

PENGARUH LAMA PEREBUSAN DAUN YAKON (*Smallanthus sonchifolia*) TERHADAP KADAR KOLESTEROL MENCIT (*Mus musculus*)

THE INFLUENCE OF BOILING TIME YACON LEAVES (*Smallanthus sonchifolia*) AGAINST BLOOD CHOLESTEROL LEVELS OF *Mus musculus*

Rizya Fitrotun Nisa.* dan Leny Yuanita

Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya, Jl. Ketintang, Surabaya, 60231

*e-mail: rizyafitri1994@gmail.com

Abstrak. Telah dilakukan penelitian untuk menentukan pengaruh lama perebusan daun yakon (*Smallanthus sonchifolia*) terhadap penurunan kolesterol mencit (*Mus musculus*). Penelitian ini menggunakan metode spektroskopi UV-Vis dengan reagen $Pb(CH_3COO)_2 \cdot PbO \cdot 3H_2O$ untuk menentukan Kadar asam klorogenat pada daun yakon. Uji aktifitas dilakukan secara in vivo melalui mencit yang dibuat hiperlipidemia, sedangkan uji kadar kolesterol dilakukan dengan metode CHOD-PAP sehingga diketahui nilai penurunan kolesterol total darah mencit. Semakin lama perebusan, kadar asam klorogenat yang larut dalam air semakin banyak, hal ini dibuktikan dengan ujikuantitatif menggunakan spektroskopi UV-Vis dengan λ 324 nm. Semakin banyak asam klorogenat dalam larutan uji yang diinduksikan pada mencit hiperkolesterol menyebabkan nilai penurunan kolesterol semakin besar. Hal ini disebabkan karena asam klorogenat menghambat enzim HMG-KoA reduktase sehingga pembentukan mevalonat dan sintesis kolesterol menjadi berkurang.

Kata-kata kunci: *Smallanthus sonchifolia*, asam klorogenat, lama perebusan, kadar kolesterol

Abstract. Research was conducted to determine the effects of long boiling the leaves yakon (*Smallanthus sonchifolia*) to decrease cholesterol mice (*Mus musculus*). This study uses the UV-Vis spectroscopy method with reagent $Pb(CH_3COO)_2 \cdot PbO \cdot 3H_2O$ to determine the levels of chlorogenic acid in the leaves yakon. Test carried out in vivo activity in mice created through hyperlipidemia, while cholesterol tests conducted by CHOD-PAP method that is known the value decrease blood total cholesterol in mice. The longer boiling, the levels of chlorogenic acid which dissolves in water more and more, this is evidenced by quantitative assay using a UV-Vis spectroscopy with λ 324 nm. More and more of chlorogenic acid in a test solution which is induced in mice with hypercholesterol cause the value of the greater cholesterol reduction. This is due to chlorogenic acid inhibits the enzyme HMG-CoA reductase so that the formation of mevalonate and cholesterol synthesis is reduced.

Keywords: *Smallanthus sonchifolia*, chlorogenic acid, long boiling, cholesterol levels

Universitas Negeri Surabaya

PENDAHULUAN

Peningkatan kesadaran masyarakat akan pentingnya hidup sehat telah menyebabkan pergeseran tuntutan konsumen terhadap bahan pangan. Bahan pangan banyak diminati konsumen bukan saja yang memiliki komposisi gizi baik serta penampakan dan cita rasa yang menarik, tetapi juga mempunyai fungsi fisiologis tertentu bagi tubuh [2]. Oleh sebab itu lahirlah konsep pangan fungsional, seperti antibiotik, anti kanker, antimikroba, dan lain sebagainya..

Yakon merupakan tanaman dari pegunungan Andes yang awalnya kurang dimanfaatkan dan sering diabaikan penduduk lokal, namun minat dari tanaman tersebut meningkat beberapa tahun terakhir, karena tanaman yakon dapat diolah menjadi berbagai produk yang kaya manfaat seperti selai dan teh. Daun yakon mengandung senyawa asam klorogenat sebanyak 779 mg/kg [18]. Konsumsi pangan yang mengandung asam klorogenat diketahui baik untuk kesehatan.

Asam klorogenat merupakan ester turunan senyawa fenolik yang terbentuk dari asam kafeat dan asam kuintat yang mengalami dehidrogenasi. Asam klorogenat memiliki titik leleh sebesar 206 – 210°C. selain itu asam klorogenat yang dipanaskan pada suhu 250-750°C mengalami pirolisis sebanyak 30 mg [17].

Asam klorogenat adalah senyawa golongan fenil propanoid yang tersebar luas di berbagai bagian dari banyak tumbuhan dan biasanya terdapat dalam jumlah yang mudah dilacak. Asam klorogenat efektif menghilangkan radikal bebas, membantu sistem kardiovaskuler dimana perannya dalam memperlancar aliran darah ke jantung, anti hipertensi, serta anti kolesterol [6].

Kolesterol adalah salah satu senyawa steroid. Kolesterol merupakan jenis lipida yang memiliki fungsi sebagai komponen pembentuk membran, serta komponen penyusun hoKolesterol dalam tubuh disintesis dalam hati. Kolesterol ditransfer ke seluruh tubuh dengan bantuan protein yang dikemas sebagai lipoprotein. Jenis-jenis kolesterol diantaranya

adalah Very Low Density Lipoprotei (VLDL), Low Density Lipoprotein (LDL), dan High Density Lipoprotein (HDL). Kadar kolesterol normal adalah 160 mg/dL – 200 mg/dL [15].

Kelebihan kolesterol menyebabkan penyempitan pembuluh darah. Apabila darah sukar diedarkan dapat menyebabkan terjangkitnya penyakit jantung koroner dan hiperkolesterolemia. Semakin banyak kolesterol yang terbentuk, produksi LDL dalam tubuh akan meningkat dan menyebabkan darah sukar mengangkut LDL ke seluruh tubuh, sehingga kolesterol tersebut menempel pada dinding pembuluh darah, yang kemudian akan menjadi plak dan membuat darah sukar mengalir melewati pembuluh darah tersebut. Berbeda dengan LDL, meningkatnya kadar HDL dalam tubuh justru menguntungkan karena HDL membantu mengangkut kelebihan LDL pada arteri dan dikembalikan ke hati untuk didaur ulang menjadi VLDL [8].

HMG-KoA reduktase merupakan enzim utama dalam sintesis kolesterol. Apabila enzim tersebut di inhibisi maka kadar kolesterol total, LDL kolesterol dan kadar trigliserida akan menurun [13,14]. Asam klorogenat dapat menurunkan kadar LDL dengan cara menghambat lipolisis trigliserida [16]. Asam klorogenat akan berperan dengan menghambat enzim HMG-KoA reduktase sehingga tidak dapat mengkatalisis pembentukan mevalonat yang selanjutnya akan disintesis menjadi kolesterol.

Penelitian ini dilakukan secara in vivo menggunakan mencit (*Mus musculus*) karena memiliki beberapa keunggulan [11] yaitu merupakan hewan mamalia dan gen mencit relatif mirip dengan manusia. Selain itu, badan mencit yang kecil sehingga mudah dipelihara. Mencit jantan dipilih untuk penelitian karena tidak memiliki daur menstruasi sehingga perubahan metabolisme dalam tubuh tidak terlalu fluktuatif.

Mengingat variasi lama perebusan daun yakon sebagai penurun kolesterol darah total belum pernah dilaporkan, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengaruh

lama perebusan daun yakon terhadap penurunan kolesterol.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Kurva Standart

Sebanyak 40 mg asam klorogenat standart kering ditimbang dan dimasukkan dalam labu ukur 500 mL, larutkan dan encerkan dengan H₂O. siapkan serangkaian larutan standart dengan memasukkan 5,10,15,dan 20 mL aliquot ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan. Tentukan nilai absorbansi pada panjang gelombang 324 nm dari setiap larutan terhadap blanko H₂O. Konsentrasi asam klorogenat diplotkan dalam mg/mL terhadap nilai absorbansi [1].

Persiapan Sampel

Daun yakon kering yang dibeli dari Wonosobo, Jawa Tengah direbus dengan lama perebusan masing-masing untuk kelompok pertama, kedua, dan ketiga yaitu 5, 10, dan 15 menit. Daun yakon bekas rebusan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Timbang 0,7 gram daun yakon yang telah dikeringkan, masukkan dalam tabung sentrifuse 50 mL. Tambahkan 25 mL petroleum eter, aduk rata, sentrifuse, dan pisahkan air dan endapannya. Ulangi langkah tersebut sebanyak dua kali. Residu dikeringkan pada suhu ruang sampai tidak berbau. Kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 750 mL dengan sedikit mungkin air. Ditaambahkan 400 mL air mendidih, panaskan kembali secepatnya sampai mendidih dan teruskan selama 15 menit, kemudian dinginkan di bawah keran air pada suhu ruang. Selama merebus, larutan di aduk secara teratur untuk menjaga yakon tetap tenggelam pada larutan. Larutan dipindahkan ke labu ukur 500 mL dan encerkan. Saring menggunakan kertas saring whatman, buang 25-50 mL filtrat pertama. Jika filtrat masih keruh, lakukan filtrasi lagi menggunakan kolom Buchner [1].

Penentuan Kadar Asam Klorogenat

Filtrate yang didapat sebelumnya sebanyak 10 mL dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan H₂O. Selanjutnya diambil dan dipindahkan 100 mL larutan uji ke dalam labu ukur pyrex 200 mL.

Ditambahkan 2 mL larutan KCH₃COO jenuh dan 10 mL larutan (CH₃COO)₂Pb sambil di aduk. Tempatkan labu di *waterbath* panas berisi H₂O selama 5 menit sambil sesekali diaduk. Dinginkan dibawah kran dan tempatkan di *waterbath* berisi air dan es. Diaduk secara mekanik selama 1 jam menggunakan spatula kaca. Selanjutnya biarkan menghangat sampai suhu ruang dan encerkan dengan H₂O. Kemudian disaring menggunakan kertas saring whatman, dibuang 25-50 mL filtrat pertama. Setelah itu diukur Absorbansinya pada 324 nm dan dibandingkan dengan kurva asam klorogenat standart [1].

Pemberian Pakan Uji Kepada Hewan Coba

Hewan coba sebelumnya dibuat hiperkolesterol dengan cara diberi cairan kuning telur. Kuning telur ayam ternak (ayam petelur) diencerkan hingga 50 mL dalam labu ukur. Disuntikkan pada hewan coba sebanyak 1 mL. Selanjutnya 0,5 mL rebusan daun yakon dengan variasi lama perebusan diberikan pada hewan coba setiap hari selama 14 hari [6].

Penentuan Kadar Kolesterol Darah

Hewan coba dibedah setelah perlakuan selaa 50 hari diambil darah melalui ekor. Semua darah diambil 10 µL kemudian tambahkan reagen CHOD-PAP 1 ml, vortex dan diamkan selama 10 menit. Aktivitas serumnya diukur menggunakan microlab 200 pada panjang gelombang 505 nm. Blanko dan standar diukur sebelum mengukur sampel. Blanko dibuat dengan menggunakan aquadest dan standart menggunakan larutan standart sebagai pengganti larutan serum darah. Pada pengukuran aktivitas maka akan diketahui kadar glukosa dalam serum darah tikus [3].

Teknik Analisis Data

Data yang sudah terkumpul dari selanjutnya dianalisis menggunakan program SPSS. Data tersebut diolah secara statistik dimana pertama-tama dilakukan uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov Smirnov dan Shapiro Wilk, sedangkan uji homogenitas menggunakan uji Lilliefors. Jika kedua data memenuhi kenormalitasan dan homogenitas maka digunakan uji statistik parametrik

menggunakan ANAVA satu jalur (*One Way Anava*). Jika kedua data tidak memenuhi kenormalitasan dan homogenitas maka digunakan uji statistik non parametrik menggunakan uji Kruskall Wallish.

HASIL DAN PEMBAHASAN

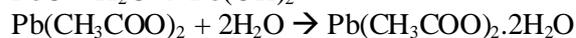
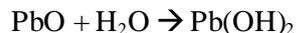
Hasil Penentuan Kadar Asam Klorogenat

Daun yakon kering dibagi menjadi 4 kelompok yaitu LP 0 menit, LP 5 menit, LP 10 menit, LP 15 menit, dengan berat masing-masing 2 gram. Perebusan dilakukan pada waterbath dengan suhu 100°. daun yang telah direbus dengan masing-masing lama perebusan di saring, sehingga didapatkan residu dan filtratnya. Residu hasil perebusan didinginkan dengan cara di angin-anginkan. Setelah cukup kering daun diambil 0,7 gram dan dimasukkan dalam tabung centrifuge dengan ditambahkan petroleum eter sebanyak 25 mL.

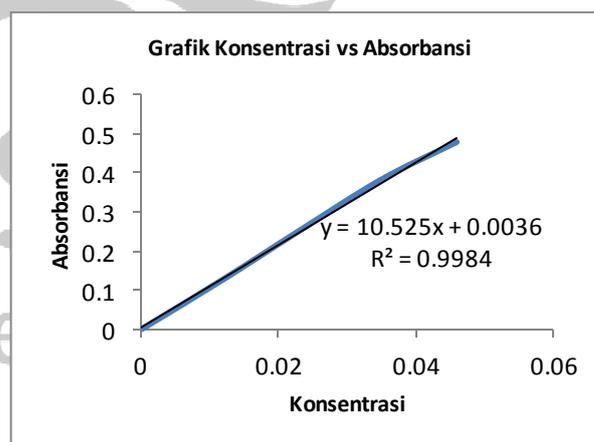
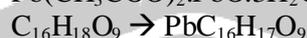
Daun yakon kering yang telah ditambahkan PE di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, sehingga didapatkan larutan PE berwarna hijau jernih kecoklatan, namun warna yang dihasilkan berbeda pada tiap sampel. Pada LP 0 menit dihasilkan hijau jernih kecoklatan (++++), LP 5 menit dihasilkan hijau jernih kecoklatan (+++), LP 10 menit dihasilkan hijau jernih kecoklatan (++) , dan LP 15 menit dihasilkan hijau jernih kecoklatan (+). Perbedaan intensitas warna yang dihasilkan pada masing-masing kelompok disebabkan karena asam klorogenat yang terkandung dalam daun yakon telah berkurang akibat perebusan. Residu daun yakon yang telah kering dimasukkan dalam erlenmyer 750 mL. Tambahkan 400 mL air mendidih, dipanaskan selama 15 menit, kemudian didinginkan dalam bak berisi air dingin pada suhu ruang. Selanjutnya campuran tersebut disaring, sehingga terpisah residu dan filtratnya berwarna sedikit kecoklatan.

Selanjutnya tahap kedua adalah penentuan kadar asam klorogenat. Mula-mula buat reagen timbal oksida (PbO) dengan menimbang 40 gram PbO dan di tanur pada suhu 650° selama 3 jam. Hal ini bertujuan untuk mengaktivasi PbO. Hasil dari PbO yang ditanur adalah warna serbuk PbO yang semula orange berubah menjadi kuning lemon. Selanjutnya PbO teraktivasi dimasukkan dalam labu dasar bulat yang telah dirangkai pada reflux kondensor bersama 80 gram Pb asetat

berupa serbuk putih dan 250 gram H₂O. Didapatkan kondensat berupa larutan jernih sedikit keruh yang terbentuk dari reaksi sebagai berikut:



Sebanyak 10 mL reagen diatas dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan H₂O untuk memperkecil konsentrasi, kemudian pindahkan 100 mL larutan uji pada labu ukur pyrex 200 mL dan tambahkan 2 mL larutan jenuh KCH₃COO. Selanjutnya ditambahkan 10 mL reagen yang telah diencerkan, larutan berubah menjadi putih keruh. Hal ini disebabkan karena timbale akan bereaksi dengan asam klorogenat menjadi endapan timbal klorogenat berwarna putih keruh, dilanjutkan dengan meletakkan labu ukur tersebut dalam waterbath berisi air hangat selama 5 menit supaya reaksi berjalan sempurna. Dinginkan labu ukur pada bak berisi air dingin untuk menurunkan suhu hingga mencapai suhu ruang, kemudian saring. Didapatkan filtrat berupa larutan jernih yang kemudian diukur pada spektrofotometer UV-Vis dengan λ 324 nm dan residu berwarna putih keruh. Reaksi endapan timbal klorogenat sebagai berikut:



Gambar 3.1. Grafik Hubungan Konsentrasi vs Absorbansi Asam Klorogenat Standart

Tabel 3.1. Konsentrasi dan Kadar Asam Klorogenat

Perlakuan	Konsentrasi asam klorogenat (M)
LP 0 menit	0,0186
	0,0188
	0,0186
LP 5 menit	0,0194
	0,0193
	0,0196
LP 10 menit	0,0203
	0,0203
	0,0204
LP 15 menit	0,0248
	0,0250
	0,0250

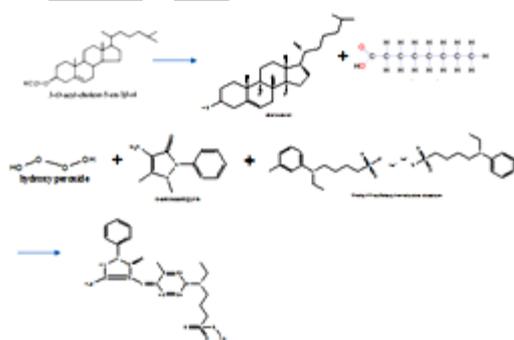
Hasil Penentuan Kadar Kolesterol Darah

Hewan coba sebelumnya diadaptasi dalam kandang yang diberi sekam selama 7 hari dan dicek kolesterol darah awal menggunakan alat Easy Touch, mencit ini dikelompokkan menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, kelompok 5 menit perebusan, kelompok 10 menit perebusan, kelompok 15 menit perebusan. Selanjutnya mencit dibuat hiperkolesterol dengan cara diberi kuning telur bebek selama 14 hari.

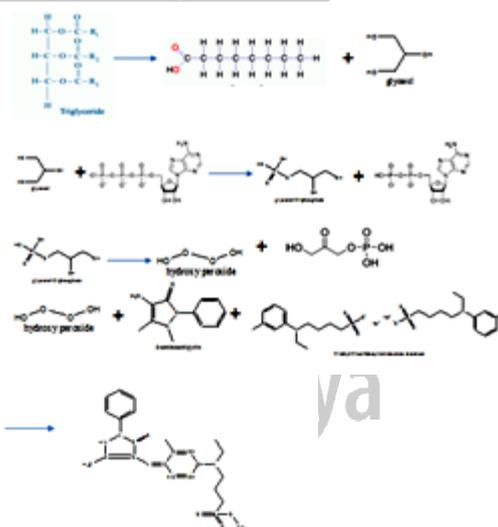
Mencit diberi rebusan daun yakon yang divariasikan waktu perebusannya. Semakin lama waktu perebusan daun yakon menyebabkan semakin banyak asam klorogenat yang larut dalam air [4], sehingga sediaan asam klorogenat pada rebusan daun yakon semakin banyak. Air rebusan daun yakon diberikan melalui oral dengan cara disonde sebanyak 0,5 mL/hari selama 14 hari. Sementara itu, kelompok kontrol positif diberi cholestymin melalui oral dengan cara disonde sebanyak 0,5 mL/hari selama 14 hari. Cholestymin adalah obat penurun kolesterol yang mengandung senyawa lovastatin. Ketika lovastatin hadir dalam bentuk asam hidroksi terbuka dengan konsentrasi lebih dari konsentrasi substrat (HMG KoA) maka HMG KoA reduktase akan

lebih cenderung berikatan dengan lovastatin sehingga jumlah dan frekuensi sintesis kolesterol tereduksi [9], sedangkan kelompok kontrol negatif hanya diberi aquadest.

Setelah 14 hari, mencit dibedah dengan cara dibius terlebih dahulu menggunakan kloroform, setelah pingsan, mencit dibedah dan diambil darah bagian jantung sebanyak 1 mL. Darah mencit selanjutnya dipindahkan ke dalam tabung ependorf untuk disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit, supaya terpisah antara plasma darah dan serumnya. Total kolesterol darah ditentukan dengan mengukur absorbansi senyawa yang dihasilkan tersebut. Berikut adalah reaksi penentuan kadar kolesterol total darah.



Selain itu, serum darah juga digunakan untuk mengukur kadar trigliserida dengan mengukur absorbansi senyawa yang dihasilkan tersebut. Berikut adalah persamaan reaksi penentuan kadar trigliserida.



Tabel 3.2. Nilai Rata-Rata Kadar Kolesterol dan Trigliserida Mencit

Nama Kelompok	Kadar Kolesterol Awal (mg/dL)	Kadar Kolesterol Setelah diinduksi Kuning Telur Bebek (mg/dL)	Kadar Kolesterol Akhir (mg/dL)	Kadar Trigliserida (mg/dL)
Kontrol positif	59,8	164,4	95,8	62,4
Kontrol negatif	72,4	186,2	130,0	103,8
LP 5 menit	63,0	159,6	120,2	67,6
LP 10 menit	52,2	172,8	114,0	89,6
LP 15 menit	51,0	167,2	94,6	117,6

Berdasarkan data diatas dapat diketahui bahwa penurunan kolestrol pada kelompok kontrol positif cukup besar dan stabil, hal ini karena perlakuan yang diberikan adalah pemberian obat cholvastatin, dimana obat tersebut mengandung lovastatin yaitu senyawa yang dapat menghambat kerja enzim HMG-CoA reduktase untuk membentuk mevalonat. Pada kelompok perlakuan LP 5 menit, LP 10 menit, dan LP 15 menit terlihat bahwa penurunan kolesterol semakin besar. Hal ini disebabkan karena asam klorogenat yang terdapat dalam daun yakon larut dalam air saat proses perebusan, semakin besar suhu maka semakin besar kelarutan asam klorogenat, dan semakin lama perebusan, maka semakin banyak asam klorogenat yang terdapat dalam air rebusannya, sehingga ketika diberikan kepada mencit, asam klorogenat akan masuk dalam biosintesis kolesterol dan menghambat kerja enzim HMG-koA reduktase atau dapat disebut HMG-koA reduktase inhibitor. Akibatnya pembentukan mevalonat akan terhambat, dan kolesterol yang dihasilkan akan berkurang, sehingga dalam jangka waktu tertentu, kadar kolesterol darah akan mengalami penurunan. Semakin banyak kadar asam klorogenat yang terdapat dalam air rebusan daun yakon yang diberikan kepada mencit, menyebabkan semakin banyak pula kerja enzim HMG-koA reduktase yang dihambat olehnya, sehingga mevalonat tidak akan terbentuk.

Pada kelompok kontrol negatif yang hanya diberi aquadest mengalami penurunan kolesterol, hal ini dikarenakan adanya serat dan vitamin dalam pakan standart yang digunakan. Kolesterol dan trigliserida mengalami penurunan dengan cara pengikatan asam lemak serta kolesterol dalam bentuk asam empedu ketika dalam saluran pencernaan, kemudian

dikeluarkan melalui feses. Serat juga difermentasikan oleh mikroflora dalam usus, sehingga menghasilkan asam asetat, propionate, dan butirat yang menghambat pembentukan kolesterol [5]. Vitamin C pada pakan membantu reaksi hidroksilasi pmebentukan asam empedu sehingga meningkatkan ekskresi kolesterol [12], sedangkan vitamin B3 membantu metabolisme lemak untuk menurunkan LDL dan trigliserida [10]. Kadar HDL yang tinggi dapat mengangkut kolesterol bebas lebih banyak dan menyebabkan kadar trigliserida menjadi rendah [19].

Untuk memastikan adanya pengaruh lama perebusan daun yakon terhadap penurunan kolesterol total darah mencit dilakukan uji analisis statistik Kruskall Wallish. Kruskall Wallish merupakan uji statistik non parametrik karena data tidak memenuhi kenormalitasan dan homogenitas.

Hasil uji Kruskall Wallish untuk pengaruh lama perebusan terhadap penurunan kolesterol total darah mencit menunjukkan nilai $p \leq 0,05$ yaitu sebesar 0,014. Hasil Uji Kruskall Wallish penurunan kolesterol dapat dilihat pada Tabel 9. Hal tersebut mempunyai arti bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima, dimana ada pengaruh lama perebusan terhadap penurunan kolesterol

Untuk mengetahui pengaruh lama perebusan terhadap penurunan kolesterol dilakukan uji lanjut Games Howell. Berdasarkan hasil uji tersebut menunjukkan nilai signifikansi lebih besar daripada 5% atau $p \leq 0.05$ pada perlakuan lama perebusan yang berarti perlakuan lama perebusan berpengaruh terhadap penurunan kolesterol.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil pembahasan terhadap hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat pengaruh lama perebusan terhadap kadar asam klorogenat yang dibuktikan dengan menguji secara kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 324 nm. Berdasarkan hasil uji menunjukkan bahwa kenaikan waktu perebusan dapat menurunkan kadar asam klorogenat pada daun yakon. Kadar asam klorogenat tertinggi terdapat pada daun yakon tanpa perebusan.
2. Terdapat pengaruh lama perebusan terhadap penurunan kolesterol mencit yang dibuktikan dengan analisis statistic Krushkal Wallis. Berdasarkan hasil uji menunjukkan bahwa kenaikan waktu perebusan dapat menaikkan angka penurunan kolesterol akibat terhambatnya kerja enzim HMG-koA reduktase sehingga pembentukan kolesterol mengalami penurunan. Nilai penurunan kolesterol tertinggi terjadi pada variasi perebusan 15 menit.

Saran

Berdasarkan penelitian tersebut, maka disarankan untuk penelitian selanjutnya:

1. Perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas enzim, misalnya enzim lipase
2. Penelitian selanjutnya dalam menentukan variable, misalnya lama penyimpanan, menambah variasi lama perebusan, atau memvariasi suhu perebusan daun yakon.

DAFTAR PUSTAKA

1. AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis* 13th ed. Washington, D.C: Assn. of Official Analytical Chemists.
2. Astrid, 2006, *Produksi Sirup FOS dari Tepung Inulin Secara Hidrolisis Asam*. Bandung: IPB.
3. BBLK. 2015. *Penentuan Kadar Kolesterol Darah*. Surabaya: Balai Besar Kesehatan Lingkungan.
4. Budavari, Susan. (Ed). 1996. *Chlorogenic Acid The Merck Index An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals* 12th Edition. New York: Research Laboratories Division of Merck & Co., Inc. Whitehouse Station.
5. Budiyo, W., Candra, A. Perbedaan Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Sebelum dan Setelah Pemberian Sari Daun Cincau Hijau (*Premna oblongifolia* Merr) pada Tikus Dislipidemia. *Journal of Nutrition College*. 2 (1): 118 – 125.
6. Hadley, M.E. 2000. *Endocrinology*. USA: Prentice Hall International.
7. Lailani, Mutia, Zulkarnain Edward Rahmatina B. Herman. 2013. Gambaran Tekanan Darah Tikus Wistar Jantan dan Betina Setelah Pemberian Diet Tinggi Garam. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2(3):146-150.
8. Lehninger, A.L. 1998. *Dasar-Dasar Biokimia*. Terjemahan, M. Thenawidjaja. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
9. Omura S. 1992. *The Search for Bioactive Compounds from Microorganisms*. New York: Springer-Verlag.
10. Rahayu, T. 2005. Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L) setelah Pemberian Cairan Kombucha Per-Oral. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi FKIP UMS*. 6 (2):85 – 100.
11. Retnaningsih. 2008. *Efek pemberian Ekstrak Kayu (Caesalpinia sappan) terhadap Kualitas Bungkil Kacang Tanah dan Detoksifikasi Aflaktoksin pada Mencit*. Bandung: Universitas Padjajaran.
12. Riansari, A. 2008. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap Kadar Kolesterol Tikus Jantan Galur Wistar Hiperlipidemia. *Karya Tulis Ilmiah*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
13. Samochowiec L. 1959. Investigations on experimental atherosclerosis. Part XV. The effect of *Cynara scolymus* L. and *Cynara cardunculus* L. on the development of experimental atherosclerosis in white rats. *Dissertationes Pharmaceutica* (11):99-113.
14. Samochowiec, L. 1962a. The Action of Herbs and Roots of Artichokes (*Cynara scolymus*) and Cardoons (*Cynara cardunculus*) on the Development of Experimental Atherosclerosis in White Rats. *Dissertationes Pharmaceutica* (14):115-122.
15. Samochowiec, L.1962b. The Effect of Artichoke (*Cynara scolymus*) and Cardoons (*Cynara cardunculus*) on

- Developed Atherosclerotic Changes in White Rats. *Folia Biologica* (10):75-83.
16. Sari, Raysa Tanjung. 2012. *Perbedaan Kolesterol LDL Darah Tikus Sprague Dawley pada Pemberian Kopi Filter dan Tanpa Filter*. Semarang: Universitas Diponegoro.
 17. Sharma, R, Hajaligol, M, Smith, Pamela Martiglio and Wooten, Jan. 2000. Characterization of Chars from Pyrolysis of Chlorogenic Acid. *Energy Fuels*. 232(61):243-247.
 18. Viehmannova, Iva, Zuzana Bortlova, Jan Vitamvas, Petra Hlasna Cepkova, Katerina Eliasova, Eva Svobodova, dan Martina Travnickova. 2014. Assessment of Somaclonal Variation in Somatic Embryo-derived Plants of Yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. and Endl.) H. Robinson] Using Inter Simple Sequence Repeat Analysis and Flow Cytometry. *Electronic Journal of Biotechnology* (17): 102-106.
 19. Yudhasari, J. D. 2008. Pengaruh Pemberian Susu Fermentasi terhadap Kadar Kolesterol dalam Darah Mencit (*Mus musculus Gazaensis*) Galur Swiss Webster. *Skripsi*. UAJY: Yogyakarta.

