

Studi pendahuluan: Korelasi Aktivitas Antikolesterol dengan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)

Sumi Wijaya*, Stefani Maureen Kasih Yonas, Lanny Hartanti, Henry K. Setiawan, Lisa Soegianto
Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dikenal memiliki aktivitas antikolesterol, salah satunya dengan mekanisme kerja menghambat enzim HMG-CoA Reductase. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui korelasi antara aktivitas antikolesterol dari ekstrak etanol daun salam yang diperoleh dengan metode perkolasi dengan aktivitas antioksidannya. Parameter yang digunakan untuk mengukur aktivitas antikolesterol adalah nilai IC_{50} dari ekstrak etanol daun salam terhadap aktivitas dari enzim HMG-CoA Reductase. Aktivitas antioksidan dievaluasi dengan metode DPPH, dan FRAP. Hasil uji aktivitas enzim menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam hasil perkolasi memiliki nilai IC_{50} $49,50 \pm 0,70$ ppm. Ekstrak etanol daun salam menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 888,0835 ppm dan kesetaraan nilai dengan 1 mM $FeSO_4$ sebesar 295 ppm. Berdasarkan hasil analisa, aktivitas antikolesterol ekstrak etanol daun salam dalam menghambat enzim HMG-CoA Reductase tidak memiliki korelasi linier dengan aktivitas antioksidannya.

Kata kunci: daun salam, antikolesterol, antioksidan, korelasi

Preliminary Study: Correlation of Anti-cholesterol Activity with Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Bay leaf Leaves (*Syzygium polyanthum*)

Bay leaf leaves (*Syzygium polyanthum*) are known to have anti-cholesterol activity, with the mechanism inhibited HMG-CoA Reductase enzyme. The purpose of this study was to determine the correlation between anticholesterol activity of bay leaf ethanol extract obtained by percolation method and its antioxidant activity. The parameter used to measure anticholesterol activity is the IC_{50} value. Antioxidant activity was evaluated by DPPH and Frap methods. The results showed that the ethanolic extract of bay leaves had an IC_{50} value of 49.50 ± 0.70 ppm. Ethanol extract of bay leaf showed antioxidant activity with IC_{50} value of 888.0835 ppm and equality of values with 1 mM $FeSO_4$ of 295 ppm. Based on the results of the analysis, the anticholesterol activity of Bay leaf ethanol extract in inhibiting the HMG-CoA Reductase enzyme did not have a linear correlation with its antioxidant activity.

Keywords: bay leaf leaves, anticholesterol, antioxidant, correlation

*Corresponding author: Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Jl. Raya Kalisari Selatan No. 1 Surabaya, e-mail: sumi@ukwms.ac.id

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia telah mengenal dan memanfaatkan tanaman berkhasiat obat sejak zaman dahulu untuk digunakan sebagai salah satu upaya dalam menangani masalah kesehatan (Wijayakusuma, 2007). Di Indonesia ada terdapat 30000 spesies tanaman, di mana sekurang-kurangnya 9600 spesies dari tanaman di Indonesia berkhasiat sebagai obat dan kurang lebih 300 spesies tersebut digunakan sebagai bahan obat tradisional oleh industri obat tradisional (Kemenkes RI, 2007). Salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk pengobatan adalah daun salam (*Syzygium polyanthum*). Daun salam adalah salah satu rempah pengharum makanan yang sering terdapat di dapur penduduk Indonesia. Daun salam mengandung berbagai senyawa seperti flavonoid, saponin, tanin, fenol, alkaloid, minyak atsiri yang terdiri dari sitrat dan eugenol yang dapat menurunkan kadar kolesterol jahat (LDL) dan kolesterol total (Pidrayanti, 2008). Senyawa alkaloid yang terkandung pada daun salam dapat menghambat aktivitas enzim lipase pankreas. Akibatnya, penyerapan lemak oleh hati terhambat sehingga tidak mampu diubah menjadi kolesterol. Selain alkaloid yang terkandung pada daun salam, saponin juga membantu menurunkan kadar kolesterol serta mengurangi penimbunan lemak dalam pembuluh darah (Vincentius, 2008). Menurut Dorland (2002) tanin dapat menghambat penyerapan lemak dengan cara bereaksi dengan protein mukosa dan sel epitel usus. Menurut Tanabe *et al.* (1993) minyak atsiri mampu mempengaruhi asam empedu dalam hati dengan meningkatkan pembentukan asam empedu, walaupun efeknya tidak terlalu besar namun dapat menurunkan kadar kolesterol. Saponin yang terkandung juga mampu mengikat kolesterol dengan asam empedu sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Song *et al.* (1997) flavonoid mampu bekerja dengan cara menghambat enzim HMG-CoA Reductase sehingga menyebabkan perubahan HMG-CoA menjadi mevalonat dapat turun, akibatnya sintesis kolesterol menurun.

Daun salam dapat digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol yang tinggi dalam darah dibuktikan dengan penelitian terdahulu yaitu, ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diberikan secara peroral pada tikus jantan galur Wistar selama 15 hari dengan dosis ekstrak dari 0,18 gram, 0,36 gram dan 0,72 gram dapat menurunkan kadar kolesterol total dari tikus secara bermakna. Dosis optimal pemberian ekstrak daun salam adalah ekstrak dari 0,72 gram daun salam segar dengan penurunan kolesterol total dalam darah yang paling besar dibandingkan dosis

perlakuan yang lainnya. Semakin besar dosis ekstrak daun salam, semakin besar penurunan kolesterol total (Riansari, 2008). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Lajuck (2012), ekstrak yang didapatkan dari 10 gram daun salam segar terbukti lebih dapat menurunkan kadar kolesterol total dan LDL jika dibandingkan dengan kelompok statin 10 mg selama 15 hari. Penelitian ini dilakukan pada 22 orang pria dan wanita berusia 30-60 tahun dengan berat badan 50-70 kg. Hal ini dapat dilihat dari hasil penurunan kolesterol total pada kelompok kapsul ekstrak daun salam yaitu sebesar 20,6 % sedangkan pada kelompok statin sebesar 10 %. Untuk kadar kolesterol LDL, kelompok kapsul ekstrak daun salam mampu menurunkan sebesar 22 % sedangkan kelompok statin 10 mg hanya mampu menurunkan sebesar 6,9 %. Penelitian ini menunjukkan bahwa efek yang ditimbulkan oleh ekstrak daun salam berbeda bermakna bila dibandingkan dengan pemberian statin. Penelitian lain yang dilakukan Ratnawati, Wargasetia dan Hartanto (2009), menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam juga dapat menurunkan kadar trigliserida serum tikus Wistar. Hal ini dibuktikan pada pengujian ekstrak etanol daun salam dengan dosis 50 mg/kgBB/hari dan 100 mg/kgBB/hari sedangkan sebagai pembanding diberi simvastatin dengan dosis 0,9 mg/kgBB/hari. Ekstrak etanol daun salam dan simvastatin 6lalu diuji khasiatnya sebagai anti kolesterol secara in vivopada tikus jantan galur Wistar yang telah diinduksi pakan tinggi lemak. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam menunjukkan hasil yang sebanding dengan simvastatin dalam menurunkan kadar trigliserida tikus Wistar.

Senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat penting bagi kesehatan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan berpotensi mengurangi risiko terhadap penyakit kronis, seperti kanker dan penyakit jantung koroner. Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya untuk menangkap radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya, sehingga dapat bereaksi dengan molekul-molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut (Amrun dan Umiah 2005). Oleh karena secara kimia molekulnya tidak lengkap, radikal bebas cenderung mengambil partikel sel dari molekul lain, yang kemudian menimbulkan senyawa abnormal dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak sel-sel penting dalam tubuh. Penelitian yang dilakukan oleh Wiyono, Andriani dan Parnanto (2011) menunjukkan adanya korelasi antara aktivitas antioksidan dengan aktivitas antikolesterol pada angkak dengan variasi jenis substrat. Pada penelitian tersebut angkak dari beras memiliki aktivitas antioksidan

paling tinggi (45,6100%) apabila dibandingkan dengan aktivitas antioksidan angkak dari jagung (44,0500%) dan gaplek (42,8333%). Angkak dari beras memiliki kadar antikolesterol paling tinggi (0,026600%) apabila dibandingkan dengan kadar antikolesterol angkak dari jagung (0,022833%) dan gaplek (0,013200%). Angkak dari beras memiliki aktivitas antioksidan dan kadar antikolesterol paling tinggi.

Pada penelitian ini, ekstrak etanol daun salam hasil perkolasi akan diteliti aktivitasnya dalam menghambat enzim HMGCo-A Reductase dan daya antioksidannya dengan menggunakan dua metode (FRAP dan DPPH) serta akan dilihat korelasi antara daya inhibisi enzim HMGCo-A reductase dengan daya antioksidan ekstrak etanol daun Salam.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun salam kering (*Syzygium polyanthum*) yang dikoleksi dari PT. HRL (Herbs Research Laboratories) Internasional, Jawa Timur, Indonesia. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%, Pereaksi Dragendorff dan Mayer, NH₄OH, CHCl₃, serbuk magnesium, larutan alkohol khlorhidrik, amil alkohol, NAOH 1N, pereaksi FeCl₃, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, aqua pro injection, DMSO, substrat HMG-CoA catalog number S7447 (Sigma, Germany), HMG-CoA Reductase catalog number H8789 (Sigma, Germany), NADPH catalog number N6505 (Sigma, Germany), Buffer kerja 5x catalog number A5981 (Sigma, Germany), dinatrium hidrogen fosfat (NaH₂PO₄) (Merck, Indonesia), natrium dihidrogen fosfat (Na₂HPO₄) (Merck, Indonesia), tablet simvastatin (Dexa, Indonesia).

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (Sartorius, Germany), oven (Mettler, Germany), infrared moisture balance (Kett, China), pipa kapiler 10 µL, tabung mikrotube (Mini spin, USA), vorteks, mikropipet ukuran 1-10 µL, 10-1000 µL, blue tips, yellow tip, mikrofilter, alat-alat gelas (cawan gelas, gelas kimia, gelas ukur, krus porselen, tabung

reaksi, gelas arloji), blender, spektrofotometer (Multiscan Go, Thermo scientific, USA), cuvet (Bio-Rad Labs, 2000 Alfred Nobel Drive Hercules, CA 94547, catalog number 9109250, rectangular 1-Q-10mm) dan silika gel 60 F254 (Merck, Germany).

Tahapan Penelitian

Persiapan Ekstrak Etanol Daun Salam

Daun salam diperoleh dari PT. HRL Internasional, Jawa Timur, Indonesia. Daun salam yang dikumpulkan merupakan daun salam kering yang tidak ada penyakit dan cacat pada tanaman tersebut. Daun salam yang dikumpulkan dilakukan pembersihan dari pengotor-pengotor lain, misalnya debu, pasir dan bagian tanaman lain yang mengganggu. Simplisia kering yang diperoleh dilakukan ekstraksi dengan cara perkolasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:8 (1 kg simplisia kering dibasahi dengan 8 liter etanol 96%) sampai diperoleh perkolat yang berwarna coklat muda (\pm 3-4 hari). Ekstraksi ini menggunakan 96% karena etanol 96% bersifat semi polar, sehingga diharapkan senyawa aktif baik yang larut dalam pelarut polar atau non polar dapat ikut tersari. Perkolat yang didapat diuapkan diatas penangas air, dimulai dari hasil perkolat terakhir guna menghindari panas berlebih pada perkolat pertama. Penguapan dilakukan hingga diperoleh ekstrak kental daun salam. Ekstrak yang belum mengalami perlakuan disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C, untuk mencegah pertumbuhan mikroba di dalam ekstrak. Standarisasi ekstrak kental mengikuti prosedur baku berdasarkan parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat yang direkomendasikan oleh BPOM RI, yaitu parameter non spesifik dan spesifik (Ditjen POM RI, 2000).

Uji Aktivitas Enzim HMG-CoA Reductase

Aktivitas enzim HMG-CoA Reductase ditunjukkan dalam Tabel 1. Campuran tersebut harus divorteks dan diinkubasi pada suhu 37°C. Pengukuran nilai serapan dilakukan pada spektrofotometer UV dengan panjang gelombang 340 nm selama 5 menit di mana setiap 15 detik dicatat hasil nilai serapannya.

Tabel 1. Aktivitas enzim HMG-CoA Reductase (Sigma-Aldrich, 2013).

Sampel	Buffer Kerja 1 x	Inhibitor	NADPH	HMG CoA	HMG Co-A Reductase
Blangko	368 µL	-	8 µL	24 µL	-
Aktivitas	366 µL	-	8 µL	24 µL	2 µL
Inhibisi	364 µL	2 µL	8 µL	24 µL	2 µL

Ekstrak etanol daun salam ditimbang 125 mg dan dilarutkan dalam 1 ml DMSO lalu ditambahkan aquadest steril ad 25 ml untuk membuat larutan induk sebanyak 5000 ppm. Larutan induk tersebut kemudian disiapkan

larutan kerja dengan konsentrasi 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 150 ppm, 300 ppm, 600 ppm dan 1200 ppm. Larutan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm dan disaring dengan menggunakan membran filter

0,45 µm, tujuannya adalah untuk menghilangkan sisa endapan dari ekstrak daun salam agar tidak mengganggu pembacaan pada spektrofotometer. Sebanyak 2 µl larutan diambil dari masing-masing konsentrasi ekstrak daun salam lalu ditambahkan 364 µl buffer kerja 1x lalu 24 µl HMG-CoA sebagai substrat, 8 µl NADPH dan enzim HMG-CoA Reductase sebanyak 2 µl. Campuran tersebut harus divorteks dan diinkubasi pada suhu 37°C. Pengukuran nilai serapan dilakukan pada spektrofotometer UV dengan panjang gelombang 340 nm selama 5 menit di mana setiap 15 detik dicatat hasil nilai serapannya. Pengujian daya inhibisi HMG-CoA Reductase ini dilakukan dengan tiga kali replikasi.

Data yang dihasilkan dari pembacaan spektrofotometer kemudian dihitung untuk mengetahui aktivitas enzim.

$$\text{Aktivitas spesifik} = \frac{(\Delta A(\text{sampel})/\text{menit} \times V \text{ tot})}{12,44 \times V \text{ enzim} \times [\text{enzim}] \times LP}$$

Keterangan :

ΔA	= perubahan absorbansi,
V tot	= volume total (mL)
12.44	= koefisien NADPH pada 340 nm
V enzim	= volume enzim yang pada campuran (mL)
[enzim]	= konsentrasi enzim (0,6 mg/mL)
LP	= light path (1 cm).

Semua nilai pengujian disajikan sebagai nilai rata-rata persentase inhibisi + standar deviasi. Untuk statistik analisis data, tiap kelompok dibandingkan menggunakan *independent sample T-test*. Persentase inhibisi dihitung dengan menggunakan rumus berikut : % inhibisi = [(aktivitas enzim tanpa inhibitor – aktivitas enzim dengan inhibitor)/aktivitas enzim tanpa inhibitor x 100%]

Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi inhibitor yang diperlukan untuk mencapai penghambatan enzim *HMG-CoA Reductase* sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ ditentukan dengan regresi linier untuk mendapatkan nilai kemiringan variabel (*slope*) atau regresi non linear dengan menggunakan persamaan sigmoidal, di mana konsentrasi inhibitor merupakan variabel bebas sedangkan % inhibisi merupakan variabel tergantung (Murray, Granner and Rodwell, 2006).

Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dari ekstrak diukur dengan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl), dan FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) (Chandra and Dave, 2009; Benzie and Strain, 1996). Uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP dilakukan dengan cara menyiapkan reagen FRAP yang dibutuhkan, yaitu dengan mencampur 300 mM buffer asetat (pH 3,6), 10 mM 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) dan

20 mM FeCl₃.6H₂O dengan ratio 10:1:1. Reagen FRAP sebanyak 180 µl dicampurkan dengan 20 µl sampel. Sampel disiapkan dengan rentang konsentrasi 1 mg/ml – 0,03 mg/ml. Absorbansi dibaca setiap 90 menit (λ: 600 nm) dengan menggunakan spektrofotometer. FeSO₄ dalam rentang konsentrasi 1 µM – 125 µM (FeSO₄.7H₂O) digunakan untuk membuat kurva standar. FRAP *value* dihitung sebagai *Ferrous Equivalents*, konsentrasi dari sampel yang menghasilkan absorbansi yang sama dengan 1 mM FeSO₄.

Metode DPPH dilakukan dengan cara menyiapkan 20 µl sampel (konsentrasi sampel berada pada rentang 1 mg/ml - 0,003 mg/ml) dalam lubang *96 well plate*. DPPH (0,1 mM) sebanyak 180 µl ditambahkan, kemudian sampel dibiarkan pada suhu ruang dalam tempat gelap selama 30 menit. Absorbansi sampel diukur pada λ: 517 nm. Persentase aktivitas antioksidan dikalkulasi dengan persamaan berikut: % aktivitas antioksidan = ((A kontrol- A sampel)/A kontrol) x 100.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman salam banyak tumbuh liar di hutan-hutan dan pegunungan, tetapi banyak masyarakat yang menanam di kebun-kebun untuk diambil daunnya sebagai bumbu masak. Daun salam merupakan daun tunggal, letak berhadapan, panjang tangkai daun 0,5-1 cm. Helaian daun berbentuk lonjong sampai elips atau bundar telur, ujung meruncing pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas licin berwarna hijau tua, permukaan bawah berwarna hijau muda, panjang 5-15 cm, lebar 3-8 cm, jika diremas berbau harum (Tjitrosoepomo, 2002). Standarisasi ekstrak etanol daun salam dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan ekstrak yang aman dan teruji stabilitasnya sehingga sediaan yang dihasilkan merupakan sediaan yang terjamin mutu, khasiat dan keamanannya. Hasil standarisasi ekstrak etanol daun salam dapat dilihat pada tabel 2.

Ekstrak etanol daun salam dilakukan uji skrining fitokimia dengan menggunakan metode tabung, bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa secara umum yang terkandung dalam ekstrak etanol daun salam. Ekstrak menunjukkan hasil positif pada senyawa alkaloid yang ditandai dengan terbentuknya endapan jingga, flavonoid yang ditandai dengan warna kuning atau jingga, saponin yang ditandai dengan terbentuknya busa stabil, tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman, lalu steroid ditandai dengan munculnya warna hijau. Ekstrak etanol daun salam negatif terhadap senyawa kuinon dengan terbentuknya warna hijau kehitaman yang seharusnya berwarna merah. Menurut pustaka, daun salam mengandung flavonoid, saponin, triterpen, tanin, alkaloid dan minyak atsiri (Soedarsono, 2002). Hasil skrining fitokimia dalam penelitian ini telah sesuai dengan pustaka

dan hasil tersebut terdapat pada Tabel 3.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan standarisasi ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*).

No	Parameter	Replikasi			Rata-rata ± SD	Pustaka	Keterangan
		1	2	3			
Non spesifik							
1	Kadar air	2,50	1,59	2,20	2,10±0,46	<10% (Ditjen POM RI, 2000)	Sesuai
2	Kadar abu total	2,14	1,21	1,41	1,59±0,49	≤7% (Samudra, 2014)	Sesuai
Spesifik							
3	Kadar sari larut etanol	91,44	93,92	95,49	93,62±2,05	≥38% (Samudra, 2014)	Sesuai

Tabel 3. Hasil pemeriksaan skrining kualitatif fitokimia simplisia daun salam (*Syzygium polyanthum*).

Senyawa	Pereaksi	Hasil	Pustaka (Tarigan, Zuhra and Sihotang, 2008)	Kesimpulan
Alkaloid	<i>Dragendorff</i>	Terbentuk endapan jingga	Terbentuk warna jingga	Positif
Flavonoid	Serbuk magnesium, Alkohol klorhidrik dan amil alkohol	Lapisan amil alkohol terpisah berwarna kuning	Terbentuk warna merah atau kuning atau jingga	Positif
Kuinon	NaOH 10%	Terbentuk warna hijau kehitaman	Terbentuk warna merah	Negatif
Saponin	-	Terbentuk busa stabil setelah dikocok kuat vertikal selama 10 detik	Terbentuk busa stabil	Positif
Tanin	FeCl ₃	Terbentuk warna hijau kehitaman	Terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman	Positif
Uji steroid atau terpen	Asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat	Terbentuk warna hijau	Terbentuk warna merah hingga kehijauan	Positif steroid

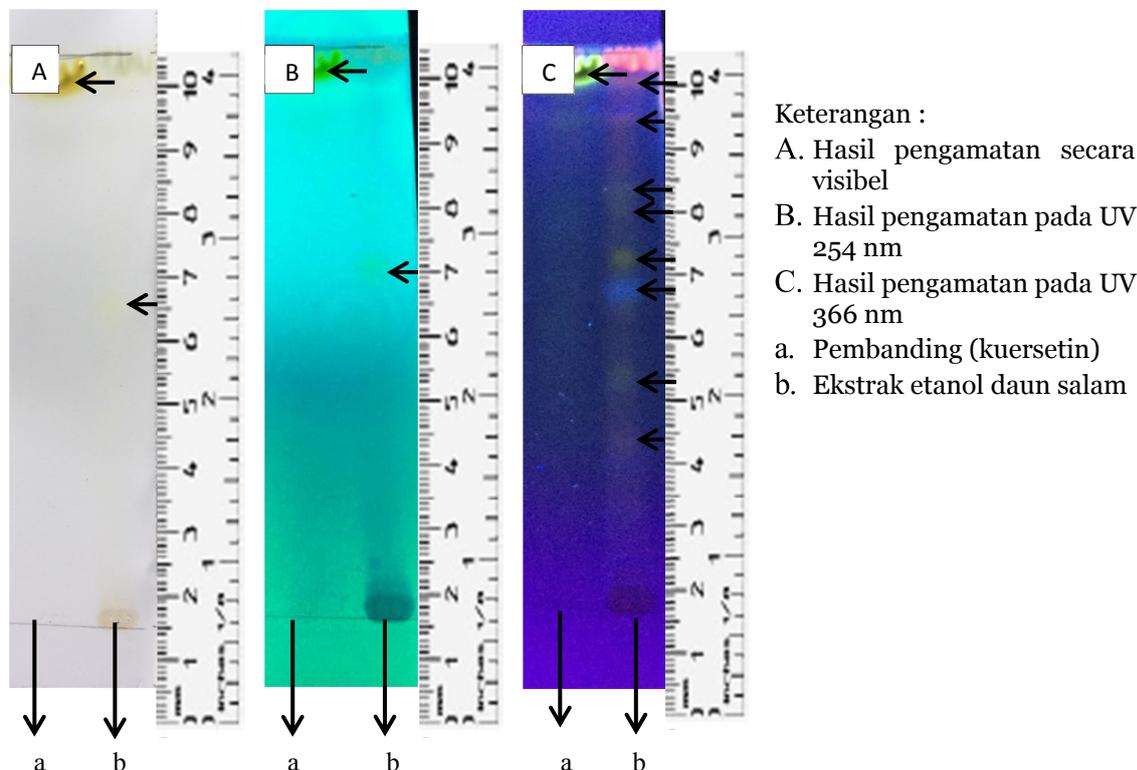
Profil kromatogram ekstrak etanol daun salam secara KLT (kromatografi lapis tipis) dilakukan dengan tujuan untuk memberikan gambaran awal kandungan kimia dalam ekstrak etanol daun salam. Kandungan senyawa dalam ekstrak tanaman dapat dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain perbedaan iklim, habitat, kondisi, nutrisi tanah dan waktu pemanenan dari tanaman. Fase diam yang digunakan dalam penelitian ini adalah silika gel 60 F254 dengan fase gerak etil asetat : asam format : asam asetat : air (10 : 0,5 : 0,5 : 1). Perbandingan yang digunakan adalah kuersetin karena kuersetin merupakan senyawa yang diduga sebagai senyawa marker/identitas pada ekstrak. Hasil pengamatan dilakukan secara visual, pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm dan menunjukkan adanya noda senyawa. Pada pengamatan di panjang gelombang 366 nm dan 254 nm menunjukkan adanya fluoresensi

berwarna kuning di beberapa titik setelah penyemprotan dengan AlCl₃ yang menunjukkan adanya flavonoid, sedangkan pada pengamatan visual setelah disemprot AlCl₃ menunjukkan noda kuning yang menunjukkan adanya flavonoid (gambar 1). Penelitian enzimatik secara *in vitro* ini bertujuan untuk menentukan mekanisme kerja daun salam dalam menurunkan kadar kolesterol dalam darah dengan membandingkan nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun salam terhadap nilai IC₅₀ simvastatin. Ekstrak etanol daun salam terstandar diuji inhibisinya terhadap enzim *HMG-CoA Reductase* menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 340 nm setiap 15 detik selama 5 menit hingga diperoleh nilai IC₅₀ (Sigma-Aldrich, 2013).

Pada penelitian ini digunakan simvastatin sebagai pembanding dan diuji daya inhibisi terhadap aktivitas enzim *HMG-CoA Reductase* dengan konsentrasi 0 ppm hingga 0,0026 ppm

(tabel 4 dan gambar 2). Hasil uji enzimatis terhadap simvastatin dilakukan replikasi sebanyak 2 kali. Persen inhibisi dari setiap replikasi akan selalu meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi dari pembanding simvastatin yang berkorelasi secara linier. Nilai IC₅₀ simvastatin dari 2 replikasi yang diperoleh

dalam penelitian ini (0,00238 ± 0,00004 ppm). Nilai IC₅₀ simvastatin tersebut lebih kecil jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang berkisar antara 0,00376 ppm – 0,00778 (Istvan, 2003; Istvan *and* Deisenhofer, 2001; Alfons *et al.*, 1993).



Gambar 1. Hasil pengamatan kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan fase diam KLT Silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : asam format : asam asetat : air (10:0,5:0,5:1) setelah disemprot AlCl₃5%.

Tabel 4. Hasil pengamatan % inhibisi dan IC₅₀ simvastatin.

Data % Inhibisi Simvastatin					
No	Konsentrasi Simvastatin	% inhibisi		Mean ± SD	Nilai % IC ₅₀ (ppm)
		R ₁	R ₂		
1	0 ppm	0	0	0	
2	0,001 ppm	16,49	13,94	15,22 ± 1,80	
3	0,0014 ppm	20,31	23,00	21,66 ± 1,90	
4	0,0018 ppm	33,94	38,27	36,11 ± 3,06	
5	0,0022 ppm	46,79	46,61	46,70 ± 0,13	
6	0,0026 ppm	59,46	60,25	59,86 ± 0,59	
					R ₁ = 0,00240 R ₂ = 0,00235 Rata-rata=0,00238 ± 0,00004

Ekstrak etanol daun salam selanjutnya digunakan untuk uji daya inhibisi terhadap aktivitas enzim *HMG-CoA Reductase* dengan konsentrasi 0 ppm hingga 1200 ppm. Hasil uji enzimatis terhadap ekstrak etanol daun salam dilakukan replikasi sebanyak 2 kali. Persen inhibisi dari setiap replikasi akan selalu meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi dari ekstrak yang berkorelasi secara logaritmik. Nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun salam

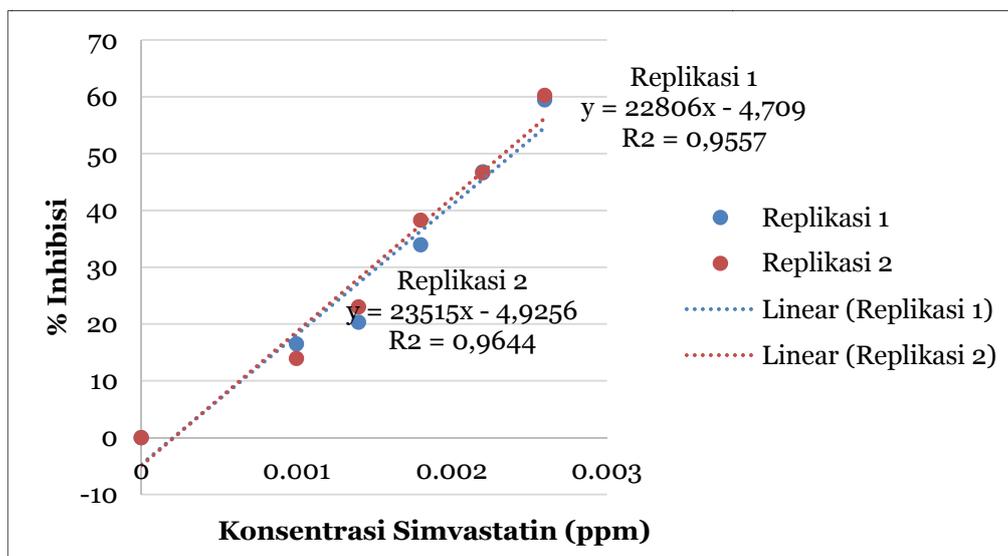
hasil perkolasi yang diperoleh dari 2 replikasi dalam penelitian ini (49,50 ± 0,70 ppm) lalu dilakukan uji analisis untuk dibandingkan dengan nilai IC₅₀ simvastatin (0,00238 ± 0,00004 ppm) menggunakan *independent sampel t-test*. Hasil analisis data diketahui bahwa nilai t percobaan = 98,995 sedangkan t tabel = 4,30, artinya Ho ditolak dan terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun salam dengan nilai IC₅₀ simvastatin. Dengan melihat nilai IC₅₀

tersebut, maka dapat dikatakan bahwa kemampuan ekstrak etanol daun salam hasil perkolasi dalam menghambat enzim *HMG-CoA Reductase* lebih kecil jika dibandingkan dengan simvastatin, di mana kemampuan ekstrak etanol daun salam dalam menghambat enzim *HMG-CoA Reductase* 20000 kali lebih kecil jika dibandingkan dengan kemampuan simvastatin (tabel 5 dan gambar 3).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstrak biji melinjo (*Gnetum gnemon*) dengan pelarut diklorometana memiliki kemampuan dan dikatakan berpotensi dalam menghambat enzim *HMG-CoA Reductase* dengan nilai IC_{50} 400 ppm (Hafidz *et al.*, 2017). Menurut Arantes *et al.* (2016) ekstrak daun pahit (*Vernonia condensata*) dengan pelarut air mampu menurunkan kolesterol dengan menghambat enzim *HMG-CoA Reductase* dengan nilai IC_{50} 271,7 ppm. Ekstrak teh hijau dan teh hitam dengan pelarut air juga memiliki nilai IC_{50} 250 ppm dan 100 ppm dalam menghambat enzim *HMG-CoA Reductase* (Singh, Banerjee and Porter, 2009). Penelitian lain yang dilakukan oleh Ressaissi *et al.* (2017) dengan menggunakan ekstrak *Opuntia ficus-indica* (L) Miller yang diujikan terhadap aktivitas inhibisi enzim *HMG-CoA Reductase* diperoleh nilai IC_{50} sebesar 20,3 ppm. Berdasarkan beberapa penelitian tersebut, maka diperoleh hasil rentang konsentrasi yang berpotensi dalam menghambat enzim *HMG-CoA Reductase* sampai 50% (IC_{50}) yaitu sebesar 20,3 ppm – 400 ppm. Penelitian yang dilakukan oleh Mardawati *et al.* (2008) menyebutkan bahwa jika dalam konsentrasi <50 ppm suatu ekstrak mampu menghambat 50%, maka dapat dikatakan ekstrak tersebut berpotensi kuat. Dengan melihat beberapa penelitian tersebut, maka nilai IC_{50} ekstrak etanol daun salam (49,5 ppm) dalam penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam hasil perkolasi memiliki potensi dalam menghambat enzim *HMG-CoA Reductase* dan tergolong inhibitor kuat, namun lebih kecil jika

dibandingkan dengan simvastatin.

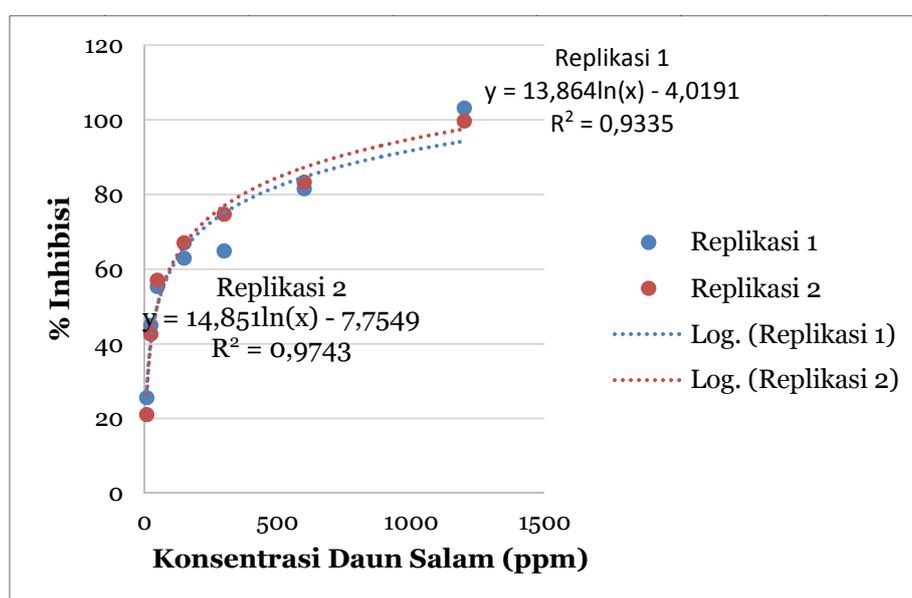
Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) saat ini banyak diteliti secara *in vivo* mampu menurunkan kadar kolesterol dalam darah (Riansari, 2008; Lajuck, 2012; Ratnawati, Wargasetia dan Hartanto, 2009). Daun salam mengandung banyak senyawa yang mampu menurunkan kadar kolesterol dalam darah dengan mekanisme yang berbeda. Namun sejauh ini belum ada laporan ilmiah yang mendukung adanya penghambatan aktivitas enzim *HMG-CoA Reductase* secara *in vitro* yang berbasis daun salam. Pada penelitian terdahulu, beberapa senyawa flavonoid seperti kuersetin dan rutin telah diuji secara *in vitro* yang mampu menghambat enzim *HMG-CoA Reductase*. Penelitian yang dilakukan oleh Anggraeni (2017) menyebutkan bahwa kuersetin dengan konsentrasi 10 ppm memberikan efek penghambatan enzim *HMG-CoA Reductase* sebesar 41,10%, sedangkan rutin dengan konsentrasi yang sama dapat menghambat enzim *HMG-CoA Reductase* hingga 60,17%. Selain itu juga terdapat senyawa golongan flavonoid seperti *isorhamnetin* yang mampu menghambat enzim *HMG-CoA Reductase* dengan nilai IC_{50} 63,4 ppm (Ressaissi *et al.*, 2017). Berdasarkan hasil penelitian ini, diduga flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) menunjukkan adanya potensi dalam inhibisi enzim *HMG-CoA Reductase*. Flavonoid inilah yang diduga berperan dalam mekanisme penghambatan enzimatis ini karena flavonoid seperti kuersetin merupakan golongan utama dari daun salam (BPOM, 2004). Penelitian yang dilakukan oleh Ademosun *et al.* (2015) disebutkan bahwa komponen fenolik pada *grapefruit peels* (genisten dan diadzein) menunjukkan aktivitas inhibisi enzim *HMG-CoA Reductase* secara kompetitif terhadap HMG-CoA sebagai substrat.



Gambar 2. Grafik konsentrasi simvastatin terhadap % inhibisi.

Tabel 5. Hasil pengamatan % inhibisi dan IC₅₀ ekstrak etanol daun salam.

No	Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Salam	Data % Inhibisi Ekstrak Etanol Daun Salam		Mean ± SD	Nilai % IC ₅₀ (ppm)
		R ₁	R ₂		
1	0 ppm	0	0	0	
2	10 ppm	28,49	21,03	24,76 ± 5,28	
3	25 ppm	47,10	42,59	44,85 ± 3,19	
4	50 ppm	57,10	57,03	57,07 ± 0,05	R ₁ = 50,0
5	150 ppm	64,40	67,02	65,71 ± 1,85	R ₂ = 49,0
6	300 ppm	66,24	74,66	70,45 ± 5,95	Rata-rata=49,50±0,70
7	600 ppm	82,24	83,28	82,76 ± 0,74	
8	1200 ppm	102,99	99,62	101,31 ± 2,38	

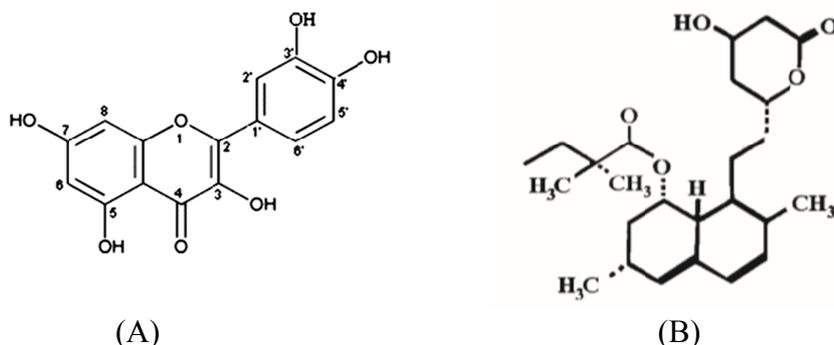
**Gambar 3.** Grafik konsentrasi ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap % inhibisi.

Hubungan antara flavonoid (gambar 4) dengan aktivitasnya sebagai inhibitor HMG-CoA Reductase disebabkan karena adanya gugus OH pada C3', C4' dan C5. Selain itu juga adanya gugus C=O pada C4. Gugus-gugus ini berperan dalam membentuk ikatan hidrogen dengan asam-asam amino dari enzim HMG-CoA Reductase melalui interaksi hidrofobik. Diduga gugus-gugus ini berperan dalam aktivitasnya menghambat enzim HMG-CoA Reductase karena memiliki kesamaan pada gugus farmakofor pada pembandingan simvastatin. Struktur simvastatin (gambar 4) memiliki gugus farmakofor yaitu gugus OH dan C=O yang mampu membentuk ikatan dengan enzim HMG-CoA Reductase sehingga aktivitasnya terhambat. Pada awalnya simvastatin terdapat dalam bentuk tidak aktif, kemudian gugus C=O pada cincin lakton simvastatin akan terhidrolisis menjadi bentuk yang aktif (asam). Simvastatin yang terhidrolisis

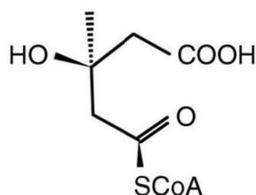
tersebut kemudian akan berikatan asam-asam amino melalui ikatan hidrogen yang terdapat pada sisi aktif enzim HMG-CoA Reductase. Struktur simvastatin yang telah aktif memiliki struktur kimia yang hampir sama dengan HMG-CoA (gambar 5) hal ini menyebabkan simvastatin mampu menghambat aktivitas enzim HMG-CoA Reductase secara kompetitif dan mampu membentuk kompleks enzim-inhibitor. Flavonoid yang terkandung dalam daun salam diduga mampu menunjukkan aktivitas inhibisi enzim HMG-CoA Reductase secara kompetitif terhadap HMG-CoA sebagai substrat karena flavonoid memiliki struktur yang hampir sama dengan simvastatin. Untuk melihat mekanisme inhibisi flavonoid tersebut dapat dipastikan dengan dilakukan metode molecular docking secara komputasi atau juga dapat dilakukan dengan kinetika inhibisi. Ekstrak etanol daun salam dalam penelitian ini merupakan ekstrak kasar

yang mengandung lebih dari senyawa metabolit sekunder yang mampu menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Penentuan total fenol dapat dilakukan untuk lebih memastikan adanya gugus fenolik dalam ekstrak etanol daun salam.

Dengan demikian, flavonoid yang terkandung dalam daun salam dapat dikatakan memiliki mekanisme kerja dalam menghambat enzim HMG-CoA Reductase.



Gambar 4. Struktur flavonoid (A) dan struktur simvastatin (B) (Istvan *and* Deisenhofer, 2001; Stancu *and* Sima, 2001).



Gambar 5. Struktur HMG-CoA (Stancu *and* Sima, 2001).

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode serapan radikal DPPH karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat (Hanani, 2005). DPPH merupakan salah satu radikal nitrogen organik yang stabil yang berwarna ungu. Adanya senyawa yang bersifat sebagai peredam radikal akan mereduksi radikal DPPH dengan mendonasikan atom

hidrogen membentuk senyawa difenil pikrilhidrazin (non radikal) yang dapat ditandai dengan perubahan dari warna ungu radikal DPPH menjadi warna kuning (golongan pikril) (Molyneux, 2004). Hasil uji menunjukkan ekstrak etanol daun salam memberikan nilai IC_{50} 888,0835 ppm (Tabel 6). Semakin kecil nilai IC_{50} yang didapatkan menunjukkan semakin kuat potensi antioksidan suatu ekstrak.

Tabel 6. Hasil Pengamatan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Salam (Perkolasi) dengan metode DPPH

Konsentrasi (ppm)	Salam - Perkolasi				Blangko	%AA
	A1	A2	A3	Rata-rata		
1200	0,8550	0,7063	0,7134	0,7582	0,0689	67,0049
600	1,3878	1,3683	0,9550	1,2370	0,0564	43,4887
300	1,6550	1,6922	1,5094	1,6189	0,0514	24,9729
150	1,9850	1,9832	1,9024	1,9569	0,0469	8,5790
50	2,0486	2,0396	1,9886	2,0256	0,0443	5,1647
25	2,0850	2,0532	2,0861	2,0532	0,0447	3,8627
10	2,0409	2,0687	2,0688	2,0595	0,0445	3,5532
0	2,0275	2,1234	2,1167	2,0892	0,0417	1,9960

$IC_{50} = 888,0835$ ppm

Metode FRAP menurut Benzie and Strain (1996) merupakan metode penentuan aktivitas antioksidan yang mengukur kemampuan antioksidan untuk mereduksi Fe^{3+} dalam kompleks Fe^{3+} -TPTZ menjadi Fe^{2+} -TPTZ dengan cara mendonorkan elektronnya. Metode FRAP dipilih untuk digunakan karena uji ini dapat digunakan untuk kuantifikasi kapasitas antioksidan pada bermacam sistem biologis mulai dari ekstrak hingga senyawa murni. Terbentuknya warna biru yang semakin pekat mengindikasikan terbentuknya ion Fe^{2+} yang semakin banyak.

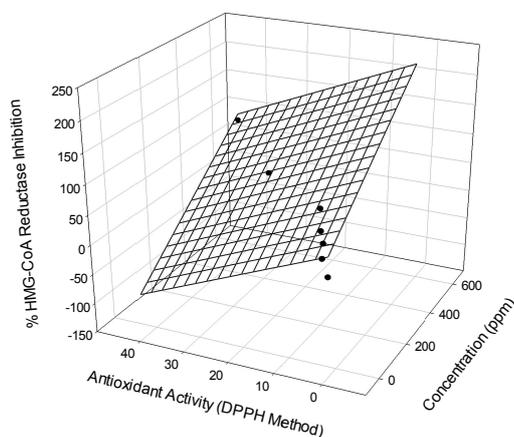
Oleh sebab itu, Semakin tinggi intensitas warna biru yang terbentuk menunjukkan potensi antioksidan yang semakin tinggi. Aktivitas antioksidan sampel dinyatakan dalam ekivalensi $Fe(II)$, yaitu konsentrasi larutan yang menghasilkan absorbansi yang sama dengan absorbansi yang dihasilkan oleh larutan 1 mM $FeSO_4$ (Clarke *et al.*, 2013). Hasil uji menunjukkan ekstrak etanol daun salam memberikan nilai FRAP value sebesar 295 ppm (tabel 7).

Tabel 7. Hasil pengamatan absorbansi ekstrak etanol daun Salam (Perkolasi) pada penentuan aktivitas antioksidan dengan metode FRAP

Konsentrasi (ppm)	A1	A2	A3	Rata-rata	Kesetaraan FRAP value
1200	0,6672	0,5071	0,8677	0,6807	54,9850
600	0,4272	0,4002	0,3405	0,3893	22,2472
300	0,4398	0,3817	0,5984	0,3817	21,3933
150	0,2360	0,2311	0,3301	0,2657	8,3633
50	0,1962	0,1798	0,2236	0,1999	0,9625
25	0,1290	0,1362	0,1739	0,1464	0
10	0,1345	0,1188	0,1100	0,1211	0
0	0,1849	0,2113	0,1810	0,1924	0

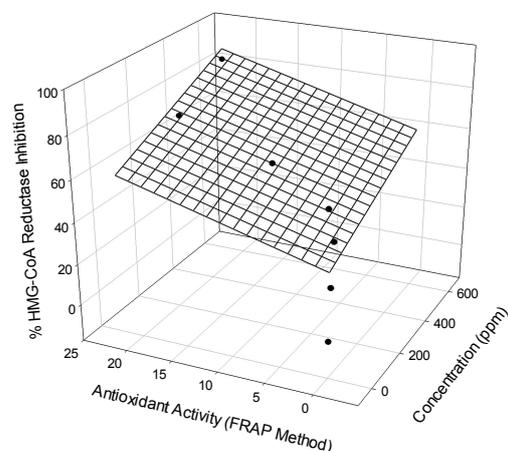
Kesetaraan aktivitas antioksidan: 295 ppm

Pada penelitian ini juga dilakukan analisis untuk melihat korelasi antara aktivitas penghambatan enzim dan aktivitas antioksidan dari ekstrak. Korelasi persen penghambatan HMG-CoA Reductase dengan persen penghambatan oksidasi (metode DPPH) dalam ekstrak daun salam ditunjukkan pada Gambar 6. Meskipun korelasi aktivitas penghambatan HMG-CoA Reduktase dengan konsentrasi ekstrak (korelasi logaritmik) berbeda dengan korelasi persen penghambatan oksidasi dengan konsentrasi ekstrak (korelasi linear), masih dapat terlihat bahwa peningkatan persen penghambatan HMG-CoA Reduktase diikuti oleh peningkatan aktivitas penghambatan oksidasi.



Gambar 6. Korelasi persentase penghambatan enzim HMGCo-A reductase dengan aktivitas antioksidan (metode DPPH).

Korelasi persen penghambatan HMG-CoA Reductase dengan aktivitas antioksidan dengan metode FRAP dari ekstrak daun salam yang diperoleh ditunjukkan pada Gambar 7. Dalam metode FRAP dapat dilihat bahwa korelasi aktivitas penghambatan HMG-CoA Reductase dengan konsentrasi ekstrak pada kedua jenis (korelasi logaritmik) tidak sama dengan korelasi penghambatan oksidasi dengan konsentrasi ekstrak (korelasi polinomial).



Gambar 7. Korelasi persentase penghambatan enzim HMGCo-A reductase dengan aktivitas antioksidan (metode FRAP).

Berdasarkan hasil ini (gambar 6-7) dapat disimpulkan bahwa penghambatan aktivitas HMG-CoA Reductase tidak memiliki korelasi yang linier dengan aktivitas antioksidannya, baik dengan metode DPPH ($Y=38,8052-0,3180x-3,1319y$, $R^2=0,6154$) maupun dengan metode FRAP ($Y=32,6035+0,046x+1,1740y$, $R^2=0,6006$). Persamaan linier antara persentase penghambatan enzim HMGCo-A reductase dengan daya antioksidan (metode DPPH) menunjukkan persentase penghambatan yang semakin mengecil apabila aktivitas antioksidannya semakin besar, namun tidak demikian dengan analisa korelasi antara persentase penghambatan enzim HMGCo-A

reductase dengan daya antioksidan (metode FRAP), dimana persentase penghambatan semakin besar diikuti dengan semakin tingginya daya antioksidan ekstrak etanol daun salam.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun salam hasil perkolasi memiliki nilai IC₅₀ terhadap enzim HMG-CoA Reductase sebesar $49,50 \pm 0,70$ ppm. Daya antioksidan ekstrak etanol daun salam ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ sebesar 888,0835 ppm dengan metode DPPH dan nilai FRAP value sebesar 295 ppm dengan metode FRAP. Tidak ada korelasi antara aktivitas penghambatan enzim HMGCo-A Reductase dengan daya antioksidan pada ekstrak etanol daun salam.

DAFTAR PUSTAKA

Ademosun, A.O., Oboh, G., Passamonti, S., Tramer, F., Ziberna, L., Boligon, A.A. and Athayde, M.L. 2015, Phenolics from grapefruit peels inhibit HMG-CoA Reductase and show angiotensin-I converting enzyme and show antioxidative properties in endothelial EA. Hy 926 cells, *Food Science and Human Wellness*, 4: 80-85.

Alfons, C.J., Mario, A., Hans, B. And Louis, H. 1993, Pravastatin and simvastatin differently inhibit cholesterol biosynthesis in human lens, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 34(2): 377-384.

Amrun MH, Umiyah. 2005. Pengujian antiradikal bebas Difenilpicril Hidrazil (DPPH) ekstrak buah kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari daerah sekitar Jember. *Jurnal Ilmu Dasar*, 6 (2): 110-114.

Anggraeni, K. 2017, 'Inhibisi HMG-KoA Reduktase oleh Campuran Ekstrak Flavonoid Berbasis Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia*) in vitro', *Skripsi*, Sarjana Sains, Institut Pertanian Bogor.

Arantes, A.A., Fale, P.L., Costa, L., Pacheco, R., Ascensao, L. and Serralheiro, M.L. 2016, Inhibition of HMG-CoA Reductase activity and cholesterol permeation through Caco-2 cells by caffeoylquinic acids from *Vernonia condensata* leaves, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26: 738-743.

Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measurement of 'antioxidant power': the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996; 239:70-76.

[BPOM] Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2004, *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*, Jakarta.

Chandra S, and Dave R, 2009, In vitro models for antioxidant activity and some medicinal plants possessing antioxidant properties, *African Journal of Microbiology Research*, 3(13): 981-996.

Clarke, G., Ting, K.N., Wiart, C., and Fry, J., 2013, High correlation of 2,2-diphenyl-picryl (DPPH) radical scavenging, ferric reducing activity potential and total phenolic content indicates redundancy in use of all three assays to screen for antioxidant activity of extracts of plants from the malaysian rainforest. *Antioxidant*, 2(1), 1 – 10.

Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia (DitJen POM RI), 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Dorland, W.A. 2002, *Kamus Kedokteran Dorland*, Terjemahan Huriawati Hartanto, edisi pertama, EGC, Jakarta.

Hanani, E, 2005, Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons Callyspongia SP Dari Kepulauan Seribu, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol II, No 3 (2005). Page 127-133.

Istvan, E. 2003, Statin inhibition of HMG-CoA Reductase: a 3-dimensional view, *Atherosclerosis Supplements*, 11(4): 3-8.

Istvan, E. and Deisenhofer, J. 2001, Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA Reductase, *Science*, 292: 5519.

Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI), 2007, *Kebijakan Obat Tradisional Nasional*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Lajuck, P. 2012, 'Ekstrak daun Salam (*Eugenia polyantha*) lebih efektif menurunkan kadar kolesterol total dan LDL dibandingkan statin pada penderita dislipidemia', *Tesis*, Doktor, Universitas Udayana, Bali.

Mardawati, E., C.S. Achyar, dan H. Marta, 2008, 'Kajian aktivitas antioksidan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) dalam rangka pemanfaatan limbah kulit manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya', *Laporan akhir penelitian peneliti muda (LITMUD)*, Lembaga Penelitian Universitas Padjajaran, Bandung.

Molyneux, P., 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, 26(2), 211-21.

Murraay, R.K., Granner, D.K. and Rodwell, V.W. 2006, *Harper's illustrated biochemistry 27th ed*, McGraw-Hill, New York.

Pidayanti, 2008, 'Daun Salam (*Eugenia polyantha*) menurunkan kolesterol total pada tikus Wistar', *Tesis*, Sarjana Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.

Ratnawati, H., Wargasetia, T.L. dan Hartanto, O.K. 2015, 'Perbandingan ekstrak etanol daun Salam (*Syzygium polyanthum* L.) dan Simvastatin terhadap kadar trigliserida serum tikus Wistar jantan yang diinduksi pakan tinggi lemak', *Skripsi*, Sarjana Farmasi, Universitas Kristen Maranatha, Bandung.

Ressaissi, A., Attia, N., Fale, P.L., Pacheco, R., Victor, B.L, Machuqueiro, M. and Serralheiro, M.L.M. 2017, Isorhamnetin derivatives and piscidic acid for hypercholesterolemia: cholesterol permeability, HMG-CoA Reductase inhibition and docking studies, *Archives of Pharmacal Research*, p. 1-9.

Riansari, A. 2008, 'Pengaruh pemberian ekstrak daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap kadar kolesterol total serum tikus jantan Galur Wistar hiperlipidemia', *Tesis*, Sarjana Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.

Samudra, A. 2014, 'Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Weight) dari Tiga Tempat Tumbuh di Indonesia', *Skripsi*, Sarjana Farmasi, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.

Sigma-Aldrich, 2013, *Enzym HMG-CoA Reductase*. Diunduh pada 24 Juli 2017, <http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Bulletin/cs1090bul>.

Singh, D.K., Banerjee, S. and Porter, T.D. 2009, Green and black tea extracts inhibit HMG-CoA Reductase and activate AMP-kinase to decrease cholesterol synthesis in hepatoma cells, *J Nutr Biochem*, 20(10): 816-822.

Soedarsono, 2002, *Tumbuhan Obat* Jilid II, Pusat Studi Obat Tradisional, Yogyakarta.

Song Hae Bok, Kwang, H.S., Tae, S.J., Byoung, M.K., Young, K.K., Doil Choi, Sung Kim, Ki Hwan, B., Yong, B.P., Myung, S., Ingyu, H., Surk, S.M., Jung Ah, A. and Eun Sook, L. 1997, Hesperidin and Hesperetin as 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl

CoA (HMG-CoA) Reductase Inhibitor, *United States Patent*, 5: 1-6.

Stancu, C. and Sima, A. 2001, Statins: Mechanism of action and effects, *J Cell Mol Med*, 5(4): 378-387.

Tanabe M., Chen, Y.D., Saito, K. dan Kano Y. 1993, Cholesterol biosynthesis inhibitory component from *Zingiber officinale* Roscoe. *Chem Pharm Bull*. 41: 710-713.

Tjitrosoepomo, G. 2002, *Taksonomi Tumbuhan*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Vincentius, A. 2008, 'Pengaruh pemberian ekstrak daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap serum HDL Kolesterol', *Tesis*, Sarjana Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.

Wijayakusuma, H.M.H. 2007. Potensi tumbuhan obat asli Indonesia sebagai produk kesehatan, *Prosiding Seminar Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi*, Himpunan Pengobatan Tradisional dan Akupuntur Indonesia, Jakarta, p.1.

Wiyoto, H., Andriani, M.A.M., dan Parnanto N.H.R., 2011, Kajian aktivitas antioksidan dan kadar antikolesterol pada angkak dengan variasi jenis substrat (beras, jagung, dan gaplek), *Biofarmasi* 9(2): 38-44.