

PENGARUH EKSTRAK DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa blimbi L.*) TERHADAP KADAR KOLESTEROL LDL SERUM TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) HIPERKOLESTEROLEMIA

Ayudia Marina Sendy¹, Aryoko Widodo²

¹Mahasiswa Program Studi S-1 Ilmu Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

²Staf Pengajar Ilmu Kimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang: Hiperkolesterolemia adalah kondisi dimana konsentrasi kolesterol di dalam darah melebihi batas normal karena adanya kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol LDL yang merupakan faktor risiko terjadinya penyakit jantung koroner. Daun belimbing wuluh merupakan tanaman herbal yang dapat menurunkan kadar kolesterol LDL karena mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. **Tujuan:** Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak daun belimbing wuluh dengan dosis bertingkat dibandingkan simvastatin terhadap kadar kolesterol LDL serum pada tikus wistar hiperkolesterolemia. **Metode:** Penelitian *true experimental* dengan rancangan *post test only controlled group design* menggunakan 30 ekor tikus wistar jantan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok K1 merupakan kontrol negatif, K2 merupakan kontrol positif, P1 diberi 0,18 mg/200gBB simvastatin, kelompok P2 diberi 250 mg/kgBB ekstrak daun belimbing wuluh, dan kelompok P3 diberi 500 mg/kgBB ekstrak daun belimbing wuluh. Perhitungan kadar kolesterol LDL dengan metode CHOD-PAP. Uji statistik menggunakan uji *one way Anova*. **Hasil:** Rerata kadar kolesterol LDL serum kelompok K1 ($14,18 \pm 4,32$), K2 ($15,58 \pm 4,05$), P1 ($15,04 \pm 4,91$), P2 ($15,86 \pm 3,18$) dan P3 ($15,52 \pm 4,81$). Pada analisis uji *one way Anova* tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antar kelompok K1, K2, P1, P2, dan P3 ($p > 0,05$). **Simpulan:** Ekstrak daun belimbing wuluh dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan simvastatin didapatkan tidak terbukti dalam menurunkan kadar kolesterol LDL serum tikus hiperkolesterolemia.

Kata Kunci: Daun belimbing wuluh, Hiperkolesterolemia, LDL

ABSTRACT

THE EFFECT OF BELIMBING WULUH'S LEAVES (*Averrhoa blimbi L.*) EXTRACT ON SERUM LDL CHOLESTEROL LEVEL OF WISTAR RATS WITH HYPERCHOLESTEROLEMIC

Background: Hypercholesterolemia is a condition in which blood cholesterol level is above normal which is signed by the increased level of LDL and also considered as a risk factor in coronary heart disease. Traditional herbs such as *Averrhoa blimbi L.* contains flavonoid, saponin, and tannin as active compounds that can help in reducing LDL level in the body. **Aim:** To analyze the effect of *Averrhoa blimbi L.* leaves extract and simvastatin given on LDL cholesterol level in hypercholesterolemic wistar rats serum. **Methods:** True experimental study with post test only controlled group design. The samples were 30 male wistar rats, divided into 5 groups: K1 (normal control), K2 (hypercholesterolemic control), P1 (was given 0,18 mg/200gBW simvastatin), P2 (was given 250 mg/kgBW of *Averrhoa blimbi L.* leaves extract) and P3 (was given 500 mg/kgBW of *Averrhoa blimbi L.* leaves extract). LDL

cholesterol level determined by CHOD-PAP method. One way Anova test was used for statistical analysis. **Results:** LDL cholesterol level in K1 ($14,18 \pm 4,32$), K2 ($15,58 \pm 4,05$), P1 ($15,04 \pm 4,91$), P2 ($15,86 \pm 3,18$), and P3 ($15,52 \pm 4,81$). One way ANOVA test didn't show significant change between 5 groups ($p > 0.05$). **Conclusion:** 250 mg/kgBW, 500 mg/kgBW of *Averrhoa bilimbi* L. Extract and simvastatin administration had a not proven to decrease on serum LDL-c level in rats hypercholesterolemia.

Keywords: *Averrhoa bilimbi* L leaves extract, hypercholesterolemia, LDL.

PENDAHULUAN

Hiperkolesterolemia merupakan kondisi saat konsentrasi kolesterol di dalam darah melebihi batas normal. Menurut NCEP ATP III kadar kolesterol optimal dalam tubuh adalah <100 mg/dl.¹ Hiperkolesterolemia terjadi akibat akumulasi kolesterol dan lipid pada dinding pembuluh darah ditandai dengan peningkatan kadar LDL, trigliserida, kolesterol total, dan penurunan HDL.²

Low Density Lipoprotein (LDL) merupakan lipoprotein yang memiliki densitas rendah dan berfungsi untuk mengangkut lemak ke jaringan sebagai sumber energi. LDL sangat mudah menempel pada dinding pembuluh darah karena kepadatannya yang sangat rendah. Proses tersebut mengakibatkan penumpukan sel busa yang akan menyebabkan tersumbatnya dinding pembuluh darah atau aterosklerosis.³

Simvastatin adalah obat golongan statin merupakan obat lini pertama pada terapi hiperkolesterolemia yang cukup

efektif menurunkan kadar kolesterol total dan LDL. Cara kerja simvastatin adalah menghambat kerja enzim HMG-CoA reduktase yang merupakan prekursor sintesis kolesterol.⁴ Akan tetapi jika dikonsumsi terus menerus dapat mengakibatkan efek samping seperti gangguan saluran cerna, nyeri otot, iritasi lambung, kerusakan hati, batu empedu, dan kerusakan ginjal terutama pada penggunaan jangka panjang.⁵

Sehingga diperlukan alternatif terapi lain dengan memanfaatkan bahan alam yang berkhasiat sebagai antikolesterol yaitu belimbing wuluh yang di dalam buahnya terdapat kandungan flavonoid, pektin serta vitamin C.⁶ Sedangkan pada daunnya mengandung flavonoid, saponin, triterpenoid dan tannin.⁷ Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Andina Rosmianti membuktikan pemberian ekstrak buah belimbing wuluh dapat menurunkan kolesterol LDL tikus putih yang di induksi pakan hiperkolesterolemik.⁸

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis pengaruh pemberian ekstrak daun belimbing wuluh dengan dosis bertingkat dibandingkan simvastatin terhadap kadar kolesterol LDL serum pada tikus wistar hiperkolesterolemia.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April hingga Juni tahun 2018. Pemeliharaan dan perlakuan terhadap hewan coba dilaksanakan di Laboratorium Hewan Coba Universitas Diponegoro Semarang. Pemeriksaan kadar kolesterol LDL dilakukan di Laboratorium IBL Semarang, sedangkan pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh dilakukan di Laboratorium Obat Tradisional kawasan Laboratorium Sentral RSND Semarang.

Penelitian ini berjenis *true eksperimental* dengan *post-test only with control group design*. Penentuan besar sampel menggunakan ketentuan WHO yaitu jumlah sampel minimal 5 ekor tikus tiap kelompok yang diambil secara acak dan untuk mengantisipasi drop out maka pada tiap kelompok ditambahkan satu ekor tikus.⁹ Penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok yaitu dua kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan dengan jumlah

sampel terdiri dari 6 ekor tikus tiap kelompok sehingga didapat total sampel sejumlah 30 ekor tikus. Kelompok kontrol (K1) hanya diberi pakan standar secara *ad libitum*, kelompok kontrol (K2) hanya diberi pakan hiperkolesteolemia dan kelompok perlakuan (P1) diberi pakan hiperkolesterolemia dan simvastatin sedangkan kelompok perlakuan (P2 dan P3) diberi pakan hiperkolesterolemia dan ekstrak *daun belimbing wuluh* dengan dosis 250 dan 500 mg/kgBB per hari selama 10 hari. Sebelum diberi perlakuan, 30 ekor tikus diadaptasikan dahulu dengan keadaan laboratorium selama 7 hari dengan pemberian pakan standar.

Variabel bebas penelitian ini adalah ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*). Sedangkan variabel terikatnya adalah kadar LDL serum. Kriteria inklusi penelitian ini adalah tikus wistar jantan, usia 8 minggu, berat badan tikus 150-200 gram. Untuk kriteria eksklusinya adalah tikus tampak sakit dan tidak aktif, terdapat kelainan anatomis. Sedangkan kriteria drop outnya adalah tikus tidak mau makan dan minum, tikus mengalami diare dan tikus mati selama penelitian berlangsung.

Ekstrak daun belimbing wuluh dibuat dengan metode maserasi diawali dengan pencucian daun belimbing wuluh

pada air mengalir, kemudian dipotong-potong lalu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 80°C selama 2 hari. Daun yang sudah kering ditimbang lalu diletakkan dalam tabung erlenmeyer yang telah terisi etanol 70% kemudian dilakukan maserasi selama 24 jam dengan pengulangan 2-3 kali, lalu menyaring campuran tersebut dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh kemudian dilakukan penguapan dengan *waterbath* pada suhu 60-70°C. Hasil dari ekstrak daun belimbing wuluh ini diberikan 1 kali dalam sehari secara sonde.

Pakan hiperkolesterolemia dibuat dengan cara menambahkan 1,5% dari kuning telur ayam, lemak kambing 10%, dan minyak kelapa 1% pada pakan standart yang diberikan setiap hari selama 11 hari.

Penentuan dosis terapi ekstrak daun belimbing wuluh didasarkan atas penelitian terdahulu yang menyebutkan bahwa pemberian ekstrak buah belimbing wuluh pada tikus sebesar 250 mg/kgBB/hari selama 14 hari dapat menunjukkan efek terapeutik.⁸ Dengan demikian dosis yang dipilih dalam penelitian ini adalah kelompok perlakuan (P2) ekstrak daun belimbing wuluh 250 mg/KgBB dan kelompok perlakuan (P3) ekstrak daun

belimbing wuluh 500 mg/KgBB diberikan per hari selama 10 hari.

Dosis simvastatin yang digunakan adalah hasil konversi dosis manusia ke tikus berdasarkan tabelkonversi Laurence dan Bacharach yang dikutip oleh Haznam (1976) yaitu: $10 \text{ mg/hari} \times 0,018 = 0,18 \text{ mg/hari/200 g BB}$ dan diberikan setiap hari selama 11 hari.

Pada hari ke-38 seluruh tikus pada masing-masing kelompok dipuasakan selama 12 jam lalu diambil darah vena pada pleksus retro orbitalis untuk pemeriksaan kadar kolesterol LDL serum.

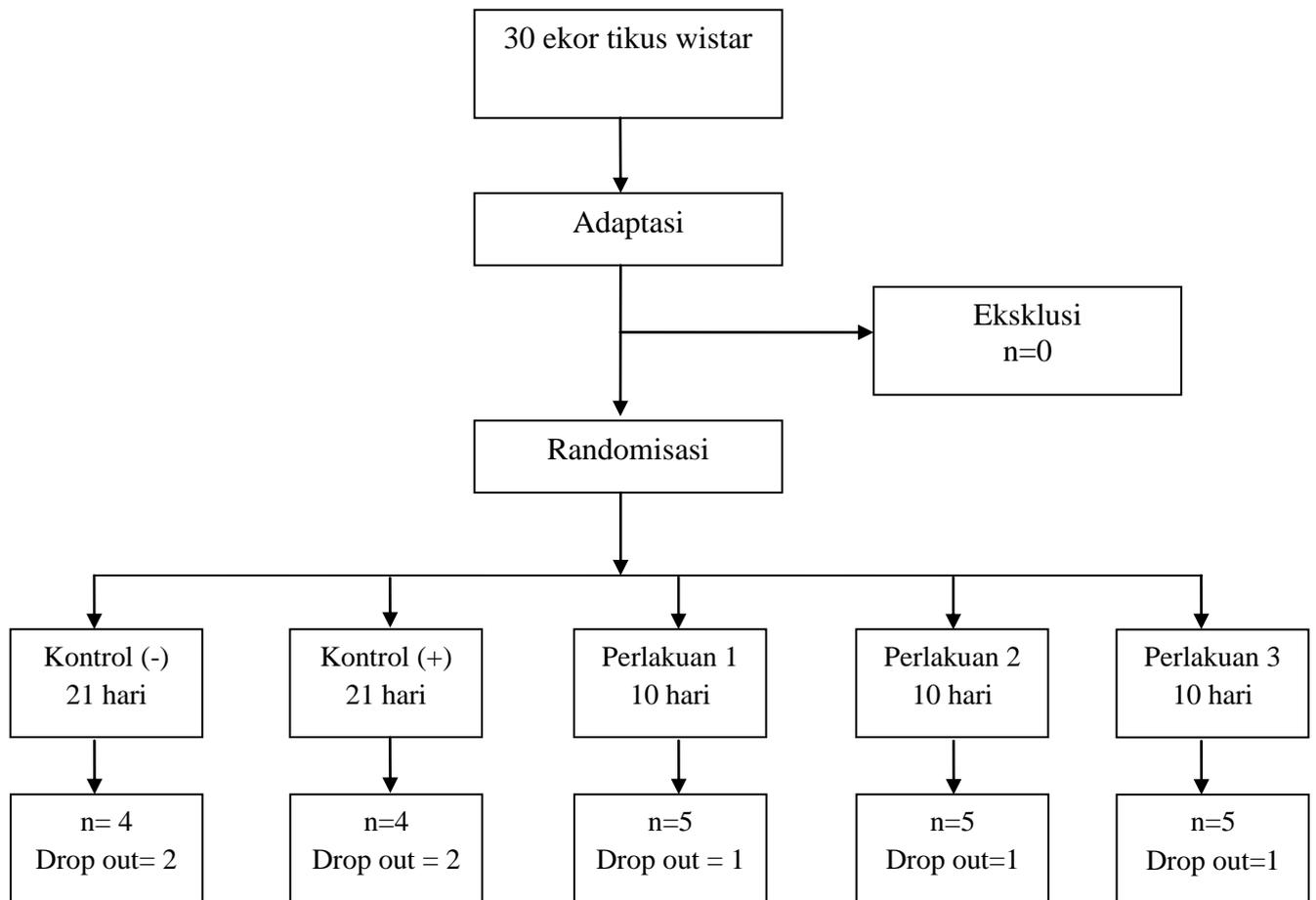
Data yang diperoleh dalam penelitian dilakukan uji *Saphiro-Wilk* yang kemudian dilanjutkan dengan uji *one way Anova* untuk menganalisis perbedaan antar kelompok. Untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan yang bermakna dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc LSD*. Didapatkan perbedaan bermakna jika nilai $p < 0,05$.

HASIL PENELITIAN

Selama masa penelitian berlangsung terdapat 7 ekor tikus yang mati pada tahap pemberian perlakuan. Tikus yang mati tersebar pada 5 kelompok yaitu pada kelompok K₁ sebanyak 2 ekor, kelompok K₂ sebanyak 2 ekor, kelompok

P₁ sebanyak 1 ekor, kelompok P₂ sebanyak 1 ekor dan kelompok P₃ sebanyak 1 ekor. Sedangkan tikus yang tersisa sebanyak 23 ekor dan dapat bertahan hidup sampai akhir penelitian

Gambar 1. Diagram CONSORT (*Consolidated Report of Trial*)



Data yang didapatkan dari hasil penelitian tentang pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap kadar kolesterol LDL serum tikus wistar *Rattus norvegicus* hiperkolesterolemia pada kelompok

kontrol dan kelompok perlakuan adalah data numerik.

Data *post test* yang diperoleh dari kelima kelompok (K₁, K₂, P₁, P₂, dan P₃) terdistribusi normal berdasar uji normalitas *Saphiro wilk* dengan nilai P > 0,05 sehingga digunakan *mean* sebagai ukuran pemusatan

dan standar deviasi sebagai ukuran penyebarandata.

Setelah uji normalitas, dilakukan uji homogenitas dari data yang ada menggunakan uji *Levene's*. Melalui uji

tersebut ditemukan bahwa data memiliki varian yang homogen $p = 0,672$ ($p > 0,05$).

Karena data telah memenuhi syarat maka dilanjutkan dengan uji *one way Anova* dengan hasil $p = 0,981$ ($p < 0,05$).

Tabel 1. Analisis deskriptif kadar kolesterol LDL serum

Kelompok	n	Rerata LDL ± SD (mg/dl)		
		Uji Normalitas	Post test(mg/dl)	p
K (-) Kontrol Negatif	4	0,425	14,18±4,32	
K(+) Kontrol Positif	4	0,676	15,58±4,05	
P ₁ Simvastatin	5	0,271	15,04±4,91	0,981*
P ₂ Ekstrak Daun Belimbing 250 mg	5	0,923	15,86±3,18	
P ₃ Ekstrak Daun Belimbing 500 mg	5	0,497	15,52±4,81	

Sehingga dapat disimpulkan bahwa dalam penelitian ini tidak terdapat perubahan kadar kolesterol LDL serum yang bermakna antara kelompok K (-), K (+), P1, P2, dan P3.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pemeriksaan kadar kolesterol LDL serum kelompok kontrol negatif (K₁) yang mendapat pakan standar selama 14 hari dan kelompok kontrol positif (K₂) yang mendapat pakan tinggi lemak selama 11 hari menunjukkan bahwa tidak terdapat peningkatan kadar kolesterol LDL serum yang signifikan

yaitu $14,18 \pm 4,32$ mg/dl pada kelompok K₁ menjadi $15,58 \pm 4,05$ mg/dl pada kelompok K₂. Kadar kolesterol total tikus adalah 10 – 54 mg/dL.¹⁰

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Andika Agus tahun 2016 yaitu dengan pemberian pakan tinggi lemak berupa minyak babi dan kuning telur selama 4 minggu mampu meningkatkan kadar kolesterol LDL dari 19,6 mg/dl menjadi 25,9 mg/dl.¹¹ Penelitian yang lain dilakukan oleh Dedy Sukmo Anggoro tahun 2015 disebutkan bahwa pemberian pakan tinggi lemak dengan cara disondekan kuning telur 2 ml selama 15

hari terjadi peningkatan kadar kolesterol HDL 55,95 mg/dl dan kadar kolesterol LDL 152,79 mg/dl.¹²

Sehingga dapat diperoleh satu kesimpulan bahwa mungkin dalam penelitian ini, profil lipid tikus dipengaruhi oleh waktu pemberian pakan tinggi lemak yang singkat dan kurang efektifnya pemberian kuning telur, minyak kambing dan minyak kelapa karena hanya diberikan secara *ad libitum* bukan sendesheingga kemungkinan jumlah pakan yang dimakan tidak sama dan bahan tersebut masih terlalu kecil untuk meningkatkan profil lipid khususnya kadar kolesterol LDL serum.

Peneliti tidak memberikan pakan tinggi lemak dalam jangka waktu lama dikarenakan keterbatasan waktu penelitian dan peneliti memilih memberikan pakan tinggi lemak secara *ad libitum* karena pemberian sonde dapat menyebabkan sampel menjadi muntah dan diare sehingga sampel menjadi sakit dan tidak aktif yang termasuk dalam kriteria eksklusi. Berdasarkan tabel *Basic Biology Parameter* disebutkan bahwa kapasitas lambung tikus hanya 5-6 gram/100gBB/hari dengan waktu transit selama 24 jam. Untuk pemilihan bahan pakan tinggi lemak menurut Lestari K dan Muchtadi dalam

Hardiningsih dan Nurhidayat (2006), makanan untuk meningkatkan kadar kolesterol darah tikus terdiri atas 1,5% kuning telur ayam, lemak kambing 10% dan minyak kelapa 1%.¹³

Terdapat perubahan kadar kolesterol LDL serum antara kelompok perlakuan P₁, P₂ dan P₃ dibandingkan kelompok kontrol positif K₂ walaupun tidak signifikan. Perbedaan selisih penurunan rerata kadar kolesterol LDL serum antar kelompok perlakuan P₁ dan P₃ menunjukkan terdapat perbedaan efektifitas khasiat antara ekstrak daun belimbing wuluh dosis 500 mg dan simvastatin. Kelompok yang mendapat ekstrak daun belimbing wuluh dosis 500 mg (P₃) memiliki rerata kadar LDL serum sebesar 15,52 ± 4,81 mg/dl lebih tinggi daripada kelompok yang mendapat simvastatin (P₁) yaitu sebesar 15,04 ± 4,91 mg/dl.

Sedangkan kelompok yang mendapat ekstrak daun belimbing wuluh dosis 250 mg (P₂) memiliki rerata kadar LDL serum sebesar 15,86 ± 3,18 mg/dl lebih tinggi daripada kelompok yang mendapat perlakuan ekstrak daun belimbing wuluh dosis 500 mg (P₃), simvastatin (P₁) dan kelompok kontrol positif (K₂).

Pada kelompok yang mendapat simvastatin (P_1) hanya diberikan selama 10 hari dengan cara disonde (per oral). Respon setiap individu terhadap statin juga berbeda-beda, sehingga hal ini dapat memengaruhi hasil penelitian. Pada penelitian Andina Rosmalianti tahun 2012 yang menyebutkan bahwa pemberian simvastatin selama 2 minggu pada tikus yang diberikan pakan tinggi lemak dapat menurunkan kadar kolesterol LDL serum yang signifikan.⁸ Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Marti Harini dan Okid Paramana Astirin tahun 2009 menyebutkan bahwa tikus yang mendapat perlakuan pemberian simvastatin dengan dosis 1,09 ml/270 gram BB tanpa pemberian pakan tinggi lemak selama 2 minggu dapat menurunkan kadar kolesterol LDL serum hingga 28%.¹⁰ Penurunan terjadi dikarenakan simvastatin bekerja dengan menghambat enzim HMG-CoA *reductase* dan menyebabkan penurunan sintesis kolesterol dimana terjadi peningkatan reseptor LDL pada membrane hepatosit. Oleh karena itu peneliti menyimpulkan bahwa pada penelitian ini pemberian simvastatin jangka waktunya terlalu pendek, sehingga terjadi penurunan kadar kolesterol LDL serum tikus namun tidak signifikan. Berdasarkan hasil

penelitian ini didapatkan bahwa kadar kolesterol LDL serum tikus terendah pada kelompok perlakuan P_1 yang diberikan simvastatin dengan hasil ini juga sama dengan hipotesis peneliti bahwa simvastatin dapat menurunkan kadar kolesterol LDL serum.

Kelompok yang mendapat ekstrak daun belimbing wuluh dosis 250 mg (P_2) dan 500 mg (P_3) diberikan selama 10 hari dengan cara disonde (per oral). Perbedaan kadar kolesterol LDL serum yang tidak signifikan kemungkinan disebabkan oleh pemberian ekstrak daun belimbing wuluh yang tidak terlalu lama dan kurangnya dosis ekstrak daun belimbing wuluh. Penelitian yang dilakukan oleh Pushpara J *et al* menyebutkan bahwa adanya aktivitas hipoglikemik dan hipolipidemik pada ekstrak etanol daun belimbing wuluh, pemberian berulang dari ekstrak etanol daun belimbing wuluh dosis 250 mg/kg/hari dapat menurunkan kadar trigliserid yang signifikan sebesar 130% pada tikus diabetes yang diinduksi dengan STZ (*Streptozotocin*).¹⁴

Penurunan kadar kolesterol LDL serum pada kelompok yang diberikan ekstrak daun belimbing wuluh dikarenakan kandungan senyawa bioaktifnya yaitu flavonoid, tanin, dan saponin. Senyawa

metabolit flavonoid terbukti dapat menghambat sekresi apoB dan membantu meningkatkan ekspresi reseptor LDL (LDLr) di jaringan serta terjadi peningkatan penyerapan kolesterol dalam LDL kolesterol sehingga kadar kolesterol dalam LDL kolesterol di darah menurun.

Tanin berfungsi sebagai antioksidan, astringent, dan hipokolesterolemi dan bekerja dengan cara bereaksi dengan protein mukosa dan sel epitel usus sehingga menghambat penyerapan lemak. Kadar tanin yang tinggi pada daun belimbing wuluh muda sebesar 10,92%.¹⁵Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Messina dan Lee *et al* bahwa saponin akan berikatan dengan asam empedu dan meningkatkan ekskresi asam empedu di dalam feses dan sterol netral (seperti koprostanol dan kolestanol). Hal ini menyebabkan konversi kolesterol menjadi asam empedu meningkat untuk upaya mempertahankan depot asam empedu. Konsekuensinya, reseptor LDL dari hati akan dinaikkan sehingga terjadi peningkatan pengambilan LDL yang akan disertai dengan penurunan kadar kolesterol plasma.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian pakan tinggi lemak dalam waktu 11 hari dapat meningkatkan

kadar kolesterol LDL serum dan pemberian ekstrak daun belimbing wuluh dosis 500 mg dan pemberian simvastatin selama 10 hari dapat menurunkan kadar kolesterol LDL serum namun tidak signifikan. Sedangkan pada ekstrak daun belimbing wuluh dosis 250 mg tidak dapat menurunkan kadar LDL serum secara signifikan sehingga hipotesis peneliti tidak sesuai dengan hasil penelitian.

Keterbatasan penelitian

1. Pemberian pakan tinggi lemak secara *ad libitum*, tidak disonde. Hal ini memungkinkan peningkatan kadar kolesterol LDL serum menjadi tidak signifikan.
2. Pada pembuatan larutan ekstrak daun belimbing wuluh tidak dapat dibuat setiap hari sehingga memperbesar kemungkinan mempengaruhi kualitas isi larutan.
3. Sampel penelitian terbatas hanya 6 ekor tikus tiap kelompok dan dimasukkan dalam satu kandang. Pada penelitian ini terdapat tikus yang drop out sehingga jumlah minimal tidak terpenuhi pada kelompok kontrol negatif dan positif.

SIMPULAN

Pada pemberian ekstrak daun belimbing wuluh dosis 250 mg/kgBB, dosis 500 mg/kgBB dan pemberian simvastatin tidak terbukti dalam menurunkan kadar kolesterol LDL serum tikus wistar (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia.

DAFTAR PUSTAKA

1. National Cholesterol Education Program. ATP III Guidelines at-a-Glance Quick Desk Reference. [Bethesda, Md.] :[National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute], 2001
2. Erwinanto AS, Putranto JNE, Tedjasukmana P, Suryawan R, Rifqi S, Kasiman S. Pedoman tatalaksana dislipidemia. In: 1st ed. Centra Communications; 2013:21-25.
3. Botham KM MP. Harper's Illustrated Biochemistry: Lipid Transport & Storage. 29th ed. Jakarta: EGC; 2012. 224-233 p.
4. Smyth EM, FitzGerald G a. The Eicosanoids: Prostaglandins, Thromboxanes, Leukotrienes, and Related Compounds. Basic and clinical Pharmacology. 2012. 313-329 p.
5. Adib M. Cara mudah memahami dan menghindari hipertensi jantung dan stroke. Yogyakarta: Dianloka; 2012
6. Setiawan Dalimartha. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. 5th ed. Jakarta: Puspa Swara; 2008.
7. Hayati EK, Fasyah AG, Sa'adah L. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). J Kim. 2010;4(2):193-200.
8. Rosmaliandi Andina. Pengaruh Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) terhadap Kadar Kolesterol LDL Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Universitas Sebelas Maret; 2012.
9. WHO. Research Guidelines for Evaluating The Safety and Efficacy of Herbal Medicines. Manila: World Health Organization Regional Office for The Western Pacific; 1993. p.35.
10. Harini, M., DA, Okid. Kadar kolesterol darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemik setelah perlakuan VCO. Universitas Sebelas Maret. 2009
11. Budiarto Andika A. Pemberian Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dan Jintan Hitam (*Nigella sativa*) untuk

- menurunkan kadar kolesterol LDL : Studi pada Tikus Sprague dawley Dislipidemia. Diponegoro; 2016.
12. Ilmiah J, Sina I, Maulana A, Putra P. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Aloksan. 2017;2(September):263–9.
 13. Lestari K. Muchtadi A. Uji aktivitas antihiperlipidemia daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia*) pada tikus. (Laporan Penelitian). Bandung. Universitas Padjajaran; 1997
 14. Pushparaj PN, Tan BKH, Tan CH. The mechanism of hypoglycemic action of the semi-purified fractions of *Averrhoa bilimbi* in streptozotocin-diabetic rats. *Life Sci* [Internet]. 2001;70(5):535–47. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320501014230>
 15. Hayati EK, Fasyah AG, Sa'adah L. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L). *J Kim*. 2010;4(2):193–200.