

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIHIPERKOLESTEROLEMIA *IN VITRO* DARI CAMPURAN EKSTRAK ANGKAK DAN BEKATUL

[*In Vitro* Antioxidant and Antihypercholesterolemia Activity of a Mixture
of Red Yeast Rice and Rice Bran Extracts]

Hasim^{1)*}, Qomariah Hasanah¹⁾, Dimas Andrianto¹⁾, dan Didah Nur Faridah^{2,3)}

¹⁾ Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor

²⁾ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

³⁾ Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology (SEAFST) Center, Institut Pertanian Bogor, Bogor

Diterima 18 September 2017 / Disetujui 24 September 2018

ABSTRACT

Red yeast rice (RZR) and rice bran (RB) have been reported to have many biological activities, such as anticancer, antioxidant, antidiabetes and antihypercholesterolemia. This research aimed to determine the best fraction of RZR extract as a HMG CoA reductase inhibitor and the best ratio of the mixture of RZR and RB extract fraction as a HMG CoA reductase inhibitor and an antioxidant using *in vitro* assays. RZR and RB were individually extracted using ethanol 95%, followed by liquid-liquid fractionation using *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, and water. The RZR extract fraction with the best HMG CoA reductase inhibition was then mixed with RB extract in various ratios for HMG CoA reductase inhibition test and antioxidant activity by FRAP method, as well as analysis of total phenolics and flavonoids content. The results showed that the strongest inhibitory effect to the HMG CoA reductase was found in the water fraction of RZR extract (37.37%). The mixture of RZR and RB water extract fractions with a ratio of RZR:RB 1:3 had the strongest inhibition (51.85%) as compared to other ratios, followed by a ratio of 2:2 (51.03%) and 3:1 (42.36%). The best antioxidant activity was found in the RZR:RB ratio of 1:3 (24.76 mg TE/g). The highest total phenolic and flavonoid content was found in the RZR:RB ratio of 2:2 (11.17 mg GAE/g) and the RZR:RB ratio of 3:1 (7.44 mg QE/g). Overall, the addition of RB extract into the RZR extract was able to provide a significantly better HMG CoA reductase inhibitory effects and antioxidant activity than RZR extract alone.

Keywords: antihypercholesterolemia, antioxidant, HMG CoA reductase, red yeast rice, rice bran

ABSTRAK

Angkak dan bekatul memiliki banyak manfaat biologis, diantaranya sebagai antihiperkolesterolemia dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan fraksi terbaik dari ekstrak angkak sebagai inhibitor HMG KoA reduktase serta menentukan rasio terbaik dari campuran fraksi ekstrak angkak dan bekatul sebagai inhibitor HMG KoA reduktase dan antioksidan secara *in vitro*. Angkak dan bekatul diekstrak menggunakan etanol dilanjutkan dengan fraksinasi cair-cair menggunakan pelarut *n*-heksana, diklorometana, etil asetat, dan air. Fraksi ekstrak angkak dengan penghambatan HMG KoA reduktase terbaik kemudian dicampur dengan ekstrak bekatul pada berbagai rasio (angkak:bekatul) untuk pengujian penghambatan HMG KoA reduktase dan aktivitas antioksidan dengan metode FRAP sekaligus analisis kandungan total fenol dan flavonoid. Hasil pengujian menunjukkan bahwa efek penghambatan HMG KoA reduktase terkuat terdapat pada fraksi air ekstrak angkak (37,37%). Campuran fraksi air ekstrak angkak dan bekatul menunjukkan bahwa rasio 1:3 memiliki penghambatan terkuat di antara rasio lainnya (51,85%), berturut-turut diikuti oleh rasio 2:2 (51,03%) dan rasio 3:1 (42,36%). Aktivitas antioksidan paling baik yaitu pada rasio campuran 1:3 (24,76 mg TE/g), total fenol tertinggi pada rasio campuran 2:2 (11,17 mg GAE/g) dan total flavonoid tertinggi pada rasio campuran 3:1 (7,44 mg QE/g). Secara keseluruhan, penambahan ekstrak bekatul ke dalam ekstrak angkak mampu memberikan efek penghambatan HMG KoA reduktase dan aktivitas antioksidan yang lebih baik secara signifikan daripada ekstrak angkak saja.

Kata kunci: angkak, antihiperkolesterolemia, antioksidan, bekatul, HMG KoA reduktase

*Penulis Korespondensi:
E-mail: hasim@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Hiperkolesterolemia adalah suatu gejala klinis yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total dan kolesterol *low density lipoprotein* (LDL) dalam darah. Hiperkolesterolemia menjadi salah satu faktor resiko terjadinya penyakit jantung koroner (PJK) (WHO, 2015). PJK diakibatkan oleh aterosklerosis, yaitu suatu kondisi dimana terjadi penimbunan plak kolesterol pada dinding dalam pembuluh darah yang berujung pada penyempitan atau penyumbatan pembuluh darah (Okwuosa *et al.*, 2016). Penimbunan plak kolesterol dalam dinding pembuluh darah dapat terjadi ketika molekul LDL teroksidasi oleh radikal bebas (Maiolino *et al.*, 2013).

Peningkatan deposit kolesterol dalam kondisi hiperkolesterolemia sendiri menyebabkan perubahan sifat fisik membran sel yang memicu kebocoran radikal bebas oksigen dari mitokondria. Radikal bebas oksigen ini mengakibatkan proses peroksidasi lemak di membran sel yang menghasilkan radikal peroksida dan radikal bebas lainnya (Singh *et al.*, 2017). Oleh karena itu jika terjadi peningkatan radikal bebas dalam tubuh dibutuhkan antioksidan dalam jumlah yang lebih besar untuk menetralkan efek radikal bebas. Upaya meningkatkan status antioksidan dalam tubuh dapat dilakukan dengan mengonsumsi bahan pangan yang kaya akan antioksidan (Valko *et al.*, 2007)

HMG KoA reduktase adalah enzim yang mengkatalis proses konversi HMG KoA menjadi asam mevalonat. Proses konversi tersebut merupakan tahapan vital dari biosintesis kolesterol di dalam tubuh. Penghambatan terhadap HMG KoA reduktase dilaporkan dapat menurunkan kadar kolesterol pada manusia dan hewan coba (Baskaran *et al.*, 2015). Beberapa obat-obatan sintesis seperti mevionolin, simvastin dan pravastatin diketahui dapat menghambat reaksi pembentukan kolesterol (Pichandi *et al.*, 2011). Namun obat-obatan sintesis ini memiliki efek samping seperti mual dan peningkatan tekanan darah. Oleh sebab itu perlu dicari bahan alami yang dapat dimanfaatkan sebagai pangan fungsional antihiperkolesterolemia.

Bahan alami yang memiliki potensi sebagai pangan fungsional antihiperkolesterolemia dan antioksidan salah satunya adalah angkak. Angkak merupakan hasil fermentasi beras menggunakan kapang *Monascus purpureus* yang mengandung pigmen rubropunktatin, monaskorubin dan ankaflavin yang berwarna merah (Kawuri, 2013). Angkak mengandung metabolit sekunder seperti lovastatin, isoflavon, sterol, asam lemak tidak jenuh dan vitamin B kompleks (Goufo *et al.*, 2014). Dari beberapa studi *in-vivo* diketahui bahwa angkak mampu menurunkan kadar total serum kolesterol sebesar 19-44% pada manusia (Liu *et al.*, 2006) dan 49,28% pada tikus (Kasim *et al.*, 2006), serta meningkatkan aktivitas

glutathion peroksidase (salah satu antioksidan intrasel) dan mengatasi stres oksidatif (Kasim *et al.*, 2012), meningkatkan trombosit jika dikombinasikan dengan daun jambu biji (Hasim *et al.*, 2015)

Selain angkak, bahan alam yang dapat dimanfaatkan sebagai antihiperkolesterolemia dan antioksidan adalah bekatul. Bekatul adalah bahan alam yang melimpah hasil samping dari proses penggilingan padi. Bekatul mengandung serat, gamma orizanol, tokoferol, tokotrienol, polikosanol, dan asam lemak tidak jenuh. Senyawa bioaktif gammaorizanol pada bekatul mampu berperan sebagai agen antihiperkolesterolemia (Cicero dan Derosa, 2005). Tokoferol dari bekatul juga mampu berperan sebagai antioksidan (Chan *et al.*, 2013; Arab *et al.*, 2011). Penelitian yang dilakukan Hasanah *et al.* (2016) melaporkan bahwa fraksi air ekstrak etanol bekatul memiliki penghambatan terkuat sebesar 65,46% terhadap HMG KoA reduktase dibandingkan dengan fraksi n-heksana (50,42%), diklorometana (59,50%) dan etil asetat (55,50%).

Studi *in vitro* mengenai kemampuan penghambatan angkak terhadap HMG KoA reduktase belum pernah dilakukan. Disamping itu, sebagai produk yang berasal dari beras/padi, belum diketahui apakah kedua produk tersebut dapat bekerja secara sinergis atau antagonis sebagai agen antihiperkolesterolemia dan antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan fraksi terbaik dari ekstrak angkak sebagai inhibitor HMG KoA reduktase serta menentukan rasio fraksi ekstrak angkak dan fraksi ekstrak bekatul dalam campuran kedua ekstrak tersebut yang terbaik sebagai inhibitor HMG KoA reduktase dan antioksidan secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah angkak komersial (Pazola, Bogor, Indonesia) yang diperoleh dari apotik di Kota Bogor dan bekatul (beras pandan wangi, Bogor, Indonesia) yang diperoleh dari tempat penggilingan padi di daerah Situ Gede Bogor.

Preparasi sampel dan ekstraksi angkak (Ismail *et al.*, 2016)

Angkak komersial dikeringkan dalam oven (Eyela NDO-700, Japan) selama 6 jam pada suhu 50°C kemudian dihaluskan dengan blender (Panasonic, Japan) dan diayak dengan saringan 40 mesh agar diperoleh keseragaman ukuran partikel sampel.

Ekstraksi secara maserasi diawali dengan cara memasukkan 1 g serbuk angkak ke dalam erlenmeyer 50 mL (Pyrex, Indonesia) kemudian ditambahkan pelarut etanol 95% (PT. Dwi Prima Jaya, Indonesia) sebanyak 20 mL. Larutan kemudian di-

aduk menggunakan shaker (Zhengji HY-4A, China) selama 2 jam pada kecepatan 130 rpm. Larutan ekstrak kemudian disaring menggunakan kertas saring, sedangkan residunya diekstraksi kembali sebanyak 2 kali. Ekstrak yang diperoleh dikeringkan dengan rotary evaporator (Ogawa, Japan) pada suhu 45°C dan selanjutnya ditimbang.

Ekstrak etanol angkak selanjutnya difraksinasi menggunakan n-heksan, diklorometan, etil asetat dan air. Semua hasil fraksinasi dan ekstrak kasar etanol angkak diuji penghambatannya terhadap HMG-KoA reduktase. Fraksi terbaik angkak dipilih dan dikombinasikan dengan fraksi air ekstrak etanol bekatul (Hasanah *et al.*, 2016).

Preparasi sampel dan ekstraksi bekatul (Hasanah *et al.*, 2016)

Bekatul segar diayak terlebih dahulu dengan saringan 40 mesh. Bekatul selanjutnya dipanaskan dengan oven pada suhu 150°C selama 10 menit lalu didinginkan pada suhu kamar selama 30 menit. Pemanasan tersebut bertujuan untuk menghindari bekatul dari ketengikan yang timbul akibat degradasi komponen lemak bekatul selama masa penyimpanan. Suhu tinggi di atas 120°C akan menyebabkan denaturasi enzim-enzim yang memicu degradasi komponen lemak tanpa merusak nilai gizi dari bekatul tersebut. Selanjutnya sampel bekatul disimpan dalam pendingin pada suhu 4°C selama satu minggu sebelum dianalisis.

Ekstraksi secara maserasi diawali dengan cara melarutkan 5g bekatul dengan 20 mL etanol 95%. Larutan kemudian diaduk menggunakan *shaker* selama 3 jam pada kecepatan 130 rpm. Larutan ekstrak kemudian disaring menggunakan kertas saring, sedangkan residunya diekstraksi kembali sebanyak 2 kali. Ekstrak yang diperoleh dikeringkan dengan rotary evaporator pada suhu 50°C dan selanjutnya ditimbang.

Fraksinasi ekstrak angkak dan bekatul (Andrianto *et al.*, 2015)

Ekstrak etanol angkak dan bekatul selanjutnya difraksinasi secara ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut dengan kepolaran yang semakin meningkat yaitu pelarut n-heksana (T & T chemical, Indonesia), diklorometana (Jinan Shijitongda Chemical Co, Ltd, China), etil asetat (PT. Dwi Prima Jaya, Indonesia) dan air. Lapisan yang terbentuk dari hasil fraksinasi dipisahkan dengan rotary evaporator.

Uji penghambatan HMG-KoA reduktase (Andrianto *et al.*, 2015)

Aktivitas antihiperkolesterolemia dari masing-masing sampel ditentukan dari aktivitas penghambatannya terhadap HMG KoA reduktase. Setiap sampel disiapkan dengan konsentrasi 10 mg/mL dalam 5% larutan DMSO (Merck, Germany). Pravasta-

tin (Sigma-Aldrich, St.Lous, MO, USA) sebagai kontrol positif disiapkan dalam larutan 50 µg/mL. 3 µL sampel ditambahkan ke campuran reaksi termasuk 100 mM bufer kalium fosfat (Sigma-Aldrich, St.Lous, MO, USA) (400 mM KCl, 100 µg/mL serum albumin bovine dan 3,5 mM EDTA), NADPH (Sigma-Aldrich, St.Lous, MO, USA) (250 µM) dan HMG KoA (Sigma-Aldrich, St.Lous, MO, USA) (250 µM) (volume akhir 557 µL). Reaksi dimulai dengan penambahan 3 µL HMG KoA reduktase (Sigma-Aldrich, St.Lous, MO, USA) (50 µg/L). Campuran reaksi di kocok selama 10 detik dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 340 nm setiap 15 detik sampai 6 menit. Aktivitas enzim dinyatakan dalam unit/mg protein dan dihitung dengan persamaan:

$$\frac{(\Delta A_{340}/\text{min}_{\text{sampel}} - \Delta A_{340}/\text{min}_{\text{blanko}})}{12,44 \times V \times 0,6 \times LP}$$

dimana, A_{340} adalah absorbansi, V adalah volume enzim yang digunakan dan LP adalah lebar larutan yang dilewati sinar, 0.6 adalah konsentrasi enzim dalam mg protein/ mL dan 12,44 adalah kebutuhan NADPH selama reaksi (koefisien untuk NADPH pada 340 nm adalah 6,22/mM.cm). Untuk persentase inhibisi dihitung menggunakan persamaan:

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{(\text{aktivitas}_{\text{enzim}} - \text{aktivitas}_{\text{sampel}})}{\text{aktivitas}_{\text{enzim}}} \times 100\%$$

Campuran fraksi ekstrak angkak dan fraksi air ekstrak bekatul

Pencampuran dengan beberapa rasio dilakukan antara fraksi ekstrak etanol angkak yang memiliki penghambatan terbaik terhadap HMG KoA reduktase dengan fraksi air ekstrak bekatul. Dari ekstrak bekatul dipilih fraksi air karena fraksi tersebut memiliki inhibisi HMG KoA reduktase terbaik berdasarkan penelitian Hasanah *et al.* (2016). Rasio fraksi air ekstrak angkak terhadap bekatul yang digunakan adalah 3:1, 2:2 dan 1:3. Pada setiap campuran dengan rasio ekstrak tersebut dilakukan uji penghambatan HMG KoA reduktase, aktivitas antioksidan, total fenol serta total flavonoid.

Uji aktivitas antioksidan dengan analisis reduksi Fe (Benzie dan Strain, 1996; Tananuwong dan Tewaruth, 2010)

Analisis aktivitas antioksidan menggunakan reagen *ferric reducing antioxidant power* (FRAP) yang terdiri atas larutan bufer asetat 300 mM (pH 3.6), larutan 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) (Sigma-Aldrich, St.Lous, MO, USA) 10 mM dalam HCl 40 (Merck, Germany) mM dan larutan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, St.Lous, MO, USA) 20 mM. Reagent FRAP disiapkan dengan cara mencampurkan 25 mL buffer asetat, 2,5 mL larutan TPTZ dan 2,5 mL larutan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Pencampuran dilakukan sesaat se-

belum analisis, reagen FRAP diinkubasi terlebih dahulu pada suhu 37°C selama 30 menit kemudian siap untuk digunakan. Reagen FRAP tersebut juga digunakan sebagai blanko. Larutan standar yang digunakan adalah trolox dengan rentang konsentrasi 50-500 ppm.

Analisis dilakukan dengan cara mencampurkan 10 µL sampel dengan 990 µL reagen FRAP. Setelah itu campuran tersebut dihomogenkan dan diinkubasi selama 4 menit pada suhu ruang kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 593 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10UV, Thermo scientific-USA). Hasil absorbansi sampel yang diperoleh dapat dihitung dalam trolox ekuivalen (trolox equivalent/TE) menggunakan kurva standar.

Penentuan kandungan total fenol (Vongsak et al., 2012)

Total senyawa fenolik ditentukan dengan menggunakan prosedur Folin-Ciocalteu (Merck, Germany). Setiap sampel (1000 µg/mL) sebanyak 200 µL dicampur dengan 500 µL reagen Folin-Ciocalteu (dencerkan 1:10 dengan akuades) dan 800 µL larutan natrium bikarbonat (Merck, Germany) (7,5%, w/v). Campuran diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 765 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10UV, Thermo scientific-USA). Kandungan total senyawa fenol dihitung sebagai rata-rata ± SD (n=3) dan dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat (GAE) per g ekstrak.

Penentuan kandungan total flavonoid (Vongsak et al., 2012)

Total flavonoid dianalisis dengan menggunakan aluminium klorida (Merck, Germany) kolorimetri. Sampel (1000 µg/mL) sebanyak 0,5 mL dicampur dengan 0,5 mL larutan aluminium klorida 2%. Campuran dibiarkan pada suhu kamar selama 10 menit dan absorbansi campuran diukur pada panjang gelombang 415 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Total flavonoid dihitung sebagai rata-rata ± SD (n=3) dan dinyatakan sebagai mg ekuivalen kuersetin (QE) per g ekstrak.

Analisis statistik

Analisis statistik dikerjakan dengan bantuan program SPSS versi 21. Semua pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali. Data disajikan sebagai nilai rata-rata dengan standar deviasi (SD). Data dianalisis melalui perbandingan nilai rata-rata yang dilakukan menggunakan ANOVA, dilanjutkan dengan uji Duncan ($P < 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

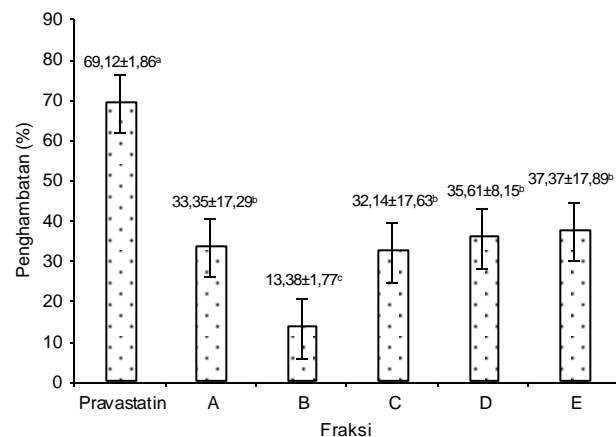
Hasil ekstraksi dan fraksinasi

Rendemen ekstrak etanol 95% angkak yang diperoleh adalah 10,13±0,07% (w/w). Penggunaan beberapa pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya dalam fraksinasi bertujuan agar komponen aktif dapat terekstrak berdasarkan polaritasnya. Rendemen hasil fraksinasi ekstrak etanol angkak adalah sebesar 1,91±0,92% (w/w) untuk fraksi n-heksana, 1,20±0,47% (w/w) untuk fraksi diklorometana, 0,63±0,20% (w/w) untuk fraksi etil asetat dan 1,45±1,07% (w/w) untuk fraksi air.

Hasil ANOVA menunjukkan bahwa penggunaan jenis pelarut yang berbeda tidak menghasilkan jumlah rendemen yang berbeda signifikan ($P > 0,05$). Hal tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak etanol angkak mengandung berbagai senyawa dengan polaritas yang beragam dalam jumlah yang relatif seimbang satu sama lain.

Penghambatan enzim HMG KoA reduktase ekstrak dan fraksi angkak

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penghambatan terhadap HMG KoA reduktase dari fraksi air (37,37%), fraksi etil asetat (35,61%), fraksi diklorometana (32,14%) dan ekstrak etanol (33,35%) tidak berbeda signifikan (Gambar 1) Untuk penelitian pada tahap selanjutnya yaitu campuran angkak dan bekatul, fraksi air angkak yang terpilih karena nilai rata-rata penghambatannya lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol dan fraksi lainnya.



Gambar 1. Penghambatan ekstrak dan fraksi ekstrak angkak terhadap HMG KoA reduktase. A = ekstrak etanol; B = fraksi n-heksana; C = fraksi diklorometana; D = fraksi etil asetat; E = fraksi air. Nilai dinyatakan dalam rata-rata ± SD dari tiga kali ulangan untuk setiap fraksi dengan konsentrasi 50 µg/L. Nilai yang diikuti oleh huruf kecil yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$).

Hal tersebut menandakan bahwa senyawa yang memiliki kemampuan menghambat HMG KoA reduktase lebih banyak berkumpul pada fraksi semi polar hingga polar yakni fraksi diklorometana, etil asetat dan air. Oleh sebab itu, n-heksana yang merupakan pelarut non polar menghasilkan fraksi ekstrak dengan penghambatan terlemah (13,38%). Uji fitokimia yang dilakukan oleh Ismail *et al.* (2016) juga memperlihatkan bahwa komponen bioaktif yang terdapat dalam fraksi air ekstrak etanol angkak lebih dominan bersifat polar seperti flavonoid (golongan glikosida) dan alkaloid. Perbedaan penghambatan disebabkan oleh perbedaan kandungan metabolit sekunder yang diperoleh dari ekstraksi dan fraksinasi dengan pelarut yang berbeda. Perbedaan penghambatan ini juga ditunjukkan dalam penelitian yang dilakukan oleh Andrianto *et al.* (2015) dengan menggunakan sampel *phyllanthus acidus* dimana fraksi etil asetat memiliki penghambatan paling kuat terhadap HMG KoA reduktase (87,30%) sedangkan yang paling rendah adalah fraksi diklorometana (53,98%).

Monakolin K merupakan senyawa yang terbentuk oleh *Monascus* selama proses fermentasi dan terbukti memberikan efek bagi penderita gangguan kardiovaskular dengan menghambat reaksi kritis dalam jalur sintesis kolesterol dalam pembentukan asam mevalonat dari 3-hidroksi-3 metylglutaryl CoA (HMG-KoA) oleh HMG-KoA reduktase (Mei *et al.*, 2011). Monakolin K secara struktural mirip dengan lovastatin, obat statin yang pertama diperjualbelikan, memainkan peran sebagai inhibitor kompetitif yang bersaing dengan HMG-KoA dalam mengurangi sintesis kolesterol (Lachenmeier *et al.*, 2012).

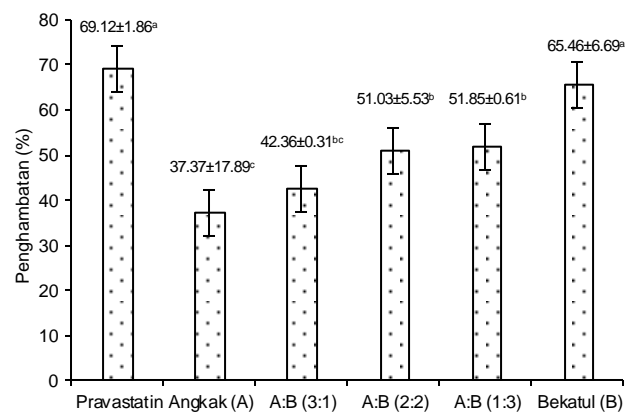
Penghambatan ekstrak angkak hasil dari penelitian ini lebih kecil bila dibandingkan dengan penghambatan bekatul pada penelitian Hasanah *et al.* (2016) dan beberapa penelitian lain. Pada Tabel 1 dapat dilihat efek penghambatan HMG-KoA reduktase dari berbagai bahan alami dengan nilai penghambatan sekitar 20-84%.

Campuran ekstrak angkak dan bekatul

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan fraksi air ekstrak bekatul pada fraksi air ekstrak angkak akan meningkatkan penghambatan terhadap HMG KoA reduktase (Gambar 2). Penghambatan terkuat terdapat pada campuran ekstrak dengan rasio angkak terhadap bekatul 1:3 sebesar 51,85% (Gambar 2).

Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa antara senyawa metabolit sekunder dan bioaktif yang berasal dari angkak dan bekatul memberikan hasil yang tidak sinergis tetapi hanya bersifat aditif, sehingga campuran angkak dan bekatul dapat direkomendasikan sebagai pangan fungsional penurun kolesterol, walaupun efek penurun kolesterol yang dihasilkan bekatul murni masih lebih baik. Fraksi air ekstrak bekatul mempunyai penghambatan terhadap HMG

KoA reduktase yang paling kuat (65,46%) dibandingkan dengan fraksi air ekstrak angkak dan campuran keduanya pada beberapa rasio. Belum ada penelitian lainnya mengenai penghambatan HMG KoA reduktase oleh kombinasi angkak dan bekatul. Akan tetapi pada penelitian yang telah dilakukan oleh Wahyuningrum dan Zubaidah (2016) mengenai pengaruh pemberian angkak dengan penambahan bekatul pada tikus hiperkolesterolemia menunjukkan adanya aktivitas penurun kolesterol total sebesar 80,50 mg/dl dan trigliserida 46,00 mg/dl bila dibandingkan dengan pemberian angkak saja dimana kolesterol total menurun sebesar 94,00 mg/dl dan trigliserida sebesar 63,75 mg/dl. Bekatul mengandung komponen bioaktif berupa gamma orizanol, tokoferol, dan tokotrienol yang berperan sebagai agen antioksidan dan antikolesterol (Moongngarm *et al.*, 2012) yang juga dapat menghambat HMG KoA reduktase.



Gambar 2. Perbandingan efek penghambatan fraksi air ekstrak angkak dan bekatul serta campuran keduanya pada beberapa rasio terhadap HMG KoA reduktase. A = fraksi air ekstrak etanol angkak, B = fraksi air ekstrak etanol bekatul. Nilai dinyatakan dalam rata-rata ± SD dari tiga kali ulangan untuk setiap formula. Nilai yang diikuti oleh huruf kecil yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$). Nilai penghambatan fraksi air ekstrak etanol bekatul diambil dari Hasanah *et al.* (2016)

Aktivitas antioksidan

Analisis antioksidan dengan menggunakan metode FRAP bertujuan untuk mengukur kemampuan sampel dalam mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sehingga membentuk kompleks Fe^{3+} -TPTZ dengan cara mendonorkan elektron yang dihasilkan dari senyawa antioksidan. Nilai FRAP tergantung pada banyaknya reduksi *ferritripyridyl triazine* ($Fe(III)$ -TPTZ) menjadi *ferro-tripyridyltriazine* ($Fe(II)$ -TPTZ) oleh sampel pada kondisi pH rendah. Kompleks tersebut akan menghasilkan warna biru.

Tabel 1. Penghambatan HMG KoA reduktase dari angkak, bekatul dan beberapa bahan alami lainnya

Sampel	Pelarut	Penghambatan (%)	Sumber
Angkak (<i>Red yeast rice</i>)	Etanol	33,35	Hasil penelitian ini
	Fraksi n-heksana	13,38	
	Fraksi diklorometana	32,14	
Bekatul (<i>Rice bran</i>)	Fraksi etil asetat	35,61	Hasanah <i>et al.</i> , 2016
	Fraksi air	37,37	
	Etanol	51,44	
	Fraksi n-heksana	50,42	
	Fraksi diklorometana	59,50	
Kulit buah matang jamblang (<i>Syzygium cumini</i>)	Fraksi etil asetat	55,50	Andrianto <i>et al.</i> , 2015
	Fraksi air	65,46	
	Aseton	45,96	
Biji muda binjai (<i>Mangifera caesia</i> Jack)	Metanol	46,45	Gholamhoseinian <i>et al.</i> , 2010
Biji matang binjai (<i>Mangifera caesia</i> Jack)	Metanol	47,63	
Biji matang jamblang (<i>Syzygium cumini</i>)	Aseton	49,27	
Biji muda jamblang (<i>Syzygium cumini</i>)	Aseton	50,39	
Kulit buah matang menteng (<i>Baccaurea racemosa</i>)	Metanol	59,84	
Kulit buah muda menteng (<i>Baccaurea racemosa</i>)	Aseton	70,37	
Kulit buah matang menteng (<i>Baccaurea racemosa</i>)	Aseton	71,65	
Buah matang cermai (<i>Phyllanthus acidus</i> (L))	Aseton	80,00	
Daun (<i>Verbascum songaricum</i>)	Metanol	36,80	
Bibit flax (<i>Linum usitatissimum</i>)	Metanol	37,00	
Akar (<i>Peucedanum aucheri</i>)	Metanol	37,00	
Daun zaitun (<i>Olea europaea</i>)	Metanol	37,00	
Daun mint (<i>Mentha piperita</i>)	Metanol	37,30	
Batang (<i>Gundelia tournefortii</i>)	Metanol	40,00	
Buah merica hitam (<i>Piper nigrum</i>)	Metanol	40,00	
Batang (<i>Urtica ureus</i>)	Metanol	40,00	
Daun pacar kuku (<i>Lawsonia inermis</i>)	Metanol	40,10	
Batang (<i>Stachys laudulifolia</i>)	Metanol	42,00	
Rhizoma (<i>Rheum ribes</i>)	Metanol	43,00	
Batang (<i>Thymus serpyllum</i>)	Metanol	43,60	
Batang selasih (<i>Metha longifolia</i>)	Metanol	44,00	
Daun dafnah (<i>Lourus nobilis</i>)	Metanol	44,40	
Akar lovage (<i>Levisticum officinale</i>)	Metanol	48,00	
Daun murad (<i>Myrtus communis</i>)	Metanol	62,00	
Bagian bunga mawar (<i>Rosa damascene</i>)	Metanol	70,00	
Getah manjakani (<i>Quercus infectoria</i>)	Metanol	84,00	
Pepaya (<i>Carica papaya</i>)	Metanol	37,30	Baskaran <i>et al.</i> , 2015
Daun sirih (<i>Piper sarmentosum</i>)	Metanol	55,10	
Bayam (<i>Amaranthus viridis</i>)	Metanol	69,60	Iqbal <i>et al.</i> , 2014
Beri hitam (<i>Basella alba</i>)	Metanol	74,10	
<i>Ficus palmatforsk</i>	Metanol	65,00	Koo <i>et al.</i> , 2008
Anggur (<i>Vitis vinifera</i> bark)	Metanol	77,00	
Daun bayam hijau (<i>Amaranthus viridis</i>)	Metanol	72,00	Salvamani <i>et al.</i> , 2016
Biji bayam hijau (<i>Amaranthus viridis</i>)	Metanol	35,00	
Batang bayam hijau (<i>Amaranthus viridis</i>)	Metanol	22,00	

Fraksi air ekstrak bekatul memiliki aktivitas antioksidan paling besar bila dibandingkan dengan fraksi air ekstrak angkak maupun campuran keduanya yaitu sebesar 31,90 (mg TE/g) (Gambar 3). Campuran keduanya yang memiliki aktivitas antioksidan terbesar adalah campuran dengan rasio angkak terhadap bekatul 1:3 (24,76 mg TE/g). Aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh campuran dengan rasio tersebut berbeda signifikan dengan yang dihasilkan oleh fraksi air ekstrak angkak (18,73 mg TE/g). Hal

ini menunjukkan bahwa bekatul memiliki komponen bioaktif lebih baik daripada angkak dalam mereduksi senyawa Fe. Kim dan Lim (2016) melaporkan ekstrak etanol 50% bekatul memiliki aktivitas antioksidan dengan metode FRAP sebesar 20-21 ($\mu\text{M FeSO}_4/\text{g}$), lebih rendah bila dibandingkan dengan penelitian ini.

Yeap *et al.* (2014) melaporkan ekstrak air angkak mempunyai aktivitas antioksidan dengan metode *ferric reducing antioxidant power* (FRAP) sebesar

74,04 (mg asam askorbat/g) sedangkan dalam penelitian ini fraksi air angkak memiliki kemampuan antioksidan sebesar 18,73 (mg TE/g). Ekstrak air angkak yang dianalisis dengan HPLC terbukti mengandung senyawa *gamma-aminobutyric acid* (GABA) dan asam lemak bebas yang terbukti berperan membantu proses antioksidan (Yeap *et al.*, 2014). Antioksidan memiliki peran penting dalam mengurangi lesi aterosklerosis. Antioksidan akan menangkap radikal bebas yang dapat menyerang LDL menjadi LDL teroksidasi yang merupakan penyebab terjadinya aterosklerosis didalam sel endotelium (Maiolino *et al.*, 2013).

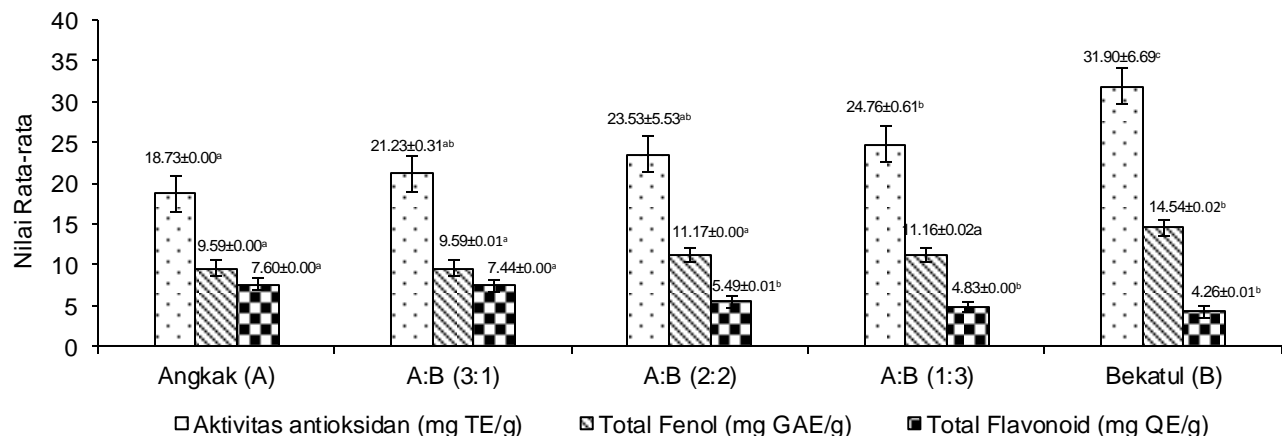
Total fenol dan total flavonoid

Total fenol sampel diketahui berdasarkan kemampuan senyawa fenolik dalam mereduksi asam fosfomolibdat-fosfotungstat dalam pereaksi Folin-Ciocalteu yang dapat menghasilkan senyawa kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru. Asam galat digunakan sebagai standar dalam penentuan total fenol disebabkan oleh adanya gugus hidroksi dan ikatan rangkap terkonjugasi pada cincin benzena sehingga sangat efektif membentuk kompleks dengan pereaksi Folin-Ciocalteu. Selain itu asam galat merupakan golongan fenol sederhana dengan ketersediaan substansi yang stabil dan murni.

Analisis kandungan total fenol menunjukkan bahwa campuran fraksi air ekstrak angkak dan fraksi air ekstrak bekatul juga memberikan hasil yang tidak sinergis tetapi hanya bersifat aditif. Total fenol terus meningkat dengan adanya penambahan konsentrasi bekatul. Campuran keduanya yang memiliki total

fenol tertinggi adalah campuran dengan rasio angkak terhadap bekatul 2:2 (11,17 mg GAE/g). Fraksi air ekstrak bekatul memiliki total fenol paling tinggi yaitu sebesar 14,54 (mg GAE/g) (Gambar 3). Pada penelitian Chan *et al.* (2013) ekstrak air bekatul memiliki total fenol sebesar 19,04 (mg GAE/g), lebih tinggi dari pada penelitian ini. Total fenol tergantung pada sampel bekatul yang digunakan. Total fenol pada campuran dengan rasio angkak terhadap bekatul 3:1 serta fraksi air ekstrak angkak memiliki total fenol yang sama yaitu sebesar 9,59 (mg GAE/g) (Gambar 3). Ekstrak air angkak memiliki total fenol sebesar 1,73 (mg GAE/g) (Razak *et al.*, 2014) yang lebih rendah daripada penelitian ini.

Analisis total flavonoid juga menunjukkan bahwa campuran fraksi air ekstrak angkak dan fraksi air ekstrak bekatul tidak saling bersinergis dimana total flavonoid meningkat dengan adanya penambahan konsentrasi ekstrak angkak, berkebalikan dari aktivitas antioksidan dan total fenol. Campuran keduanya yang memiliki total flavonoid tertinggi adalah campuran dengan rasio angkak terhadap bekatul 3:1 (7,44 mg QE/g). Fraksi air ekstrak angkak memiliki total flavonoid paling tinggi yaitu sebesar 7,60 (mg QE/g) dan fraksi air ekstrak bekatul memiliki total flavonoid terendah yaitu 4,26 (mg QE/g) (Gambar 3). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ghasemzadeh *et al.* (2015) total flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol 50% bekatul sebesar 1,37 (mg QE/g). Untuk total flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol angkak 5,07 (mg QE/g) (Park dan Kim, 2011).



Gambar 3. Aktivitas antioksidan, total fenol dan total flavonoid dari kombinasi angkak dan bekatul. A = fraksi air ekstrak etanol angkak, B = fraksi air ekstrak etanol bekatul, TE = *trolox equivalen*, GAE = *gallic acid equivalen*, QE = *quercetin equivalen*. Nilai dinyatakan dalam rata-rata ± SD dari tiga kali ulangan untuk setiap formula. Nilai yang diikuti oleh huruf kecil yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$). Nilai aktivitas antioksidan, total fenol dan total flavonoid fraksi air ekstrak etanol bekatul diambil dari Hasanah *et al.* (2016)

Dari hasil analisis total fenol dan total flavonoid memperlihatkan bahwa keberadaan senyawa fenolik ternyata lebih mendominasi daripada flavonoid berkaitan dengan nilai aktivitas antioksidan. Tingginya aktivitas antioksidan sampel dapat dipengaruhi oleh kandungan senyawa turunan fenol yang memiliki gugus -OH yang tersubstitusi pada cincin benzena dengan posisi orto dan para terhadap gugus -OH dan -OR (Tursiman dan Nofiani, 2012).

Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan antara lain rutin dan kuersetin (Peng *et al.*, 2015), katekin, eriodictiol, dan taxifolin (Chobot *et al.*, 2016). Flavonoid golongan glikosida yang larut dalam pelarut polar (fraksi air) diduga memiliki kemampuan sebagai antioksidan dalam penelitian ini. Menurut Badgujar *et al.* (2014) keberadaan senyawa flavonoid juga memiliki kontribusi sebagai senyawa antioksidan.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol angkak, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi diklorometana memiliki efek penghambatan terhadap HMG KoA reduktase yang tidak berbeda nyata secara statistik, sedangkan efek penghambatan yang paling rendah adalah fraksi n-heksan. Campuran fraksi air ekstrak angkak dan fraksi air ekstrak bekatul pada berbagai rasio, memberikan hasil yang tidak sinergis tetapi hanya bersifat adiktif dalam menghambat HMG KoA reduktase dimana efek penghambatannya terus meningkat dengan penambahan bekatul. Oleh karena itu, campuran dengan rasio angkak terhadap bekatul 1:3 memiliki potensi paling tinggi diantara rasio lainnya sebagai pangan fungsional antihiperkolesterolemia dengan mekanisme penghambatan HMG KoA reduktase (51,85%).

Campuran fraksi air ekstrak angkak dan fraksi air ekstrak bekatul juga meningkatkan aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan yang paling baik dihasilkan oleh campuran dengan rasio angkak terhadap bekatul 1:3 yaitu sebesar 24,76 mg TE/g. Aktivitas antioksidan semakin tinggi dengan semakin banyaknya fraksi air bekatul yang ditambahkan

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kemristek-Dikti yang sudah membiayai penelitian ini melalui Program Penelitian Strategis Aplikatif pada tahun 2016.

DAFTAR PUSTAKA

Andrianto D, Katayama T, Suzuki T. 2015. Screening of antioxidant and antihyperlipidemic poten-

cies of Indonesian underutilized fruits. *J Forest Biomass Utilization Soc* 1: 19-25.

Arab F, Alemzadeh I, Maghsoudi V. 2011. Determination of antioxidant component and activity of rice bran extract. *Sci Iran* 18: 1402-1406. DOI: 10.1016/j.scient.2011.09.014.

Badgujar SB, Patel VV, Bandivdekar AH. 2014. *Foeniculum vulgare* mill: A review of its botany phytochemistry, pharmacology, cotemporary application and toxicology. *Biomed Res Int* 2014: 1-32. DOI: 10.1155/2014/842674.

Baskaran G, Salvamani S, Ahmad SA, Shaharudin NA, Pattiram PD, Shukor MY. 2015. HMG-CoA reductase inhibitory activity and phytochemical investigation of *basella alba* leaf extract as a treatment for hypercholesterolemia. *Drug Des Devel Ther* 9: 509-517. DOI: 10.2147/DDDT.S75056.

Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma as a measure of "antioxidant power" the FRAP assay. *Anal Biochem* 239: 70-76. DOI: 10.1006/abio.1996.0292.

Chan KW, Khong NMH, Iqbal S, Ismail M. 2013. Isolation and antioxidative properties of phenolics-saponins rich fraction from defatted rice bran. *J Cereal Sci* 57: 480-485. DOI: 10.1016/j.jcs.2013.02.002.

Chobot V, Hadacek F, Bachmann G, Weckwerth W, Kubicova L. 2016. Pro and antioxidant activity of three selected flavan type flavonoids: catechin, eriodictyol, and taxifolin. *Int J Mol Sci* 17: 1-9. DOI: 10.3390/ijms17121986.

Cicero AFG, Derosa G. 2005. Rice bran and its main component: Potential role in the management of coronary risk factors. *Curr Top Nutraceut R* 3: 29-46.

Ghasemzadeh A, Jaafar HZE, Juraimi AS, Tayebi-Meigooni A. 2015. Comparative evaluation of different extraction techniques and solvents for the assay of phytochemicals and antioxidant activity of hashemi rice bran. *Molecules* 20: 10822-10838. DOI: 10.3390/molecules200610822.

Gholamhoseinian A, Shahouzehi B, Sharifi-Far F. 2010. Inhibitory activity of some plant methanol extracts on 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase. *Int J Pharmacol* 6: 705-711. DOI: 10.3923/ijp.2010.705.711.

Goufo P, Trindade H. 2014. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid. *Food Sci Nutr* 2: 75-104. DOI: 10.1002/fsn3.86.

- Hasanah Q, Hasim, Faridah DN, Andrianto D. 2016. Inhibition activity of HMG-CoA reductase by rice brain extract and its fraction as anticholesterolemia In vitro study. *Der Pharma Chemica* 8: 1-5.
- Hasim, Andrianto D, Satyaningtijas AS, Rosary F. 2015. Combination of angkak (Red yeast rice), red guava (*Psidium guajava* Linn) leaf extract and red guava fruit juice increase thrombocyte in quinine-exposed rats. *IOSR J Pharm* 5: 1-6.
- Iqbal D, Khan MS, Khan A, Khan MS, Ahmad S, Srivastava AK, Bagga P. 2014. In vitro screening for β -hydroxy- β -methylglutaryl-CoA reductase inhibitory and antioxidant activity of sequentially extracted fractions of *ficus palmata* forsk. *Biomed Res Int* 2014: 1-10. DOI: 10.1155/2014/762620.
- Ismail AI, Hasim, Falah S, Faridah DN. 2016. α -Glucosidase inhibition by red yeast rice extract and fractions as in vitro antidiabetes. *Der Pharma Chemica* 8: 46-49.
- Kasim E, Kurniawati Y, Nurhidayat N. 2006. Pemanfaatan isolat lokal *Monascus purpureus* untuk menurunkan kolesterol darah pada tikus putih galur sprague dawley. *Biodiversitas* 7: 123-126. DOI: 10.13057/biodiv/d070206.
- Kasim E, Triana E, Yulinery T, Nurhidayat N. 2012. Pengaruh angkak hasil fermentasi oleh *monascus purpureus* JMBa terhadap aktivitas antioksidan dan glutathion peroxidase (GPx) serta histopatologi hati tikus galur sprague dawley. *Berita Biologi* 11: 177-185.
- Kawuri R. 2013. Red mold rice (angkak) sebagai makanan terfermentasi dari China: Suatu kajian pustaka. *J Biologi Udayana* 17: 24-28.
- Kim SM, Lim ST. 2016. Enhanced antioxidant activity of rice bran extract by carbohydrase treatment. *J Cereal Sci* 68: 116-121. DOI: 10.1016/j.jcs.2016.01.006.
- Koo M, Kim SH, Lee N, Yoo MY, Ryu SY, Kwon DY, Kim YS. 2008. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase inhibitory effect of *Vitis vinifera*. *Fitoterapia* 79: 204-206. DOI: 10.1016/j.fitote.2007.11.005.
- Lachenmeier DW, Monakhova YB, Kuballa T, Löbell-Behrends S, Maixner S, Kohl-Himmelseher M, Waldner A, Steffen C. 2012. NMR evaluation of total statin content and HMG-CoA reductase inhibition in red yeast rice (*Monascus spp.*) food supplements. *Chin Med-Uk* 7: 8. DOI: 10.1186/1749-8546-7-8.
- Liu J, Zhang J, Shi Y, Grimsgaard S, Alraek T, Fonnebo V. 2006. Chinese red yeast rice (*Monascus purpureus*) for primary hyperlipidemia: a meta-analysis of randomized controlled trial. *Chin Med-Uk* 1: 1-13. DOI: 10.1186/1749-8546-1-4.
- Maiolino G, Rossitto G, Caielli P, Bisogni V, Rossi GP, and Calò LA. 2013. The role of oxidized low-density lipoproteins in atherosclerosis: The myths and the facts. review article. *Mediat Inflamm* 2013: 1-13 DOI: 10.1155/2013/714653.
- Mei LX, Hai SX, Wen DZ, Ren SG. 2011. Advances on the pharmacological effects of red yeast rice. *Chin J Nat Medicines* 9: 161-166.
- Moongngarm A, Daomukda N, Khumpika S. 2012. Chemical compositions, phytochemicals, and antioxidant capacity of rice bran, rice bran layer, and rice germ. *APCBEE Proc* 2: 73-79. DOI: 10.1016/j.apcbee.2012.06.014.
- Okwuosa IS, Lewsey SC, Adesiyun T, Blumenthal RS, Yancy CW. 2016. Worldwide disparities in cardiovascular disease: Challenges. *Int J Cardiol* 202: 433-440. DOI: 10.1016/j.ijcard.2015.08.172.
- Park HJ, Kim IS. 2011. Antioxidant activities and anticancer effects of red yeast rice grown in the medium containing garlic. *Food Sci Biotechnol* 20: 297-302. DOI: 10.1007/s10068-011-0042-5.
- Peng LX, Zou L, Wang JB, Zhao JL, Xiang DB, Zhao G. 2015. Flavonoids, antioxidant activity and aroma compounds analysis from different kinds of tartary buckwheat tea. *Indian J Pharm Sci* 77: 661-667. DOI: 10.4103/0250-474X.174972.
- Pichandi S, Pasupathi P, Raoc YY, Farook J, Ambika A, Ponnusha BS, Subramaniyam S, Virumandy R, Subramaniyam B. 2011. The role of statin drugs in combating cardiovascular diseases. *Int J Curr Sci Res* 1: 47-56.
- Razak DLA, Rashid NYA, Jamaluddin A, Sharifudin SA, Long K. 2014. Enhancement of phenolic acid content and antioxidant activity of rice bran fermented with *rhizopus oligosporus* and *monascus purpureus*. *Biocatal Agr Biotechnol* 4: 33-38. DOI: 10.1016/j.bcab.2014.11.003.
- Salvamani S, Gunasekaran B, Shukor MY, Shaharuddin NA, Sabullah MK, Ahmad SA. 2016. Anti-HMG-CoA reductase, antioxidant, and anti-inflammatory activities of *Amaranthus viridis* leaf extract as a potential treatment for hypercholesterolemia. *Evid-Based Compl Alt* 2016: 1-10. DOI: 10.1155/2016/8090841.
- Singh UN, Kumar S, Dhakal S. 2017. Study of oxidative stress in hypercholesterolemia. *Int J Contemp Med Res* 4: 1204-1207.
- Tananuwong K, Tewaruth W. 2010. Extraction and application of antioxidants from black glutinous rice. *LWT-Food Sci Technol* 43: 476-481. DOI: 10.1016/j.lwt.2009.09.014.

- Tursiman, Ardiningsih P, Nofiani R. 2012. Total fenol fraksi etil asetat dari buah asam kandis (*Garcinia dioica Blume*). J Kimia Khatulistiwa 1: 45-48.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J, 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 39: 44-84. DOI: 10.1016/j.biocel.2006.07.001.
- Vongsak B, Sithisarna P, Mangmool S, Thongpraditchote S, Wongkrajang Y, Gritsanapan W. 2012. Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. Ind Crop Prod 44: 566-571. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.09.021
- Wahyuningrum I, Zubaidah E. 2016. Pengaruh angkak dengan penambahan bekatul terhadap penurunan profil lipid tikus wistar jantan hiperkolesterolemia. J Pangan Agroind 4: 127-136.
- [WHO] World Health Organization. 2015. Data Statistik Kesehatan.
- Yeap SK, Beh BK, Kong J, Ho WY, Yusof HY, Mohamad NE, Hussin A, Jaganath IB, Alitheen NB, Jamaluddin A. 2014. In vivo hypocholesterolemic effect of MARDI fermented red yeast rice water extract in high cholesterol diet fed mice. Evid-Based Compl Alt 2014: 1-7. DOI: 10.1155/2014/707829.