



Evaluasi Kadar Lipid Ikan Zebra (*Danio rerio* Hamilton, 1822) Model Hiperlipidemia Setelah Perlakuan Ekstrak Akuosa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Putu Krisna Widyantara Sujana¹, Asti Vanani², Rohmi Salamah³, Bambang Retnoaji⁴, Nastiti Wijayanti^{5*}

¹Jurusan Biologi dan Perikanan Kelautan, Universitas Pendidikan Ganesha, Singaraja 81116, Bali, Indonesia

²Program Sarjana Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Sleman 55281, Yogyakarta, Indonesia

³Program Magister Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Sleman 55281, Yogyakarta, Indonesia

⁴Laboratorium Struktur dan Perkembangan Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Sleman 55281, Yogyakarta, Indonesia

⁵Laboratorium Fisiologi Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Sleman 55281, Yogyakarta, Indonesia

*Koresponden Penulis : nastiti_wijayanti@ugm.ac.id

Abstrak

Ikan zebra banyak dipilih sebagai model hewan uji karena memiliki kemiripan fisiologis yang tinggi dengan manusia, siklus hidup yang cepat, serta embrionya yang transparan membuat kemudahan dalam visualisasi langsung perkembangan organ sehingga menjadikannya model hewan yang efektif untuk skrining efektivitas bahan alam dan pemahaman mekanisme penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek antihiperlipidemia ekstrak akuosa daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap hewan model ikan zebra (*Danio rerio* Hamilton, 1822) hiperlipidemia. Kondisi hiperlipidemia didapatkan dengan induksi menggunakan suspensi kuning telur puyuh 0,1% selama 48 jam pada ikan zebra usia 5 hari setelah fertilisasi. Konsentrasi ekstrak daun sirsak yang diberikan ditentukan berdasarkan metode MNLC (*Maximum Non-Lethal Concentration*). Berdasarkan hasil uji MNLC, konsentrasi ekstrak daun sirsak yang diberikan yaitu 1/10 MNLC, 1/3 MNLC, dan MNLC. Efek antihiperlipidemia dievaluasi berdasarkan pengukuran total trigliserida dan total kolesterol dengan metode spektrofotometri serta hasil pewarnaan dengan *Oil Red O* (ORO). Hasil uji spektrofotometri menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak daun sirsak yang paling efektif untuk menurunkan kadar trigliserida dan kolesterol pada larva ikan zebra adalah konsentrasi MNLC. Pemberian ekstrak akuosa daun sirsak dengan konsentrasi MNLC secara signifikan ($p < 0,05$) menurunkan kadar trigliserida dan kolesterol pada ikan zebra secara berturut-turut sebesar 40,52 dan 71,54%. Pengukuran spektrofotometri juga berkorelasi positif dengan hasil pewarnaan ORO yang menunjukkan adanya penurunan intensitas warna merah. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak akuosa daun sirsak berpotensi memiliki sifat antihiperlipidemia dan dapat dipelajari pada hewan model ikan zebra.

Kata kunci: Antihiperlipidemia, MNLC, pewarnaan Oil Red O, total kolesterol, trigliserida total.

Abstract

Zebrafish are often chosen as an animal model because of their high physiological similarity to humans, their rapid life cycle, and their transparent embryos that facilitate direct visualization of organ development, making them an effective animal model for screening the effectiveness of natural agents and understanding disease mechanisms. This study aimed to evaluate the antihyperlipidemic effect of soursop leaf aqueous extract (*Annona muricata* L.) on hyperlipidemic animal model zebrafish (*Danio rerio* Hamilton, 1822). Hyperlipidemic conditions were obtained by induction using a 0.1% quail egg yolk suspension for 48 hours in zebrafish aged 5 days post fertilization. The concentration of extract was determined based on the MNLC (*Maximum Non-Lethal Concentration*) method. Based on the results of the MNLC test, the determined extract concentrations were 1/10 MNLC, 1/3 MNLC, and MNLC. The antihyperlipidemic effect was evaluated based on the measurement of total triglycerides and total cholesterol using spectrophotometric method and the results of Oil Red O (ORO) staining. The results of the spectrophotometric test showed that the most effective concentration of soursop leaf aqueous extract to reduce triglyceride and cholesterol levels in zebrafish larvae was the MNLC concentration. Soursop leaf aqueous extract with MNLC concentration significantly ($p > 0.05$) reduced triglyceride and total cholesterol levels in zebrafish by 40.52 and 71.54%, respectively. Spectrophotometric measurements also positively correlated with the results of ORO staining, which showed a decrease in red color intensity. The results of this study indicate that soursop leaf aqueous extract has the potential to have antihyperlipidemic properties and can be studied in animal model zebrafish.

Keywords: Antihyperlipidemia, MNLC, Oil Red O staining, total cholesterol, total triglycerides.

Histori Artikel

Submit : 21 Januari 2026

Direvisi : 29 Januari 2026

Diterima : 30 Januari 2026

DOI : 10.33474/e-jbst.v11i2.645

Sitasi : P. K. W. Sujana, A. Vanani, R. Salamah, B. Retnoaji, N. Wijayanti, "Evaluasi Kadar Lipid Ikan Zebra (*Danio rerio* Hamilton, 1822) Model Hiperlipidemia Setelah Perlakuan Ekstrak Akuosa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)," *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, vol. 11, no. 2, pp. 104–116, Jan. 2026. <https://doi.org/10.33474/ejbst.v11i2.645>



Pendahuluan

Hiperlipidemia merupakan suatu kondisi yang ditandai dengan peningkatan kadar lipid plasma dan lipoprotein di dalam darah. Lipid plasma yaitu kolesterol, trigliserida (TG), fosfolipid, dan ester kolesterol; sedangkan lipoprotein meliputi lipoprotein densitas sangat rendah (VLDL), lipoprotein densitas rendah (LDL), dan menurunnya kadar lipoprotein densitas tinggi (HDL) [1, 2]. Hiperlipidemia dapat dikategorikan menjadi dua berdasarkan penyebabnya yaitu hiperlipidemia primer dan sekunder. Penyebab utama hiperlipidemia primer adalah formulasi genetik, sedangkan hiperlipidemia sekunder disebabkan oleh faktor lain seperti obat-obatan, penyakit yang sudah ada atau gaya hidup [2]. Gaya hidup, seperti kebiasaan merokok, konsumsi alkohol, kurang olah raga, obesitas, dan pola makan yang buruk yaitu asupan lemak lebih dari 40% dari total kalori, asupan lemak jenuh lebih dari 10% dari total kalori, dan asupan kolesterol lebih dari 300 miligram per hari [2, 3].

Hiperlipidemia telah terbukti menjadi faktor risiko utama terjadinya penyakit kardiovaskular (PKV) pada orang dewasa, seperti penyakit jantung koroner (PJK), stroke, gagal jantung, hipertensi, dan penyakit arteri perifer [2, 4]. Berdasarkan laporan terbaru dari *The Global Burden of Disease (GBD) Study*, PKV secara konsisten menjadi penyebab utama kematian di seluruh dunia [5]. Pada tahun 2023 PKV menjadi penyebab 19,2 juta kematian di seluruh dunia atau 1 dari 3 kematian global disebabkan oleh PKV [5]. Studi klinis juga telah menunjukkan bahwa hiperlipidemia meningkatkan risiko gagal jantung non-iskemik, sedangkan penurunan lipid plasma dapat memperbaiki disfungsi jantung [6]. Hal ini karena hiperlipidemia tidak hanya memengaruhi fungsi jantung dengan memicu terjadinya perkembangan aterosklerosis, melainkan juga memengaruhi fungsi sistolik dan respons elektrofisiologis jantung yang terkait dengan akumulasi lipid jantung secara bertahap [6].

Pengobatan hiperlipidemia sebagian besar melibatkan penurunan kadar lipid menggunakan obat sintesis seperti statin, fibrat, pengikat asam empedu, dan niasin [3, 7]. Namun demikian, penggunaan obat sintesis seperti statin dapat menyebabkan berbagai efek samping seperti miopati, peningkatan kadar enzim hati, peningkatan risiko gangguan atau kehilangan memori, dan dapat berakibat fatal berupa rhabdomyolysis [3, 8]. Berdasarkan hal tersebut, optimalisasi pemanfaatan bahan alam menjadi alternatif untuk mengurangi efek samping yang buruk. Bahan aktif dalam tumbuhan telah terbukti memiliki manfaat yang besar dalam mengobati hiperlipidemia dan mencegah penyakit kardiovaskular dengan sifat multi-komponen, multi-target, dan memiliki efek sitotoksik yang relatif kecil dibanding obat sintesis [9].

Indonesia sebagai salah satu megabiodiversitas dunia memiliki habitat bagi 80% spesies tumbuhan obat yang ada di dunia [10]. Terkait dengan hal tersebut, pemanfaatan tumbuhan herbal untuk kesehatan telah sejak lama ada di Indonesia sejalan dengan perkembangan peradaban masyarakat. Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) mengandung asetogenin, flavonoid, fenolik, alkaloid, minyak esensial, [11, 12], terpenoid, coumarins, tannin, dan saponin [13], yang diketahui memiliki efek antihiperlipidemia dengan menurunkan kadar trigliserida, kolesterol total dan LDL pada hewan model mencit [14-16].

Penggunaan ikan zebra (*Danio rerio*) sebagai model hewan sedang berkembang pesat di dunia saat ini. Ikan zebra banyak digunakan sebagai model hewan biomedis terutama terkait dengan penyakit yang disebabkan oleh gangguan metabolisme seperti obesitas, diabetes melitus, dislipidemia, aterosklerosis, penyakit hati, dan penyakit intestinal [17]. Ikan zebra memiliki keunggulan dalam skrining skala besar dibandingkan dengan hewan model lain, seperti kelinci, tikus dan mencit, karena ukuran tubuhnya yang kecil sehingga perawatannya mudah, jumlah keturunan yang banyak, fertilisasi eksternal, perkembangan yang cepat, transparansi embrionik yang memudahkan visualisasi langsung perkembangan organ, serta proses metabolisme lipid yang terkonservasi [18]. Faktor lain yang mendukung adalah kemiripan besar ikan zebra dengan manusia dalam hal metabolisme lipid. Ikan zebra memiliki kesamaan besar dengan manusia dalam mekanisme molekuler yang terkait dengan hiperlipidemia dan aterosklerosis, termasuk metabolisme lipid dan oksidasi lipoprotein [19]. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk optimalisasi metode induksi hiperlipidemia dan evaluasi potensi antihiperlipidemia daun sirsak pada ikan zebra sebagai model hewan hiperlipidemia.



Material dan Metode

Pemeliharaan dan Pemijahan Ikan Zebra

Ikan zebra (*Danio rerio*) wt/wild type diperoleh dari Laboratorium Struktur dan Perkembangan Hewan Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada. Ikan dewasa siap pijah dipelihara dalam akuarium dengan kondisi pH 7,1 - 7,4, suhu 26,5 - 28°C, dan DO 5 - 7,5 mgL². Pencahayaan diatur dalam fotoperiode 14 jam terang dan 10 jam gelap. Pemijahan ikan zebra dilakukan dalam *breeding chamber* dengan rasio jantan dan betina 1:2, ikan dibiarkan selama 14 jam dalam keadaan gelap. Keesokan harinya setelah terjadi fertilisasi, ikan zebra dewasa dipindahkan untuk menghindari kanibalisme. Telur ikan zebra dipelihara dalam akuarium hingga berusia 5 dpf (*day post fertilization*).

Pembuatan Ekstrak Akuosa Daun Sirsak

Daun sirsak yang telah dikoleksi dicuci dengan air bersih kemudian dikering anginkan sebelum dijadikan simplisia. Sebanyak 50 gram simplisia daun sirsak ditambahkan akuades 500 ml (1:10 b/v) dan dipanaskan dengan penangas hingga suhu 90°C selama 15 menit. Infusa kemudian disaring menggunakan kertas saring dan filtrat diuapkan dalam oven pada suhu 70°C hingga kering.

Penentuan *Maximum Non-lethal Concentration* (MNLC)

Penentuan nilai MNLC menggunakan ekstrak akuosa daun sirsak dengan konsentrasi bertingkat yaitu 250 hingga 3000 µg/ml. Masing-masing perlakuan menggunakan 15 larva ikan zebra 5 dpf dengan 3 kali pengulangan. Larva ikan zebra 5 dpf dimasukkan ke dalam 6 *multiwell plate* yang berisi ekstrak akuosa daun sirsak selama 48 jam. Pada akhir pengujian mortalitas larva ikan zebra dihitung. Larva ikan zebra yang telah mati, ditandai dengan tidak adanya detak jantung saat diamati dengan mikroskop. Nilai MNLC ditentukan berdasarkan data mortalitas larva ikan zebra yang diperoleh [20, 21], untuk digunakan sebagai acuan dalam penentuan konsentrasi.

Pembuatan Model Ikan Zebra Hiperlipidemia

Sebanyak 10 ekor larva ikan zebra 5 dpf dipelihara di dalam 1 mL larutan 0,1% rebusan kuning telur puyuh selama 48 jam. Larutan kuning telur puyuh yang digunakan, sebelumnya disaring menggunakan kertas saring. Selama inkubasi 48 jam, suspensi rebusan kuning telur 0,1% diganti setiap 4 jam [20, 22].

Perlakuan Ekstrak Akuosa Daun Sirsak pada Larva Ikan Zebra Hiperlipidemia

Larva ikan zebra hiperlipidemia dipelihara dalam larutan ekstrak akuosa daun sirsak selama 48 jam. Berdasarkan hasil MNLC digunakan 3 konsentrasi berbeda, yaitu 1/10, 1/3 dan MNLC. Pada penelitian ini juga digunakan obat generik hipolipidemia sebagai pembanding yaitu Simvastatin. Konsentrasi Simvastatin yang digunakan adalah 0,1 µM [20].

Pengukuran Kadar Triglisierida

Sebanyak 10 ekor larva ikan zebra yang telah dieutanasi dihomogenisasi secara perlahan dalam PBS dingin (1:10) dalam tabung mikro menggunakan *pestle*. Sampel homogenat larva ikan zebra, larutan blangko (akuades) dan larutan standar 200 mg/dL disiapkan dalam tabung mikro terpisah, masing-masing sampel yang digunakan sebanyak 2 µL, ditambahkan reagen TG (Dyasis) sebanyak 2000 µL. Semua campuran tersebut dihomogenkan lalu diinkubasi dalam suhu ruangan (20 - 25°C) selama 30 menit. Pembacaan dilakukan menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang (λ) 490 nm. Perhitungan kadar triglisierida hasil dari pembacaan absorbansi dapat ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar trigliserida (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{absorbansi standar}} \times \text{konsentrasi standar}$$

Pengukuran Kadar Kolesterol Total

Sebanyak 2 µL sampel homogenat larva ikan zebra, larutan blangko (akuades) dan larutan standar 200 mg/dL disiapkan dalam tabung mikro terpisah, masing-masing ditambahkan reagen kolesterol (Dyasis) sebanyak 2000 µL. Semua campuran tersebut dihomogenkan lalu diinkubasi dalam suhu ruangan (20 - 25°C) selama 30 menit. Pembacaan dilakukan menggunakan *microplate reader*



dengan panjang gelombang (λ) 490 nm. Kadar kolesterol total dapat diperoleh dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar kolesterol total (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{absorbansi standar}} \times \text{konsentrasi standar}$$

Pewarnaan Lipid *Oil Red O* (ORO)

Larva ikan zebra difiksasi dengan paraformaldehid 4% selama 8 - 12 jam pada suhu ruang. Setelah itu dicuci dengan PBS sebanyak 2 kali dan didehidrasi menggunakan metanol bertingkat dalam PBT (25, 50, 75, dan 100%). Larva ikan zebra diberi pewarna ORO 0,5% selama 24 jam kemudian didehidrasi kembali dengan PBT 100%, selanjutnya diamati di bawah mikroskop [20].

Analisis Statistik

Data kuantitatif untuk pengujian kadar lipid menggunakan spektrofotometer dengan 3 kali pengulangan untuk masing-masing parameter. Data dianalisis dengan *one-way* ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95% dan tingkat signifikansi = 0,05. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan analisis data dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*). Keseluruhan data diekspresikan sebagai rerata $\pm$ standar error. Data kualitatif yang diperoleh berupa data hasil pewarnaan ORO.

Hasil dan Diskusi

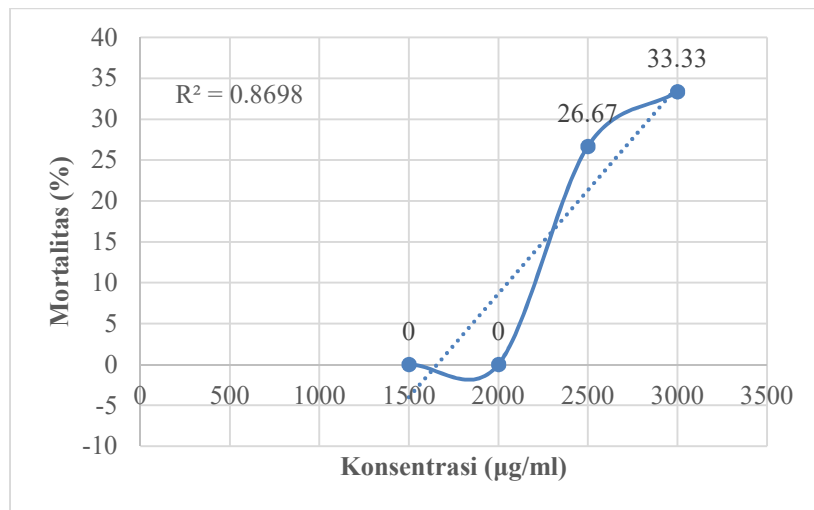
Maximum Non-Lethal Concentration (MNLC) Ekstrak Akuosa Daun Sirsak terhadap Larva Ikan Zebra

Toksisitas ekstrak akuosa daun sirsak terhadap larva ikan zebra disajikan dalam persentase mortalitas larva ikan sebagaimana disajikan pada Tabel 1. Perlakuan diberikan selama 48 jam dengan penggantian ekstrak setiap 24 jam.

Tabel 1. Mortalitas larva ikan zebra dalam setiap ulangan, setelah 48 jam perlakuan ekstrak akuosa daun sirsak

Konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g/ml}$)	Mortalitas larva ikan zebra (<i>Danio rerio</i>)			
	I	II	III	% Kematian
250	0	0	0	0,00
500	0	0	0	0,00
750	0	0	0	0,00
1000	0	0	0	0,00
1500	0	0	0	0,00
2000	0	0	0	0,00
2500	1	1	2	26,67
3000	2	2	1	33,33

Pada konsentrasi 250 hingga 2000 $\mu\text{g/mL}$ tidak terdapat efek mortalitas yang teramati. Efek mortalitas ekstrak akuosa daun sirsak mulai teramati pada konsentrasi 2500 $\mu\text{g/ml}$ dengan persentase kematian sebesar 26,67% dan pada konsentrasi 3000 $\mu\text{g/ml}$ sebesar 33,33%. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak akuosa daun sirsak tidak bersifat toksik hingga 2000 $\mu\text{g/ml}$. Pada Gambar 1, diperoleh nilai *R Square* (R^2) sebesar 0,8698 yang berarti 86,98% variabilitas tingkat toksisitas ditentukan oleh konsentrasi ekstrak akuosa daun sirsak yang digunakan dalam perlakuan tersebut. MNLC merupakan konsentrasi maksimal dimana tidak terjadi peningkatan kematian secara signifikan [23]. Berdasarkan data kematian ikan zebra yang diinduksi ekstrak akuosa daun sirsak, dapat disimpulkan bahwa nilai MNLC ekstrak akuosa daun sirsak yaitu 2000 $\mu\text{g/ml}$.

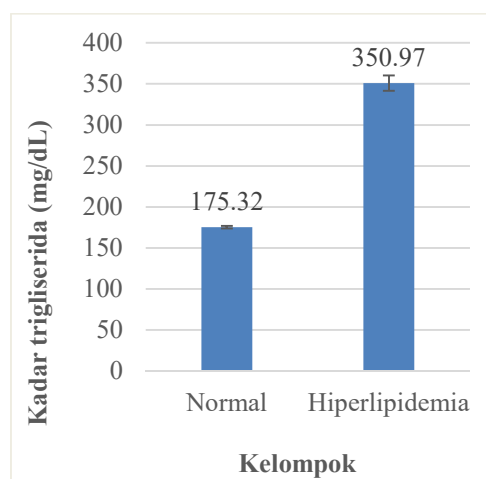


Gambar 1. Persentase kematian ikan zebra setelah pemberian perlakuan ekstrak akuosa daun sirsak

Ikan zebra telah banyak digunakan sebagai model penelitian terutama dalam toksikologi dan penemuan obat karena memiliki mekanisme fisiologis molekuler dan seluler yang sama dengan mammalia. Selain itu ikan zebra juga memiliki embrio dan larva transparan sehingga dapat dilakukan pengamatan organ dalam secara langsung dengan mikroskop. Selama organogenesis embrio ikan zebra bersifat *permeable* terhadap molekul kecil dan obat-obatan. Hal tersebut memberikan akses yang mudah saat melakukan induksi obat dan pewarnaan vital [24].

Induksi Hiperlipidemia

Keberhasilan induksi hiperlipidemia pada ikan zebra 5 dpf dengan suspensi kuning telur puyuh 0,1% selama 48 jam dapat dilihat pada Gambar 2. Ikan zebra 5 dpf merupakan usia yang optimal untuk digunakan sebagai model penelitian khususnya hiperlipidemia. Saat embrio ikan zebra memiliki kantung kuning telur yang merupakan satu-satunya sumber nutrisi untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Kantong telur tersebut akan habis sampai umur 5 dpf sehingga ikan zebra mulai makan dengan bebas pada waktu tersebut. Larva ikan zebra pada umur 5 dpf sistem pencernaannya mulai berfungsi termasuk usus, hati, dan kantong empedu [25].



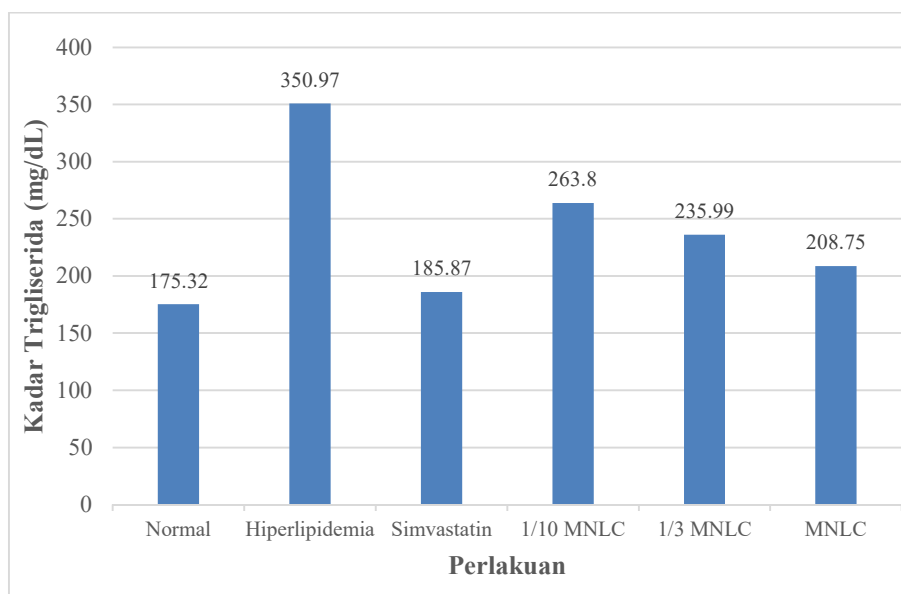
Gambar 2. Rerata kadar trigliserida pada larva ikan zebra yang diinduksi hiperlipidemia

Rerata kadar trigliserida (TG) pada larva ikan zebra yang diinduksi hiperlipidemia lebih tinggi dibandingkan dengan kondisi normal. Pada larva ikan zebra hiperlipidemia, kadar TG yaitu 350,97 mg/dL, dua kali lebih tinggi dibandingkan pada larva ikan zebra normal sebesar 175,32 mg/dL. Hal

tersebut disebabkan oleh lipid yang terdapat dalam pakan ikan zebra. Kadar lipid ikan ditentukan dari banyak faktor fisiologi meliputi umur, spesies, strain, suhu, jenis pakan dan siklus reproduksi [26].

Kadar Trigliserida (TG) Larva Ikan Zebra Hiperlipidemia setelah pemberian Ekstrak Akuosa Daun Sirsak

Kadar TG setelah perlakuan ekstrak akuosa daun sirsak selama 48 jam pada ikan zebra hiperlipidemia dapat dilihat pada Gambar 3. Kadar TG tertinggi adalah kontrol hiperlipidemia yaitu 350,97 mg/dL, sedangkan kadar trigliserida paling rendah adalah kontrol normal yaitu 175,32 mg/dL. Perlakuan ekstrak akuosa daun sirsak mampu menurunkan kadar trigliserida meski belum mencapai kondisi terbaik sebagaimana kontrol normal. Namun, penurunan kadar TG seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak akuosa daun sirsak yang diberikan, berturut-turut untuk konsentrasi rendah ke tinggi yaitu kelompok perlakuan 1/10 MNLC, 1/3 MNLC dan MNLC dengan nilai TG 263,8; 235,99; dan 208,75 mg/dL. Dengan hasil ini tampak penurunan TG terjadi perlahan-lahan dan penambahan waktu perlakuan dapat menjadi alternatif untuk mengembalikan kondisi TG pada kadar normal. Pada kontrol positif yang menggunakan Simvastatin 0,1 μ M memiliki kadar TG sebesar 185,87 mg/dL.



Gambar 3. Kadar trigliserida dalam homogenat larva ikan zebra hiperlipidemia setelah perlakuan ekstrak akuosa daun Sirsak selama 48 jam.

Tabel 2. Kadar trigliserida dalam homogenat larva ikan zebra setelah perlakuan ekstrak akuosa daun Sirsak

Kelompok	Kadar TG (mg/dL)
Normal	175,32 $\pm$ 1,39 ^a
Hiperlipidemia	350,97 $\pm$ 9,41 ^d
Simvastatin	185,87 $\pm$ 1,98 ^a
1/10 MNLC	263,80 $\pm$ 7,80 ^c
1/3 MNLC	235,99 $\pm$ 2,53 ^b
MNLC	208,75 $\pm$ 1,31 ^b

Keterangan: **abcd**= notasi untuk membandingkan antar kelompok perlakuan, notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan pada tingkat signifikansi 5% ($P < 0,05\%$)



Berdasarkan hasil analisis statistik yang ditunjukkan pada Tabel 2, diketahui bahwa kelompok perlakuan 1/10 MNLC, 1/3 MNLC, MNLC, dan Simvastatin menunjukkan perbedaan yang nyata dengan kontrol hiperlipidemia. Kelompok perlakuan 1/3 MNLC (~650 µg/mL) tidak berbeda nyata dengan MNLC, hal ini menunjukkan konsentrasi yang lebih rendah dari MNLC memiliki kemampuan penurunan kadar TG yang relatif sama dengan konsentrasi MNLC (2000 µg/mL).

Pemberian ekstrak akuosa daun sirsak pada ketiga variasi konsentrasi dapat menurunkan kadar trigliserida. Penurunan kadar trigliserida tersebut disebabkan oleh senyawa kimia yang terdapat pada tanaman sirsak. Potensi antihiperlipidemia tanaman sirsak telah banyak dipelajari pada tikus sebagai hewan coba. Berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya ekstrak akuosa dan etanol daun sirsak mampu menurunkan kadar trigliserida dan kolesterol pada tikus yang diberi pakan tinggi lemak [27-30]. Penelitian ini menunjukkan penggunaan ikan zebra juga mampu digunakan sebagai model hewan uji hiperlipidemia.

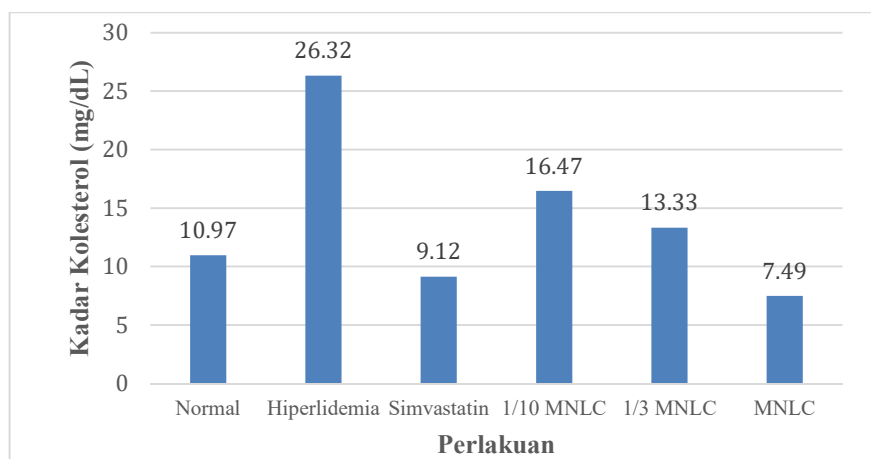
Ekstrak daun sirsak memiliki metabolit sekunder seperti asetogenins, alkaloid, flavonoid, triterpenoid, kumarin, saponin, tanin, dan fenol yang memiliki potensi sebagai hipoglikemik, hipolipidemic, hipotensi, dan anti-inflamasi [31-33]. Flavonoid berperan dalam menurunkan kadar trigliserida dengan cara meningkatkan aktivitas lipoprotein lipase sehingga berpengaruh terhadap penurunan trigliserida [34, 35].

Saponin dapat menyebabkan penurunan hiperlipidemia dengan berperan dalam menurunkan penyerapan lemak dalam usus yaitu menghambat kerja enzim lipase pada pankreas dan mengurangi kilomikron dalam darah [36]. Senyawa fenol juga dapat menurunkan kadar kolesterol total dalam darah melalui penghambatan proses esterifikasi kolesterol dan menurunkan sekresi lipoprotein pada hati dan usus. Melalui mekanisme penghambatan proses esterifikasi kolesterol fenol dapat menurunkan kadar trigliserida. Selain itu juga melalui mekanisme inhibisi Apo B-48 dan Apo B-100 yang terdapat dalam enterosit dan hepar fenol dapat menurunkan produksi kilomikron, VLDL, IDL, LDL dan trigliserida [37].

Pemberian Simvastatin sebagai pembanding terbukti dapat menurunkan kadar trigliserida pada ikan zebra terlihat dari selisih kadar trigliserida dengan kontrol hiperlipidemia yang tinggi dan tidak berbeda nyata dengan kontrol normal. Mekanisme kerja Simvastatin yaitu menghambat aktivitas HMG Co-A reduktase (3-Hidroksi-3-metilglutaril koenzim A reduktase) yang merupakan enzim pengkatalis HMG Ko-A menjadi asam mevalonat. Proses tersebut adalah langkah awal dari sintesa kolesterol. Namun Simvastatin dapat memberikan pengaruh toksik terhadap ikan zebra jika diberikan secara langsung dalam media air, sehingga penggunaan jangka panjang dapat diberikan dengan pencampuran dalam pakannya [38].

Kadar Kolesterol Total Larva Ikan Zebra Hiperlipidemia setelah pemberian Ekstrak Akuosa Daun Sirsak

Gambar 4 menunjukkan adanya perbedaan kadar kolesterol total pada kelompok kontrol hiperlipidemia, kelompok perlakuan dengan ekstrak akuosa daun sirsak, dan kelompok kontrol positif dengan pemberian Simvastatin. Uji statistik menunjukkan terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) kadar kolesterol pada semua kelompok. Uji lanjut dengan uji DMRT (Tabel 3) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok perlakuan dengan ekstrak akuosa daun sirsak terhadap kelompok kontrol hiperlipidemia. Begitupula pada kelompok kontrol positif dengan pemberian Simvastatin terhadap kelompok kontrol hiperlipidemia yang menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$).



Gambar 4. Kadar kolesterol dalam homogenat larva ikan zebra hiperlipidemia setelah perlakuan ekstrak akuosa daun sirsak selama 48 jam.

Rerata kadar kolesterol total terendah ditunjukkan oleh perlakuan dengan MNLC dibandingkan dengan semua kelompok uji yakni sebesar 7,49 mg/dL. Kadar yang ditunjukkan oleh perlakuan dengan MNLC bahkan lebih rendah dibandingkan kelompok dengan pemberian Simvastatin (9,12 mg/dL), meskipun perbedaan tersebut tidak signifikan secara statistik. Kadar kolesterol dalam homogenat larva ikan zebra dengan perlakuan 1/3 MNLC menunjukkan rata-rata sebesar 13,33 mg/dL lebih tinggi dibanding perlakuan dengan MNLC, tetapi lebih rendah dibanding perlakuan dengan 1/10 MNLC (16,47 mg/dL). Namun, perbedaan tersebut tidak signifikan secara statistik. Perbedaan kadar kolesterol total yang signifikan ($p < 0,05$) ditunjukkan oleh perlakuan MNLC dibanding perlakuan 1/10 MNLC. Berdasarkan hasil penelitian, efektivitas hipolipidemik tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan dengan MNLC yang ditandai dengan kadar kolesterol total terendah dan berbeda signifikan dengan kelompok kontrol hiperlipidemia (26,32 mg/dL).

Tabel 3. Kadar kolesterol dalam homogenat larva ikan zebra setelah perlakuan ekstrak akuosa daun Sirsak

Kelompok	Kadar Kolesterol (mg/dL)
Normal*	~10,97
Hiperlipidemia	26,32 ^c
Simvastatin	9,12 ^a
1/10 MNLC	16,47 ^b
1/3 MNLC	13,33 ^{ab}
MNLC	7,49 ^a

Keterangan: **abc**: notasi untuk membandingkan antar kelompok perlakuan, notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan pada tingkat signifikansi 5% ($P < 0,05\%$). *Sumber: Baek *et al.*, [38]

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun sirsak memiliki potensi terapeutik yang nyata dalam mengelola hiperlipidemia. Efek penurunan kolesterol yang kuat ini menunjukkan adanya aktivitas biologis dalam ekstrak yang mampu memengaruhi metabolisme lipid, sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tannin, saponin dan asetogenin dalam daun sirsak berperan dalam modulasi profil lipid [39, 40]. Efek hipolipidemik ekstrak daun sirsak juga telah ditunjukkan pada model hewan tikus dengan penurunan signifikan kolesterol total [41].

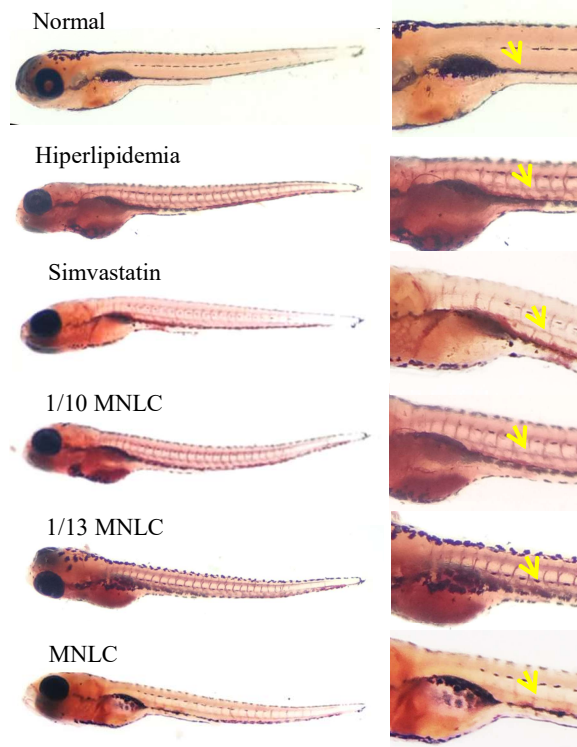
Flavonoid diketahui dapat menghambat enzim 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) reduktase, yang merupakan enzim pembatas laju dalam jalur biosintesis kolesterol endogen [42].

Mekanisme ini mirip dengan cara kerja obat golongan statin [43], sehingga berpotensi menjelaskan efektivitas ekstrak daun sirsak dapat mirip atau melampaui efektivitas Simvastatin dalam beberapa perlakuan.

Selain penghambatan sintesis, mekanisme lain melibatkan peningkatan ekskresi kolesterol dari tubuh. Kandungan saponin dalam ekstrak memfasilitasi pengikatan asam empedu di saluran pencernaan. Kompleks asam empedu-saponin ini kemudian dikeluarkan melalui feses, memaksa hati untuk menggunakan lebih banyak kolesterol yang bersirkulasi dalam darah sebagai bahan baku untuk memproduksi asam empedu baru, sehingga menurunkan kadar kolesterol total dalam serum [44]. Efek antioksidan kuat dari flavonoid juga berperan dengan mengurangi stres oksidatif yang terkait dengan hiperlipidemia, memberikan manfaat ganda dalam manajemen kesehatan kardiovaskular secara keseluruhan [45].

Profil *Whole Mount* Ikan Zebra dengan Pewarnaan ORO

Pewarnaan *Oil Red O* (ORO) digunakan untuk mengonfirmasi hasil pengukuran parameter biokimia kadar trigliserida dan total kolesterol pada larva ikan zebra hiperlipid setelah perlakuan ekstrak akuosa daun sirsak. *Oil Red O* (ORO) digunakan untuk memvisualisasikan kandungan lipid diseluruh tubuh, usus, dan pembuluh darah dilakukan diakhir penelitian. Pewarna ORO merupakan metode yang sering digunakan untuk menganalisis dan mengamati lipid pada ikan zebra hiperlipidemia. Embrio dan larva ikan zebra berukuran kecil, transparan, dan tembus cahaya sehingga memungkinkan untuk visualisasi organ dan proses biologis dengan resolusi tinggi [46]. Tinggi rendahnya kadar lipid pada ikan zebra yang divisualisasikan dengan pewarnaan ORO dapat diketahui berdasarkan intensitas warna merah [47]. Berdasarkan Gambar 5 dapat dilihat bahwa kadar lipid paling tinggi terdapat pada kelompok kontrol hiperlipidemia kemudian kelompok perlakuan 1/10 MNLC, 1/3 MNLC, MNLC, Simvastatin, dan paling rendah adalah kontrol normal. Hasil visualisasi kadar lipid dengan pewarnaan ORO tersebut sesuai dengan kadar trigliserida yang diukur secara kuantitatif (Tabel 2).



Gambar 5. Profil *whole mount* larva ikan zebra hiperlipidemia setelah perlakuan ekstrak akuosa daun Sirsak dengan pewarnaan ORO



Pada kontrol hiperlipidemia lipid teramati pada bagian usus dan pembuluh darah dengan warna merah pekat yang berarti kandungan lipid pada bagian tersebut tinggi. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Zhou *et al.* [20] bahwa ikan zebra setelah diinduksi pakan tinggi lipid selama 24 dan 48 jam kemudian diwarnai dengan ORO mengalami peningkatan lipid pada saluran pencernaan dan pembuluh darah. Pada perlakuan konsentrasi 1/10 MNLC, lipid pada saluran pencernaan dan pembuluh darah masih melimpah namun tidak sebanyak kontrol hiperlipidemia. Pada perlakuan 1/3 MNLC, lipid pada saluran pencernaan masih melimpah namun pada pembuluh darah menurun. Pada perlakuan MNLC, lipid pada saluran pencernaan dan pembuluh darah menurun. Lipid pada saluran pencernaan dan pembuluh darah menurun drastis pada perlakuan Simvastatin. Pada kontrol normal hampir tidak ditemukan lipid pada saluran pencernaan maupun pembuluh darah.

Efektivitas ekstrak akuosa daun Sirsak dibandingkan dengan Simvastatin sebagai antihiperlipidemia merupakan hasil yang menarik. Data dosis respons juga memperkuat hasil tersebut, konsentrasi yang lebih tinggi menunjukkan efektivitas yang lebih besar dibandingkan dosis yang lebih rendah, dengan perbedaan signifikan antara konsentrasi MNLC dan 1/10 MNLC. Hasil ini konsisten dengan prinsip farmakologi bahwa efek biologis seringkali bersifat *dose-dependent* [48]. Hasil ini menunjukkan potensi daun sirsak sebagai agen hipolipidemik alami alternatif atau pelengkap untuk manajemen hiperlipidemia, dan pengembangan ikan zebra hiperlipidemia sebagai alternatif hewan model dapat dikembangkan untuk penelitian potensi bahan alam yang lain.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak akuosa daun sirsak dapat menurunkan kadar kolesterol pada ikan zebra hiperlipidemia dan tidak berbeda signifikan dengan simvastatin, tetapi tidak dengan kadar trigliserida. Efektivitas antihiperlipidemia tertinggi yaitu pada konsentrasi tinggi (MNLC).

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada atas dukungan yang telah diberikan melalui Hibah Penelitian Kolaborasi Dosen dan Mahasiswa tahun 2020 (a.n NW).

Daftar Pustaka

- [1] K. J. Ezeh, dan O. Ezeudemba, "Hyperlipidemia: a review of the novel methods for the management of lipids", *Cureus*, vol 13, no. 7, 2021
- [2] F. Mainieri, S. La Bella, dan F. Chiarelli, "Hyperlipidemia and cardiovascular risk in children and adolescents". *Biomedicines*, vol 11, no. 3, pp. 809, 2023.
- [3] S. Dhaliya, A. Surya, V. Dawn, C. Betty, K. Arun, dan C. Sunil, "A review of hyperlipidemia and medicinal plants," *International Journal of Applied Pharmaceutical Sciences and Bio-medical Sciences*, vol. 2, no. 4, pp. 219-237, 2013.
- [4] J. Stewart, T. McCallin, J. Martinez, S. Chacko, dan S. Yusuf, "Hyperlipidemia", *Pediatrics in review*, vol. 41, no. 8, pp. 393-402, 2020.
- [5] Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risks 2023 Collaborators, "Global, regional, and national burden of cardiovascular diseases and risk factors in 204 countries and territories, 1990-2023", *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 86, no. 22, pp. 2167-2243, 2025.
- [6] Y. S. Yao, T. D. Li, dan Z. H. Zeng, "Mechanisms underlying direct actions of hyperlipidemia on myocardium: an updated review", *Lipids in Health and Disease*, vol. 19, no. 1, pp. 23. 2020.
- [7] A. Rauf, M. Akram, H. Anwar, M. Daniyal, N. Munir, S. Bawazeer, M. Rebezov, A. Bouyahya, M. A. Shariati, M. Thiruvengadam, O. Sarsembenova, Y. N. Mabkhot, M. N. Islam, T. B. Emran, S. Hodak, G. Zengin, dan H. Khan, "Therapeutic potential of herbal medicine for the management of hyperlipidemia: latest updates", *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 29, no. 27, pp. 40281-40301, 2022.
- [8] A. Pulungan, dan Y. S. Pane, "The benefit of cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) in lowering total cholesterol levels after consumption of high-fat containing foods in white mice (*Mus*



- musculus*) models”, *F1000Research*, vol. 9, pp. 168, 2020.
- [9] H. Aldal’in, A. H. Al-Nadaf, A. Awadallah, S. Thiab, dan H. M. Bastoni, “Methanolic extract of *S. securidaca* flowers, leaves, and seeds' antihyperlipidemic effects on high fat diet-induced hyperlipidemia in Wistar rats”, *Brazilian Journal of Biology*, vol 83, no. e275382, 2023.
- [10] S. Astutik, J. Pretzsch, J. N. Kimengsi, dan G. Kapp, “Medicinal plants production systems in rural Indonesia: Management practices and performance insights”, *Forest Policy and Economics*, vol. 153, no. 102972, 2023.
- [11] G. A. Hernandez-Fuentes, O. G. Delgado-Enciso, E. G. Larios-Cedeño, J. M. Sánchez-Galindo, S. G. Ceballos-Magaña, K. Pineda-Urbina, M. A. Alcalá-Pérez, N. E. Magaña-Vergara, J. Delgado-Enciso, U. Díaz-Llerenas, J. Diaz-Martinez, I. Garza-Veloz, M. L. Martinez-Fierro, I. P. Rodriguez-Sanchez, dan I. Delgado-Enciso, “Comparative Analysis of Infusions and Ethanolic Extracts of *Annona muricata* Leaves from Colima, Mexico: Phytochemical Profile and Antioxidant Activity”, *Life*, vol. 14, no. 12, pp. 1702, 2024.
- [12] R. H. Abdallah, A. S. R. Al-Attar, Y. M. Shehata, D. M. Abdel-Fattah, R. M. Atta, O. I. Fantoukh, dan A. M. Mustafa, “Comprehensive Chemical Profiling and Mechanistic Insight into Anticancer Activity of *Annona muricata* Leaves Extract”, *Pharmaceuticals*, vol. 17, no. 5, pp. 614, 2024.
- [13] M. T. Nguyen, V. T. Nguyen, L. V. Minh, L. H. Trieu, M. H. Cang, L. B. Bui, X. T. Le, dan V. T. Danh, “Determination of the phytochemical screening, total polyphenols, flavonoids content, and antioxidant activity of soursop leaves (*Annona muricata* Linn.)”, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, vol. 736, no. 6, pp. 062011, 2020.
- [14] R. K. Upadhyay, “Antihyperlipidemic and cardioprotective effects of plant natural products: A review”, *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, vol. 15, no. 1, pp. 11-29, 2021.
- [15] S. Sasso, P. C. S e Souza, L. F. Santana, C. A. L. Cardoso, F. M. Alves, L. C. Portugal, B. B. de Faria, A. F. da Silva, A. R. C. Motta-Casto, L. S. Soares, L. M. Bandeira, R. C. A. Guimaraes dan K C. Freitas, “Use of an Extract of *Annona muricata* Linn to Prevent High-Fat Diet Induced Metabolic Disorders in C57BL/6 Mice”, *Nutrients*, vol. 11, no.7, pp. 1-22, 2019.
- [16] A. Candra dan H. F. Darge, “Impact of honey-enriched soursop leaves (*Annona muricata*) kombucha on lipid profiles and hypoglycemic properties: An *in-vivo* study”, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol.68, pp. 1-7, 2025.
- [17] T. Teama, Z. Zhang, C. Ran, H. Zhang, Y. Yang, Q. Ding, M. Xie, C. Gao, Y. Ye, M. Duan, dan Z. Zhou, “The Use of Zebrafish (*Danio rerio*) as Biomedical Models”, *Animal Frontiers*, vol. 9, no. 3, pp. 68-77, 2019.
- [18] D. Tang, F. Geng, C. Yu, dan R. Zhang, “Recent application of zebrafish models in atherosclerosis research”, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, vol. 9, no. 643697, 2021.
- [19] J. Ka, dan S. W. Jin, “Zebrafish as an emerging model for dyslipidemia and associated diseases”, *Journal of Lipid and Atherosclerosis*, vol. 10, no. 1, pp. 42-56, 2020.
- [20] J. Zhou, Y. Xu, S. Guo, dan C. Li, “Rapid Analysis of Hypolipidemic Drugs in A Live Zebrafish Assay”, *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, vol. 72, pp. 47-52, 2015.
- [21] Y. Chu, L. Zhang, X. Zhu, Y. Zhang, B. Xia, L. Hou, R. Song, T. Li, C. Li, Q. Dong, dan X. Chen, “Investigation of Hemostatic Effect of Spleen Invigorating, Qi-replenishing and Blood Arresting Formula on Simvastatin-induce zebrafish Hemorrhage Model”, *Journal of Traditional Chinese Medical Sciences*, vol. 3, pp. 226-233, 2016.
- [22] K. Chen, C. Wang, Y. Fan, Y. Xie, Z. Yin, Z. Xu, H. Zhang, Z. Cao, Y. Wang, dan D. Song, “Optimizing Methods for Study of Intravascular Lipid Metabolism in Zebrafish”, *Molecular Medicine Reports*, vol.11, 1871-1876, 2015.
- [23] S. Li, Y. Jiang, Q. Sun, S. Coffin, L. Chen, K. Qiao, W. Gui, G. Zhu, “Tebuconazole Induced Oxidative Stress Related Hepatotoxicity in Adult and Larval Zebrafish (*Danio rerio*)”, *Chemosphere*, vol. 241, no. 125129, 2019.
- [24] G. Kari, U. Rodeck, dan A. P. Dicker, “Zebrafish: An Emerging Model System for Human Disease and Drug Discovery”, *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, vol. 82, no. 1, pp 70-81, 2007.
- [25] V. H. Quinlivan, dan S. A. Farber, “Lipid Uptake, Metabolism, and Transport in the Larval



- Zebrafish", *Frontiers in endocrinology*, vol. 8, no. 319, 2017.
- [26] N. Soranganba, "Assessment of seasonal triglycerides levels in different age groups of Amur common carp associated with reproduction", *The Pharma Innovation Journal*, vol. 11, no. 11, pp. 154-157, 2022
- [27] B. Ahalya, K. R. Shankar, dan G. V. Kiranmayi, "Exploration of Anti-hyperglycemic and Hypolipidemic Activities of Ethanol Extract of *Annona muricata* Bark in Alloxan Induced Diabetic Rats", *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, vol. 25, no. 2, pp. 21-27, 2014.
- [28] M. A. Dede, P. Pandarangga, dan M. M. Laut, "Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Terhadap Gambaran Histopatologi dan Pembuluh Darah Aorta Kelinci (*Oryctogalus cuniculus*) hiperkolesterolemia", *Jurnal Veteriter Nusantara*, vol. 2, no. 2, pp. 30-43, 2019.
- [29] J. P. Uneputti, P. V. Y. Yamlean, dan N. S. Kojong, "Potensi Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Kadar kolesterol Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*)", *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi*, vol. 2, no. 2, pp. 56-61, 2013.
- [30] L. Yuniarti, M. K. Dewi, U. A. Lantika, dan T. Bhatara, "Potensi Ekstrak Air Daun Sirsak sebagai Penurun kolesterol dan Pengendali Berat Badan", *Acta Veterinaria Indonesiana*, vol. 4, no. 2, pp. 81-87, 2016.
- [31] S. O. Adewole, dan J. A. O. Ojowole, "Protective Effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) Leaf Aqueous Extract on Serum Lupud Profiles and Oxidative Stress in Hepatocytes of Streptozotocin-Trated Diabetic Rats", *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, vol. 6, no. 1, pp. 30-41, 2009.
- [32] A. V. Coria-Tellez, E. Montalvo-Gonzalez, E. M. Yahia, dan E. N. Obledo-Vazquez, "*Annona muricata*: A comprehensive Review on its Traditional Medicinal Uses, Phytochemicals, Pharmacological Activities, Mechanisms of Action and Toxicity", *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 11, no. 5, pp. 662-691, 2018.
- [33] A. O. Errayes, W. A. Mohammed, dan M. O. Darwish, "Review of Phytochemical and Medical Application of *Annona muricata* Fruits", *Journal of Chemical Reviews*, vol. 2, no. 1, pp. 70-79, 2020.
- [34] R. I. Iskandar, N. Handayani, dan T. Sri, "Pengaruh Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Penurunan Kadar kolesterol Mencit Jantan (*Mus musculus*) Galur Swiss Webster", *Jurnal Buletin Media Informasi*, vol. 13, no. 1, pp. 1-8, 2017.
- [35] A. R. Yuliana, dan M. Ardriaria, "Efek Pemberian Seduhan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap Kadar Trigliserida Tikus Sprague Dawley Dislipidemia", *Journal of Nutrition College*, vol. 5, no. 4, pp. 428-437, 2016.
- [36] N. Karu, R. Reifen, dan Z. Kerem, "Weight Gain Reduction in Mice Fed Panax gingseng Saponin, a Pancreatic Lipase Inhibitor", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 55, pp. 2824-2828, 2007.
- [37] Y. Listianasari, P. Dirgahayu, B. Wasita, dan A. M. P. Nuhriawangsa, "Efektivitas Pemberian Jus Labu Siam (*Sechium edule*) terhadap Profil Lipid Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Hiperlipidemia", *Penelitian Gizi dan Makanan*, vol. 40, no. 1, pp. 35-43, 2017.
- [38] J. S. Baek, L. Fang, A. C. Li, Y. I. Miller, "Ezetimibe and Simvastatin Reduce Cholesterol Levels in Zebrafish Larvae Fed a High-Cholesterol Diet", *Cholesterol*, vol. 2012, no. 1, pp. 564705, 2012.
- [39] V. C. George, D. R. Kumar, V. Rajkumar, P. K. Suresh, dan R. A. Kumar, "Quantitative assessment of the relative antineoplastic potential of the n-butanolic leaf extract of *Annona muricata* Linn. in normal and immortalized human cell lines", *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, vol. 13, no. 2, pp. 699-704, 2012.
- [40] S. Z. Moghadamtousi, M. Fadaeinasab, S. Nikzad, G. Mohan, H. M. Ali, dan H. A. Kadir, "*Annona muricata* (Annonaceae): a review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities", *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 16, no. 7, pp. 15625-15658, 2015.



- [41] E. Sovia, W. Ratwita, D. Wijayanti, dan D. R. Novianty, "Hypoglycemic and Hypolipidemic Effects of *Annona Muricata* L. Leaf Ethanol Extraxt", *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, vol. 9, no. 3, pp. 170-174, 2017.
- [42] I. P. B. A. Saputra, dan I. P. D. Arjita, "The potential of flavonoid derivative compounds as inhibitors of the HMG-CoA reductase enzyme for candidate of hypercholesterolemia drugs", *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, vol. 10, no. 5, pp. 2286-2293, 2024.
- [43] R. L. Wulandari, S. Susilowati, dan M. Asih, "Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) dan Simvastatin Terhadap Kadar Kolesterol Total dan Low Density Lipoprotein (LDL) Tikus Yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak", *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, pp. 24-32, 2015.
- [44] G. Francis, Z. Kerem, H. P. Makkar, dan K. Becker, "The biological action of saponins in animal systems: a review", *British Journal of Nutrition*, vol. 88, no. 6, pp. 587-605, 2002.
- [45] R. D. Ayunda dan S. Malita, "Pemanfaatan Senyawa Flavonoid sebagai Antioksidan pada Penderita Hiperkolesterolemia: Studi Literatur," *Jurnal Kedokteran (Unram Medical Journal)*, vol. 13, no. 3, pp. 177-187, 2024.
- [46] K. Chen, C. Wang, Y. Fan, Y. Xie, Z. Yin, Z. Xu, H. Zhang, J. Cao, Y. Wang, dan L. Gao, "Model Design for Screening Effective Antyhiperlipidemic Drugs Using Zebrafish System", *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol 30, no. 5, pp. 1697-1707, 2017.
- [47] A. Schlegel, dan D. Y. R. Stainier, "Microsomal Triglyceride Transfer Protein is Required Yolk Lipid Utilization and Absorption of Dietary Lipids in Zebrafish Larvae", *Biochemistry*, vol. 45, no. 51, pp. 15179-15187, 2006.
- [48] S. K. Forslund, R. Chakaroun, M. Zimmermann-Kogadeeva, L. Markó, J. Aron-Wisnewsky, T. Nielsen, L. Moitinho-Silva, T. Schmidt, G. Falony, S. Vieira-Silva, S. Adriouch, R. J. Alves, K. Assmann, J. Bastard, T. Birkner, R. Caesar, J. Chilloux, L. P. Coelho, L. Fezeu, N. Galleron, G. Helft, R. Isnard, B. Ji, M. Kuhn, E. L. Chatelier, A. Myridakis, L. Olsson, N. Pons, E. Prifti, B. Quinquis, H. Roume, J. Salem, N. Sokolovska, V. Tremaroli, M. Valles-Colomer, C. Lewinter, N. B. Søndertoft, H. K. Pedersen, T. H. Hansen, T. M. Consortium, J. P. Gøtze, L. Køber, H. Vestergaard, T. Hansen, J. Zucker, S. Hercberg, J. Oppert, I. Letunic, J. Nielsen, F. Bäckhed, S. D. Ehrlich, M. Dumas, J. Raes, O. Pedersen, K. Clément, M. Stumvoll dan P. Bork, "Combinatorial, additive and dose-dependent drug-microbiome associations", *Nature*, vol. 600, no. 7889, pp. 500-505, 2021.