

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK KULIT APEL (*Malussylvestris-mill*) VAR. *Rome Beauty* TERHADAP KADAR ENZIM SGPT TIKUS (*Rattusnorvegicus*) GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI CCL₄ (KARBONTETRAKLORIDA)

Vina Devi Octaviany¹, Hany Yusmaini², Kristina Simanjuntak³

¹Fakultas Kedokteran UPN Veteran Jakarta

²Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran UPN “Veteran” Jakarta

Email : hany.yusmaini@gmail.com

³Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran UPN “Veteran” Jakarta

ABSTRAK

Hepar adalah organ terbesar yang paling sering menerima jejas karena merupakan pintu utama bagi semua bahan yang masuk ke dalam tubuh melalui saluran cerna. Karbontetraklorida (CCl₄) adalah senyawa kimia yang dapat menginduksi kerusakan hati. Antioksidan yang berasal dari buah-buahan, misalnya buah apel dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan alami untuk mengurangi kerusakan hati. Kulit apel mengandung senyawa flavonoid lebih banyak daripada daging buahnya. Flavonoid tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan yang dapat menyebabkan berkurangnya peroksida lipid akibat radikal bebas yang dibentuk oleh CCl₄ sehingga fungsi membran sel hati akan tetap terlindungi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari ekstrak kulit buah apel var. *Rome beauty* terhadap kadar SGPT tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi oleh CCl₄. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus galur wistar yang dibagi menjadi lima kelompok secara acak, yaitu kelompok kontrol positif, kontrol negatif, ekstrak kulit apel var. *Rome beauty* dosis I (0,12 mg/kg BB), dosis II (0,24 mg/kg BB), dan dosis III (0,49 mg/kg BB). Uji one way anova menandakan adanya perbedaan efektivitas yang bermakna antar kelompok (P<0,000). Hasil analisis uji *post hoc* terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan ekstrak kulit apel var. *Rome beauty* dosis I, dosis II dan dosis III (P<0,05) yang menandakan bahwa ekstrak kulit apel var. *Rome beauty* dosis I, II dan III dapat menurunkan enzim SGPT tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl₄.

Kata Kunci: hepatoprotektif, radikal bebas, ekstrak kulit apel var. *Rome beauty*, CCl₄

ABSTRACT

Liver is the largest organ in the human body and injured very often due to the way of all the materials into the body through the gastrointestinal tract. Carbontetrachloride (CCl₄) constitute a chemical compound that can induce liver damage. Fruit-originated antioxidants, such as apples can be used as alternative natural substance to reduce liver damage. Apples peel contains more flavonoid compounds than the flesh. These flavonoids exhibit antioxidant activity that can cause lipid peroxide deficiency due to free radicals formed by CCl₄ so that the function of the liver cell membrane will

remain protected. This study was conducted to determine the effectiveness of apple peel extract var. *Rome beauty* against to level of rat *Rattus norvegicus* SGPT induced by CCl₄. This study used 25 rats (*Rattus norvegicus*) Wistar strain that were divided into five groups randomly. These group are positive control, negative control, apple peel extract var. *Rome beauty* first dose (0.12 mg/kg), the second dose (0.24 mg/kg), and the third dose (0.49 mg/kg). Based on the analysis of data from the One-Way ANOVA test showed that there are significant differences in effectiveness between the groups. Based on post hoc test, there are significant differences between the positive control group to the treatment group : apple peel extract var. *Rome beauty* first dose, second dose and third dose (P <0.05), this result showed that apple peel extract var. *Rome beauty* has effectiveness to reduce SGPT levels of CCl₄ induced rat.

Keywords: hepatoprotektif, free radicals, apple peel extract var. *Rome beauty*, CCl₄

PENDAHULUAN

Pada era globalisasi semakin banyak bahan-bahan yang sangat berbahaya bagi tubuh seperti penggunaan pengawet makanan, asap kendaraan yang merupakan salah satu sumber radikal bebas di sekeliling kita. Diperkirakan terjadi 10.000 serangan radikal bebas pada setiap *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) sel manusia setiap harinya.¹ Radikal bebas adalah senyawa atau molekul yang memiliki kandungan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada sumbu luarnya. Elektron yang tidak berpasangan ini dapat menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif sehingga mencari pasangan dengan cara mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya. Radikal bebas merupakan pemicu terjadinya beberapa penyakit seperti jantung koroner, kanker, penuaan, radang sendi, katarak dan kemunduran saraf.²

Banyak cara untuk mengurangi paparan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh, salah satunya adalah dengan mengkonsumsi buah-buahan dan sayuran yang kaya akan antioksidan. Buah yang kaya antioksidan salah satunya adalah buah apel, baik daging buah ataupun kulitnya. Ketika memakan buah apel beberapa orang memiliki kebiasaan untuk membuang kulitnya, padahal

kulit apel tersebut memiliki kandungan antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan daging buahnya.³

Hepar adalah organ yang sangat penting dan organ terbesar pada tubuh, menyumbang sekitar 2% berat tubuh total atau sekitar 1,5 kg pada rata-rata manusia dewasa. Unit fungsional dari hepar adalah lobulus. Hepar manusia mengandung 50.000 sampai 100.000 lobulus.⁴ Hepar merupakan organ yang paling sering menerima jejas, karena hepar merupakan pintu utama dari semua bahan yang masuk ke dalam tubuh melalui saluran cerna. Setelah zat makanan ataupun obat-obatan serta toksik yang masuk ke tubuh melalui saluran cerna diserap oleh epitel usus kemudian akan dibawa oleh vena porta ke hepar. Hepar menjadi organ yang sangat potensial mengalami jejas dan keracunan lebih dahulu sebelum organ lain.⁵

Kerusakan organ hepar dapat disebabkan oleh virus, bakteri, zat-zat toksik dan radikal bebas. Zat toksik yang dapat menyebabkan radikal bebas salah satunya CCl₄. CCl₄ adalah cairan yang tidak berwarna, tidak larut dalam air, dan digunakan dalam industri sebagai pelarut organik. CCl₄ dapat diserap melalui membran sel. CCl₄ yang masuk ke dalam tubuh efek toksiknya terlihat

pada hepar. CCl_4 akan bereaksi dengan makromolekul dalam tubuh seperti lipid pada membran sel, protein dalam jaringan atau enzim, karbohidrat, dan DNA sehingga terjadi kerusakan oksidatif yang menyebabkan peroksidasi lipid yang dapat mengubah struktur dan fungsi membran sel, selain itu terjadi peningkatan permeabilitas membran sel yang diikuti oleh influks masif kalsium dan kematian sel.⁵

Hepar yang rusak dapat mengganggu fungsi organ ataupun strukturnya.³ Terganggunya fungsi ataupun struktur organ hepar ditandai dengan peningkatan enzim SGPT.⁶ Enzim ini lebih spesifik dibandingkan dengan ezim lain karena konsentrasinya lebih banyak di dalam sitosol sel hati dan akan keluar ke pembuluh darah jika terjadi kerusakan pada sel hati.⁶

Berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak kulit apel (*Malus sylvestris-mill*) var. *Rome beauty* dapat menghambat kerusakan histologis sel hati mencit akibat karbon tetraklorida. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit apel dapat menurunkan tingkat kerusakan sel hati mencit akibat karbon tetraklorida.

Kulit apel mengandung total senyawa *phenol* yang lebih kaya daripada daging buahnya.⁷ Senyawa *phenol* dalam 100 g kulit apel var. *rome beauty* sebesar $500,2 \pm 13,7$ mg.⁸ Kelompok senyawa *phenol* yang paling penting adalah *flavonoid*.⁹ Kulit apel mengandung senyawa-senyawa *flavonoid* seperti: *Catechin*, *procyanidin*, *phloridzin*, *phloretin glycoside*, *caffeic acid*, *chlorogenic acid*, *quercetin glycosides* dan *cyanidin glycoside*.⁸ Flavonoid tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan yang dapat menyebabkan berkurangnya peroksida lipid akibat radikal bebas yang dibentuk oleh CCl_4 sehingga fungsi membran sel hati akan tetap terlindungi.¹⁰

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental murni dengan rancangan penelitian *posttest only control group design*. Subyek penelitian, pada rancangan ini, diberi perlakuan dan diobservasi perubahan yang ada akibat perlakuan sebanyak satu kali. Adapun subyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur *wistar* sebanyak 25 ekor berumur 2-3 bulan dengan berat badan berat badan 150-200 gram. Sampel dibagi dalam lima kelompok, yaitu kontrol negatif (K1), kontrol positif (K2), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3) masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus. Jumlah ini ditentukan dengan menggunakan rumus federer yaitu $(K-1)(n-1) > 15$.

Tehnik yang digunakan untuk pengambilan sampel pada penelitian ini adalah *probability sampling*. Tehnik pengambilan sampel berdasarkan *probability sampling* yang digunakan adalah *simple random sampling*. Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain kandang tikus lima unit, timbangan, Gelas ukur dan pengaduk, Sonde lambung, scalpel, tabung reaksi dan rak kecil, *automatic chemistry analyzer* (SF-1904C), alat sentrifugasi, Spuit 5 cc, larutan *carbon tetrachloride* (CCl_4), ekstrak kulit apel var. *rome beauty*, makanan hewan percobaan (pelet 511 dan air PAM), *aquadest*, *reagent* R1 (TrissPh 7,15 140 mmol/L; L-Alanine 700 mmol/L; LDH (lactate dehydrogenase) ≥ 2300 U/L), *reagent* R2 (2-Oxoglutarate 85 mmol/L; NADH 1 mmol/L), dan *serum control*.

Penelitian ini dimulai dengan melakukan adaptasi tikus selama tujuh hari. Hari ke-8 melakukan penimbangan untuk menentukan dosis dan dilakukan perlakuan. Seluruh kelompok (K2, P1, P2, dan P3) kecuali kelompok K1 di berikan CCl_4 dosis 1,0 ml/kgBB secara intraperitoneal, kemudian

dibiarkan selama 24 jam. Kelompok K1 dan K2, setelah 24 jam, diberi diet standar dan *aquadest* selama 10 hari.

Kelompok P1 diberi ekstrak kulit apel var. *rome beauty* 0,12 mg/kgBB dan pakan standar + *aquadest*. Kelompok P2 diberi ekstrak kulit apel var. *rome beauty* 0,24 mg/kgBB dan pakan standar + *aquadest*. Kelompok P3 diberi ekstrak kulit apel var. *rome beauty* 0,49 mg/kgBB dan pakan standar + *aquadest*. Perlakuan diberikan sekali sehari mulai hari ke-1 sampai dengan hari ke-10.

Semua hewan percobaan, pada hari ke-11, diambil darahnya sebanyak 5 ml dengan cara memotong ekor tikus dan disimpan pada tabung reaksi, kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 RPM selama 60 menit sehingga di dapatkan serum, untuk selanjutnya dilakukan pengukuran kadar enzim SGPT menggunakan *automatic chemistry analyzer* (SF-1904C). Setelah didapatkan kadar SGPT kemudian dibandingkan rata-rata kadar enzim SGPT antar kelompok.

Data yang diperoleh kemudian diolah dengan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) 17.0 for Windows. Data ini dianalisis dengan analisis uji parametrik *One Way Anova*. Apabila ditemukan hasil yang berbeda nyata, kemudian dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD).

HASIL PENELITIAN

Analisis ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antar kelompok. Tabel 1. menunjukkan perbedaan kadar rata-rata enzim SGPT tikus pada setiap kelompok. Pada kelompok K1 yaitu kelompok kontrol negatif memiliki kadar rata-rata enzim SGPT sebesar $74,20 \pm 6,90$ IU/L nilai ini merupakan kadar enzim SGPT normal pada penelitian ini. Kelompok K2 yaitu kelompok kontrol positif memiliki kadar rata-rata enzim SGPT sebesar $4038,60 \pm 2341,61$ IU/L,

merupakan kadar rata-rata enzim SGPT tertinggi dibandingkan dengan kelompok lain, hal ini menunjukkan adanya kerusakan hati yang diakibatkan oleh pemberian hepatotoksik yaitu CCl_4 1 ml/kgBB tikus secara intraperitoneal.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Kadar Enzim SGPT Tikus

Kelompok	Kadar Enzim SGPT IU/L
K 1	$74,20 \pm 6,90$
K 2	$4038,60 \pm 2341,61$
P 1	$60,40 \pm 2,30$
P 2	$89,60 \pm 10,64$
P 3	$91,40 \pm 9,81$

Hasil uji *one way anova* menunjukkan perbedaan ($P < 0,05$). Uji *pots hoc* dengan menggunakan *Least Significant Difference* (LSD) dilakukan untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antara kelompok K1 dengan K2, P1, P2, dan P3; K2 dengan P1, P2, dan P3; P1 dengan P2 dan P3.

PEMBAHASAN

Adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kelompok K1 dengan K2 menunjukkan bahwa pemberian CCl_4 dengan dosis 1 ml/kg BB tikus secara intraperitoneal dapat mengakibatkan kerusakan hati pada kelompok K2 yaitu didapatkan hasil rata-rata pengukuran enzim SGPT sebesar $4038,60 \pm 2341,61$ IU/L, nilai ini lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok K1 yaitu sebesar $74,20 \pm 6,90$ IU/L. Peningkatan kadar enzim SGPT ini sesuai dengan teori bahwa pemberian CCl_4 dosis 1 ml/kg BB dapat mengakibatkan kerusakan hati yang ditandai dengan peningkatan kadar enzim SGPT dua kali lipat lebih tinggi dibandingkan kontrol.

CCl_4 adalah cairan yang tidak berwarna, tidak larut dalam air, dan digunakan dalam industri sebagai pelarut organik. CCl_4 dapat diserap melalui membran sel dan CCl_4 yang masuk ke dalam tubuh akan di distribusikan ke semua organ, tetapi efek

toksiknya terutama terlihat pada hepar. Toksisitas CCl_4 disebabkan akibat konversi molekul CCl_4 menjadi radikal bebas $\text{CCl}_3\cdot$ oleh sitokrom P-450.⁵ Radikal bebas $\text{CCl}_3\cdot$ akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal triklorometil peroksida ($\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$) yang sangat reaktif.¹² Pembentukan radikal bebas yang berlebihan akan mengakibatkan stress oksidatif sehingga dapat menimbulkan gangguan pada hati. Stress oksidatif yang berlebihan dalam tubuh perlu tambahan antioksidan dari luar.¹³ Tipe toksisitas dari CCl_4 terhadap hati adalah menyebabkan *fatty liver* atau steatosis, infiltrasi lemak, nekrosis sentrolobuler, hingga sirosis.¹³

Kelompok K2 yang dibandingkan dengan kelompok P1, P2, dan P3 memiliki perbedaan yang bermakna. Perbedaan yang bermakna antara kelompok K2 dengan P1, P2, dan P3 menunjukkan adanya efek hepatoprotektif dari ekstrak kulit apel var. *Rome beauty* yang dibuktikan dengan penurunan rata-rata kadar enzim SGPT yang signifikan pada kelompok P1, P2, dan P3 dibandingkan dengan kelompok K2. Penurunan enzim SGPT pada kelompok P1 yang diberikan ekstrak kulit apel var. *Rome beauty* dosis 0,12 mg/kg BB memberikan hasil yang terbaik yaitu kadar rata-rata enzim SGPT mencapai nilai normal yaitu $60,40 \pm 2,30$ IU/L, nilai ini sesuai dengan rujukan nilai normal enzim SGPT menurut LPPT UGM, yaitu 42,9-67,4 IU/L.¹⁴ Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit apel var. *Rome beauty* dosis 0,12 mg/kg BB memperlihatkan efek hepatoprotektor yaitu dapat melindungi terhadap kerusakan jaringan hati yang diinduksi dengan CCl_4 . Pada kelompok P2 dan P3 juga terdapat penurunan kadar rata-rata enzim SGPT yaitu $89,60 \pm 10,64$ IU/L dan $91,40 \pm 9,81$ IU/L namun penurunan enzim ini belum mencapai keadaan normal yang sesuai dengan nilai rujukan berdasarkan LPPT UGM. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian

ekstrak kulit apel var. *Rome beauty* dosis 0,24 mg/kg BB dan 0,49 mg/kg BB memperlihatkan efek hepatoprotektor tetapi belum maksimal.

Penurunan enzim SGPT setelah pemberian ekstrak kulit apel var. *rome beauty* merupakan salah satu tanda adanya perbaikan sel-sel hati yang mengalami kerusakan akibat paparan dari CCl_4 . Hal ini disebabkan karena ekstrak kulit apel mengandung salah satu fitokimia yaitu polifenol dengan komponen utama *procyanidins oligomer*. Menurut Yudhie, 2010 Polifenol merupakan jenis fitokimia yang bersifat antioksidan aktif dengan kekuatan 100 kali lebih efektif dibandingkan dengan vitamin C dan 25 kali lebih tinggi dibanding vitamin E.¹⁵ Aktivitas antioksidan pada varietas apel *Rome beauty* memiliki kadar tertinggi dibandingkan varietas apel malang yang lainnya.¹⁶ Selain polifenol, kulit apel juga mengandung *quercetin*. *Quercetin* merupakan subkelas flavonoid golongan flavonol yang dibedakan karena struktur kimia dan karakteristiknya.¹⁷ Secara *in vitro*, *quercetin* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar daripada vitamin A dan E.¹⁷

Berdasarkan uji *post hoc* pada kelompok P1 dengan P2 dan P3 memiliki nilai signifikansi *alpha* kurang dari 0,05 ($P < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok P1 dengan kelompok P2 dan P3. Perbedaan ini menunjukkan bahwa dosis ekstrak kulit apel var. *Rome beauty* pada P1 dosis 0,12 mg/kg BB memiliki efek hepatoprotektor maupun hepatokurator yang paling efektif dibandingkan dengan kelompok P2 dan P3. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis yang lebih besar aktivitas hepatoprotektor menjadi berkurang.¹⁸ Hal ini tidak sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa kenaikan dosis dan banyaknya konsentrasi zat aktif di dalam obat diikuti oleh kenaikan respon farmakologi.¹⁹

Kulit apel memiliki kandungan flavonoid tambahan yang tidak terdapat pada daging buah apel seperti *quercetin glycosides* dan *cyanidin glycoside*.⁸ Kandungan flavonoid yang terdapat di dalam kulit apel ini memiliki aktivitas antioksidan yang dapat meredam radikal bebas akibat pemberian CCl₄. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel akan dihambat.² Di dalam hepar sendiri terdapat mekanisme detoksifikasi bahan berbahaya, dan hepar mengandung antioksidan dengan berat molekul rendah, maka dari itu dengan dibantu oleh antioksidan yang terdapat pada ekstrak kulit apel var. *Rome beauty* dapat menghambat kerusakan hati akibat paparan CCl₄. Aktivitas antioksidan dapat bekerja dengan mekanisme: menstimulasi sistem pertahanan antioksidan seperti superoksida dismutase, katalase, glutathion, glutathion reduktase, menstabilkan biomembran dengan mengurangi peroksidasi lemak dan menangkap radikal bebas. Menghambat aktivitas oksidasi baik yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik Memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan menangkap radikal bebas.¹⁹

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis dan pembahasan terhadap hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian Ekstrak kulit apel var. *Rome beauty* dosis 0,12 mg/kg BB dapat menurunkan enzim SGPT tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl₄ sampai ke nilai normal.
2. Pemberian ekstrak kulit apel var. *Rome beauty* dosis 0,24 mg/kg BB dapat menurunkan enzim SGPT tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl₄ namun tidak mencapai nilai normal.
3. Pemberian ekstrak kulit apel var. *Rome beauty* 0,49 mg/kg BB dapat menurunkan enzim SGPT tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl₄ namun tidak mencapai nilai normal.

DAFTAR PUSTAKA

- (1) Boyer J. & Liu R.H. Apple Phytochemicals and Their Health Benefit. Nutrition Journal. 2014; 3: 5. (Online) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC442131> [diakses 9 Oktober 2015].
- (2) Winarsi, H. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan, Yogyakarta: Kanisius; 2007.
- (3) Simamora, A., Flavonoid dalam Apel dan Aktivitas Antioksidannya. 2008; Mei-Agustus: 15: 40. (Online) <http://download.portalgaruda.org/article.php?article=199218&val=6570&title=Flavonoid%20dalam%20Apel%20dan%20Aktivitas%20Antioksidannya> [diakses 5 November 2015].
- (4) Guyton, A.C. & Hall, J. E. Fisiologi Kedokteran. edisi 11. Jakarta: EGC; 2006.
- (5) Kumar, V., Cotran, R.S., & Robbins S.L. Buku Ajar Patologi. Jakarta: EGC; 2012.
- (6) Giboney P.T. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient, Am Fam Physician, 2005: 71 (6); 1105-10.
- (7) Chinici. Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden Delicious apples as related to their phenolic composition. J Agric Food Chem; 2004; 52(15): 4684-4689.

- (8) Wolfe K.L., & Liu R. H. Apple Peels as a Value-added Food Ingredient. *J Agric Food Chem.* 2003; 51: 1676–1683.
- (9) Redha, A. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Berlian*; 2010; 9(2): 196–202.
- (10) Haki, M. Efek Ekstrak Daun Talok (*Muntingia Calabura L.*) Terhadap Aktivitas Enzim SGPT pada Mencit yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (Skripsi). Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret; 2009.
- (11) Hodgsons E. A Text Book of Modern Toxicology. 3rd edition. Canada: John Wiley & Sons Inc; 2004.
- (12) Curtis D. and Klaassen, P. (ed.) Casarett and doull's Toxicology the Basic Science of Poison. 6th edition. Kansas: McGraw-Hill; 2011.
- (13) Sujono, T.A., Wahyuni A.S., Da'i, M., Kusumowati, I.T.D., Suhendi, A., Munawaroh, R., et. al. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Meniran (*Phyllanthus Niruni L*) Selama 90 Hari Terhadap Fungsi Hati Tikus. *University Research Colloquium*; 2015: 136-142.
- (14) Jauhary, H. Sehat Tanpa Obat dengan Apel. Rapha Publishing. Yogyakarta. 2016.
- (15) Susanto, W. H. dan Bagus, R. Pengaruh varietas apel (*Malus sylvestris*) dan Lama Fermentasi oleh Khamir *Saccharomyces Cerivisiae* sebagai Perlakuan Pra-pengolahan terhadap Karakteristik Sirup, *Jurnal Teknologi Pertanian*; 2011; 12(3): 135-142
- (16) Persada, N.I. Pengaruh Ekstrak Kulit Apel Rome Beauty dalam Mengurangi Kerusakan Histologis Hati Mencit yang Diinduksi CCl₄ (Skripsi). Surakarta: Fakultas Kedokteran. Universitas Sebelas Maret; 2009.
- (17) Nakagawa K. et. al. Differential effects of Flavonoid Quercetin on Oxidative Damages Induced by Hydrophilic and Lipophilic Radical Generators in Hepatic Lysosomal Fractions of Mice. *Journal of Health Science*; 2000; 46(6): 509–512.