

ANALISIS POTENSI ANTIHIPERKOLESTEROLEMIA EKSTRAK ETANOL BUAH ASAM JAWA (*Tamarindus indica L*) TERHADAP STRUKTUR MIKROSKOPIS HATI MENCIT (*Mus musculus*)

¹Ervina Dewi, ²Fadliyani, ³Ismiranda

^{1,2}Prodi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Jabal Ghafur, Sigli, Provinsi Aceh, 24182

³Majelis Pendidikan Daerah Aceh, Provinsi Aceh, 24415
Corresponding Author :vinaunigha@gmail.com

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antihiperkolesterolemia ekstrak etanol buah asam jawa terhadap struktur mikroskopis hati mencit. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap, terdiri atas 6 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan terdiri atas Pemberian pakan standard dan akuades (P0), pakan aterogenik dan Aquades (P1), pakan aterogenik dan simvastatin 10 mg (P2), pakan aterogenik dan ekstrak asam jawa 5, 25 dan 50 mg/kg bb (P3, P4, P5). Volume simvastatin dan ekstrak etanol buah asam jawa adalah 0,5mL. Pembuatan sediaan histologis menggunakan metode parafin. Parameter yang diamati adalah kadar kolesterol total, infiltrasi lemak, degenerasi lemak dan nekrosa hepatosit. Data hasil penelitian dianalisis dengan analisis varian dan dilanjutkan dengan Uji Berjarak ganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol buah asam jawa berpengaruh nyata dalam menurunkan rerata infiltrasi lemak, degenerasi lemak dan nekrosa sel hati yang diindikasikan dengan penurunan kadar kolesterol secara bermakna. Kesimpulannya, ekstrak etanol buah asam jawa mampu menurunkan rerata infiltrasi lemak, degenerasi lemak dan nekrosa sel hati mencit akibat pakan aterogenik

Kata Kunci: Pakan Aterogenik, Hiperkolesterolemia, Hati, Ekstrak Etanol Buah Asam Jawa, Simvastatin

Abstract. This research aimed to determine the potential antihypercholesterolemic of ethanol extract of tamarind at heart microscopic structure of mice induced with high cholesterol diet. A completely randomized-block design was used with 6 treatments and 4 repetitions of each treatment. The treatments were normal diet and aquadest (P0), high-fat diet and aquadest (P1), high-fat diet and Simvastatin 10 mg/Kg (P2), high-fat diet and tamarind extract 5, 25 and 50 mg/Kg (P3, P4, P5). The volume of Simvastatin and tamarind extract given to each mice is 0,5 mL. Paraffin method was applied of microscopic structure observation. The parameters observed were total cholesterol level, lipid infiltration, lipid degeneration and necrosis of hepatocyte of hepatocyte. A variance analysis followed by Duncan Multiple Range Test was tested to the data mice microscopic structure. The result showed that ethanol extract of tamarind could significant to decrease of lipid infiltration, lipid degeneration and necrosis of hepatocyte showed decrease total cholesterol level. In conclusion, the ethanol extract of tamarind could significant to decrease of lipid infiltration, lipid degeneration and necrosis of hepatocyte due to high-fat diet.

Key Word: Atherogenic Feed, Hypercholesterolemia, Liver, Ethanol Extract of Tamarind, Simvastatin

Pendahuluan

Hiperkolesterolemia merupakan suatu penyakit degeneratif yang terjadi karena adanya kelainan metabolisme lipid dan ditandai dengan meningkatnya kadar kolesterol atau trigliserida dalam darah. Tingginya kadar kolesterol melebihi kadar normal menjadi salah satu faktor penyebab terjadinya peroksidasi lipid (Murray *et al.*, 2006).

Peningkatan kadar trigliserida dalam darah penderita hiperkolesterolemia disebabkan oleh penimbunan *visceral fat* dan penurunan aktivitas enzim Lipoprotein Lipase karena adanya radikal bebas yang mengganggu hidrolisis trigliserida. Penurunan aktivitas *Lipoprotein Lipase* juga akan mengakibatkan perubahan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) menjadi *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL) terganggu. Hal ini menimbulkan pengendapan VLDL dalam hati dan menyebabkan perlemakan berupa infiltrasi

lemak dan degenerasi lemak yang menyebabkan pembentukan vakuola lemak dalam sel hati, merangsang terjadinya nekrosis jika degenerasi lemak berlangsung lama, fibrosis dan pembentukan parut pada organ yang bersangkutan serta mengganggu fungsinya.

Obat tradisional merupakan salah satu alternatif dalam bidang pengobatan, karena efek sampingnya lebih kecil, mudah didapat dan harganya lebih murah dibandingkan obat sintetik yang dapat menyebabkan kerusakan hati pada pengobatan jangka panjang (Suwandi, *et al.*, 2003). Di Indonesia pemanfaatan bahan alam sebagai bahan obat sangat meningkat bahkan beberapa bahan alam telah diproduksi secara pabrikasi dalam skala besar. Salah satu tanaman berkhasiat obat adalah tanaman asam jawa (*Tamarindus indica L.*).

Tanaman asam jawa (*Tamarindus indica L.*) berasal dari famili Fabaceae. Tanaman ini telah lama dikenal oleh masyarakat dan banyak dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari. Umumnya tanaman ini digunakan sebagai bumbu masak dan juga dipercaya memiliki khasiat obat (Susiarti, 2006). Tanaman asam jawa berkhasiat obat karena kandungan *phenolics* yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Ali *et al.*, 2005; Mahadevan *et al.*, 2009; Azman *et al.*, 2011). Antioksidan dapat melindungi dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas atau menghancurkannya setelah terbentuk. Hal ini dapat mencegah oksidasi LDL oleh radikal bebas. Apabila oksidasi terjadi maka LDL tidak dapat dicerna oleh sel dan pada akhirnya menempel pada dinding arteri sehingga dapat menyebabkan penyempitan arteri (atherosclerosis).

Hasil penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa tanaman asam jawa dapat menurunkan kadar kolesterol total (Chowdhury *et al.*, 2005; Azman *et al.*, 2011; Ismiranda dan Dewi, 2017). Chong *et al.*, (2012) melaporkan bahwa ekstrak metanol asam jawa mempengaruhi tingkat pelepasan protein ENO1, ApoA-I,

TTR dan GDI-2 dari sel-sel HepG2 yang ikut terlibat dalam metabolisme lipid. Atawodi *et al.* (2013) melaporkan bahwa ekstrak methanol buah asam jawa memiliki kemampuan untuk melindungi organ vital (liver, ginjal dan jantung) dari kerusakan akibat oksidasi radikal bebas sebagaimana yang juga dimiliki oleh vitamin E. Selanjutnya dapat meningkatkan HDL serta menurunkan berat badan. Selain itu ekstrak air buah asam jawa menurunkan plasma leptin dan mengurangi aktivitas *Fatty Acid Synthase* (FAS) serta membantu meningkatkan efisiensi dari sistem antioksidan. Ismiranda dan Dewi (2017) juga membuktikan bahwa ekstrak etanol buah asam jawa mampu mengurangi perlemakan pada sel hati akibat pemberian pakan aterogenik. Namun demikian, pengamatan secara terperinci terhadap struktur mikroskopis organ hati belum pernah dilakukan, mengingat perlemakan hati akibat hiperkolesterolemia memicu kematian sel hati yang berakibat terganggunya fungsi hati. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk : mengetahui potensi antihiperkolesterolemia ekstrak etanol buah asam jawa (*Tamarindus indica L.*) terhadap struktur mikroskopis hati mencit.

Metode Penelitian

Penyiapan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan 24 mencit (*Mus musculus*) jantan berumur 2 bulan dengan bobot 20 gr dan diaklimatisasi selama tujuh hari di kandang percobaan. Selama aklimatisasi, mencit diberi pakan dan minuman secara *ad libitum*.

Mencit ini dibagi ke dalam 6 kelompok perlakuan dengan masing-masing 4 ulangan. Perlakuan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan terdiri atas P0 : kontrol negatif (pakan standar + Aquades), P1: control positif (pakan aterogenik + Aquades), P2 : pakan aterogenik + simvastatin 10 mg, P3: pakan aterogenik + ekstrak asam jawa 5 mg/kg bb, P4 : pakan aterogenik + ekstrak asam jawa 25 mg/kg bb, P5: pakan aterogenik + ekstrak asam jawa 50 mg/kg bb.

Pakan aterogenik diberikan selama 30 hari

secara *ad libitum* (Hernawati, 2012). Setelah satu hari pemberian pakan aterogenik dihentikan, dilanjutkan dengan pemberian senyawa antihiperkolesterolemia, yaitu simvastatin dan ekstrak etanol buah asam jawa, diberikan secara *intubasi oesophagus* (Ismiranda dan Dewi, 2017).

Dosis simvastatin yang diberikan adalah 0,026 mg/20g bb/hari. Dan dosis ekstrak asam jawa yang digunakan yaitu 5 mg/kg bb, 25 mg/kg bb dan 50 mg/kg bb pada tikus (Azman, 2011). Dosis ekstrak asam jawa yang diberikan adalah 0,7 mg/20g bb/hari, 3,5mg/20g bb/hari dan 7mg/20 g bb/hari pada mencit.

Penyiapan Suspensi Simvastatin

Simvastatin digerus hingga menjadi bubuk dan dicampurkan dalam akuades. Suspensi simvastatin dengan dosis 10 mg /hari pada manusia yang dikonversikan ke dalam dosis mencit berdasarkan tabel konversi Laurence dan Bacharach (1964), yaitu dengan melarutkan 26 mg simvastatin ke dalam 500 ml akuades sebagai pelarut (Hernawati, 2012).

Penyiapan Ekstrak Etanol Buah Asam Jawa

Ekstrak buah asam jawa dibuat dengan metode maserasi. Buah asam jawa dikupas, diambil daging buahnya dikeringanginkan. Setelah kering dijadikan serbuk. 50gr serbuk dicampurkan ke dalam 250 ml etanol 96% dan dan disimpan di tempat gelap selama 24 jam. Ekstrak yang dihasilkan disaring dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental buah asam jawa. Ekstrak yang dihasilkan disimpan pada temperature -20°C sampai digunakan (Chong *et al.*, 2012). Pembuatan larutan ekstrak dikelompokkan ke dalam 3 kelompok dosis yaitu 5 mg, 25 mg dan 50 mg dosis tikus yang dikonversikan ke dalam dosis mencit, yaitu dengan melarutkan 70 mg, 350 mg dan 700 mg ekstrak etanol buah asam jawa ke dalam 50 mL akuades sebagai pelarut.

Pengukuran Kadar Kolesterol

Pengukuran kadar kolesterol dilakukan setelah satu hari perlakuan berakhir. Sampel darah diambil setelah mencit dipuasakan selama 12 jam (Azman *et al.*, 2011, Hernawati, 2012).

Mencit dibius dengan menggunakan dietil eter. Darah diambil dari pembuluh vena bagian ekor mencit menggunakan *disposable syringe* sebanyak 2 mL dan disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Analisis kadar kolesterol total dilakukan dengan menggunakan metode CHOD-PAP,.

Histopatologis Organ Hati

Setelah hewan diterminasi. Organ hati segera diambil dan dibuat sediaan histologis dengan metode parafin. Spesimen hati dimasukkan ke dalam larutan fiksatif Bouin, kemudian dehidrasi dalam alkohol seri 70 % sampai dengan alkohol absolut, kliring dalam xilol, infiltrasi dan *embedding* dalam parafin 56 - 58 °C. Sediaan disayat dengan ketebalan 5 mikron. Setiap ulangan dibuat 4 sayatan dengan interval 10 sayatan. Sayatan diwarnai dengan metode pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) (Gridley (1960). Pengamatan histologis hati menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 10 x40.

Parameter dan Analisis Data

Parameter yang diamati adalah kadar kolesterol total, degenerasi lemak, infiltrasi lemak dan nekrosa sel hati mencit yang diinduksi hiperkolesterolemia. Data hasil penelitian dianalisis dengan analisis varian (ANOVA) dan dilanjutkan dengan Uji Berjarak Ganda Duncan (DMRT) pada taraf 5%.

Hasil Penelitian

Hasil penelitian menunjukkan pemberian pakan aterogenik selama 30 hari mampu meningkatkan kadar kolesterol total secara bermakna yakni sebesar 28,88% (P1) dibandingkan P0 (Tabel 1). Pakan aterogenik yang diberikan memicu peningkatan aktivitas lipogenesis, dan asam lemak bebas yang terbentuk juga semakin banyak. Selanjutnya terjadilah mobilisasi asam lemak bebas dari jaringan lemak menuju hati dan berikatan dengan gliserol membentuk trigliserida (Pham-Huy *et al.*, 2008).

Asam lemak tak jenuh dalam jumlah banyak pada membrane mikrosomal sel hati meningkatkan kepekaan membran terhadap aktivitas radikal bebas yang bersifat

autokatalitik. Aktivitas radikal bebas ini menghasilkan lipid peroksida yang menyebabkan kerusakan retikulum endoplasma kasar sehingga polisom akan terlepas (Ong & Goh, 2002). Nilai peroksida tersebut memicu terbentuknya radikal bebas baru dan bertambahnya reaksi berantai sehingga radikal bebas semakin reaktif (Aisyah *et al.*, 2015). Reaktifnya radikal bebas menyebabkan sel-sel hati rusak (Trilling dan Jaber, 1996).

Berbeda dengan perlakuan P1, pemberian simvastatin (P2) dan ekstrak asam jawa (P3, P4 dan P5) mampu menurunkan kadar kolesterol total. Simvastatin tergolong ke dalam antilipidemik derivat asam mevinat (Dexamedica, 2015). Simvastatin menurunkan kadar kolesterol dengan jalan menghambat kerja 3-hydroxy-3- methylglutaryl koenzim A (HMG-CoA) reduktase. HMG-CoA reduktase melepaskan precursor kolesterol asam mevalonik dari koenzim A. Kompetitif inhibisi oleh simvastatin menimbulkan respon kompensasi seluler seperti peningkatan enzim HMG-CoA reduktase dan reseptor LDL. Dikarenakan peningkatan HMG-CoA reduktase, sintesis kolesterol seluler hanya menurun sedikit, tetapi klirens kolesterol meningkatkan jumlah reseptor LDL dalam membrane sel hati dan jaringan ekstra hepatis. Serta meningkatkan HDL (Harini dan Astirin, 2009, Dorotea *et al.*, 2013).

Pemberian ekstrak etanol buah asam jawa dosis 50 mg mampu menurunkan kadar kolesterol total pada level kontrol negatif. Ini menunjukkan ekstrak etanol buah asam jawa berpotensi sebagai hipolipidemik yang dapat dikonsumsi secara per oral dengan aman (Lim *et al.*, 2013; Meher dan Dash, 2013). Terjadinya peningkatan kadar kolesterol total mengindikasikan telah terjadi kerusakan pada sel hati.

Hasil penelitian juga memperlihatkan struktur mikroskopis organ hati mencit perlakuan P1 mengalami perlemakan yang parah dibandingkan dengan perlakuan pakan aterogenik dan dilanjutkan dengan ekstrak (Tabel 1 dan Gambar 1). Perlemakan yang

diperlihatkan berupa infiltrasi lemak dan degenerasi lemak. Fokus-fokus degenerasi lemak ditandai dengan adanya vakuola lemak pada sitoplasma sehingga mendesak inti ke tepi. Sel terlihat membengkak dengan susunan sel tidak teratur. Terlihat juga sel hati mengalami nekrosa. Nekrosa ditandai dengan inti sel memadat bahkan tidak berinti.

Pemberian simvastatin dan ekstrak mampu mengurangi tingkat kerusakan sel, yang ditandai dengan penurunan jumlah rerata perlemakan sel dan nekrosa. Perlakuan ekstrak dosis 50 mg/kg bb memperlihatkan struktur hati menyerupai hati normal. Unsur utama hati yaitu hepatosit yang berbentuk polyhedral dan heksagonal dengan inti bulat dengan sinusoid dan vena sentralis yang jelas. Sel hati tersusun rapi.

Hasil Uji fitokimia ekstrak etanol asam jawa mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin yang bersifat antihiperkolesterolemia (Kuru, 2014 dan Rini, 2014). Flavonoid merupakan kelompok besar antioksidan bernama polifenol. Flavonoid yang terdiri atas antosianidin, biflavan, katekin, flavonol, flavon dan flavonol yaitu kuersetin (Doughari, 2006 ; Meher dan Dash, 2013). Kuersetin dalam ekstrak mampu mencegah terjadinya proses peroksidasi lemak, yaitu mencegah oksidasi dari *Low Density Lipoproteins* (LDL) dengan cara menangkap radikal bebas dan menghelat ion logam transisi.

Hasil penelitian sebelumnya, dilaporkan bahwa tanin bersifat hepatoprotektor dan antiinflamasi (Kumari dan Jain, 2012). Sebagai antihiperkolesterolemia, tanin mampu menurunkan kadar kolesterol plasma dan menghambat oksidasi LDL (Aron and Kennedy, 2008), menstimulasi sekresi garam empedu dan membuang kolesterol melalui feses (Khanbabae dan Ree, 2001, Zhang *et al.*, 2011)

Hasil penelitian Pham-Huy *et al.*, (2008) melaporkan bahwa pakan aterogenik yang diberikan pada mencit perlakuan tergolong dalam kelompok radikal bebas yang dapat menyebabkan nekrosa pada sel hati. Peningkatan

radikal bebas menstimulasi peroksidasi lipid dan mengakibatkan stress oksidatif yang berujung pada berbagai penyakit. Peroksidasi lipid dipengaruhi oleh spesies oksigen reaktif (ROS). ROS merupakan molekul oksidan relatif tinggi, bersifat sangat tidak stabil sehingga cepat bereaksi dengan molekul lain. ROS terjadi baik secara endogen maupun eksogen, melalui aktifitas metabolic reguler, aktifitas gaya hidup dan diet (Trilling dan Jaber, 1996).

Peningkatan radikal bebas juga menurunkan aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL) yang menyebabkan terjadinya akumulasi trigliserida (TG) dalam sel hati dan menimbulkan infiltrasi lemak, degenerasi lemak. Selain hati, degenerasi lemak dan infiltrasi lemak juga dapat terjadi pada lapisan pembuluh darah (Mulyani, 1997). Selain itu, akumulasi lemak juga mengakibatkan steatosis (Azman *et al.*, 2011) dan nekrosa (Sutejo dan Dewi, 2012) yang memicu malfungsi hati.

Parahnya kerusakan sel hati diakibatkan gabungan antara radikal bebas dari pakan aterogenik dengan radikal bebas hasil metabolisme tubuh sehingga jumlahnya jauh lebih besar. Produksi radikal bebas dalam tubuh merupakan produk dari metabolisme tubuh normal. (Muray *et al.*, 2006 ; Sutejo dan Dewi, 2012). Kandungan bahan aktif dalam ekstrak mampu mencegah stress oksidatif sel hati sehingga mengurangi degenerasi, infiltrasi lemak dan nekrosa (Iqbal *et al.*, 2014).

Flavonoid dalam ekstrak berperan sebagai antioksidan dan peredam radikal bebas (antiradikal bebas) (Mahadevan *et al.*, 2009; Khaira, 2010; Kuru, 2014), dengan cara bereaksi dengannya bertindak sebagai penerima

atau penyumbang electron sehingga menghasilkan suatu radikal bebas stabil. Flavonoid mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam (Kartini, 2012). Dengan demikian, reaksi berantai radikal bebas dapat dicegah (Kusumastuty, 2014).

Lim (2012) juga menambahkan bahwa flavonoid tergolong ke dalam antioksidan enzimatis. Pemberian bahan aktif flavonoid mampu meningkatkan enzim dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase. Enzim superoksida dismutase (SOD) berperan dalam melawan radikal bebas pada mitokondria dengan mengurangi bentuk radikal bebas superoksida. Katalase berperan dalam mengubah hydrogen peroksida menjadi air dan oksigen.

Keberadaan antioksidan, radikal bebas yang dapat merusak intisel dapat dihilangkan. Peningkatan enzim dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase memicu penurunan peroksidasi lipid dan menjaga integritas membran (Banjarnahor dan Artanti, 2014) yang berimbas pada penurunan perlemakan sel hati.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol buah asam jawa (*Tamarindus indica L*) berpotensi sebagai antihiperkolesterolemia terhadap struktur mikroskopis hati mencit, yaitu dengan menurunkan rerata degenerasi, infiltrasi dan nekrosa.

Tabel 1. Rataan Kadar Kolesterol, Infiltrasi Lemak, Degenerasi dan Nekrosa Sel Hati Mencit pada Berbagai Perlakuan

Perlakuan	Kadar Kolesterol	Infiltrasi Lemak	Degenerasi	Nekrosa
Kontrol Negatif	101,50 ± 1,000 ^a	4,500 ^a ± 0,868	3,792 ^a ± 0,376	2,604 ^a ± 0,4267
Kontrol Positif	150,50 ± 15,022 ^c	152,103 ^d ± 38,085	60,063 ^d ± 7,091	99,198 ^e ± 7,483
Pakan Aterogenik + Simvastatin	103,00 ± 2,160 ^a	82,456 ^c ± 33,341	25,792 ^b ± 4,698	61,656 ^d ± 9,315

Pakan Aterogenik + Ekstrak 5 mg	123,00 ± 4,967 ^b	85,042 ^c ± 3,508	33,698 ^c ± 6,923	35,177 ^c ± 3,630
Pakan Aterogenik + Ekstrak 25 mg	114,00 ± 2,449 ^b	42,479 ^b ± 17,107	20,657 ^b ± 3,172	30,177 ^c ± 4,049
Pakan Aterogenik + Ekstrak 50 mg	102,75 ± 2,986 ^a	21,724 ^{ab} ± 3,539	9,052 ^a ± 0,921	12,375 ^b ± 0,567

Keterangan : Superskrip huruf yang berbeda (a,b,c) menunjukkan perbedaan nyata

Daftar pustaka

1. Ali, B. H., Naser A. W., and Gerald B. 2005. Phytochemical, Pharmacological and Toxicological Aspects of *Hibiscus sabdariffa* L. A Review. **Phytotherapy Research**. (19). 369 – 375.
2. Aisyah, S., Hamdani B., Dessy F. B. R. G., Dwinna A., M Nur Salim, Ummu B. dan T. Armansyah. 2015. Efek Pemberian Minyak Jelantah Terhadap Gambaran Histologis Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). **Jurnal Medika Veterenaria**. 9(1) : 26 – 29.
3. Aron P. M. and Kennedy J. A., 2008. Flavan-3-ols: Nature, Occurrence and Biological Activity. **Mol. Nutr. Food Res**. 5(2) : 79-104.
4. Atawodi, S. E., Liman, M. L. dan O Onyike, E. O. 2013. Antioxidant Effects Of *Tamarindus indica* Following Acute and Chronic Carbon Tetrachloride Induced Liver Injury. **International Journal of Agriculture and Biology**. ISSN Print: 1560-8530: ISSN Online : 1814-9596.
5. Azman, F. K., Zulkhairi, A., Azrina, A., Norhaizan, M. E., Rasadah, M. A., Zamree, M. S dan Khairul, K.A. K. 2011. Antiobesity Effect Of *Tamarindus indica* L. Pulp Aqueous Extract In High-Fat Diet Induced Obese Rats. **The Japanes Society of Pharmacognosy and Springer**. 6(6) : 333-342.
6. Banjarnahor, Sofna D.S. dan N. Artanti. 2014. Antioxidant Properties of Flavonoids. **Med J Indones**. Vol. 23. No. 4 : 239 – 244.
7. Chong,U. R. W., Shafinaz, P., Rahman, A., Aziz, A. A., Hasyim,H. H. dan Junit, M. S. 2012. *Tamarindus indica* Extract Alters Release of Alpha Enolase, A polipoprotein A-1, Transthy Retinand Rab GDP Dissociation Inhibitor Beta from HepG2 Cells. **Open Access Freely Available. Online. Plos.One**.
8. Chowdhury, S. R., Sarker, D. K., Chowdhury, S. D., Smith, T. K. 2005. Effects of Dietary Tamarind On Cholesterol Metabolism In Laying Hens. **Proquest Agriculture Journals**. pg. 56.
9. Dexta Medica, 2015. Simvastatin. <http://www.dexa-medica.com/en/our-product/prescriptions/ogb/Simvastatin>. Diakses pada Tanggal 14 Agustus 2015.
10. Dorotea, D., N. P. Ayumuyas, B. Suprapti, dan S. Wibisono. 2013. The Comparison of Simvastatin and Atorvastatin Efficacy in Lowering Lipid Profile and Apolipoprotein-b of Diabetic Dyslipidemia Patient. **Folia Medica Indonesiana**. 49 (3) : 139 – 145.
11. Doughari, J. H. 2006. Antimicrobial Activity of *Tamarindus indica* Linn. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**. 5(2) : 597-603.
12. Gridley, W. F., 1960. **Manual of Special Staining Technic**. 2nd Ed. London : Mc.Graw– Hill Book Company Inc.
13. Harini, M dan O. P. Astirin. 2009. Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Hiperkolesterolemik setelah perlakuan VCO. **Bioteknologi**. 6 (2) : 55-62.
14. Hernawati. 2012. Peran Berbagai Sumber Serat Pangan Pada Perbaikan Profil Lipid Darah Mencit Hiperkolesterolemia. **Ringkasan Desertasi**. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
15. Iqbal M., H. , Arya U. , Anugerah D. P. dan Teti E. 2014. *Effervescent* Rosela Ungu Mencegah Penurunan Nilai SOD dan Mencegah Nekrosis Hepar Tikus Wistar yang Diberi Minyak Jelantah. **Jurnal Kedokteran Brawijaya**. 28(2) : 85 – 90.
16. Ismiranda dan Dewi, E. 2017. Pengaruh Pakan Aterogenik Terhadap Peningkatan Kadar Kolesterol Total Serum Darah Mencit (*Mus musculus*). **Jurnal EduBio Tropika**. 5(1) : 14 – 16.
17. Kartini, H. N., 2012. Pengaruh Lama Penyeduhan dan Lama Penyimpanan terhadap Aktivitas Antioksidan Teh Rosela (*Hibiscus sabdariffa*). **Repository.upi.edu**. Universitas Pendidikan Indonesia.

18. Khanbabaee , K. and T. V. Ree. 2001, Tannins: Classification and Definition. **Nat. Prod. Rep.** (18) 641–649.
19. Khaira, K. 2010. Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-Oksidan. **Jurnal Saintek.** 11(2) : 183 – 187.
20. Kumari, M., Jain, S., 2012.,Tannins : An Antinutrient with Positive Effectto Manage Diabetes. **Research Journal of Recent Sciences.** 1(12) :70-73
21. Kuru, P. 2014. *Tamarindus indica* and Its Health Related Effects. **Asian Pasific Journal Of Tropical Biomedicine.** 4(9): 751-756.
22. Kusumastuty, I. 2014. Sari Buah Markisa Ungu Mencegah Peningkatan MDA Serum Tikus Dengan Diet Aterogenik.**Indonesian Journal of Human Nutrition.** 1(1) : 50 – 56.
23. Lim, Chor Y., Sarni Mat J. , Mahmood Ameen A., Azlina A. A., 2013. In Vivo Biochemical and Gene Expression Analyses of the Antioxidant Activities and Hypcholesterolaemic Properties of *Tamarindus indica* Fruit Pulp Extract. **PLoS ONE** 8(7).
24. Mahadevan, N., Shivali dan P. Kamboj. 2009. *Hibiscus sabdariffa* Linn.-Anoverview. **Natural Product Radiance.** 8 (1) :77-83.
25. Meher, B. and D. K. Dash, 2013. Antihyperglykemic and Hypolipidemic effect of *Tamarindus indica* L. : A Potential agent for treatment of metabolic syndrome. **International Journal of Pharmaceutical Innovations.** (3) 6 : 33 -50.
26. Mulyani, G.T. 1997. Efek Diet Lemak Jenuh dan Lemak Tak Jenuh terhadap Pembentukan Lipid Peroksida dalam Darah Tikus Percobaan. **Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajah Mada**,Yogyakarta.
27. Muray, R. K, D. K. Granner, P. A. Mayes.V. W. Rodwell, 2006. **Biokimia Harper**, edisi 25.Terjemahan dari Harper's *Biochemistry* oleh A. Hartono. Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
28. Ong, A. S. H. & Goh, S. H. 2002. Palm oil: A healthful and cost-effective dietary component. **Food and Nutrition Bulletin**,vol. 23.
29. Pham-Huy, Lien Ai.Hua He dan Chuong Pham-Huy. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. **International journal of Blomedical science**.vol. 4 (2).
30. Rini H.P., C. 2014. Potensi dan Pemanfaatan *Tamarindus indica* pada Berbagai Terapi. **Jurnal Ilmiah Kedokteran.** 3 (2) : 40 – 54.
31. Sutejo I.R., R. Dewi, R. dan, 2012. Kerusakan Sel Hati dan Peningkatkan Kolesterol Serum Mencit Akibat Pemberian Minyak Goreng Bekas Pakai. **Jurnal IKESMA** 8(1) : 9 – 16
32. Susiarti, Siti. 2006. Pengetahuan dan Pemanfaatan Tumbuhan Obat di Sabang-Pulau Weh nangroe Aceh Darussalam. **Jurnal Tek.Ling.** Edisi Khusus : 198-209.
33. Suwandi. T. 2012. Pengembangan Potensi Antibakteri Kelopak Bunga *Hibiscus sabdariffa* L (Rosela) Terhadap *Streptococcus sanguinis* Penginduksi Gingivitis Menuju Obat Herbal Terstandar. **Disertasi.** Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
34. Trilling J S, Jaber R. 1996. Selections from Current Literature: Therole of Free Radicals and Antioxidants in Disease. **Fam Pract .** 13(3):322-326.
35. Zhang, T., Li, G., Zhi, C., Mo, H., 2011.Persimmon Tannin Composition and Function. International Conference on Agricultural and Biosystems Engineering.