperlipidemia. JKMB mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, steroid, tanin, dan triterpenoid. Uji coba in vitro, kombinasi ekstrak jati belanda, kemuning, dan bangle (JKB) mempunyai efek inhibisi enzim lipase pankreas sehingga menghambat absorpsi lemak dalam usus⁹. Kombinasi jati belanda dan bangle (JB) digunakan sebagai antiobesitas dan dapat menurunkan hidroksi peroksida lipid¹⁰. Sedangkan daun murbei mampu menghambat proses oksidasi LDL serta menghambat proliferasi dan migrasi dari *vascular smooth muscle cells* (VSMCs) yang dapat menyebabkan aterosklerosis¹¹.

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk membuktikan efek kombinasi kandungan dari berbagai bahan alam JKMB terhadap tikus hiperlipidemia dengan mengamati kadar LDL dan HDL. Pemberian herbal JKMB diharapkan dapat menurunkan kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL.

METODE PENELITIAN

Etika Penelitian

Penelitian ini telah dinyatakan layak etik oleh Komisi Etik Penelitian (*Animal Care and Use Committed*) Universitas Brawijaya dengan nomor surat 864-KEP-UB.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *control group post test only* secara *in vivo* dengan metode penelitian eksperimental laboratorium. Hewan coba yang digunakan adalah tikus wistar jantan. Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, *Animal House* Universitas Islam Malang, *Animal House* Universitas Muhammadiyah Malang, dan Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Hewan Coba

Tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) jantan berusia 2 bulan dengan berat 150-250g sebanyak 25 ekor digunakan sebagai subjek penelitian. Subjek penelitian dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif merupakan kelompok tanpa perlakuan (KN), kelompok kontrol positif

mendapat pemberian diet tinggi lemak (KP), kelompok perlakuan 1 (D1), 2 (D2), dan 3 (D3) mendapatkan perlakuan diet tinggi lemak dan infusa JKMB masing-masing 189mg/200gBB, 378mg/200gBB, dan 756 mg/200gBB. Pakan normal dan pakan tinggi lemak diberikan secara ad libitum. Sedangkan infusa JKMB diberikan dengan menggunakan sonde (intragastrikal). Masing-masing kelompok mendapat adaptasi minimal selama 14 hari. Setiap kelompok mendapat perlakuan selama 12 minggu.

Pembuatan dan Pemberian Diet Tinggi Lemak

Masing-masing tikus galur wistar jantan mendapatkan diet tinggi lemak berdasarkan pakan IV yang terdiri dari *Confeed PAR-S* 200g, terigu 100g, kolesterol 8g, asam kolat 0,8g, minyak babi 40 ml, air 51,2 ml¹². Pada penelitian ini, pakan IV dimodifikasi sehingga didapatkan diet tinggi lemak modifikasi (DTLM) dengan komposisi *Confeed PAR-S* 7 g, terigu 3 g, kolesterol 0,3 g, asam kolat 0,02 g, minyak babi 1,5 ml, dan air secukupnya dengan berat total pakan 25 g/tikus. Pakan tikus diberikan secara ad libitum setiap 24 jam sekali.

Pembuatan dan Pemberian Infusa Kombinasi JKMB

Pembuatan infusa kombinasi JKMB menggunakan metode infusa. Serbuk JKMB ditimbang sesuai dosis. Masing-masing dosis diberi air sebanyak 200ml, kemudian dipanaskan di atas tangas air selama 15 menit dengan suhu 90°C. Hasil ekstrak di saring dan dibuang ampasnya. Pemberian infusa menggunakan sonde lambung sebanyak satu kali setiap 24 jam dengan dosis pemberian 2ml/tikus.

Pengambilan Sampel Darah

Tikus dibius dengan menggunakan kloroform. Sebelum dilakukan pembedahan, dilakukan uji nyeri untuk mengetahui respon tikus setelah dibius. Selanjutnya, tikus dibedah mengikuti linea media abdomen menuju thoraks dengan gunting bengkok hingga seluruh bagian terbuka. Sampel darah diambil secara intrakardial dengan menggunakan spuit 5cc kemudian disimpan didalam vakutainer untuk disentrifugasi.

Pemeriksaan Sampel Darah

Sampel darah disentrifugasi untuk memisahkan serum dari bagian darah. Serum diambil sebanyak 2 µl kemudian dilakukan pemeriksaan LDL menggunakan metode homogen enzimatis uji kolorimetri. Pengukuran kadar LDL dan HDL serum menggunakan spektrofotometer $\lambda = 500$ nm. Hasil pemeriksaan dinyatakan dalam mg/dL.

Analisis Data

Uji statistik menggunakan *software SPSS for Windows Version 16*. Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas terlebih dahulu. Data dinyatakan normal dan homogen bila $p > 0,05$. Data HDL dianalisa secara statistik parametrik

menggunakan *One Way Anova* dilanjutkan dengan *Least Significant Difference* (LSD). Hasil dinyatakan bermakna apabila $p < 0,05$. Sedangkan pada data LDL menggunakan statistic non parametrik *kruskal wallis* dilanjutkan dengan uji *mann whitney*.

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan karakteristik populasi seperti pada tabel 1.

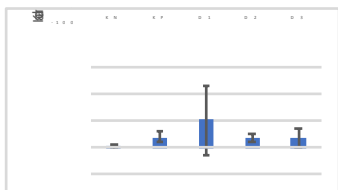
Tabel 1. Karakteristik Sampel

Komponen	Kelompok				
	KN	KP	D1	D2	D3
Jumlah sampel	5	5	4	4	5
Jumlah/kandang	1	1	1	1	1
Rata-rata BB awal (g)	172.4 ± 18.23	176.3 ± 9.396	178.2 ± 23.31	172.25 ± 17.25	169 ± 17.84
Rata-rata BB akhir (g)	294.6 ± 16.19 ^a	293.8 ± 30.73 ^a	230.25 ± 52.84 ^a	263.25 ± 50.4 ^a	274 ± 21.23 ^a
Rata-rata pakan/hari (g)	24.816 ± 1.23	24.813 ± 1.39	23.28 ± 3.88	24.226 ± 2.87	24.665 ± 1.34
Jenis kelamin	Jantan	Jantan	Jantan	Jantan	Jantan
Lama adaptasi (hari)	14	14	14	14	14
Usia-Akhir (minggu)	8-20	8-20	8-20	8-20	8-20
Jenis diet	Normal	Tinggi lemak	Tinggi lemak	Tinggi lemak	Tinggi lemak
Pemberian sonde	Sonde air	Sonde air	Sonde herbal	Sonde herbal	Sonde herbal
Dosis JKMB (mg/200gBB)	-	-	189	378	756

Keterangan: KN: Kelompok Kontrol Negatif; KP: Kelompok Kontrol Positif; D1: Kelompok Perlakuan 1; D2: Kelompok Perlakuan 2; D3: Kelompok Perlakuan 3. a : berbeda signifikan terhadap BB awal ($p < 0,05$).

Efek DTLM dan Infusa JKMB Terhadap Kadar LDL

Hasil pengukuran dan analisa data pengaruh infusa kombinasi JKMB terhadap kadar LDL pada tikus wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Rerata kadar LDL tikus pada setiap kelompok setelah diberikan perlakuan DTLM dan infusa JKMB

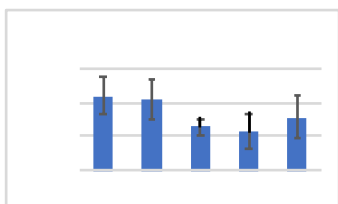
Keterangan: Rata-rata $\pm$ SD, KN (7.6 $\pm$ 1.816), KP (42.6 $\pm$ 16.979), D1 (103.25 $\pm$ 127.925), D2 (39.2 $\pm$ 11.903), dan D3 (33.6 $\pm$ 34.09), a berbeda signifikan dengan KN (p<0,05)

Data dalam rata-rata $\pm$ SD p<0,05 di bandingkan dengan kontrol positif. Notasi ^a: berbeda signifikan dengan KP, D1, D2, D3.

Setiap kelompok dibandingkan dengan KN dan KP. Berdasarkan hasil tersebut didapatkan bahwa kadar LDL tikus wistar jantan setelah diberikan diet tinggi lemak pada kelompok kontrol positif (KP) menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif (KN) secara signifikan (p<0,05). Pada kelompok dengan pemberian diet tinggi lemak dan infusa kombinasi JKMB dengan dosis 378 mg/200grBB serta 756 mg/200grBB terdapat penurunan namun tidak signifikan dibanding kelompok KP (p>0,05).

Efek DTLM dan Infusa JKMB Terhadap Kadar HDL

Hasil pengukuran dan analisa data pengaruh infusa kombinasi JKMB terhadap kadar HDL pada tikus wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Rerata kadar HDL tikus pada setiap kelompok setelah diberikan perlakuan DTLM dan infusa JKMB

Keterangan: Rata-rata $\pm$ SD, KN (44 $\pm$ 11.022), KP (41.4 $\pm$ 11.058), D1 (25.5 $\pm$ 4.203), D2 (23 $\pm$ 10.606), dan D3 (31.4 $\pm$ 12.116) b berbeda signifikan terhadap KP (p<0,05)

Setiap kelompok dibandingkan dengan KN dan KP. Berdasarkan hasil tersebut tidak ditemukan adanya penurunan kadar HDL secara signifikan pada tikus wistar jantan yang diberikan diet tinggi lemak pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kontrol negatif (p>0,05). Pada kelompok dengan pemberian diet tinggi lemak dan infusa JKMB juga tidak terlihat peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok KP (p>0,05).

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Pada penelitian ini tikus jenis wistar digunakan karena mempunyai kemiripan fisiologis dengan manusia dan sering digunakan dalam penelitian mengenai penyakit-penyakit pada sistem kardiovaskular¹³. Tikus jantan digunakan karena sedikit terpengaruh oleh perubahan hormonal terutama estrogen karena estrogen diketahui memiliki sifat protektif terhadap pembuluh darah sehingga dikhawatirkan akan mempengaruhi hasil penelitian. Tikus putih wistar memiliki organ tubuh yang relatif besar, mudah dalam pengendalian, pemeliharaan, serta jumlah darah dapat diambil mencapai 5-6 ml/kg¹⁴. Tikus putih wistar juga memiliki sensitifitas yang tinggi terhadap obat, lebih tahan terhadap lingkungan, laboratorium, berbagai perlakuan dan anestesi. Pada penelitian ini dilakukan adaptasi tikus selama 14 hari yang bertujuan untuk penyesuaian tikus terhadap kondisi lingkungan tempat pelaksanaan penelitian.

Pakan yang diberikan pada kelompok kontrol positif, D1, D2 dan D3 merupakan diet tinggi lemak yang dimodifikasi (DTLM) dengan komposisi *Confeed PAR-S* 47,5 %, terigu 20,5 %, kolesterol 1,35%, asam kolat 0,135%, minyak babi 10,2 %, air 20,4 %. Menurut *Animal care John Hopkins University* asupan pakan pada tikus adalah 10g-30g/hari. Pada penelitian ini pemberian pakan dilakukan setiap 24 jam sekali dengan takaran 25g/tikus/hari. Pemberian DTLM diharapkan dapat meningkatkan berat badan serta kadar LDL pada tikus wistar jantan. Pada penelitian ini, didapatkan peningkatan berat badan pada setiap kelompok perlakuan. Pada KN, KP, D2, dan D3 didapatkan peningkatan berat badan secara signifikan (p<0,05). Pada D1 tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antara berat badan awal dan berat badan akhir (p>0,05). Ada beberapa hal yang mempengaruhi peningkatan berat badan diantaranya adalah jumlah asupan pakan yang diterima dan kondisi tikus. Pada penelitian ini didapatkan berat badan pada kelompok DTLM lebih rendah dibandingkan dengan kelompok diet normal. Hal ini sesuai dengan jumlah asupan pakan tikus pada kelompok kontrol positif yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Jumlah asupan pakan dapat

Commented [w1]: TANDA SIGNIFIKANSINYA PADA GAMBAR MANA?

Commented [IRN2R1]: Mohon koreksinya dokter

dipengaruhi oleh tekstur dan organoleptik¹⁹. Pada diet normal memiliki tekstur kasar sesuai dengan pakan tikus sehari-hari, sedangkan diet tinggi lemak memiliki tekstur yang lebih lembut. Diet tinggi lemak memiliki aroma yang tidak sedap dari segi organoleptik. Asam lemak tak jenuh pada minyak babi mudah mengalami oksidasi dan menyebabkan pembentukan senyawa-senyawa hasil pemecahan hidroperekksida sehingga menimbulkan aroma yang tidak sedap. Jumlah asupan DTLM lebih rendah tetapi memiliki kandungan lemak yang tinggi sehingga berpengaruh pada perubahan berat badan dan profil lemak²².

Jumlah asupan pakan dan berat badan dapat dipengaruhi oleh kondisi tikus. Indikasi tikus yang sehat adalah tikus yang memiliki bulu yang bersih dan mengkilat, nafsu makan baik, dan mengalami peningkatan berat badan setiap minggu²⁷. Kesakitan pada tikus dapat disebabkan oleh pengaruh lingkungan dan perlakuan. Pengaruh lingkungan yang dapat mempengaruhi kondisi tikus adalah kebersihan kandang, suhu, intensitas cahaya, ventilasi, dan kebisingan¹⁶. Selama berjalannya proses penelitian didapatkan adanya tikus yang sakit seperti infeksi jamur, hiperemi pada hidung, ulkus abdomen, dan penurunan nafsu makan. Penyebab timbulnya masalah diatas diperkirakan oleh faktor lingkungan yang kurang baik sehingga tidak mendukung kondisi kesehatan dan mempengaruhi berat badan tikus.

Kombinasi herba jati belanda (*Guazuma ulmifolia*), kemuning (*Muraya paniculata* (Linn) Jack), murbei (*Morus alba*), dan bangle (*Zingiber cassumunar*) menggunakan dosis yang mengacu pada resep herba antihiperlipidemia oleh Mallaleng (2015)¹². Pemberian infusa kombinasi JKMB diberikan secara peroral dengan menggunakan sonde lambung. Pemberian menggunakan sonde lambung memiliki kekurangan dan kelebihan. Pemberian secara sonde lambung memiliki kelebihan seperti, pengontrolan dosis dan waktu pemberian sesuai kelompok dapat seragam. Kekurangan pemberian secara sonde lambung antara lain, stres, cedera esofagus, dan resiko aspirasi¹². Kesalahan pada saat penyondean dapat menyebabkan kesakitan dan meningkatkan resiko kematian pada tikus. Selama penelitian berjalan terdapat beberapa tikus yang sakit atau mati. Selain itu, adanya pengambilan sampel darah yang terlalu sedikit dan hemolisis pada serum sehingga sampel tidak bisa digunakan. Adanya kondisi tersebut menyebabkan tikus termasuk kriteria eksklusi sampel penelitian. Oleh karena itu, pada penelitian ini terdapat perbedaan jumlah sampel pada kelompok penelitian KN (n=5), KP (n=5), D1 (n=4), D2 (n=4) dan D3 (n=5). Perbedaan jumlah sampel pada penelitian dapat mempengaruhi hasil uji statistik.

Efek Pemberian DTLM Terhadap Kadar LDL Serum

Pada penelitian ini pemberian DTLM dapat meningkatkan kadar LDL. Kadar LDL pada

kelompok kontrol positif menunjukkan kadar yang lebih tinggi sebesar 4 kali lipat dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Batas normal LDL tikus wistar, yaitu 7-27,2 mg/dL¹⁶. Peningkatan kadar LDL pada serum darah tikus disebabkan oleh pemberian diet tinggi lemak yang jika diberikan dalam waktu lama dapat menyebabkan resiko aterosklerosis¹⁷. Komposisi diet tinggi lemak yang mengandung kolesterol, minyak babi, dan asam kolat dapat meningkatkan kadar LDL. Kolesterol yang diberikan berperan dalam peningkatan kadar kolesterol dalam darah. Minyak babi merupakan asam lemak jenuh yang dapat meningkatkan kadar LDL. Asam lemak jenuh dapat meningkatkan kadar LDL dengan cara menghambat reseptor LDL. Adanya penghambatan reseptor LDL menyebabkan LDL yang berada di ekstrahepatik tidak dapat kembali ke hepar¹⁸. Sedangkan asam kolat mempengaruhi proses pembentukan asam empedu. Asam kolat merupakan garam empedu primer yang berperan pada penyerapan lemak di usus.

Penelitian Sirvasta *et al* (2000) menyatakan bahwa pemberian diet aterogenik yang ditambahkan asam kolat dapat meningkatkan kadar LDL lebih tinggi¹⁹. Penelitian Muwarni *et al* (2006) juga mengungkapkan bahwa terjadi peningkatan kadar kolesterol darah yang bermakna pada pemberian pakan aterogenik sebanyak 40 mg/tikus/hari dengan penambahan asam kolat. Kadar LDL di dalam darah tergantung dari jumlah lemak yang masuk, semakin tinggi atau semakin banyak lemak yang masuk maka semakin menumpuk pula LDL. Selain itu lama waktu pemberian diet tinggi lemak dapat meningkatkan kadar LDL secara progresif. Pada penelitian sebelumnya, diet tinggi lemak yang diberikan baik selama 8 minggu, 16 minggu dan 22 minggu memiliki peningkatan LDL¹⁰.

Efek Pemberian Infusa Kombinasi JKMB Terhadap Kadar LDL Serum

LDL merupakan salah satu faktor penting yang berperan dalam proses aterogenesis. Untuk menjadi aterogenik, LDL harus mengalami modifikasi melalui proses oksidasi. Kadar LDL yang terlalu tinggi dan teroksidasi di dalam darah dapat menyebabkan peningkatan stres oksidatif²¹. Stres oksidatif merupakan kondisi dimana terjadinya ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Radikal bebas atau yang biasa disebut *Reactive Oxygen Species (ROS)* dapat berupa *superoxide*, *hydroxyl radical*, *peroxy radical*, dan *oxides nitrogen*²². Radikal bebas merupakan molekul dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan sehingga dapat bereaksi dengan molekul lain yang bukan radikal²³. LDL merupakan salah satu molekul yang rentan terhadap oksidasi, sehingga jika bertemu dengan radikal bebas akan membentuk LDL teroksidasi (*ox-LDL*). LDL yang teroksidasi dapat masuk ke ruang subendotel pada pembuluh darah. Hal ini menyebabkan makrofag akan melakukan fagositosis dan membentuk sel busa. Akumulasi sel busa akibat dari fagositosis makrofag

terhadap *ox-LDL* dapat menyebabkan terjadinya aterosklerosis²⁴.

Kadar LDL pada D1 memiliki standar deviasi yang lebih tinggi dari KN, KP, D2 dan D3. Peneliti menduga, hal ini berhubungan dengan jumlah sampel penelitian yang tidak cukup, sehingga hasil penelitian *invalid*. Tikus pada kelompok D1 dan D2 banyak yang mati sehingga hanya menggunakan 4 ekor tikus pada setiap kelompoknya. Jumlah sampel yang tidak mencukupi serta pencaran data yang terlalu tinggi menyebabkan tidak normalnya sebaran data sehingga hasil uji statistik tidak valid dan memiliki bias yang tinggi²⁵.

Salah satu tikus pada kelompok D1 memiliki kadar LDL yang paling tinggi yaitu 294 mg/dL. Kondisi tikus dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, salah satu faktor yang tidak dapat di kendalikan adalah stres. Stres dapat disebabkan oleh faktor lingkungan dan perlakuan terhadap tikus. Peneliti menduga, tikus kelompok D1 memiliki tingkat stres yang lebih tinggi, hal ini ditunjukkan dengan berat badan tikus pada kelompok D1 paling rendah dan kondisi tikus yang tidak sehat. Indikasi tikus sehat tikus yang memiliki bulu yang bersih dan mengkilat, nafsu makan baik, dan mengalami peningkatan berat badan setiap minggu²⁶. Pada keadaan stres terjadi peningkatan ACTH yang merangsang sekresi glukokortikoid di korteks adrenal. Glukokortikoid disintesis dari kolesterol, sehingga kolesterol yang terbentuk dari pemecahan lemak dalam pakan sebagian digunakan untuk pembentukan glukokortikoid. Stres meningkatkan aktivitas lipase peka hormon sehingga proses lipolisis dari jaringan adiposa dapat terjadi. Hal ini dapat menyebabkan peningkatan asam lemak bebas menuju ke hepar, sehingga dapat meningkatkan pembentukan LDL. Lipolisis dapat menyebabkan simpanan lemak di jaringan adiposa menurun, sehingga dapat menurunkan berat badan pada tikus meskipun didapatkan kadar LDL yang tinggi²⁷.

Dosis D1 189 mg/200gBB, D2 378 mg/200gBB, dan D3 756 mg/200gBB tidak mampu mendorong penurunan kadar LDL tikus wistar. Peneliti menduga dosis kombinasi yang digunakan kurang tepat, sehingga tidak cukup dalam menurunkan kadar LDL. Dosis penelitian ini merupakan resep empiris di masyarakat dengan komposisi 1 sendok makan serbuk jati belanda, 1 sendok teh daun kemuning, 1 sendok teh serbuk daun murbei, dan 3 iris bangle¹². Dosis empirik ini dikonversikan melalui penimbangan online ke dosis tikus sehingga didapatkan kombinasi JKMB D2 dengan dosis (144:54:54:126 mg/200gBB). Setelah dilakukan penimbangan nyata didapatkan dosis J:K:M:B = 6,6 : 2,42 : 2,40 : 9,1 g/50kgBB. Faktor kurang akurat dalam penimbangan berat dosis dapat menyebabkan dosis yang diberikan bisa kurang atau lebih dari dosis yang seharusnya diberikan. Penggunaan infusa daun jati belanda dosis 50 mg/kg selama 14 hari menurunkan kadar LDL 5,56 mg/dL tikus galur wistar jantan yang diinduksi pakan tinggi lemak²⁸. Ekstrak air murbei dengan dosis 200

mg/kg/hari selama 14 minggu dapat menurunkan LDL dan TG, serta meningkatkan HDL pada tikus dengan pemberian diet aterogenik²⁹. Ekstrak air rim pang bangle dosis 100 mg/kgBB dapat menurunkan kadar trigliserida tikus dengan hipertrigliserida sebesar 61,19%³⁰. Pemberian infusa daun kemuning dosis 500 g/kgBB selama 30 hari dapat menurunkan kadar lipid plasma³¹. Peneliti menduga bahwa dosis ini kurang optimal untuk menimbulkan efek terapi.

Berdasarkan uji *invitro* 75 g jati belanda, 75 g kemuning dan 75 g bangle secara tunggal dan kombinasi ketiganya memiliki efek inhibisi terhadap lipase⁹. Hasil uji fitokimia jati belanda memiliki senyawa flavonoid, saponin dan tanin. Kemuning memiliki senyawa flavonoid dan tanin, sedangkan bangle mengandung flavonoid dan saponin⁹. Daun murbei mengandung flavonoid dan saponin yang diduga bersifat antihiperlipidemia dengan cara menurunkan sintesis kolesterol dan TG³¹.

Senyawa tanin dan saponin memiliki efek inhibisi terhadap enzim lipase. Penghambatan aktivitas enzim lipase menyebabkan penurunan penyerapan lemak di usus sehingga langsung dikeluarkan melalui feses^{32,33}. Senyawa flavonoid memiliki efek antiosidasi sehingga dapat menurunkan oksidasi LDL³⁴. Flavonoid dapat meningkatkan reseptor LDL dihepar untuk meningkatkan ambilan LDL disirkulasi sehingga menurunkan kadar LDL serum³⁵.

Berdasarkan penjelasan di atas, peneliti menduga bahwa penurunan kadar LDL sebagian besar dapat disebabkan oleh penghambatan proses absorpsi yang diperankan oleh zat aktif tanin dan saponin.

Efek Pemberian DTLM Terhadap Kadar HDL Serum

Diet tinggi lemak dapat menyebabkan penurunan pada kadar HDL³⁶. Kandungan asam lemak jenuh pada diet yang diberikan dapat menurunkan apolipoprotein-A1 yang merupakan penyusun dari HDL. Pemberian asam kolat dapat menurunkan kadar HDL, tetapi mekanisme penurunan kadar HDL oleh pemberian asam kolat masih belum jelas³⁷. Selain itu diet tinggi lemak yang mengandung kolesterol tinggi dapat meningkatkan kadar LDL sehingga menyebabkan terjadinya gangguan keseimbangan penyimpanan dan pengangkutan kolesterol di jaringan perifer. Peningkatan kolesterol di jaringan perifer menyebabkan penurunan konsentrasi HDL. Penurunan kadar HDL menyebabkan akumulasi kolesterol di jaringan perifer³⁸.

Pada penelitian ini kadar HDL kelompok kontrol negatif dan kontrol positif tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Tsalissavrina (2006) bahwa tidak didapatkan perbedaan pada kadar HDL kelompok diet normal dengan diet tinggi lemak³⁹. Meskipun tidak berbeda signifikan, didapatkan penurunan kadar HDL sebesar 5,9% pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol

negatif (Tabel 5.3). Penyebab tidak berbeda signifikan diduga karena dosis DTLM pada penelitian ini tidak dapat menurunkan kadar HDL. Pada penelitian Muwarni (2006), diet yang diberikan sebanyak 40 mg/hari/tikus, sedangkan pada penelitian ini dosis pakan sebesar 25 g/hari/tikus. Kestabilan pemberian diet mempengaruhi kadar HDL pada tikus. Pemberian diet tinggi lemak pada penelitian ini selama 12 minggu. Pada penelitian Heriansyah (2013), didapatkan penurunan kadar HDL secara signifikan pada tikus diberi diet tinggi lemak dengan intake rata-rata pakan 15,11-20,85 g yang memiliki komposisi 0,2 % asam kolat, 2 % kolesterol dan 5 % minyak babi selama 22 minggu. Komposisi pakan harian 0,02 g asam kolat, 0,2 g kolesterol, 1 ml minyak babi dengan asupan pakan harian rata-rata 22,10-23,51 g/hari selama 10 minggu tidak mampu menurunkan kadar HDL (*unpublished data*)⁴⁰. Peneliti menduga, penyebab tidak berbeda signifikan pada penurunan kadar HDL adalah lama waktu pemberian diet tinggi lemak⁴¹.

Efek Pemberian Infusa Kombinasi JKMB Terhadap Kadar HDL Serum

Tubuh menghasilkan antioksidan alami seperti *GSH*, *glutathione reductase*, dan *superoxide dismutase*. Pada kondisi hiperlipidemia, HDL berperan sebagai antioksidan yang bersifat anti aterogenik. HDL menghambat terjadinya stres oksidatif dengan cara mencegah akumulasi lipid hidroperoksida dari LDL^{42,43}. Kadar HDL normal pada tikus adalah ≥ 35 mg/dL⁴⁴.

Pada penelitian ini kadar HDL kelompok terapi (D1, D2, D3) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok positif. Dosis tunggal daun jati belanda pada masing-masing kelompok perlakuan D1:D2:D3 adalah 75:144:288 mg/200gBB. Dosis daun jati belanda pada penelitian ini merupakan komposisi terbanyak dalam kombinasi JKMB. Metabolit utama pada daun jati belanda adalah tanin. Pada penelitian Fatmawati (2008) pemberian dosis bertingkat 20 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 2000 mg/kgBB selama 8 hari menyebabkan perubahan gambaran histologi pada hepar⁴⁵. Penelitian lain menyebutkan, pemberian ekstrak daun jati belanda sebanyak 20 mg menyebabkan efek hepatotoksik pada tikus⁴⁶. Penelitian Gumay, 2008 menyatakan bahwa efek samping dan toksik dari tanin dapat ditemukan jika diberikan pada dosis yang tinggi. Hal ini ditunjukkan dengan adanya erosi dan ulserasi pada duodenum pada pemberian dosis jati belanda 2000 mg/kgBB & 6324,14 mg/kgBB selama 90 hari. Konsentrasi zat yang tinggi dalam suatu herbal dapat mempengaruhi mekanisme fisiologis melalui efek farmakologi yang berlebihan atau melalui aksi toksik ataupun efek samping spesifik. Gangguan pada organ dapat menyebabkan fungsi dari organ tidak optimal. Hepar dan usus berfungsi untuk mensintesis Apo A1 yang merupakan protein utama pembentuk HDL. Oleh karena itu, rendahnya kadar HDL diduga terjadi akibat penurunan sintesis Apo

A1 karena adanya efek toksik dari tanin yang menyebabkan perubahan histopatologi pada hepar dan usus. Namun pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan terhadap histologi hepar dan usus. Penelitian lain pada kelompok ini didapatkan kadar ALT dan AST dalam batas normal pada semua kelompok perlakuan (*unpublished data*), sehingga belum bisa dinyatakan toksik pada fungsi hepar. Pada daun kemuning tidak didapatkan efek toksisitas setelah pemberian dosis tunggal 100, 200, dan 400 mg/kg⁴⁷. Uji toksisitas pada ekstrak air daun murbei, tidak terdapat perubahan morfologi sel hati hingga didapatkan dosis letal sebesar 300g/kgBB⁴⁸. Penelitian toksisitas akut pada rimpang bangle tidak didapatkan efek toksik dengan pemberian dosis hingga 5000 mg/kgBB⁴⁹. Menurut studi toksisitas akut, penggunaan kombinasi herbal tidak menimbulkan efek toksik setelah pemberian dengan dosis 2000-5000 mg/kgBB^{48,51}. Namun belum pernah dilakukan uji toksisitas kombinasi daun jati belanda, daun kemuning, daun murbei, dan rimpang bangle terhadap hewan coba.

Kombinasi dosis herbal yang digunakan pada penelitian ini belum cukup efektif sehingga kandungan bahan aktif yang terdapat pada JKMB tidak mencapai target sel. Akibatnya efek farmakologis pada infusa kombinasi JKMB tidak optimal dalam meningkatkan kadar HDL. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya interaksi zat yang bersifat antagonistik. Setiap herbal memiliki efek yang tidak terduga, seperti toksisitas dan interaksi antar zat. Interaksi zat dalam obat herbal didasarkan pada prinsip farmakodinamik dan farmakokinetik⁵². Semakin banyak jumlah macam herbal yang dikombinasikan, maka interaksi antar senyawa semakin bervariasi. Interaksi tersebut dapat melemahkan satu sama lain sehingga kerja senyawa pada setiap herbal tidak optimal terhadap sel targetnya⁵³.

Faktor lain adalah proses ekstraksi herbal yang tidak dapat menarik zat aktif secara maksimal. Penggunaan pelarut etanol pada herba tunggal jati belanda, kemuning, dan bangle serta kombinasi ketiganya lebih baik daripada menggunakan pelarut air⁵⁴. Uji invitro tunggal jati belanda didapatkan hasil penggunaan pelarut etanol lebih baik (25,31%) dibandingkan dengan pelarut air (15,48%). Penggunaan pelarut etanol (29,57%) pada rimpang bangle lebih baik daripada pelarut air (25,80). Efek tunggal daun kemuning dengan pelarut air (25,66%) lebih baik dibandingkan dengan pelarut etanol (22,80%). Namun pada hasil uji invitro didapatkan kombinasi herba dengan pelarut etanol (0,85%) lebih rendah dibandingkan dengan herbal secara tunggal^{5,54}. Berdasarkan penelitian Subehan *et al* (2017), pelarut etanol efektif dalam menarik zat aktif pada daun murbei⁵⁵.

KESIMPULAN

1. Infusa kombinasi jati belanda, kemuning, murbei dan bangle tidak mampu menurunkan kadar LDL pada tikus diet tinggi lemak.
2. Infusa kombinasi jati belanda, kemuning, murbei dan bangle tidak mampu meningkatkan kadar HDL pada tikus diet tinggi lemak.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan peneliti menyarankan untuk melakukan penelitian lanjutan guna mengetahui dosis efektif dan penggunaan pelarut metanol pada herbal tunggal jati belanda, kemuning, murbei dan bangle serta kombinasinya dalam menurunkan LDL dan meningkatkan HDL serum.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ikatan Orang tua Mahasiswa (IOM) dan Fakultas Kedokteran UNISMA yang telah mendanai penelitian ini, dosen pembimbing, staf laboratorium, dan teman – teman kelompok yang telah membantu jalannya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adam, JM. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III Edisi V*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI. 2009.
2. Bowman, SA *et al.* Effects of Fast Food Consumption on Energy Intake And Diet Quality Among Children In A National Household Survey. 2004. Vol. 113 No. 2004 pp. 112 -118
3. WHO. About Cardiovascular diseases. World Health Organization. Geneva. 2013.
4. Fathoni M., *Penyakit Jantung Koroer: Patofisiologi, Disfungsi Endotel, dan Manifestasi Klinis*. edisi ke-1. Surakarta: UNS Press. 2011.
5. Guyton A.C, dan Hall, J.E. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 12*. Penerjemah Ibrahim I. Singapura: Elsevier. 2014.
6. Golomb, B. A. and Evans, M. A. Statin Adverse Effects: A Review of the Literature and Evidence for Mitochondrial Mechanism. *Am J Cardiovasc Drugs*. 373 - 418. 2010.
7. Harvey, R. A. dan Champe, P.C., *Farmakologi Ulasan Bergambar*, Edisi 4, C. Ramadhani, Dian [et al], Tjahjanto, Adhi, Salim, ed., Jakarta, Buku Kedokteran EGC. 2013.
8. Mallaleng, H.R., Purwaningtyas, U., Hermawati, R., Solichah, N., & Syah, F.Z.N. Tanaman Obat untuk Penyakit Sindrom Metabolisme (Metabolic Syndrome Disease). Malang: Penerbit Universitas Negeri Malang (UM Press). 2015.
9. Iswantini D., Silitonga. *Zingiber Cassumunar, Guazuma Ulmifolia, And Murraya Paniculata* extracts As Antibesity: *In Vitro* Inhibitory Effect on Pancreatic Lipase Activity. *ATI Journal of Biosciences*. 2011
10. Sujono, Azizanti *et al.* *Antihypercholesterolemic Effect of Murbei (Morus alba L.) Leaves and Its Combination with Simvastatin in Rats Induced by Propyltiouracil and High Fat Diet*. Pharmacology and microbiology. 2015.
11. Chan, Kuei-Chuan *et al.* *Mulberry Leaf Extract Inhibits the Development of Atherosclerosis in Cholesterol-Fed Rabbits and in Cultured Aortic Vascular Smooth Muscle Cells*. Journal of Agricultural and food chemistry. 2013.
12. Murwani, Sri. Mulyohadi Ali. Ketut Muliarta. *Diet Atherogenic pada Tikus Putih (Rattus norvegicus strain wistar) sebagai model hewan aterosklerosis*. Jurnal kedokteran Brawijaya, Vol XXII, No 1, April 2006
13. Getz, G. S., and C. A. Reardon. "Animal Models of Atherosclerosis." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 32, no. 5, Jan. 2012. pp. 1104-1115..
14. Srinivasan, K., and P. Ramarao. Animal models in type 2 diabetes research: An overview. *Indian Journal of Medical Research* 125: 451-472. 2007.
15. Hoggatt, Amber F *et al.* "A Spoonful of Sugar Helps the Medicine Go Down: A Novel Technique to Improve Oral Gavage in Mice." *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS* 49.3 (2010): 329-334.
16. Warnick, G.R., Nauck, M., Rifai, N. 2011a. Evolution of methods for measurement of HDL-cholesterol: from ultracentrifugation to homogeneous assays. *Clin Chem. Sep*; 47(9): 1579-96.
17. Hardinsyah. Analisis konsumsi lemak, gula dan garam penduduk Indonesia. *Gizi Indonesia*. 34(2): 92-100. 2011.
18. Patty W., *et al.* "Saturated Fatty Acids and Risk of Coronary Heart Disease: Modulation by Replacement Nutrients." *Current Atherosclerosis Reports*, vol. 12, no. 6, 2010, pp. 384-390..
19. Rai A, Srivastava, Avema. Dietary cholic acid lowers plasma levels of mouse and human apolipoprotein A-I primarily via a transcriptional mechanism. *Eur. J. Biochem.* 2000; 267: 4272-80.
20. Heriansyah, Teuku., Pengaruh Berbagai Durasi Pemberian Diet Tinggi Lemak Terhadap Profil Lipid Tikus Putih (Rattus norvegicus Strain Wistar) Jantan, Jurnal Kedokteran Syiah Kuala: Vol.2, No.1. 2013.
21. Itabe, Hiroyuki, *et al.* "The Dynamics of Oxidized LDL during Atherogenesis." *Journal of Lipids*, vol. 2011, 2011, pp. 1-9.,

22. Peluso, Ilaria, *et al.* "Oxidative Stress in Atherosclerosis Development: The Central Role of LDL and Oxidative Burst." *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets*, vol. 12, no. 4, Jan. 2012, pp. 351-360.,
23. Halliwell, Barry. "Free Radicals and Antioxidants - Quo Vadis?" *Trends in Pharmacological Sciences*, vol. 32, no. 3, 2011, pp. 125-130.,
24. Kakadiya Jangdish. *Cause Symptoms, Pathophysiology and Diagnosis of Atherosclerosis*. India. Pharmacologyonline 3: 420-442. 2009.
25. Laszkiewicz, E. Sample size and structure for multilevel modelling: monte carlo investigation for the balanced design. *Quantitative methods in economics*, 14(2), 19-28. 2013.
26. Novrationi, I R. *Efek Minyak Atsiri Daun Sirsak (Annona muricata Linn.) terhadap Kadar ALP (Alkaline Phosphatase) dan LDH (Lactat Dehydrogenase) Serum Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Rifampisin*. Skripsi. Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang. Malang. 2016.
27. Sherwood L. *Fisiologi manusia dari sel ke sistem*. 6th ed. Jakarta: EGC. 2012.
28. Sukandar Elin, Elfahmi Nurdewi. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Daun Jati Belanda (Guazuma Ulmifolia Lamk.) terhadap Kadar Lipid Darah pada Tikus Jantan*. Farmasi Klinik: Institut Teknologi Bandung. 2009.
29. Lee, Y. J., Choi, D. H., Kim, E. J., Kim, H. Y., Kwon, T. O., Kang, D. G., & Lee, H. S. Hypotensive, Hypolipidemic, and Vascular Protective Effects of Morus alba L. in Rats Fed an Atherogenic Diet. *The American Journal of Chinese Medicine*, 39(01), 39-52. 2011
30. Patonah, Elin Yuliah Sukandar, I Ketut Adnyana, Daryono Hadi Tjahjono. Antihipertriglisieridemia Kurkuminoid dan S-metilistein: Metode Tes Toleransi Lipid. 7: 4. 2010.
31. Pri Iswati Utami. *Pengaruh Infusa Daun Kemuning (Murraya paniculata (L.) Jack) Terhadap Kadar Lipid Plasma Tikus Putih (Rattus norvegicus) Jantan Galur Wistar Yang Diberi Diet Tinggi Lemak*. 2003.
32. Zeni, A.L.B and M.D Molin. Hypotriglyceridemic effect of Morus alba L., Moraceae, leaves in hyperlipidemic rats. *Braz. J Pharmacol.*, 20:130-133. 2010.
33. Kei, A. A., Filippatos, T. D., Tsimihodimos, V., & Elisaf, M. S. A review of the role of apolipoprotein C-II in lipoprotein metabolism and cardiovascular disease. *Metabolism*, 61(7), 906-921. 2012.
34. Rosnaeni, Fenny Tanudjaja, Giselle Primagusta. *Efek Ekstrak Etanol Daun Kemuning (Murraya paniculata (L.) Jack) Terhadap Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Wistar Jantan*. Fakultas Kedokteran. Bandung: Universitas Kristen Maranatha. 2014.
35. Lim, Hyun Hwa, *et al.* "Combined Treatment of Mulberry Leaf and Fruit Extract Ameliorates Obesity-Related Inflammation and Oxidative Stress in High Fat Diet-Induced Obese Mice." *Journal of Medicinal Food*, vol. 16, no. 8, 2013, pp. 673-680.,
36. Fuhrman, B and Aviram M. Flavonoids Protect LDL From Oxidation and Atherosclerosis, *Cur Opin Lipidol*. 2001. 12(1), 41-44.
37. Kovar J, Tonar Z, Heckkova M, Poledne R. Prague hereditary hypercholesterolemia (PHHC) rat: a model of polygenic hypercholesterolemia. *Physiol. Res*: 2009; 58(2)
38. Rai A, Srivastava, Avema. Dietary cholic acid lowers plasma levels of mouse and human apolipoprotein A-I primarily via a transcriptional mechanism. *Eur. J. Biochem*. 2000; 267: 4272-80.
39. Munay, R.K., Bender, D.A., Botham, K. M., Kennelly, P.L, Rodwell, V.W., and Weil, P.A. *Harper's Illustrated Biochemistry*, 30th Ed. Jakarta: The McGraw-Hill Education (Asia) and EGC Medica Publisher. Chapter 25, pp. 250-260. 2015.
40. Musdalifa, Alif. *Pengaruh Frekuensi Stres Fisik Pada Kadar Alkaline Phosphatase (ALP) Serum dan Struktur Histologis Tulang Femur Tikus Betina Dengan Diet Atherogenik*. Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang. Malang. 2018.
41. Craeyveld, E Van, J Lievens *et al.* Apolipoprotein A-I and lecithin: cholesterol acyltransferase transfer induce cholesterol unloading in complex atherosclerotic lesions. *Gene Therapy* 16: 757-761. 2009.
42. Brites, Fernando, *et al.* "Antioxidative Activity of High-Density Lipoprotein (HDL): Mechanistic Insights into Potential Clinical Benefit." *BBA Clinical*, vol. 8, 2017, pp. 66-77.
43. Millar, Courtney L. *et al.* "Effects of Dietary Flavonoids on Reverse Cholesterol Transport, HDL Metabolism, and HDL Function." *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, vol. 8, no. 2, 2017, pp. 226-239.,
44. Gani, H. B. S., Wongkar, Djon and Ticoalu, S. H. R., Perbandingan Kadar Kolesterol High Density Lipoprotein Darah pada Wanita Obes dan Non Obes. *Jurnal e-Biomedik (eBM)* Vol.1, No.2. 2013.
45. Fatmawati, Ashri. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Jati Belanda Dosis Bertingkat Terhadap Hepar Tikus Wistar*. Universitas Diponegoro Semarang : Karya Tulis Ilmiah. 2008.
46. Hidayat, M., Soeng, S., Wahyudianingsih, R., Ladi, J.E., Krisetya, Y.A., dan Elviora, V. Ekstrak kedelai detam 1, daun jati belanda serta kombinasinya terhadap berat badan dan histopatologis hepar tikus wistar. *JKKI*, 6(4):167-176. 2015.
47. Gumay, A. R., dan Noor, W. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk) Dosis Bertingkat*

- Terhadap Gambaran Histopatologi Duodenum Tikus Wistar. Artikel Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Halaman 14. 2008.
48. Gautam M.K. and Goel R.K. Exploration of preliminary phytochemical studies of leaves of *Murraya paniculata* (L.). *Int. J. Pharm. Life Sci.* 3(8):1871-1874. 2012.
 49. Koontongkaew S, Poachanukoon O, Sireeratawong S, Ayudhya TDN, Khonsung P, Jaijoy K, Soawakontha R, dan Chanchai M. *Safety Evaluation of Zingiber cassumunar Roxb. Rhizome Extract: Acute and Chronic Toxicity Studies in Rats. International Scholarly Research Notices.* 2014(632608): 4-11.
 50. OECD. Acute Oral Toxicity.OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. 2001.
 51. Asha Bisht, N.V. Satheesh Madhav, Kumud Upadhyaya. Screening of polyherbal formulation for its potential anti-hyperlipidemic and antioxidant activity. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*,3(5), 134-139. 2015.
 52. Spiteri Staines, S. Herbal medicines : adverse effects and drug-herb interactions. *Journal of the Malta College of Pharmacy Practice*, 17, 38-42. 2011.
 53. Parwata I, M. O. K. Obat Tradisional. Jurusan Kimia. Universitas Udayana. 2016.
 54. Martatilofa E. Daya inhibisi ekstrak bangle, jati belanda, kemuning, dan formula biolangsing terhadap *lipase* pankreas. [skripsi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor. 2008
 55. Subehan Lallo, Hamdayani L A, Besse Hardianti, Rizki Asmawati Bahar. Identification and Characterization of Compound of Mulberry (*Morus alba* L.) Leaf Extract. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*,2(2), 68-72. 2017.
 56. Institute for Laboratory Animal Research (U. S.), & S.J, N. A. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (8th Edition)*. National Academies Press. 2010.
 57. Yuniarto, A., Kurnia, I., and Ramadhan, M., Anti-obesity effect of ethanolic extract of jasmine flowers (*Jasminum sambac*(L.)Ait) in high-fat dietinduced mice: potent inhibitor of pancreatic lipase enzyme. *International Journal of Advances In Pharmacy, Biology And Chemistry*, 4: 18– 22. 2015.