

EFEKTIFITAS ANTOSIANIN KULIT BUAH JAMBLANG (*Syzygium cumini*) SEBAGAI PENURUN *LOW DENSITY LIPOPROTEIN* DARAH TIKUS WISTAR YANG MENGALAMI HIPERKOLESTEROLEMIA

I Gusti Putu Agus Ferry S.P.¹, Manuntun Manurung^{1,2}, Ni Made Puspawati^{1,2*}

¹Program Studi Magister Kimia Terapan Universitas Udayana, Denpasar

²Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

*nmpuspa_65@yahoo.co.id

ABSTRAK: Telah dilakukan penelitian ekstraksi antosianin dari kulit buah jamblang dengan pelarut etanol. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui jenis antosianin dalam ekstrak kulibuah jamblang serta mengetahui potensi antosianin dalam ekstrak etanol sebagai penurun LDL sekaligus sebagai menaikkan HDL dalam darah tikus yang hiperkolesterolemia. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan rancangan *One Group Pretest and Posttest Design*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar antosianin total dalam ekstrak kulit buah jamblang sebesar $830 \pm 15,2$ mg/L. Uji spektrofotometri UV-Vis menunjukkan serapan pada 274 dan 536 nm, yang merupakan ciri golongan flavonoid termasuk antosianin. Hasil TLC menunjukkan 2 noda, yaitu noda (a) dengan $R_f = 0,40$ (petunidin-3-rhamnosa) dan noda b, $R_f = 0,33$ (sianidin-3-soporosa). Kemampuan menurunkan LDL terbaik ditunjukkan oleh P3 yang diberikan ekstrak kulit buah Jamblang sebanyak 69 g/150 BB dengan penurunan kadar LDL mencapai 54,5% dan kenaikan HDL 16,6%. Prosentase penurunan kadar LDL yang ditunjukkan P3 sebanding dengan P4 yang diberikan obat paten berupa simvastatin dengan prosentase penurunan 53,4%.

Kata Kunci: Ekstrak Antosianin Kulit Buah Jamblang (*Syzygium cumini*), LDL, HDL, Simvastatin

ABSTRACT: A research has been conducted of *anthocyanin* extraction from jamblang's peel fruit with ethanol solvent. The purpose of this research was to determine the type of anthocyanin extraction of jamblang's peel fruit and determine the potential of anthocyanins in the ethanol extraction as a function of decreasing LDL as well as raising HDL in the blood's of rats in hypercholesterolemia. This research was experimental in design of *One Group Pre-test and Post-test Design*. The results showed that the levels of total anthocyanins in the Jamblang's fruit peel extraction was 830 ± 15.2 mg/L. UV-Vis spectrophotometry test showed the absorptions at 274 and 536 nm which are the characteristics of flavonoids such as anthocyanins. The results of TLC showed two stains, such as stain (a) with $R_f = 0.40$ (petunidin-3-rhamnosa) and stain b, $R_f = 0.33$ (sianidin-3-soporosa). The best decreasing LDL ability was demonstrated by P3 group that had been given Jamblang's fruit peel extraction as much as 69 g/150 BB by decreasing the LDL level by 54.5% and increasing the HDL level by 16.6%. The decreasing of LDL levels indicated by P3 comparable with P4 group that had been given with patented simvastatin drug with percentage of decreasing of 53.4%.

Keywords: Jamblang (*Syzygium cumini*) peel antosianin, LDL, HDL, Simvastatin

1. PENDAHULUAN.

Pada era globalisasi ini, semakin banyak orang mengalami perubahan gaya hidup terutama pola makan dan olahraga yang tidak teratur. Ketergantungan akan makanan cepat saji dan konsumsi makanan tinggi lemak menyebabkan peningkatan resiko terjadinya obesitas. Obesitas merupakan faktor pemicu timbulnya penyakit jantung, stroke, dan aterosklerosis. Hal ini dikarenakan pada orang yang obesitas biasanya memiliki kadar kolesterol yang tinggi (Azwar, 2004).

Kolesterol yang berlebih dalam darah bisa menyebabkan masalah jangka panjang seperti aterosklerosis hingga penyakit kardiovaskuler (Widowati, 2007). Penyakit jantung aterosklerosis adalah pembunuh nomor satu bangsa Amerika setiap tahunnya sejak tahun 1921. Penyakit ini disebabkan penumpukan kolesterol dalam bentuk *low density lipoprotein* di pembuluh darah sehingga menimbulkan terjadinya penyumbatan pembuluh darah jantung (Mason *et al.*, 2008).

Penyakit jantung koroner dan aterosklerosis dalam pengobatannya membutuhkan jangka waktu yang panjang dan konsumsi obat yang teratur. Pengobatan awal yang biasanya diberikan adalah terapi penurunan kadar kolesterol terutama *low density lipoprotein* dalam darah. Kadar kolesterol yang tinggi dapat diturunkan dengan levostatin dan simvastatin. Pengobatan dengan menggunakan simvastatin ternyata tidak bisa dilakukan pada penderita yang mengalami diabetes melitus yang tidak terkontrol, hipotiroid, sindrom nefrotik, disproteinemia, penyakit hati obstruktif, terapi dengan obat immunosupresan dan alkoholism. Hal ini menyebabkan obat ini tidak bisa diaplikasikan secara penuh pada semua pasien (Septiriyani, 2012). Disamping itu, levostatin dan simvastatin merupakan obat penurun kolesterol yang mahal dan belum terjangkau oleh seluruh lapisan masyarakat.

Pencarian obat hipolipidemia terutama yang berasal dari alam sangat giat dilakukan. Obat-obatan dari alam ini selain murah dan mudah didapat, juga memiliki efek samping yang kecil sehingga relatif aman jika dibandingkan dengan obat-obatan sintesis (Dachriyanus *et al.*, 2007). Salah satu tumbuhan yang dapat berpotensi sebagai obat hipolipidemia adalah jamblang (*Syzygium cumini*). Tumbuhan jamblang di Indonesia saat ini tergolong ke dalam tumbuhan langka. Kurangnya pembudidayaan tumbuhan tersebut, merupakan salah satu faktor utama terkait dengan kelangkaannya. Kulit buah jamblang mengandung antosianin yang mampu berperan sebagai penangkal radikal bebas. Selain antosianin, kulit buah jamblang mengandung zat-zat antara lain Vitamin C, Vitamin A, Riboflavin, kolin, asam folat, asam amino.

Menurut penelitian yang sudah dilakukan, pigmen antosianin dan senyawa-senyawa flavonoid lainnya terbukti memiliki efek positif terhadap kesehatan (Bridle dan Timberlake, 1997). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Safitri pada tahun 2012, minuman sari buah jamblang dalam 100 ml memiliki aktivitas antioksidan setara dengan 74 mg vitamin C, dimana antosianin memiliki kontribusi paling besar pada aktivitas antioksidan minuman sari kulit buah jamblang dibandingkan vitamin C dan senyawa fenol. Penelitian serupa yang dilakukan oleh Leimena, 2008 menyebutkan bahwa kulit buah jamblang mengandung antosianin yang tinggi dan tidak ditemukan adanya senyawa fenol dan vitamin C dalam kulit buah jamblang.

Berdasarkan kemampuan antosianin dari kulit buah jamblang sebagai antioksidan yang sangat baik bagi tubuh manusia dan pemanfaatannya yang kurang di masyarakat maka penulis melakukan penelitian untuk menguji kemampuan antosianin dalam kulit buah jamblang dalam menurunkan *low density lipoprotein* pada tikus galur wistar yang mengalami hiperkolesterolemia secara *in vivo*.

2. PERCOBAAN

2.1. Bahan dan Peralatan

Alat yang digunakan adalah pisau stainless steel, *hand blender*, penyaring, sentrifus, *rotary vacuum evaporator*, neraca analitik, penangas air, cawan porselin, plat silika gel, spektrofotometer VWR UV-1600PC, dan alat-alat gelas keperluan analisis. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah jambang. Kulit buah jambang dipisahkan dari daging dan bijinya sehingga diperoleh sampel kulit-daging buah, sedangkan kulit kulit buah jambang dipisahkan dari daging buahnya dengan menggunakan pisau stainless steel sehingga diperoleh kulit buahnya saja.

2.2. Metode

Jenis penelitian ini adalah eksperimental, dengan rancangan *One Group Pretest and Posttest Design* untuk mengetahui efektifitas antosianin dan toksisitas (LD_{50}) kulit buah jambang sebagai penurun *low density lipoprotein* pada tikus wistar yang hiperkolesterolemia. Penelitian ini menggunakan enam kelompok, yaitu dua kelompok kontrol dan empat kelompok eksperimental, dengan randomisasi sederhana. Pada penelitian terdapat pretest sebelum diberi perlakuan, dengan demikian hasil perlakuan dapat diketahui lebih akurat karena dapat membandingkan antara keadaan sebelum diberi perlakuan dan setelah perlakuan. Penelitian ini dilaksanakan di Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Analis Kesehatan Sekolah Menengah Kejuruan Kesehatan Bali Medika Denpasar.

Ekstraksi Kulit Buah Jambang

Kulit buah jambang yang masih segar sebanyak 2 kg diuapkan selama 2 menit dengan menggunakan uap panas untuk menginaktifkan enzim polifenol oksidase. Sampel yang diperoleh dimasukkan ke dalam kantong plastik dan disimpan dalam lemari pembeku untuk tahapan selanjutnya. Ekstraksi antosianin dilakukan dengan metode maserasi

menggunakan pelarut 0,1% HCl dalam etanol. Hal ini dikarenakan antosianin lebih stabil dalam suasana sedikit asam.

Karakterisasi Antosianin

Karakteristik antosianin pada kulit buah jambang ditentukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-VIS dan TLC (*Thin Layer Chromatography*). Analisis spektrofotometri didasarkan pada prosedur yang dilakukan oleh Harborne (1967) dan Francis (1982). Pengukuran ini dilakukan pada ekstrak kulit buah jambang menggunakan spektrofotometer VWR UV-1600PC pada panjang gelombang antara 200 – 700 nm. Data karakteristik dari panjang gelombang maksimum (spektra) yang diperoleh kemudian dicocokkan dengan tabel data panjang gelombang maksimum untuk beberapa antosianidin (Harborne, 1967). Analisis TLC didasarkan pada prosedur yang dilakukan oleh Hrazdina (1970) dengan modifikasi yaitu penggantian plat selulose dengan plat silika gel. Lempeng TLC yang digunakan pada penelitian ini terbuat dari silika gel, sedangkan eluennya adalah BAA (n-butanol-asam asetat-air dengan perbandingan 4:1:5).

Pengukuran Total Antosianin

Penentuan kandungan antosianin total dalam ekstrak kulit buah jambang menggunakan metode perbedaan pH. Ekstrak kulit buah jambang sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml. Dilarutkan dengan KCl pH 1,0 dan Natrium Asetat Monohidrat pH 4,5 sampai tanda batas. Kemudian diambil 1 ml dan dimasukkan dalam labu ukur 10 ml dan tambahkan buffer yang sama sampai tanda batas. Dilakukan inkubasi selama \pm 35 menit Lalu larutan pada kondisi pH yang berbeda tersebut diukur serapannya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm dan 700 nm. Kandungan antosianin total pada ekstrak kulit buah jambang dihitung menggunakan perhitungan dengan koefisien ekstingsi molar (ϵ) sebesar 26.900 (berdasarkan koefisien ekstingsi

molar dari sianidin-3 glukosida) dan bobot molekul sebesar 449 sebagai berikut :

(Widyawati, 2014)

Keterangan :

$$\text{Total antosianin (mg/L)} : \frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon \times l}$$

A : (A520 nm – A700 nm)pH 1 – (A520 nm – A700 nm) pH 4,5

E : koefisien ekstingsi molar (26 900 L cm⁻¹)

MW : Bobot molekul (449)

DF : Faktor pengenceran (5 ml/0.05 ml)

l : Tebal kuvet (1 cm)

Pembuatan Makanan Diet Lemak Tinggi (MDLT)

MDLT dibuat dari campuran antara lemak sapi dan minyak (1: 5). MDLT ini nantinya akan diberikan pada semua kelompok uji kecuali kontrol negatif. Cara pembuatannya adalah timbang lemak 200 gram kemudian campurkan dalam minyak sebanyak 1000 gram sesuai dengan perbandingan (1:5) dengan bantuan pemanasan. MDLT diberikan secara oral sebanyak 2% BB.

Pengujian pada Hewan Uji

Penelitian menggunakan 30 ekor tikus wistar dan seluruh tikus mengalami masa adaptasi dan diberi pakan standar dan minuman yang sama selama 1 minggu. Tikus dibagi menjadi 2 kelompok, kelompok pertama sebagai kontrol negatif (Kontrol negatif) terdiri dari 5 ekor tikus diberi diet standar selama 7 minggu, kelompok kedua terdiri dari 25 tikus diberi diet standar selama empat minggu dan injeksi adrenalin 0,0045 mg/150 gram intravena pada hari kedelapan dilanjutkan dengan diet kuning telur setiap dua hari (intermiten) dan makanan diet lemak tinggi (MDLT) 2% BB dari hari kesembilan sampai hari ke-35. Pada hari ke-36 kadar kolesterol-LDL dan HDL serum tikus diperiksa dengan mengambil darah tikus dari pleksus retroorbitalis dan diukur dengan metode presipitasi secara

spektrofotometri.

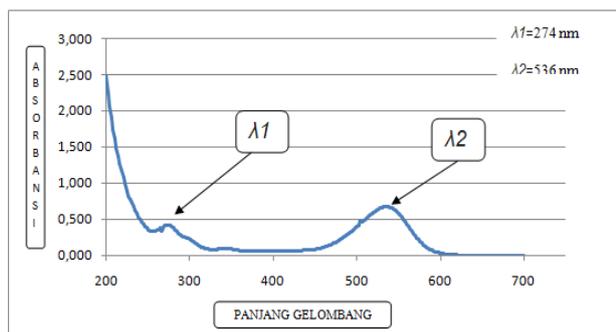
Kelompok kedua dibagi menjadi 5 kelompok masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus, yaitu kelompok kontrol positif (Kontrol positif) yang diberi diet standar selama 3 minggu, kelompok perlakuan 1 (P1) yang diberi diet standar dan 23 g / 150 BB ekstrak kulit buah jambang selama 3 minggu, kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberi diet standar dan 46 g/ 150 BB ekstrak ekstrak kulit buah jambang selama 3 minggu, kelompok perlakuan 3 (P3) yang diberi diet standar dan 69 g/ 150 BB ekstrak ekstrak kulit buah jambang selama 3 minggu. Sebagai Pembanding adalah kelompok perlakuan 4 (P4) yang diberi diet standar dan simvastatin (0,09 g / 150 BB).

Kadar kolesterol LDL dan HDL serum tikus Wistar diperoleh dengan mengambil darah tikus wistar dari pleksus retroorbitalis pada hari ke-56 dan diukur dengan metode presipitasi secara spektrofotometri di laboratorium Analis Kesehatan SMK Kesehatan Bali Medika Denpasar dinyatakan dengan satuan mg/dl.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN.

Hasil Identifikasi Antosianin dalam Ekstrak Kulit Buah Jambang

Ekstraksi kulit buah jambang sebanyak 2 kg hasil maserasi diperoleh ekstrak pekat sebanyak 250 g, dengan warna ungu kehitaman. Ekstrak pekat ini kemudian diidentifikasi dengan UV-Vis pada panjang gelombang 200 sampai 700 nm. Hal ini disebabkan dalam pelarut yang asam, antosianin dan aglikonnya menunjukkan dua karakteristik panjang gelombang maksimum yaitu satu pada daerah visibel antara 465 dan 550 nm dan satu lagi pada daerah UV yaitu disekitar 275 nm. Panjang gelombang maksimum dapat digunakan untuk mengidentifikasi aglikon, akan tetapi penggunaan dengan metode yang lain sebagai pendukung juga diperlukan (Jackman dan Smith, 1996). Pola spektra pada analisis spektrofotometri ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pola Spektra UV dari ekstrak kulit buah Jamblang

Pola spektra yang dihasilkan pada Gambar 1 menunjukkan panjang gelombang maksimum yang dapat digunakan untuk menduga jenis antosianin yang terdapat dalam buah jamblang. Menurut Timberlake dan Bridle (1997), spektra UV-Vis merupakan salah satu cara yang sederhana untuk mengidentifikasi dan memeriksa kemurnian dari pigmen antosianin. Panjang gelombang maksimum dari sampel ekstrak kulit buah jamblang adalah 274 dan 536 nm. Panjang gelombang maksimum ini berada pada kisaran panjang gelombang antosianin yaitu antara 465 sampai 550 nm (Jackman dan Smith, 1996). Menurut Francis (1982) panjang gelombang 274 dan 536 merupakan panjang gelombang maksimum untuk jenis antosianin petunidin yang mengandung satu gugus gula yang terikat pada atom C nomor 3.

Analisis lainnya yang dilakukan untuk mengetahui karakteristik antosianin pada penelitian ini adalah analisis dengan menggunakan *thin Layer Chromatography* (TLC), menggunakan eluen BAA (n-butanol-asam asetat-air dengan perbandingan 4:1:5). Analisis TLC merupakan salah satu jenis analisis kromatografi yang sering digunakan. Analisis ini telah digunakan secara luas untuk menggantikan kromatografi kertas. Hal ini dikarenakan sifat dari TLC yang lebih cepat dan sensitif bila dibandingkan dengan kromatografi kertas.

Hasil yang diperoleh pada TLC juga lebih baik dari pada kromatografi kertas, karena partikel pada lempeng TLC lebih kecil dari pada kromatografi kertas (Rounds dan Nielsen, 1998). Analisis dengan TLC dilakukan pada sampel ekstrak kasar kulit buah jamblang dengan lempeng yang terbuat dari silika gel. Hasil uji TLC dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini



Gambar 2. Hasil Uji TLC ekstrak total kulit buah Jamblang

Hasil analisis pada sampel ekstrak menghasilkan dua buah spot yang pemisahannya cukup bagus (spot a dan spot b). Spot yang pertama (spot a) berwarna merah muda agak keunguan, sedangkan spot yang kedua (spot b) berwarna ungu kebiruan. Spot yang pertama memiliki intensitas warna yang lebih tajam bila dibandingkan dengan spot yang kedua. Hal ini menunjukkan komponen antosianin yang terdapat pada spot yang pertama lebih banyak dibandingkan dengan spot yang kedua (Gritter *et al.*, 1991).

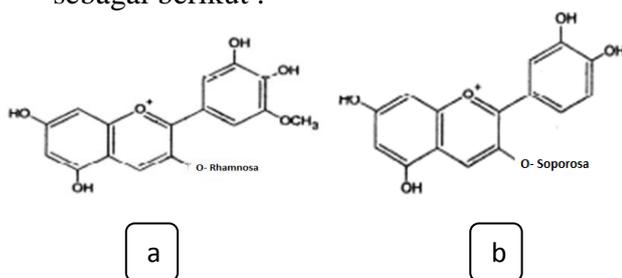
Nilai R_f dari masing-masing spot adalah 0,40 untuk spot a dan 0,33 untuk spot b. Nilai R_f ini kemudian dicocokkan dengan literatur menurut Harborne (1967), dengan nilai R_f 0,40 merupakan antosianin

jenis petunidin-3-rhamnosa, sedangkan nilai Rf 0,33 merupakan antosianin jenis sianidin-3-soporoza. Komponen antosianin yang lebih banyak adalah petunidin-3-rhamnosa. Penjelasan secara terinci setelah dibandingkan dengan Tabel Harborne dapat dilihat pada Tabel 1. Berikut ini

Tabel 1. Identifikasi Senyawa Antosianin dalam Ekstrak Kulit Buah Jamblang

Spot	Warna		RF	λ max.	Kemungkinan senyawa
	Visual	UV			
A	Ungu muda	Merah muda-ungu	0,40	533	petunidin-3-rhamnosa
B	biru muda	Ungu-kebiruan	0,33	524	sianidin-3-soporoza

Struktur molekul yang dihasilkan adalah sebagai berikut :



Gambar 3. Struktur Molekul dari Petunidin-3-Rhamnosa (a) dan Sianidin-3-Soporoza (b)

Kadar Antosianin dalam Ekstrak Kulit Buah Jamblang

Total antosianin ini dihitung dari selisih pengukuran absorbansi sampel pada panjang gelombang maksimum yang dilarutkan masing-masing dalam dua macam larutan *buffer* yang memiliki nilai pH yang berbeda. Pada pH 1, antosianin berada dalam bentuk kation flavilium yang menunjukkan jumlah antosianin dan senyawa-senyawa pengganggu. Sedangkan pada pH 4.5, antosianin berada dalam bentuk karbinol yang menunjukkan jumlah senyawa pengganggu. Selisih dari kedua pengukuran akan menunjukkan jumlah antosianin (Francis, 1982).

Analisis ini dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis

pada dua panjang gelombang yaitu 520 dan 700 nm. Pada pH 1, antosianin berada dalam bentuk kation flavilium yang berwarna merah. Menurut Timberlake dan Bridle (1997), pada pH antara 4 – 5 antosianin kehilangan proton sehingga menghasilkan struktur karbinol pseudobase. Pengukuran kadar antosianin dilakukan pada sampel ekstrak buah jamblang yang berwarna ungu kehitam-hitaman sebanyak 2 sampel dengan pengulangan 3 kali. Menurut Leimena (2008), kandungan antosianin pada buah jamblang sangat tergantung pada kepekatan warnanya. Berdasarkan data pengukuran didapatkan kandungan rata-rata antosianin dalam ekstrak kulit buah jamblang adalah $830 \pm 15,2$ mg CyE/L.

Kadar HDL dan LDL Sebelum dan Setelah Pemberian Ekstrak Kulit Buah Jamblang

Pengukuran kadar LDL dan HDL dalam darah tikus wistar pada kelompok pertama dan kelompok kedua sebelum perlakuan dilakukan pada hari ke-36 dengan mengambil darah tikus dari *pleksus retroorbitalis* dan diukur dengan metode presipitasi secara spektrofotometri. Hasil dari pemeriksaan ini merupakan data kadar LDL dan HDL sebelum dilakukan perlakuan yang akan dibandingkan dengan data LDL dan HDL setelah perlakuan.

Kelompok pertama merupakan kontrol negatif yang tidak mendapatkan perlakuan. Sedangkan, kelompok kedua yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol positif (Kontrol positif), kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok perlakuan 3 (P3) dan kelompok perlakuan 4 (P4) sebagai pembanding. Kadar kolesterol-LDL dan HDL serum tikus wistar diambil pada hari ke-56 dan diukur dengan metode presipitasi secara spektrofotometri. Hasilnya ditunjukkan oleh Tabel 2. dibawah ini

Tabel 2. Hasil Pengukuran Rata-rata LDL dan HDL Sebelum dan Setelah Pemberian Ekstrak Kulit Buah Jamblang

Sampel Uji	Sampel Uji	SEBELUM PERLAKUAN		SETELAH PERLAKUAN	
		LDL	HDL	LDL	HDL
Kontrol Negatif	Kontrol negatif	32,52 mg/dl	67,45 mg/dl	32,32 mg/dl	67,42 mg/dl
	Kontrol positif	89,56 mg/dl	46,10 mg/dl	89,57 mg/dl	42,67 mg/dl
Sampel Uji	P1 (23 g / 150 BB)	89,38 mg/dl	46,19 mg/dl	63,67 mg/dl	48,90 mg/dl
	P2 (46 g / 150 BB)	90,28 mg/dl	46,10 mg/dl	55,53 mg/dl	52,44 mg/dl
	P3 (69 g / 150 BB)	92,56 mg/dl	43,92 mg/dl	38,05 mg/dl	59,97 mg/dl
	P4 (0,09 g / 150 BB).	92,33 mg/dl	46,21 mg/dl	38,85 mg/dl	54,63 mg/dl

Diet tinggi lemak adalah faktor yang penting dalam peningkatan konsentrasi LDL kolesterol dan penurunan HDL kolesterol serum (P1, P2,P3, dan P4). Diet tinggi asam lemak jenuh dan kolesterol menyebabkan konsentrasi kolesterol meningkat. Peningkatan ini menyebabkan kadar LDL kolesterol juga meningkat karena LDL kolesterol merupakan lipoprotein pengangkut kolesterol terbesar pada darah manusia. Diet Asam lemak jenuh ganda akan menekan sintesis HDL melalui penurunan kadar apolipoprotein A-1 yang merupakan prekursor untuk pembentukan HDL sehingga menyebabkan penurunan HDL kolesterol serum (Mayes *et al*, 2003)

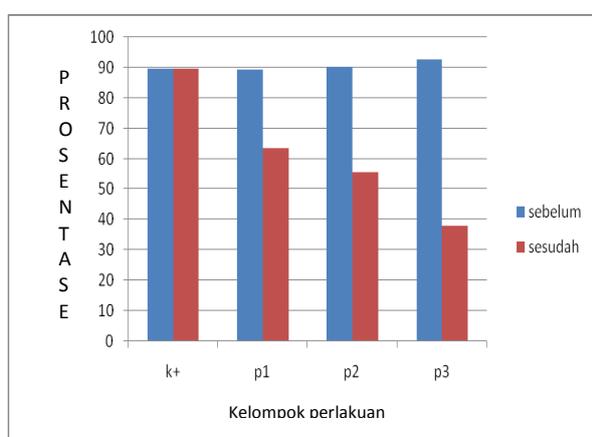
Berdasarkan data Tabel 2, kadar LDL setelah pemberian ekstrak kulit buah jamblang mengalami penurunan dibandingkan sebelum pemberian. Hal ini menunjukkan bahwa antosianin dalam kulit buah jamblang mampu menghambat kerja 3-Hidroksi-3-metilglutaril koenzim A reduktase (HMG Co-A reduktase). Enzim ini mengkatalisis perubahan HMG

Co-A menjadi asam mevalonat yang merupakan langkah awal dari sintesa kolesterol.

Senyawa antosianin yang terdapat dalam ekstrak kulit buah jamblang adalah senyawa yang sangat efektif terhadap penangkap radikal hidroksil dan peroksil, meskipun efisiensinya sebagai penangkap anion superoksida belum jelas. Antosianin juga merupakan senyawa pengkelat logam dan menghambat reaksi Fenton dan Haber-Weiss, yang merupakan reaksi penting yang menghasilkan radikal oksigen aktif. Aktifitas menkelat logam yang ditunjukkan oleh antioksidan (antosianin) menyebabkan gangguan fisiologis bagi enzim HMG-CoA reduktase. Sehingga menyebabkan kegagalan enzim tersebut dalam membentuk mevalonat. Logam sangat diperlukan oleh enzim karena merupakan kofaktor bagi enzim. Enzim yang kehilangan logam akan mengalami gangguan fungsi dan rusak.

Kemampuan menurunkan LDL terbaik ditunjukkan oleh P3 yang diberikan Ekstrak Kulit Buah Jamblang sebanyak 69 g/ 150 BB. Prosentase penurunan kadar LDL dalam darah tikus wistar mencapai

58,93%. Prosentase penurunan kadar LDL yang ditunjukkan P3 sebanding dengan P4 yang diberikan obat paten berupa simvastatin dosis 0,09 g/150 BB dengan prosentase penurunan 57,92. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah jambang dalam konsentrasi 69 g/ 150 BB mampu memberikan efek positif bagi tubuh dalam menurunkan LDL. Perbandingan kadar LDL sebelum pemberian Ekstrak dan setelah pemberian ekstrak dapat dilihat pada Gambar 4 berikut ini.



Gambar 4. Perbandingan kadar LDL sebelum dan setelah perlakuan pada grup kontrol positif (K+) dan grup yang diperlakukan (P1, P2, dan P3).

Gambar diatas menunjukkan perbedaan kemampuan menurunkan LDL dari masing-masing kelompok uji. K+ adalah kelompok kontrol positif yang tidak diberikan perlakuan. Sehingga tidak ada perubahan pada kadar LDL sebelum dan setelah perlakuan. P1 adalah kelompok yang diberikan ekstrak kulit buah jambang sebanyak 23 g/150 BB. Kelompok ini menunjukkan penurunan kadar LDL sebanyak 28,7%. P2 adalah kelompok yang diberikan ekstrak kulit buah jambang sebanyak 46 g/150 BB. Kelompok ini menunjukkan penurunan kadar LDL sebanyak 38,5%. P3 adalah kelompok yang diberikan ekstrak kulit buah jambang sebanyak 69 g/150 BB. Kelompok ini menunjukkan penurunan rata-rata kadar LDL sebanyak 58,93%. P4 adalah

kelompok pembanding yang diberikan simvastatin sebanyak 0,09 gr/BB. Kelompok ini menunjukkan penurunan rata-rata kadar LDL sebanyak 57,92%

Penghambat HMG Co-A reduktase menghambat sintesis kolesterol di hati dan hal ini akan menurunkan kadar LDL plasma. Menurunnya kadar kolesterol akan menimbulkan perubahan-perubahan yang berkaitan dengan potensial antioksidan ini. Kolesterol menekan transkripsi tiga jenis gen yang mengatur sintesis HMG Co-A sintase, HMG Co-A reduktase dan reseptor LDL. Menurunnya sintesis kolesterol oleh penghambat HMG Co-A reduktase akan menghilangkan hambatan ekspresi tiga jenis gen tersebut di atas, sehingga aktivitas sintesis kolesterol meningkat. Hal ini menyebabkan penurunan sintesis kolesterol oleh penghambat HMG Co-A reduktase tidak besar. Antosianin akan melangsungkan efeknya dalam menurunkan kolesterol dengan cara meningkatkan jumlah reseptor LDL, sehingga katabolisme kolesterol terjadi semakin banyak. Dengan demikian maka antosianin dapat menurunkan kadar kolesterol (LDL).

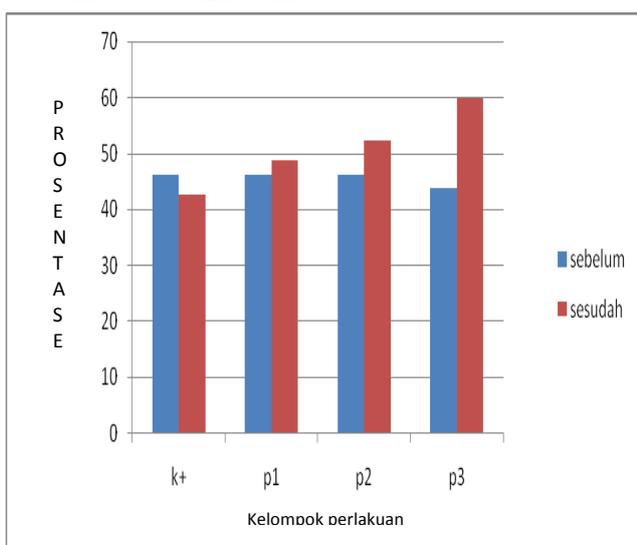
Antosianin menunjukkan suatu afinitas yang tinggi terhadap salah satu ujung aktif dari HMG-CoA reduktase. Antosianin adalah senyawa polar dan membentuk ikatan van der Waals dengan salah satu ujung rantai HMG-CoA reduktase, yang mana merupakan hal umum yang ditemui ada diantara berbagai senyawa-senyawa penurun kolesterol *low density lipoprotein* dalam tubuh. Hal ini menyebabkan antosianin mampu menghambat mekanisme kerja HMG-CoA reduktase dari dalam membentuk mevalonat. Antosianin sama halnya dengan senyawa statin, juga membentuk ikatan polar dengan sekelompok sulfone elektronegatif

Pengujian pengaruh pemberian ekstrak antosianin dalam kulit buah jambang pada tikus wistar yang mengalami hiperkolesterolemia diukur dengan menggunakan *paired samples T-*

Test. Uji ini akan memberikan signifikansi pengaruh pemberian suatu perlakuan.

Nilai korelasi yang didapat adalah 0,936 (semakin mendekati 1). Jika nilai korelasi mendekati 1, maka hubungan semakin kuat. Sehingga hubungan antara sebelum pemberian ekstrak dan setelah pemberian ekstrak sangat kuat. Nilai Signifikansi (sig.) < 0,05, maka terdapat hubungan yang signifikan antara sebelum pemberian ekstrak dan setelah pemberian ekstrak

Kinerja lain yang dapat dilihat dari Gambar 5 adalah kemampuan meningkatkan HDL yang merupakan kolesterol baik sebagai anti-LDL. Terjadi peningkatan kadar HDL pasca pemberian ekstrak kulit buah jamblang. Hal ini memberikan manfaat yang baik dalam menekan LDL dalam darah. Prosentase kenaikan HDL yang ditunjukkan oleh P3 adalah 38,58%. Kemampuan ganda yang dimiliki oleh antosianin dalam menurunkan LDL dan meningkatkan kadar HDL merupakan sisi positif penggunaan ekstrak antosianin dalam kulit buah jamblang sebagai alternatif obat baru dalam pengobatan aterosklerosis ataupun kolesterol tinggi. Perbandingan kadar HDL sebelum pemberian Ekstrak dan setelah pemberian ekstrak dapat dilihat pada Gambar 5 berikut ini.



Gambar 5. Perbandingan Kadar HDL Sebelum Perlakuan dan Setelah Perlakuan

Gambar diatas menunjukkan perbedaan kemampuan meningkatkan HDL dari masing-masing kelompok uji. K+ adalah kelompok kontrol positif yang tidak diberikan perlakuan. Sehingga tidak ada perubahan pada kadar HDL sebelum dan setelah perlakuan. P1 adalah kelompok yang diberikan ekstrak kulit buah jamblang sebanyak 23 g/150 BB. Kelompok ini menunjukkan peningkatan kadar HDL sebanyak 5,9%. P2 adalah kelompok yang diberikan ekstrak kulit buah jamblang sebanyak 46 g/150 BB. Kelompok ini menunjukkan peningkatan kadar HDL sebanyak 13,7 %. P3 adalah kelompok yang diberikan ekstrak kulit buah jamblang sebanyak 69 g/150 BB. Kelompok ini menunjukkan peningkatan kadar HDL sebanyak 38,58%. P4 adalah kelompok pembandingan yang diberikan simvastatin sebanyak 0,09 gr/BB. Kelompok ini menunjukkan peningkatan kadar HDL sebanyak 18,29%

Nilai korelasi 0,923 (semakin mendekati 1). Jika nilai korelasi mendekati 1, maka hubungan semakin kuat. Sehingga hubungan antara sebelum pemberian ekstrak dan setelah pemberian ekstrak sangat kuat. Nilai Signifikansi (sig.) < 0,05, maka terdapat hubungan yang signifikan antara sebelum pemberian ekstrak dan setelah pemberian ekstrak

Perbandingan Efektifitas Simvastatin dan Ekstrak Antosianin Kulit Buah Jamblang

Perbandingan kemampuan menurunkan LDL dan HDL antara simvastatin (0,09 g / 150 BB) dengan ekstrak kulit buah jamblang pada konsentrasi tertinggi (69 g/ 150 BB) dapat dilihat pada Tabel 5 dibawah ini.

Tabel 3. Perbandingan Efektifitas Simvastatin dengan Ekstrak Antosianin Kulit Buah Jamblang dalam Menurunkan LDL dan Menaikkan HDL

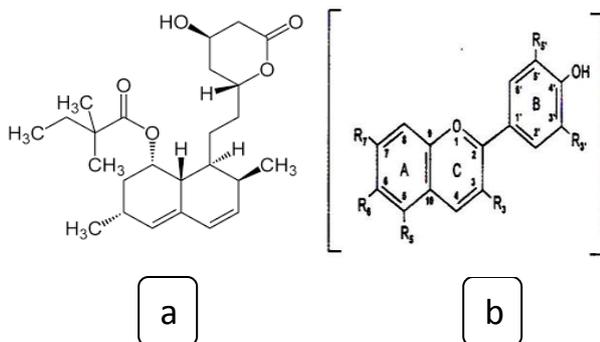
LDL				
NAMA BAHAN	SEBELUM	SESUDAH	PROSENTASE (%)	RATA-RATA (%)
Simvastatin	91,42	36,89	59,64	57,92
	92,34	41,2	55,38	
	92,45	38,76	58,07	
	92,67	35,1	62,12	
	92,78	42,3	54,40	
Ekstrak antosianin kulit buah jamblang	94,2	41,9	55,52	58,93
	93,4	38,75	58,51	
	92,8	43,6	53,01	
	91,3	32,8	64,07	
	91,11	33,2	63,56	
HDL				
NAMA BAHAN	SEBELUM	SESUDAH	PROSENTASE (%)	RATA-RATA (%)
51,2 57,8	13,14		4,24	18,29
	33,17	38,58	12,98	
	45,15	61,2	35,54	
	47,35	59,47	25,59	
	45,25			
Ekstrak antosianin kulit buah jamblang	43,4			38,58
	41,9	61,2	46,6%	
	40,8	62,9	54,16%	
	47,7	56,9	19,28%	
	45,8	64	39,73%	

Berdasarkan Tabel 3, kemampuan ekstrak antosianin kulit buah jamblang dalam menurunkan LDL lebih baik dibandingkan dengan simvastatin. Prosentase penurunan LDL dengan ekstrak antosianin kulit buah jamblang mencapai 58,93%. Kemampuan Anti-LDL yang dimiliki ekstrak kulit buah jamblang diimbangi dengan peningkatan jumlah HDL, yang merupakan kolesterol yang berfungsi menekan jumlah LDL. Pengukuran prosentase efektifitas ekstrak antosianin menggunakan konsentrasi tertinggi yaitu 69 g/150 BB.

Pengukuran perbedaan kemampuan penurunan LDL oleh simvastatin dan ekstrak antosianin kulit buah jamblang

menggunakan *Independent samples T-test*. Pengujian menggunakan tingkat signifikansi 0,05. Uji levene's dapat dilihat pada nilai F dan signifikansi. Diketahui nilai F sebesar 2.464 dengan signifikansi 0,115, oleh karena signifikansi lebih besar dari 0,05 maka disimpulkan varian data adalah sama. Pengambilan keputusan uji independent sample t-test dilihat pada nilai t dan signifikansi *equal variances assumed*. Nilai t adalah 0,311 dengan signifikansi 0,003. Nilai signifikansi

kurang dari 0,05, maka kesimpulannya ada perbedaan kemampuan menurunkan LDL dari simvastatin dan ekstrak antosianin kulit buah jamblang pada konsentrasi 69 g/150 BB. Gambar 5.5 akan menunjukkan struktur molekul dari antosianin dan simvastatin



Gambar 6. Perbedaan struktur molekul antara Simvastatin (a) dan Antosianin (b).

Efektifitas Antosianin dalam Kulit Buah Jamblang Sebagai Penurun LDL dan Peningkat HDL

Efektifitas berasal dari kata efektif yang mengandung pengertian dicapainya keberhasilan dalam mencapai tujuan yang telah ditetapkan. Efektifitas selalu terkait dengan hubungan antara hasil yang diharapkan dengan hasil yang telah dicapai. Efektifitas dapat dilihat dari berbagai sudut pandang dan dapat dinilai dengan berbagai cara dan mempunyai kaitan yang erat dengan efisiensi (Etzioni, 1985).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui jumlah total antosianin dalam kulit buah jamblang serta efektifitas antosianin kulit buah jamblang sebagai penurun *low density lipoprotein* (LDL) pada tikus galur wistar yang mengalami hiperkolesterolemia. Selain itu, juga mengetahui kemampuan antosianin dalam kulit buah jamblang sebagai peningkat *High Density Lipoprotein* (HDL) pada tikus galur wistar yang mengalami hiperkolesterolemia.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah jamblang yang

mengandung antosianin mampu menurunkan kadar LDL dalam darah tikus wistar yang mengalami hiperkolesterolemia dengan prosentase mencapai 58,93%. Disamping itu, ekstrak kulit buah jamblang juga mampu meningkatkan kadar HDL dalam darah tikus wistar dengan prosentase kenaikan mencapai 38,58%.

4. SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan data yang diperoleh jenis antosianin yang terdapat dalam ekstrak kulit buah jamblang diduga merupakan jenis petunidin-3-rhamnosa (Rf 0,40) dan sianidin-3-soporosa (Rf 0,33). Kandungan antosianin total kulit buah jamblang adalah $830 \pm 15,2$ mg CyE/L. Antosianin kulit buah jamblang dapat menurunkan *low density lipoprotein* (LDL) pada tikus galur wistar yang mengalami hiperkolesterolemia, dengan penurunan terbaik pada P3 yaitu sebesar 54,5% untuk pemberian ekstrak sebanyak 69 g/150 BB. Antosianin kulit buah jamblang juga dapat menaikkan *high density lipoprotein* (HDL) setelah pemberian ekstrak antosianin dari buah jamblang pada tikus galur wistar yang mengalami hiperkolesterolemia, dengan peningkatan terbaik ditunjukkan P3 yaitu sebesar 16,6%

Buah jamblang dalam penelitian ini terbukti sebagai antikolesterol terutama *low density lipoprotein* (LDL). Hal ini tentunya akan meningkatkan harga dan efek positif buah lokal terutama jamblang sebagai salah satu komoditi yang patut dilestarikan, dibudidayakan, dan dimanfaatkan sebagai obat alami. Perlu penelitian lanjutan untuk memisahkan dan memurnikan antosianin serta identifikasi senyawa aktif dalam buah jamblang. Serta pengujian lanjutan keamanan konsumsi dari ekstrak kulit buah jamblang (LD_{50}).

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

- [1] Awika J.M., Lloyd W. R., dan Ralph D. W. 2004. *Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. Food Chemistry* 90:293–301.
- [2] Azwar, A., 2004. *Tubuh Sehat Ideal Dari Segi Kesehatan*. Depok; Pada Seminar Kesehatan Obesitas, Senat Mahasiswa Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia, Sabtu 15 Februari 2004. Direktorat Jenderal Bina Kesehatan Masyarakat, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [3] Bassa, I. A. dan Francis, F.J., 1987. *Stability of Anthocyanins from Sweet Potatoes in a Model Beverage. J. Food Science*, 52 (6): 1753-1754.
- [4] Bennion, M., 1980. *The Science of Food*. Wiley and Sons Co., New York.
- [5] Bridle, P. Timberlake, C.F., 1997. *Food Chemistry*. Volume 58. Number 1. Elsevier.
- [6] Bull, E. dan Morell, J., 2007, *Kolesterol*, Erlangga, Jakarta, hal. 26-28, 45-46.
- [7] Bobbio, F.O., P.A. Bobbio, dan Stringheta, P.C., 1992. *Di dalam Bridle, P. dan Timberlake, C.F. Anthocyanin as Natural Food colours – Selected Aspects. Food Chemistry*. Vol. 58
- [8] Bravo L (1998). *Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. Nutr Rev.*, 56: 317-333.
- [9] Brouillard, R., 1982. *Chemical Structure of Anthocyanin. Di dalam P. Markakis (ed). Anthocyanin as Food Colors. Academic Press, New York*.
- [10] Dachriyanus., Katrin, Oria Delpa., Oktarina, Rika., Ernas, Olvia., Suhatri., Mukhtar, Husni., 2007. *Uji Efek A-Mangostan terhadap kadar kolesterol total, trigliserida, HDL, LDL darah mencit putih jantan serta penentuan Lethal Dosis 50*, MIPA Andalas
- [11] Delvin, M. T., 1992. *Textbook of Biochemistry , with Clinical Correlation* . New York: Willey-Liss
- [12] Elbe, J.H.V. dan Schwarts, S.J., 1996. *Colorants. Di dalam O.R. Fennema (ed). Food Chemistry Third Edition*. Marcel Dekker Inc, New York.
- [13] Espada, A.C.M, K.V. Wood, B. Bordelon, dan Watkins, B.A., 2004. *Anthocyanin Quantification and Radical Scavenging Capacity of Concord, Norton, and Marechal Foch Grapes and Wines. J. Agric. Food Chem* 52: 6779-6786.
- [14] Etzioni, A., 1985. *Organisasi-Organisasi Modern*. UI Press Pustaka Bradjaguna: Jakarta.
- [15] Francis, F.J., 1982. *Analysis of Anthocyanins. Di dalam P. Markakis (ed). Anthocyanins as Food Colors. Academic Press, New York*.
- [16] Francis, F.J., 2000. *Anthocyanins and Betalains: Composition and Application. Cereal Foods World* 45 (5): 208-213.
- [17] Galindo A.O., Pedro W. E., Ronald E. W., Luis R. S., dan Alvaro A. J., 1999. *Purification and Identification of Capulin (Prunus setotina Ehrh) Anthocyanins. Food Chemistry* 65: 201-206.
- [18] Gritter R.J., Bobbitt J.M., dan Schwarting A.E., 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Penerjemah: Kosasi Padmawinata. Penerbit ITB, Bandung.
- [19] Guyton, A.C. and Hall, J.E., 2006. *Textbook of Medical Physiology*.

- 11th ed. Philadelphia, A, USA: Elsevier Saunders.
- [20] Herawati, E.R. N., 2013. *Pengaruh Konsumsi Ekstrak Antosianin Ubi Jalar Ungu terhadap Glukosa Darah, Antioksidan Darah, dan Gambaran Histopatologis Pankreas Tikus Hiperglikemia Induksi Aloksan*. UGM. Yogyakarta
- [21] Harborne J. B. dan Grayer R. J., 1988. *The Anthocyanins*. Di dalam J. B. Harborne (ed). *The Flavonoids*. Chapman and Hall, London.
- [22] Harborne, J.B., 1967. *Comparative Biochemistry of The Flavonoids*. Academic Press, London.
- [23] Harborne, J.B., 1987. *Metode Fitokimia*, terjemahan K. Radmawinata dan I. Soediso, penerbit ITB, Bandung, 69-94, 142- 158, 234-238. 11. Buckingham. J., *et al* (eds), "Dictionary of Natural Product", Chapman and Hall, London, 1352, 3863, 4453.
- [24] Harper, H.A., 1980. *Review of Physiological Chemistry*, diterjemahkan oleh Martin Muliawan. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- [25] Hrazdina, G., 1970. *Column Chromatography Isolation of The Anthocyanidin-3,5- diglucoside from Grapes*. *J. Agric. Food. Chem.*, 18 (2): 243 – 245.
- [26] Jackman R. L. dan Smith J.L., 1996. *Anthocyanins and Betalains*. Di dalam Hendry. G. A. P dan J. D. Houghton (eds). *Natural Food Colorants*, Second Edition. Chapman and Hall, London.
- [27] Kimball, J.W., 1993. *Biologi*. Terjemahan. Penerbit Erlangga, Jakarta
- [28] Leimena, B. B., 2008. *Karakterisasi dan Purifikasi Antosianin Pada Buah Duwet*. IPB. Bogor
- [29] Lewis, C.E., Walker, J.R.L., dan Lancaster, J.E., 1997. Di dalam Bridle, P. dan Timberlake, C.F. *Anthocyanin as Natural Food colours – Selected Aspects*. *Food Chemistry*. Vol. 58, pp 103 – 109.
- [30] Linder, C. Maria., 1985. *Nutritional Biochemistry and Metabolism*. With Clinical Application. New york: Elsevier.
- [31] Lohachoompol, V., Srzednicki, G., dan Craske, J., 2004. *The Change of Total Anthocyanins in Blueberries and Their Antioxidant Effect After Drying and Freezing*. *J Biomed Biotechnol* (5): 248–252.
- [32] Mason, F., and Junge, C., 2008. *Kolesterol Rendah Jantung Sehat*. Terjemahan. Penerbit PT Bhuana Ilmu Populer. Jakarta
- [33] Markakis, P., 1982. *Anthocyanins as Food Additives*. Di dalam P. Markakis (ed). *Anthocyanins as Food Colors*. Academic Press, New York.
- [34] Markham, K.R., 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Terjemahan. Penerbit ITB, Bandung.
- [35] Mathews, K. C., dan Holde, V.G., 1991. *Biochemistry*. New York: The Benjamin/Cummings Company.
- [36] Mayes, P.A., Rodwell, V. W., Granner, D, K., and Murray, R.K., 2003, *Biokimia Harper*, Cetakan I, Edisi XXV, EGC, Jakarta, hal. 270-290.
- [37] Morton, J., 1978. *Jambolan*. Di dalam: Julia F. Morton, Miami, FL. *Fruits of warm climates*. <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/jambolan.html> (12 Desember 2006).
- [38] Murray.R.K., Granner, and Rodwell., 2003. *Biokimia Harper*. Penerjemah: Andry Hartono. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- [39] Nur, M. A. dan Adijuwana, H.,

1989. *Teknik Pemisahan dalam Analisis Biologis*. PAU Ilmu Hayat. IPB, Bogor.
- [40] Pietta, P.G., 2000. *Flavonoids as antioxidants*. J. Nat. Prod. 63, 1035–1042.
- [41] Robinson, T., 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan. Penerbit ITB, Bandung.
- [42] Rounds, M. A. dan S.S. Nielsen., 1998. *Basic Principles of Chromatography*. Di dalam S. S. Nielsen (ed). Food Analysis Second Edition. Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York.
- [43] Sacher, R.A., dan McPherson, R.A., 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. EGC. Jakarta
- [44] Safitri, D. E., 2012. *Stabilitas Antosianin dan Aktivitas Antioksidan pada Minuman Sari Buah Duwet*. IPB. Bogor.
- [45] Saija., 1994. Di dalam Bridle, P. dan Timberlake, C.F. *Anthocyanin as Natural Food colours – Selected Aspects*. Food Chemistry. Vol. 58, pp 103 – 109.
- [46] Sargowo, D., 2005. *Peran Lipid dan Oksidasi Lipoprotein pada Patogenesis Aterosklerosis*. Universitas Brawijaya. Malang
- [47] Septiryan., 2012, *Simvastatin*, <http://septiryan.wordpress.com/2012/10/08/simvastatin/> diakses pada Sabtu, 1 Maret 2014
- [48] Strack, D. dan Wray V., 1993. *The anthocyanins*. Di dalam J. B. Harborne (ed). *The Flavonoids: Advances in Research since 1986*. Chapman and Hall, London.
- [49] Sunaryo, H., Ediyanto S.P., Djatmiko W., dan Fuad A., 1985. *Pengaruh Pemberian Kurkuminoid Curcuma Domestica val terhadap Kadar Kolesterol HDL Serum Tikus Putih*. Simposium Temulawak.
- [50] Swain, T., 1976. *Nature and Properties of Flavonoid*. Di dalam T.W. Goodwin (ed). Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. Academic Press, London.
- [51] Teeling, C.G.V., Cansfield P.E., dan Gallop R.A., 1971. *An Anthocyanin Complex Isolated From The Syrup of Canned Blueberries*. J. Food Sci 36: 1061-1063.
- [52] Terahara, N., Honda T., Hayashi M., dan Ishimaru K., 2000. *New Anthocyanins from Purple Pods of Pea (Pisum spp.)*. J. Biosci. Biotechnol. Biochem 64 (12) : 2569-2574.
- [53] Timberlake, C. F. dan Bridle P., 1997. *The Anthocyanins*. Di dalam J. B. Harborne (ed). The Flavonoid. Chapman and Hall, London.
- [54] Timberlake, C.F. dan Bridle P., 1983. *Anthocyanins*. Di dalam J. Walford (ed). *Developments in Food Colours*. Applied Science Publishers LTD, London.
- [55] Tranggono., 1990. *Bahan Tambahan Pangan (Food Additives)*. PAU Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- [56] Verheij, E.W.M. dan Coronel R.E., 1997. *Prosea*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- [57] Widowati., 2007. *Peran Antioksidan sebagai Agen Hipokolesterolemia, Pencegah Oksidasi Lipid dan Aterosklerosis*. Majalah Kedokteran Damianus vol. 6 no. 3 (Sep. 2007)
- [58] Widyawati, A., 2014. *Penentuan Aktivitas Antioksidan Sirup Kulit Buah Manggis (Garcinia Mangostana L.) Yang Diolah Melalui Variasi Suhu Pemanasan*. Universitas Pendidikan Indonesia . Jakarta
- [60] Winarno, F. G., 1997. *Kimia pangan dan Gizi*. PT Gramedia, Jakarta.