

The Effectiveness of Active Fraction of Soursop Leaves Extract (*Annona muricata* L.) in Total Cholesterol levels

Akbar Awaluddin, A Zulkifli A S, Aswar Hasan, Nurzadrina Wahyuddin, Astuti
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar

Artikel info

Diterima : 23 Sep 2020
Direvisi : 14 Des 2020
Disetujui : 18 Des 2020

Keyword

Annona muricata L.
Active fraction
Total cholesterol

ABSTRACT

Soursop leaves are reported to have several active compounds such as flavonoids, alkaloids and fatty acids and soursop leaves are reported to have many pharmacological effects, one of which is for the treatment of blood cholesterol levels. This study aims to compare the effectiveness of the active fraction of soursop (*Annona muricata* L.) ethanol extract on the reduction in total cholesterol levels of male mice (*Mus musculus*). The method used is to use 5 groups of male mice that were given 5 different treatments. Then proceed with a statistical test using LSD analysis. The results obtained showed that the effect of reducing total cholesterol of soursop leaf extract fraction at a dose of 100 mg/kg BB has no significant effect with positive control with a value of $p = 0.501 > 0,05$ and soursop leaf extract fraction dose of 150 mg/kgBB body weight with a value of $p = 0.580 > 0.05$. So, both are thought to be able to reduce total cholesterol levels which are almost the same as positive control.

Efektivitas Fraksi Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Kadar Kolesterol Total

ABSTRAK

Kata kunci

Annona muricata L.
Fraksi aktif
Kolesterol Total

Daun sirsak dilaporkan mempunyai beberapa kandungan yang bermanfaat sebagai obat seperti flavonoid, alkaloid, asam lemak dan daun sirsak dilaporkan memiliki banyak efek farmakologi, salah satunya untuk pengobatan kadar kolesterol darah. Penelitian ini bertujuan mengetahui perbandingan efektivitas fraksi aktif ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap penurunan kadar kolesterol total mencit jantan (*Mus musculus*). Metode yang digunakan yaitu menggunakan 5 kelompok mencit jantan yang diberi 5 perlakuan yang berbeda-beda. Kemudian dilanjutkan dengan uji statistik menggunakan analisis LSD. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa efek penurunan kolesterol total fraksi ekstrak daun sirsak dengan dosis 100mg/kg BB memiliki efek tidak signifikan dengan kontrol positif dengan nilai $p=0,501 > 0,05$ dan fraksi ekstrak daun sirsak dosis 150 mg/kg BB dengan nilai $p=0,580 > 0,05$. Sehingga keduanya diduga mampu menurunkan kadar kolesterol total yang hampir sama dengan kontrol positif.

Koresponden author

Akbar Awaluddin
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar
Email: akbar.awaluddin@stifa.ac.id

LATAR BELAKANG

Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan tanaman mengandung banyak khasiat terutama sebagai obat-obatan. Bagian tanaman sirsak, mulai dari daun, bunga, buah, biji, akar, sampai kulit batang dan akarnya dapat dimanfaatkan sebagai obat (Sholihah *et al.*, 2018). Daun sirsak memiliki beberapa kandungan metabolit sekunder yang dapat dijadikan bahan aktif, antara lain flavonoid, alkaloid, asam lemak, fitosterol, mirisil alkohol dan anonol (Iswadi *et al.*, 2019). Flavonoid dapat menurunkan kadar kolesterol darah dengan merangsang pengeluaran asam empedu dan menghambat kerja kekentalan (viskositas) darah, sehingga mengurangi terjadinya pengendapan lemak pada pembuluh darah (Millar *et al.*, 2017; Zeka *et al.*, 2017).

Pada penelitian (Nisa 2013) dengan pengujian antioksidan dengan metode DPPH berbagai perbandingan fraksi n-heksana, etil asetat, dan n-butanol maka didapatkan hasil bahwa fraksi n-butanol paling kuat aktivitas antioksidannya, maka dari itu peneliti menggunakan fraksi n-butanol sebagai penurunan kadar kolesterol total pada mencit jantan (Naspiyah *et al.*, 2013). Sampai saat ini belum ada penelitian yang mengungkapkan mengenai fraksi n-butanol daun sirsak sebagai penghambat penurunan kadar LDL maka dari itu peneliti menggunakan fraksi n-butanol sebagai penurunan kolesterol total. Pemberian kombinasi simvastatin dan fraksi ekstrak etanol daun sirsak diharapkan dapat mengurangi efek buruk obat-obat antihiperlipidemia, dan lebih jauh lagi mungkin dapat bekerja sinergis dengan kemampuan ekstrak.

Hiperkolesterol adalah keadaan yang terjadi kenaikan jumlah kolesterol total sekaligus kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL). Kedua profil kimia darah ini merupakan parameter penting untuk diukur sebagai tolak ukur terjadinya hiperlipidemia secara klinis. Pada penelitian ini kontrol positif yang digunakan yaitu simvastatin. Simvastatin bekerja dengan menghambat enzim *3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A* (HMG-CoA) reduktase yang normalnya berperan dalam sintesis kolesterol terkait pengubahan asetil-CoA menjadi asam mevalonat di hati. Enzim HMG-CoA reduktase berperan pada proses sintesis kolesterol sekaligus meningkatkan aktivitas reseptor LDL sehingga produksinya menjadi meningkat. Hasilnya, LDL plasma menjadi berkurang akan menurun (DiPiro *et al.*, 2016; Farnier *et al.*, 2000; Katzung *et al.*, 2017).

Efektivitas simvastatin dalam menurunkan kadar lipid darah sudah tidak diragukan lagi dengan bukti-bukti ilmiah yang banyak mendukung. Namun, seiring kemampuannya tersebut, adanya efek rhabdomyolisis sebagai efek samping utama dapat meningkat seiring penggunaan simvastatin dalam jangka waktu yang lama atau pada dosis yang lebih tinggi. Efek samping lain juga mungkin timbul, diantaranya nyeri abdominal, astenia, nyeri kepala, mual, dan hipersensitivitas (Patel & Kothari, 2017; Tahamtan *et al.*, 2020).

Berdasarkan pemaparan latar belakang inilah sehingga peneliti beranggapan bahwa potensi penggunaan fraksi aktif ekstrak etanol daun sirsak dalam menghambat peningkatan kadar kolesterol total perlu untuk diteliti.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest, ekstrak etanol ekstrak daun sirsak etanol 70%, n-heksana, n-butanol, etil asetat, vitamin C, larutan ABTS, propiltiourasil, Na-CMC 0,5%, pakan mencit, lemak sapi, telur, dan tablet simvastatin 10 mg.

Pengambilan dan pengolahan sampel

Sampel daun sirsak diperoleh di daerah Makassar, Sulawesi Selatan. Sampel daun sirsak dibersihkan dari kotoran yang melekat, dicuci dengan air mengalir kemudian sampel dirajang dan dikeringkan dengan menggunakan sinar matahari langsung dengan cara simplisia ditutupi kain hitam. Setelah itu dilakukan sortasi kering, kemudian disimpan dalam suatu wadah tersendiri, dan siap untuk diekstraksi.

Ekstraksi dan fraksinasi

Serbuk simplisia daun sirsak direndam selama 6 jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam, pisahkan maserat dengan cara pengendapan, sentrifugasi, dekantasi atau filtrasi. Ulangi proses penyarian sekurang-kurangnya dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Kumpulkan semua maserat, kemudian uapkan dengan penguap *rotary evaporator* hingga di peroleh ekstrak kental.

Ekstrak daun sirsak yang diperoleh lalu difraksinasi dengan metode ekstrak cair padat menggunakan beberapa pelarut yaitu n-heksana dengan perbandingan 1:30 (1 gram ekstrak: 30 ml) pelarut kemudian dipanaskan dengan cara distirrer selama 5 menit setelah itu disentrifus selama 5 menit (dimasukkan ke dalam masing-masing tabung dengan volume 10 ml) filtrat yang didapat dikumpulkan. Residu yang diperoleh ditambahkan dengan pelarut yang sama hingga filtrat yang diperoleh jernih dan diperoleh filtrat n-heksana. Residu yang sama kembali dipartisi menggunakan metode ECP (ekstrak cair padat) dengan cara yang sama sebelumnya namun menggunakan pelarut berturut-turut etil asetat dan n-Butanol hingga diperoleh filtrat dan diuapkan hingga diperoleh fraksi kental yaitu fraksi n-heksana (F1), fraksi etil asetat (F2), fraksi n-Butanol (F3)

Aktivitas antioksidan

Menyiapkan larutan stok 2000 ppm dengan cara menimbang 100 mg ekstrak etanol fraksi dan dilarutkan dengan etanol p.a sambil dihomogenkan volume akhir dicukupkan hingga 50 ml dalam labu ukur. Membuat larutan stok ABTS dengan cara larutan A ditimbang 7,105 mg ABTS. Di larutkan dalam 5 ml aquadest. Larutan B ditimbang 3.500 mg dan dilarutkan dalam 5 ml aquadest. Kemudian kedua larutan (larutan A dan B) di campur dalam ruang gelap dan diinkubasi selama 12 jam. Setelah diinkubasi dicukupkan volumenya sampai 25 ml dengan etanol. Membuat larutan stok 1000 ppm dengan cara menimbang 10 mg vitamin C dan dilarutkan dengan etanol p.a volume akhir dicukupkan hingga 100 ml labu ukur. Larutan ABTS dipipet sebanyak 1 ml dan dicukupkan volumenya sampai dengan 5 ml dengan etanol p.a dalam labu ukur. Larutan ini kemudian di homogenkan dan dibiarkan selama 30 menit, selanjutnya serapan diukur dengan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 752 nm. Pengujian aktivitas dilakukan dengan cara dibuat larutan stok 2000 ppm. Pada masing-masing sampel. Masing-masing sampel dibuat seri konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 µl/ml dengan memipet sejumlah volume tertentu larutan stok dan ditambahkan 1 ml larutan ABTS. Campuran di cukupkan volumenya hingga 5 ml dengan etanol p.a selanjutnya masing-masing campuran diinkubasi pada ruang gelap selama 15-30 menit pada suhu kamar. Diukur serapan pada masing-masing larutan sampel dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 752 nm.

Pengukuran fraksi etil asetat daun sirsak terhadap radikal bebas ABTS

Pengujian aktivitas dilakukan dengan cara dibuat larutan stok 2000 ppm. Pada masing-masing sampel. Masing-masing sampel di buat seri konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 µl/ml dengan memipet sejumlah volume tertentu larutan stok dan ditambahkan 1 ml larutan ABTS. Campuran dicukupkan volumenya hingga 5 ml dengan etanol p.a selanjutnya masing-masing campuran diinkubasi pada ruang gelap selama 15-30 menit pada suhu kamar. Di ukur serapan pada masing-masing larutan sampel dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 752 nm.

Pengukuran vitamin C sebagai pembanding terhadap radikal bebas ABTS

Pengujian aktivitas dilakukan dengan cara dibuat larutan stok 2000 ppm. Pada masing-masing sampel. Masing-masing sampel di buat seri konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 µl/ml dengan memipet sejumlah volume tertentu larutan stok dan ditambahkan 1 ml larutan ABTS. Campuran dicukupkan volumenya hingga 5 ml dengan etanol p.a selanjutnya masing-masing campuran diinkubasi pada ruang gelap selama 15-30 menit pada suhu kamar. Di ukur serapan pada masing-masing larutan sampel dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 752 nm.

Penyiapan dan perlakuan hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) yang sehat dengan bobot badan rata-rata 20-30 g, sebanyak 25 ekor yang dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit jantan. Terlebih dahulu diadaptasikan selama 7 hari.

Pemberian induksi hewan percobaan

Semua hewan uji dipuaskan terlebih dahulu, diambil darah melalui ekor dan diukur kadar kolesterol darah awal (hari ke-0). Kemudian hewan coba diinduksikan dengan diet lemak tinggi selama 2 minggu, pada hari ke-15 diukur kenaikan kadar kolesterolnya, kemudian di berikan perlakuan fraksi aktif pada hari ke 16 sampai hari ke 21. Kemudian diukur penurunan kadar kolesterol pada hari ke-22.

Pemberian sediaan uji

Kelompok 1: diberikan fraksi aktif ekstrak n-Butanol daun sirsak dengan dosis 50 mg/kgBB. Kelompok 2: diberikan fraksi aktif ekstrak n-Butanol daun sirsak dengan dosis 100 mg/kg BB. Kelompok 3: Diberikan fraksi aktif ekstrak n-Butanol daun sirsak dengan dosis

150 mg/kg BB. Kelompok 4: Diberikan Na-CMC 0,5% sebagai kontrol negatif. Kelompok 5: Diberikan sediaan pembanding yaitu suspensi simvastatin sebagai kontrol positif.

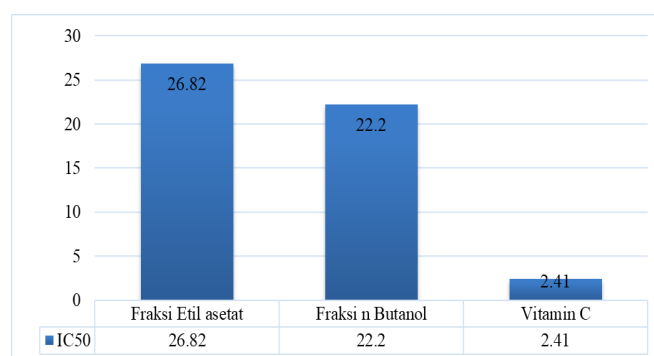
Pengukuran kadar kolesterol darah

Alat Pengukur Kolesterol diaktifkan dengan menekan tombol alat tersebut dan dilakukan kalibrasi. Strip dipasang pada alat tersebut. Darah diambil dari pembuluh darah vena pada ekor mencit kemudian diteteskan pada strip alat pengukur kolesterol dan kadar kolesterol darah mencit akan terukur secara otomatis. Hasilnya ditampilkan pada monitor berupa angka.

HASIL PEMBAHASAN

Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi ini adalah etanol 70%. Pemilihan pelarut etanol 70% sebagai pelarut maserasi didasarkan atas penyarian yang optimal sehingga diharapkan banyak senyawa aktif yang terkandung di dalamnya (Bacon *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018). Ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan menggunakan beberapa cairan penyari berdasarkan tingkat kepolarannya (n-heksan, etil asetat, n-butanol). Ekstrak daun sirsak difraksinasi dengan metode partisi ekstrak cair padat (ECP) karena ekstrak tidak dapat larut dalam cairan penyari, proses ini banyak digunakan dalam pemisahan minyak dari bahan yang mengandung minyak.

Hasil fraksinasi diuji aktivitas sebagai antioksidan dengan parameter IC_{50} dilihat pada Gambar 1. Pengujian aktivitas dengan beberapa fraksi (etil asetat, n-butanol) dapat dilaporkan bahwa untuk fraksi etil asetat dengan nilai IC_{50} 26,82 ppm, fraksi n-butanol dengan IC_{50} 22,2 ppm sedangkan pembanding yang digunakan ialah vitamin C dengan IC_{50} 2,41. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Daun sirsak yang secara empiris dapat menurunkan kadar kolesterol total. Penelitian dilakukan untuk melihat perubahan kolesterol total, sebelum induksi setelah induksi dan setelah perlakuan terhadap hewan coba. Sebelum itu dapat diketahui menurut senyawa yang terkandung dalam daun sirsak sebagai antihiperkolesterolemia yaitu flavonoid (Manrique-de-la-Cuba *et al.*, 2019; Wijaya, 2015). Flavonoid berperan sebagai antioksidan yang akan mengurangi kepekaan LDL dengan radikal bebas. Flavonoid dapat berperan menghambat aktivitas enzim HMG CoA reduktase sehingga mengurangi jumlah sintesis kolesterol (Son *et al.*, 2018).



Gambar 1 Diagram aktivitas antioksidan

Tabel 2 Hasil pengukuran kadar kolesterol total pada hewan coba mencit

No	Kelompok	Replikasi	Kadar kolestrol (mg/dl)			
			Awal mg/dl	Induksi mg/dl	Akhir mg/dl	% Penurunan
1	Kontrol negatif	1	125	157	183	- 40,4 %
		2	100	154	167	- 45,5 %
		3	133	152	175	- 36,8%
		4	134	165	180	- 55,9%
		5	160	194	225	- 78,0%
Total Rata-rata			130,4 +	164,5 +	186 +	51,32
2	Kontrol positif	1	110	158	135	12,9 %
		2	164	210	165	21,4 %
		3	103	185	155	16,2 %
		4	110	150	115	23,4 %
		5	103	169	139	17,7%
Total Rata-rata			118 +	175 +	141,8 +	18,32
3	Fraksi ekstrak n-Butanol 50 mg	1	140	160	206	-26,2%
		2	135	175	176	-0,57%
		3	166	200	185	7,5 %
		4	112	151	115	23,8 %
		5	110	135	130	3,7 %
Total Rata-rata			132,6	164,2	162,4	1,646
4	Fraksi ekstrak n-Butanol 100 mg	1	168	194	176	9,2 %
		2	124	136	112	17,6 %
		3	150	220	127	42,2 %
		4	110	251	124	50,5 %
		5	161	173	165	4,6 %
Total Rata-rata			142,6 +	194,8 +	140,8 +	24,82
5	Fraksi ekstrak n-Butanol 150 mg	1	140	179	134	25,1 %
		2	112	140	118	15,7 %
		3	116	138	112	18,8 %
		4	135	144	148	2,7 %
		5	166	211	206	2,3 %
Total Rata-rata			133,8 +	162,4 +	143,6 +	12,92

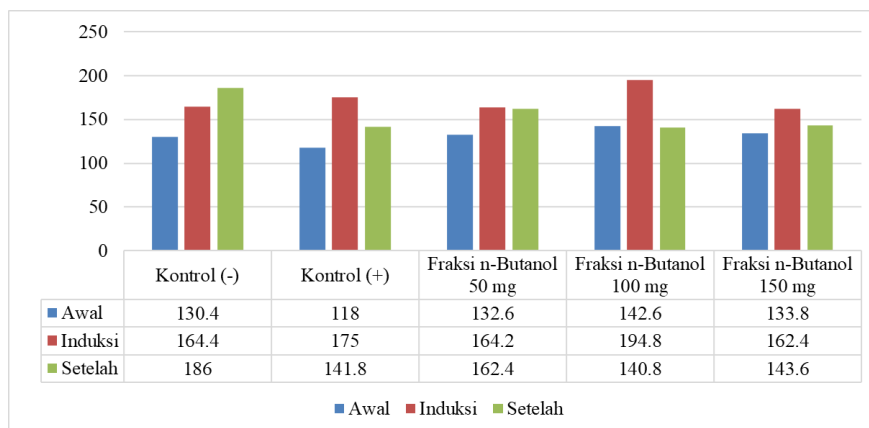
Keterangan: (-) Tidak mengalami penurunan kolesterol total terhadap mencit jantan

Hasil antioksidan yang telah dilaporkan bahwa fraksi n-butanol paling baik aktivitas antioksidannya, dan selanjutnya fraksi n-Butanol daun sirsak diuji efektivitasnya sebagai penurunan kolesterol terhadap mencit jantan, dengan cara dilakukan pengukuran kadar kolesterol awal (Wo), kadar kolesterol dilakukan pengukuran kembali setelah pemberian diet tinggi lemak dan suspensi PTU 0,01 %, selama 14 hari (W1), lalu diukur kembali kadar kolesterolnya setelah diberikan perlakuan (W2) dan hasil pengamatannya dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan data tabel pengamatan kadar kolesterol total rata-rata terjadi penurunan kadar kolesterol total setelah pemberian fraksi ekstrak n-Butanol daun sirsak dengan tiga variasi dosis yaitu 50 mg/kg BB,

100 mg/kg BB, 150 mg/kg BB. Pemberian simvastatin sebagai kontrol positif, kelompok perlakuan pemberian simvastatin memberikan penurunan yang baik dibandingkan dosis 50 mg/kg, sedangkan dilihat dari dosis 100 mg/kg, dan 150 mg/kg memiliki efek penurunan kadar kolesterol total yang baik, namun dosis 100 mg/kg paling baik penurunan kolesterolnya dibandingkan dosis kontrol positif dan dosis fraksi n-Butanol 50 mg/kg dan 150 mg/kg dapat dilihat dari uji statistik. untuk mengetahui rata-rata penurunannya dapat dilihat pada Gambar 2.

Dapat dilihat bahwa setiap kelompok hewan coba memiliki kenaikan kadar kolesterol setelah diberikan penginduksi, dan memiliki penurunan setelah diberikan suspensi fraksi ekstrak n-Butanol dan



Gambar 2. Diagram rata-rata penurunan kadar kolesterol total pada mencit

suspensi simvastatin, kontrol negatif, tidak memiliki penurunan setelah diberikan Na-CMC sebagai kontrol negatif. Untuk mengetahui perbedaan secara bermakna kadar kolesterol antara kelompok perlakuan maka dilanjutkan pengujian secara statistik menggunakan SPSS metode ANOVA.

Berdasarkan uji statistik untuk melihat perbedaan antara kelompok digunakan analisis post hoc LSD dari hasil analisis terlihat kontrol positif memiliki nilai yang tidak berbeda nyata dengan fraksi 100 mg/kg BB ($P= 501$) dan fraksi 150 mg/kg BB ($P= 0,580$), hal ini menunjukkan bahwa efek penurunan kolesterol total mencit jantan untuk fraksi 100 mg/kg BB dan 150 mg/kg BB tidak berbeda nyata dengan kontrol positif sehingga kedua kelompok dapat diduga mampu menurunkan kadar kolesterol total yang hampir sama dengan kontrol positif sedangkan nilai statistik fraksi 100 mg/kg BB tidak berbeda nyata terhadap fraksi 150 mg/kg BB ($P= 0,226$) hal ini menunjukkan bahwa efek penurunan kolesterol antara dosis 100 mg/kg BB dan dosis 150 mg/kg BB tidak berbeda nyata oleh karena itu peneliti beranggapan bahwa fraksi 100 mg/kg BB dipilih sebagai dosis terbaik untuk menurunkan kolesterol karena, dosisnya lebih rendah daripada fraksi 150 mg/kg BB namun memiliki efek yang tidak berbeda dengan kontrol positif.

KESIMPULAN

Hasil yang didapatkan fraksi ekstrak n-butanol daun sirsak dapat menurunkan kadar kolesterol total pada mencit jantan. Efek penurunan kolesterol paling baik yaitu dosis fraksi 100 mg/kg BB. Berdasarkan uji statistik digunakan analisis post hoc LSD hasil analisis terlihat perbandingan fraksi ekstrak daun sirsak dosis 100 mg/kg BB memiliki efek berbeda nyata terhadap kontrol positif ($P = 501$) dan fraksi 150 mg/kg BB ($P = 0,580$), hal ini menunjukkan bahwa efek penurunan kolesterol total mencit jantan untuk fraksi 100 mg/kg BB dan 150 mg/kg BB tidak berbeda nyata dengan kontrol positif sehingga kedua kelompok dapat diduga mampu menurunkan kadar kolesterol total yang hampir sama dengan kontrol positif. Perlu dilakukan uji efektivitas fraksi aktif ekstrak etanol terhadap kadar kolesterol LDL dan HDL pada mencit jantan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bacon K, Boyer R, Denbow C, O'Keefe S, Neilson A, Williams R. Evaluation of different solvents to extract antibacterial compounds from *Jalapeño peppers*. Food Science & Nutrition. **2017**;5(3); 497-503
- DiPiro J, Talbert R, Yee G, Matzke G, Wells B, Posey LM. Pharmacotherapy: A pathophysiologic approach, 10th ed. McGraw-Hill Education. **2016**. New York
- Farnier M, Portal JJ, Maigret P. Efficacy of atorvastatin compared with simvastatin in patients with hypercholesterolemia. Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics. **2000**;5(1); 27-32
- Iswadi, Haryuni S, Jayani I. Pengaruh rebusan daun sirsak terhadap penurunan kadar kolesterol pada penderita hiperkolesterol di Kelurahan Nanga Bulik Kecamatan Bulik Kabupaten Lamandau. Nursing Sciences Journal. **2019**;3(2); 57-62
- Katzung BG, Trevor AJ, Masters SB. Basic & clinical pharmacology, 14th ed. McGraw-Hill Medical. **2017**. New York
- Manrique-de-la-Cuba MF, Gamero-Begazo P, Valencia DE, Barazorda-Ccahuana HL, Gómez B. Theoretical study of the antioxidant capacity of the flavonoids present in the *Annona muricata* (Soursop) leaves. Journal of Molecular Modeling. **2019**;25(7); e200
- Millar CL, Duclos Q, Blesso CN. Effects of dietary flavonoids on reverse cholesterol transport, HDL metabolism, and HDL function. Advances in Nutrition. **2017**;8(2); 226-39
- Naspiah N, Masruhim MA, Fitriani VY. Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). Indonesian Journal of Applied Sciences. **2013**;3(2); 62-65
- Patel M, Kothari C. Critical review of statins: A bio-analytical perspective for therapeutic drug monitoring. TrAC Trends in Analytical Chemistry. **2017**;86; 206-21
- Sholihah SW, Firmansyah M, Damayanti DS. Efek pemberian minyak atsiri daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap penurunan kadar tumor necrosis factor alpha (TNF- α) hepar tikus wistar jantan yang diinduksi rifampisin. Jurnal Kesehatan Islam. **2018**;7(1); 25-30

- Son KH, Lee JY, Lee JS, Kang SS, Sohn HY, Kwon CS. Screening of flavonoid compounds with HMG-CoA reductase inhibitory activities. *Journal of Life Science*. **2018**;28(2); 247-56
- Tahamtan S, Shirban F, Bagherniya M, Johnston TP, Sahebkar A. The effects of statins on dental and oral health: A review of preclinical and clinical studies. *Journal of Translational Medicine*. **2020**;18(1); e155
- Wijaya AS. The effect of ethanol extract of soursop leaves (*Annona muricata* L.) to decreased levels of malondialdehyde. *Medical Journal of Lampung University*. **2015**;4(3); 14-18
- Zeka K, Ruparelia K, Arroo RRJ, Budriesi R, Micucci M. Flavonoids and their metabolites: Prevention in cardiovascular diseases and diabetes. *Diseases (Basel, Switzerland)*. **2017**;5(3); e19
- Zhang Q-W, Lin L-G, Ye W-C. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine*. **2018**;13; e20