

The influence of *Piper retrofractum Vahl* (Java's chili) extract towards lipid profile and histology of rats coronary artery with high-fat diet¹

Syazili Mustofa², Ahmad A Anindito³, Agustia Pratiwi³, Aisyah A Putri³, Muhammad Maulana³

¹Research grant funded by Health Professional Education Quality (HPEQ) the University of Lampung 2013

²Biochemistry Department of medical Faculty of The University of Lampung

³The Students of Medical Faculty of The University of Lampung

Abstract

Piper retrofractum Vahl has effects to be able to balance the blood lipid profile and prevent coronary heart disease. The java's chili contains chemical compounds in the form of piperine and betasitosterol. Piperine has androgenic and anabolic effects and can improve blood circulation, while β -sitosterol can lead improvements in body fat compositions, and lipid profile. The design of this reasearch was randomized post test only control group, 21 male rats, 12 weeks old, with weight 200 grams, divided into 3 groups, there are K group that given only 1.2 ml of aquades, P1 group that given 1cc of yolk everyday during 49 days, P2 goup that given only 1cc of yolk during 21 days, and then beside yolk was added 10mg per kilo grams weight of body java's chili extract everyday during 28 days. There were significant differences the levels of each lipid profile in all of groups and significant differences in thickness of coronary artery in each treatment groups. The conclusion of this reasearch is java's chili extract (*Piper retrofractum Vahl*) can give influence towards lipid profil picture and tickness of coronary artery of white male rats (*Rattus norvegicus*) that given high-fat diet. [JuKeUnila 2014;4(7):52-59]

Key words: Java's chili (*Piper retrofractum Vahl*), Lipid profile, Coronary artery

Pendahuluan

Ketidakseimbangan profil lipid dalam darah (dislipidemia) sangat berbahaya bagi kesehatan. Hal ini dikarenakan dislipidemia akan mengganggu proses metabolisme normal dalam tubuh.¹ Dislipidemia dapat berupa penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) dan peningkatan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL), peningkatan kadar kolesterol total, dan peningkatan kadar trigliserida. Dislipidemia yang berlangsung lama dapat menjadi pemicu terjadinya aterosklerosis dan penyakit jantung koroner.²

Prevalensi dislipidemia di Indonesia cukup tinggi, hal ini dapat

dilihat dari hasil penelitian pada kelompok usia lanjut di Jakarta, terhadap 307 sampel penelitian, didapatkan kejadian dislipidemia sebesar 44,6%. Penelitian yang dilakukan di kota Padang juga menunjukkan kejadian dislipidemia yang cukup tinggi, yaitu lebih dari 50% sampel penelitian memiliki nilai total kolesterol ≥ 240 mg/dl dan (*Low Density Lipoprotein*) LDL ≥ 160 mg/dl.^{2,3}

Dislipidemia memicu terjadinya penyakit jantung koroner. Komposisi HDL yang rendah dan LDL yang tinggi menyebabkan terjadinya penumpukan lemak di jaringan ekstrahepatik. Salah satu tempat dimana lemak ditumpuk

dijaringan ekstrahepatik adalah di lapisan tunika media pembuluh arteri. Tumpukan lipid yang teroksidasi akan mengaktifkan makrofag untuk "memakan" lipid tersebut sehingga akan membentuk *foam cell*.⁴ Terbentuknya *foam cell* ini menyebabkan menebalnya dinding pembuluh darah, menyempitnya saluran pembuluh arteri, dan juga dapat menginduksi reaksi inflamasi. Aterosklerosis dapat terjadi pada semua pembuluh darah. Bila aterosklerosis terjadi pada aorta, maka hal ini akan menyebabkan timbulnya penyakit jantung koroner.⁵

Menurut estimasi para ahli badan kesehatan sedunia (WHO), setiap tahun sekitar 50% penduduk dunia meninggal akibat penyakit jantung dan pembuluh darah. Berdasarkan laporan *World Health Statistic 2008*, tercatat 17,1 juta orang meninggal di dunia akibat penyakit jantung koroner dan diperkirakan angka ini akan meningkat terus hingga 2030 menjadi 23,4 juta kematian di dunia. Organisasi Kesehatan Sedunia (WHO) dan Organisasi Federasi Jantung Sedunia (World Heart Federation) memprediksi penyakit jantung akan menjadi penyebab utama kematian di negara-negara Asia pada tahun 2010. Saat ini, sedikitnya 78% kematian global akibat penyakit jantung terjadi pada kalangan masyarakat miskin dan menengah.⁶

Salah satu tanaman obat bisa membantu dan diduga mempunyai efek untuk dapat menyeimbangkan profil lipid darah dan mencegah penyakit jantung koroner adalah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl).⁷ Cabe jawa mengandung senyawa kimia yang berupa piperine dan betasitosterol yang diduga mempunyai efek afrodisiaka.⁸ Piperine mempunyai efek androgenik dan anabolik serta dapat melancarkan peredaran darah, sedangkan betasitosterol dapat

diubah menjadi pregnenolon yang dapat dikonversi menjadi testosteron.⁹

Peningkatan kadar testosteron akan menyebabkan perbaikan pada komposisi lemak tubuh, metabolisme tulang, dan profil lipid, sehingga dapat mencegah timbulnya penyakit jantung koroner. Selain itu kadar testosteron juga mempunyai korelasi dengan indeks massa tubuh.⁹

Cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) cukup aman, mudah didapat, dan dapat tumbuh diseluruh wilayah Indonesia.¹⁰ Selain itu, cabe jawa mempunyai efek androgenik dan meningkatkan kadar hormon testosteron percobaan serta sudah diketahui karakterisasinya baik sebagai simplisia maupun ekstrak etanol 95%. Ekstrak cabe jawa ini mempunyai prospek positif untuk dapat dikembangkan menjadi fitofarmaka androgenik melalui berbagai aspek penelitian secara klinik.¹¹

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain adalah *randomized post test only control group*. Penelitian ini dilaksanakan selama empat bulan, mulai bulan juni 2013 sampai dengan september 2013. Tempat penelitian ini adalah di laboratorium biokimia fakultas Kedokteran Universitas Lampung.¹²

Pada penelitian ini hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain wistar dewasa usia 2-4 bulan dengan berat \pm 200 gram dan sehat. Hewan uji di tempatkan pada kandang yang terbuat dari baskom/wadah plastik yang alasnya dilapisi dengan sekam padi dan diganti setiap 2 hari sekali untuk menjaga kandang tetap bersih dan mencegah timbulnya penyakit akibat infeksi akibat perkembangan mikroorganisme yang dapat mengganggu kelangsungan hidup hewan uji. Kandang diletakkan

dalam suhu kamar dan menggunakan sinar matahari secara tidak langsung. Suhu dan kelembaban ruangan dibiarkan berada dalam kisaran alamiah. Pada bagian atas kandang (baskom) ditutupi dengan kawat dan diletakkan botol tempat minum untuk hewan uji. Untuk makanan hewan uji diberikan berupa pelet/pakan ikan. Makanan dan minuman di tempatkan pada wadah terpisah dan diganti setiap 2 hari sekali (pagi dan sore hari).

Sebelum diberi perlakuan, hewan uji diadaptasikan selama satu minggu di *Animal house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Setiap hewan uji diperhatikan kesehatan fisiknya (gerakan yang aktif, tidak terdapat kerusakan pada tubuh hewan uji), kebersihan kandang dan frekuensi pemberian makan.¹³

Pada penelitian ini digunakan bahan ekstrak dari cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl). Ekstrak dibuat di Bagian Kimia Organik FMIPA Unila. Proses pembuatan ekstrak etanol cabe jawa dalam penelitian ini menggunakan etanol teknis 97% sebagai pelarut. Ekstraksi dimulai dari penimbangan cabe jawa. Selanjutnya seluruh bagian dikeringkan dalam almari pengering, dibuat serbuk dengan menggunakan blender atau mesin penyerbuk. Etanol teknis dengan kadar 97 % ditambahkan untuk melakukan ekstraksi dari serbuk ini selama kurang lebih 2 (dua) jam kemudian dilanjutkan maserasi selama 24 jam. Setelah masuk ke tahap filtrasi, akan diperoleh filtrat dan residu. Filtrat yang didapat akan diteruskan ke tahap evaporasi dengan *Rotatory Evaporator* pada suhu 40 °C sehingga akhirnya diperoleh ekstrak kering. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dosis piperin yang terbukti menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida adalah sebanyak 40 mg/kgbb, sehingga dosis piperin

yang diberikan untuk tikus dengan berat badan 250 g adalah sebanyak 10 mg.⁸

Tikus Wistar jantan, dibagi dalam 3 kelompok, yaitu Kelompok K hanya diberi aquades 1,2 ml selama 49 hari, Kelompok P1 diberi kuning telur 1 cc setiap hari selama 49 hari, Kelompok P2 diberi kuning telur 1 cc saja selama 21 hari, selanjutnya selain pemberian 1 cc kuning telur ditambahkan ekstrak cabe jawa 10 mg perkilogram berat badan setiap hari selama 28 hari. Pengambilan spesimen dilakukan pada hari ke 50 setelah tikus dipuaskan selama delapan jam.^{13,14}

Hasil

Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus* L) galur Wistar jantan, berumur 2-3 bulan. Tikus digunakan karena mempunyai kemiripan dengan manusia dalam hal fisiologi, anatomi, nutrisi, patologi, metabolisme dan lazim digunakan dalam penelitian mengenai kadar kolesterol. Tikus jantan digunakan karena sedikit terpengaruh oleh perubahan hormonal. Estrogen berpengaruh terhadap kolesterol darah. Pada tikus jantan, lipid darah tidak dipengaruhi karena hewan tersebut mempunyai sedikit estrogen.¹³ Penelitian ini melalui beberapa tahapan yaitu aklimasi hewan untuk menyesuaikan dengan kondisi lingkungan sekitar, pemberian diet tinggi lemak dan perlakuan dengan ekstrak cabe jawa.

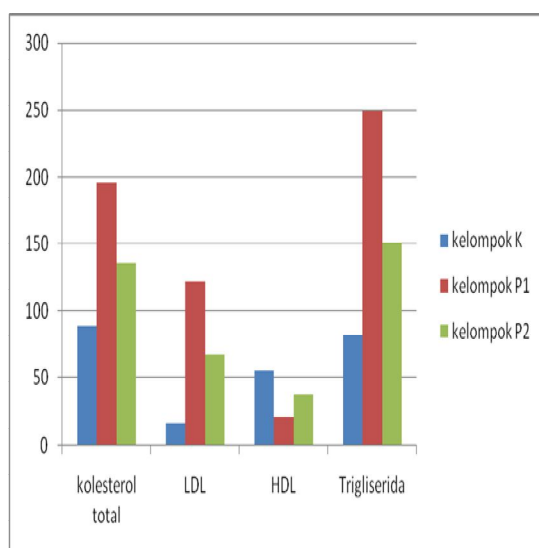
Selama aklimasi, semua tikus diberi pakan pellet dan air minum *ad-libitum* selama 7 hari. Pemberian diet tinggi lemak dengan memberikan 1 cc kuning telur setiap hari selama 49 hari. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar kolesterol total darah, kolesterol LDL, kolesterol HDL, trigliserid dan gambaran arteri koronariatikus.

Dari uji statistik, pemberian

kuning telur 1 cc setiap hari selama empat puluh sembilan hari pada tikus putih, menyebabkan perbedaan kadar profil lipid yang signifikan ($P < 0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kadar kolesterol total darah tikus yang diberikan kuning telur selama empat puluh sembilan hari lebih tinggi dua kali lipat dari pada kelompok kontrol. Kadar LDL kelompok P1 lebih tinggi 7 kali lipat, dan kadar HDL lebih rendah $\frac{1}{2}$ kali lipat dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan rerata \pm profil lipid masing masing kelompok setelah 49 hari perlakuan (dalam mg/dl)

	kelompok K	kelompok P1	kelompok P2
Kolesterol total	89 \pm 3	196 \pm 10	136 \pm 12
LDL	17 \pm 2	122 \pm 5	67 \pm 3
HDL	56 \pm 2	22 \pm 2	38 \pm 2
Trigliserida	82 \pm 6	249 \pm 20	151 \pm 10



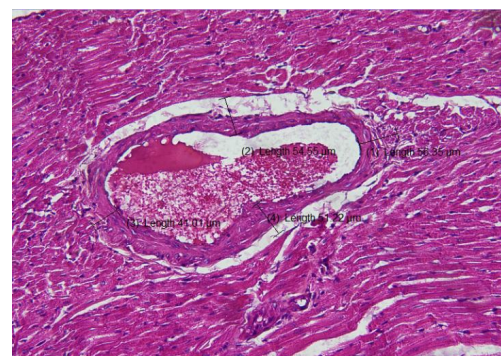
Gambar 1. Grafik perbedaan kadar rerata profil lipid masing masing kelompok

Hasil pengamatan preparat histologi penampang lintang arteri koronari secara kualitatif pada kelompok kontrol (K) menunjukkan bahwa tunika intima arteri koronaria masih intak yang artinya belum adanya proses awal terbentuknya aterosklerosis. Sedang yang diberi perlakuan diet tinggi lemak (P1) menunjukkan adanya sel endotel tidak utuh lagi bahkan ditemukan adanya plak aterosklerosis yang diikuti penebalan dinding aorta. Pemberian diet tinggi lemak bersamaan dengan ekstrak cabe jawa (P2) menunjukkan adanya sel endotel tidak utuh namun belum sampai terbentuk plak aterosklerosis pada dinding pembuluh darah.

Berikut ini adalah hasil pengamatan a.koronaria pada setiap kelompok penelitian.



(a)



(b)



(c)

Gambar 7. Gambaran A.koronaria (a) Kelompok K; (b) Kelompok P1; (c) Kelompok P2 dengan pewarnaan H.E. (Pembesaran 200x). Ketebalan arteri koronaria dalam μm dihitung dengan 4 posisi berlawanan.

Kelompok K merupakan kelompok kontrol yang hanya diberikan diet standar selama 7 minggu. Pada kelompok ini didapatkan rerata ketebalan adalah $22,16 \pm 3,80 \mu\text{m}$. Gambaran a.koronaria yang terlihat pada kelompok belum menunjukkan adanya penebalan dan masih dalam batas normal. Baik tunika intima, tunika media dan adventitia masih terlihat jelas dan berbatas tegas. Tidak terlihat adanya penyempitan lumen.

Kelompok P1 merupakan kelompok yang diberikan diet tinggi lemak sebanyak 1 cc kuning telur/hari secara intermiten. Pada kelompok ini didapatkan rerata ketebalan adalah $47,06 \pm 6,63 \mu\text{m}$. Gambaran a.koronaria pada kelompok P1 menunjukkan perbedaan ketebalan dinding a.koronaria jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yaitu kelompok K. Susunan tunika intima, tunika media, dan tunika adventitia terlihat tidak teratur dan terlihat adanya penyempitan lumen.

Kelompok P2 merupakan

kelompok perlakuan yang diberikan diet tinggi lemak dan ekstrak etanol 95% cabe jawa. Pada kelompok ini didapatkan rerata ketebalan adalah $33,39 \pm 2,02 \mu\text{m}$. Dari gambaran a.koronaria pada kelompok P2 menunjukkan ketebalan dinding a.koronaria yang lebih tebal jika dibandingkan dengan kontrol negatif yaitu kelompok A tetapi lebih tipis dari kelompok kontrol positif yaitu kelompok P1. Susunan tunika intima, tunika media dan adventitia terlihat serta tidak terlihat penyempitan lumen.

Tabel 2. Ketebalan A.koronaria Tiap Kelompok

Kelompok	Rerata Ketebalan A.koronaria Tiap Kelompok \pm s.d. (dalam μm)
Kelompok K (Diet standar)	$22,16 \pm 3,80$
Kelompok P1 (diet tinggi lemak)	$47,06 \pm 6,63$
Kelompok P2 (Diet tinggi lemak+ekstrak cabe jawa)	$33,39 \pm 2,02$

Pembahasan

Kadar kolesterol total darah

Kolesterol terdapat pada semua jaringan dan lipoprotein plasma, terdapat dalam bentuk kolesterol bebas atau gabungan asam lemak rantai panjang sebagai ester kolestril. Unsur ini disintesis dari Acetil-co A dan akhirnya dikeluarkan dari tubuh lewat empedu sebagai garam kolesterol. Kolesterol bebas

dikeluarkan dari jaringan oleh HDL dan diangkut ke dalam hati untuk diubah menjadi asam empedu¹⁶. Keadaan hiperkolesterolemik ditandai dengan kenaikan kadar kolesterol darah diatas normal. Pada tikus *R. norvegicus*. galur Wistar, kadar kolesterol darah normal adalah 10-54 mg/dl.

Hasil analisis kadar kolesterol darah disajikan pada uji statistik, kelompok perlakuan diet tinggi lemak dengan pemberian ekstrak cabe jawa (kelompok P2) dengan kelompok yang hanya diberi diet tinggi lemak (kelompok P1) mempunyai kadar kolesterol total darah yang berbeda secara signifikan. Kelompok tikus yang diberi diet tinggi lemak dengan ekstrak cabe jawa selama 49 hari lebih rendah kadar kolesterol totalnya daripada kelompok yang hanya diberi diet tinggi lemak saja.

Ekstrak cabe jawa mengandung β -sitosterol. Selama tiga dekade terakhir β -sitosterol telah diketahui dapat mengurangi kadar kolesterol. Struktur β -sitosterol mempunyai kemiripan dengan kolesterol, sehingga dapat memblokir penyerapan kolesterol dengan cara penghambatan kompetitif. Meskipun β -sitosterol tidak diserap dengan baik oleh tubuh (5-10%), bila dikonsumsi dengan kolesterol secara efektif memblokir penyerapan kolesterol, yang mengakibatkan menurunkan kadar kolesterol serum. Beta-sitosterol juga dapat meningkatkan profil lipoprotein.¹⁸

Kadar LDL darah

Low Density Lipoprotein merupakan lipoprotein yang mengangkut lipid dari hepar menuju ke perifer (ekstra hepatic) dan sering disebut kolesterol "buruk". LDL mengandung setengah hingga dua pertiga kolesterol. Kadar LDL yang tinggi beresiko terjadinya aterosklerosis.¹⁷ Kelompok perlakuan

diet tinggi lemak dengan pemberian ekstrak cabe jawa (kelompok P2) mempunyai perbedaan kadar LDL darah secara signifikan dengan kelompok perlakuan diet tinggi lemak (P1).

Cabe jawa mengandung senyawa kimia yang berupa piperine dan betasitosterol yang diduga mempunyai efek afrodisiaka. Piperine mempunyai efek androgenik dan anabolik serta dapat melancarkan peredaran darah, sedangkan betasitosterol dapat diubah menjadi pregnenolon yang dapat dikonversi menjadi testosteron.¹⁹ Peningkatan kadar testosteron akan menyebabkan perbaikan pada komposisi lemak tubuh, metabolisme tulang, dan profil lipid, sehingga dapat mencegah timbulnya penyakit jantung koroner. Selain itu kadar testosteron juga mempunyai korelasi dengan indeks massa tubuh.⁹

Kadar HDL darah

High Density Lipoprotein sering disebut kolesterol "baik" karena merupakan lipoprotein yang mengangkut lipid dari perifer menuju ke hepar. Karena molekulnya yang relatif kecil dibanding lipoprotein lain, HDL dapat melewati sel endotel vaskular dan masuk ke dalam tunika intima untuk mengangkut kembali kolesterol yang terkumpul dalam makrofag, disamping HDL juga mempunyai sifat antioksidan sehingga dapat mencegah terjadinya oksidasi LDL. Rendahnya kadar HDL di dalam darah akan meningkatkan resiko aterosklerosis dan penyakit jantung koroner.¹⁰ Hasil analisis kadar HDL Darah tikus melalui pengujian statistik, ketiga kelompok tikus memiliki perbedaan kadar HDL yang signifikan.

Gambaran arteri koronaria

Pemberian komposisi pakan aterogenik selama 7 minggu dapat

meningkatkan kadar kolesterol darah dan menginduksi terbentuknya sel busa secara bermakna. Tikus putih (*Rattus norvegicus* strain Wistar) dapat dipakai sebagai hewan model untuk penelitian penelitian aterosklerosis. Perbedaan histologi antar perlakuan diamati secara kualitatif. Pengamatan terhadap gambaran penampang melintang arteri koronaria dilakukan dengan seksama serta dituangkan dalam pemberian skor dengan kriteria 1: endotel utuh (intak), 2: endotel tidak utuh (tidak intak) dan 3: adanya plak aterosklerosis.

Hasil pengamatan preparat histologi penampang lintang arteri koronaria secara kualitatif pada kontrol menunjukkan bahwa tunika intima arteri koronaria masih intak yang artinya belum adanya proses awal terbentuknya aterosklerosis. Sedang yang diberi perlakuan diet tinggi lemak menunjukkan adanya sel endotel tidak utuh lagi bahkan ditemukan adanya plak aterosklerosis yang diikuti penebalan dinding aorta. Pemberian diet tinggi lemak bersamaan dengan ekstrak cabe jawa menunjukkan adanya sel endotel tidak utuh belum sampai terbentuk plak aterosklerosis pada dinding pembuluh darah.

Pada penelitian ini minyak atsiri yang terkandung dalam ekstrak cabe jawa berguna sebagai antioksidan. Bahan aktif minyak atsiri cabe jawa memiliki kandungan utama terpenoid. Terpenoid merupakan antioksidan alami. Antioksidan pada penelitian ini berperan terhadap oksidasi LDL yang diinduksi oleh kuning telur. Antioksidan dalam minyak atsiri cabe jawa mampu mencegah reaksi oksidasi LDL. LDL teroksidasi merupakan suatu antigen. Penurunan jumlah LDL teroksidasi juga berarti penurunan antigen, yang dapat berakibat penurunan pula jumlah limfosit T sebagai respon imun selulernya. Dengan demikian proses

peradangan akan dihambat sehingga tidak terjadi kerusakan endotel aorta.¹⁸

Flavonoid sebagai antioksidan mempunyai efek yang menguntungkan pada fungsi endotel yaitu menurunkan oksidasi LDL dan meningkatkan produksi nitric oxide (NO). Oksidasi LDL akan menginduksi respon inflamasi dengan memproduksi leukosit dan Cytokine pada endotel. Flavonoid menurunkan oksidasi LDL dan mencegah inflamasi pada endotel. Nitric oxide adalah vasodilator endogenous yang mempunyai kemampuan anti aterosklerosis. Polyphenol akan mencegah oksidasi LDL.¹⁹ Oksidasi LDL akan menghasilkan Reactive Oxygen Species (ROS) yang bersifat toksik, dan jika berikatan dengan NO akan membentuk peroksinitrit oksidan. Oksidasi kolesterol ini dapat memacu terjadinya proses aterosklerosis.²⁰

Simpulan

Secara keseluruhan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak cabe jawa mempunyai potensi antihiperlipidemi, dan memberikan harapan bagi pencegahan aterosklerosis. Hasil penelitian ini masih perlu dikaji lebih dalam sehingga dapat nantinya dapat dimanfaatkan oleh masyarakat untuk pencegahan dislipidemia dan aterosklerosis. Hasil ini memberi harapan penggunaan ekstrak cabe jawa untuk mencegah kenaikan kadar kolesterol darah. Kesimpulan dari penelitian ini adalah "Ekstrak Cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) dapat memberikan pengaruh terhadap gambaran profil lipid dan gambaran histologi arteri koronaria tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet tinggi lemak".

Daftar Pustaka

1. Adam, J. M. 2009. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III. Edisi V. Balai Penerbit FKUI. Jakarta.
2. Kamso, S., Purwastyastuti, Juwita, R. 2002. Dislipidemia pada lanjut usia di kota Padang. *Makara Kesehatan*, 6, 2, 55-58.
3. Khairani, R., dan Sumiera, M. 2005. Profil lipid pada penduduk lanjut usia di Jakarta. *Universa Medicina*, 24, 4, 175-183.
4. Anwar, T. B. 2004. Dislipidemia Sebagai Faktor Resiko Penyakit Jantung Koroner. Universitas Sumatera Utara. Medan.
5. Setiati, S., Harimurti, K., Govinda, A. R. 2009. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I. Edisi V. Balai Penerbit FKUI. Jakarta.
6. WHO, 2008. The Top Ten Causes of death 2004. <http://www.who/whr.int>.
7. Winarto, P. 2008. Cabe Jawa Si Pedas Berkhasiat Obat. Penerbit: Agromedia Pustaka. Jakarta
8. Usia, T. 2012. Mengenal cabe jawa : Tanaman Obat untuk stamina pria. *InfoPOM-vol.13 no.2 Maret-April 2012*. Jakarta; hal 4-7.
9. Isidori AM, Giannetta E, Greco EA, Gianfrilli D, Bonifacio V, Isidori A, Lenzi A, Fabbri A. 2010. Effects of testosterone on body composition, bone metabolism and serum lipid profile in middle-aged men: a meta-analysis. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16117815> diakses tanggal 7 April 2013
10. Rukmana, R. 2003. Cabai Jawa : Potensi dan Khasiatnya Bagi Kesehatan. Kanisius. Yogyakarta. 43 hal.
11. Kintoko. 2006. Prospek pengembangan tanaman obat. *Prosiding Persidangan Antara Bangsa Pembangunan Aceh, Universitas Kebangsaan Malaysia, Bangi 2006:178-188.*
12. Dahlan, S. 2009. Besar Sampel dan Cara Pengambilan Sampel dalam Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Edisi 3. Jakarta: Salemba Medika.
13. Hastono. 2006. Metodologi Penelitian. Arcan, Jakarta.
14. Hardinsyah. 2012. Kecukupan Energi, Protein, Lemak dan Karbohidrat. WNPG 2012. Jakarta.
15. Shah, SS, Gaurang BS, Satbeer DS, Priyanshi VG, Kajal C, Khyati AS, dkk. 2011. Effect of piperine in the regulation of obesity-induced dyslipidemia in high-fat diet rats. *Indian Journal of Pharmacology*. 43: 296 – 299
16. Guyton & Hall. 2007. Fisiologi Kedokteran. EGC, Jakarta, hal. 1112-1114
17. Murray, R. K. 2011. Pengangkutan dan penyimpanan lipid. *Biokimia Harper*. EGC, Jakarta.
18. Hidayat, T.M. 2012. Berbagai Manfaat Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl.). Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Diponegoro, Semarang.
19. Nuraini, A. Mengenal etnobotani beberapa tanaman yang berkhasiat sebagai aprodisiaka. *InfoPOM, Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia 2003; IV(10):1-4.*
20. Peter, O., Kwiterovich, Jr. 2003. Disorders of Lipid and Lipoprotein Metabolism. *Rudolph's Pediatrics*, 21st Edition.