

## Formulasi Nanoemulsi Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench.) dan Uji Aktifitas Antikolesterol secara In-vitro

### (Nanoemulsion Formulation of Ethanol Extract Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench.) Fruit and Anticholesterol Activity In Vitro Test)

RATNA DJAMIL<sup>1\*</sup>, SARAH ZAIDAN<sup>3</sup>, VERA BUTAR-BUTAR<sup>4</sup>,  
DIAH KARTIKA PRATAMI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta, 12640, Indonesia

<sup>2</sup>Laboratorium Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta, 12640,  
Indonesia

<sup>3</sup>Laboratorium Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta, 12640, Indonesia

<sup>4</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta, 12640, Indonesia

Diterima: 31 Januari 2020, Disetujui: 30 Maret 2020

**Abstrak:** Buah okra kaya dengan kandungan senyawa flavonoid, phytosterol, pektin yang berkhasiat sebagai antikolesterol. Efektifitas farmakologi dari ekstrak etanol 70% buah okra (EEBO) dapat ditingkatkan dengan pembentukan nanoemulsi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuat ekstrak etanol 70% dan nanoemulsi EEBO serta membuktikan penghambatan kolesterol secara *in vitro* EEBO lebih kecil dibandingkan bentuk nanoemulsi EEBO. Buah okra diekstraksi secara maserasi kinetik, dilakukan uji penapisan fitokimia, kemudian diuji penghambatan kolesterolnya secara *in vitro* dengan menggunakan pereaksi Lieberman Burchard. Nilai penghambatan kolesterol ditunjukkan dari nilai IC<sub>50</sub>. Nanoemulsi EEBO yang dibuat dengan metode emulsifikasi spontan menggunakan capmul (glyceryl caprylat), propilenglikol, gliserin dengan perbandingan (1 : 2,5 : 2 mL). Hasil penapisan fitokimia simplisia buah okra dan EEBO memiliki kandungan flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin dan kumarin. Nanoemulsi yang dihasilkan memiliki diameter 134,7 nm dengan nilai zeta potensial yang memenuhi persyaratan yaitu -26,72 mV. Nilai IC<sub>50</sub> EEBO dan nanoemulsi EEBO masing-masing sebesar 764,11 µg/mL dan 712,50 µg/mL. Terbukti metode nanoemulsi dapat meningkatkan nilai IC<sub>50</sub> antikolesterol karena dapat menembus celah antar sel sehingga penghantaran dan ketersediaan hayatinya lebih tinggi.

**Kata kunci:** *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, antikolesterol, buah okra, nanopartikel.

**Abstract:** Okra fruit has a flavonoid, phytosterol and pectin content, which is potential as an anticholesterol agent. The pharmacological activity of ethanol extract 70% of okra fruit (EEOF) can be improved by forming nanoemulsion. This study aimed to prepare an ethanol extract 70% and nanoemulsion of okra fruit and to prove the cholesterol inhibition in vitro EEOF is smaller than the nanoemulsion of EEOF. The okra fruit was extracted by kinetic maceration, the EEOF was analyzed by a phytochemical screening test and cholesterol inhibition assay in vitro using Liebermann-Burchard reagent. The anticholesterol activity was expressed as IC<sub>50</sub> values. Nanoemulsion of EEOF prepared by spontaneous emulsification method using capmul, propylenglycol, glycerin (1 : 2.5 : 2 mL). The result of phytochemical screening of okra fruit simplisia and EEOF were contained flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin, and coumarin. The resulting nanoemulsion has a 134.7 nm in diameter with a potential zeta value of -26.72 mV. EEOF has IC<sub>50</sub> of 764.11 µg/mL and nanoemulsion of EEOF have IC<sub>50</sub> of 712.50 µg/mL. Nanoemulsion can improve anticholesterol IC<sub>50</sub> value because it was penetrated the gap between cells so that the delivery and bioavailability were higher..

**Keywords:** *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench., anticholesterol, nanoparticles, okra fruit.

## PENDAHULUAN

POLA gaya hidup mengkonsumsi makanan yang mengandung kolesterol tinggi dan sedikit nutrisi, kebiasaan merokok, serta kurangnya aktivitas fisik berisiko terkena penyakit degeneratif, seperti penyakit jantung koroner, kardiovaskuler, dan hiperkolesterolemia. Survei yang dilakukan WHO pada tahun 2014 menyatakan penyakit jantung koroner dan pembuluh darah menduduki peringkat kedua dan sebanyak 17,3 juta orang di tahun 2008 meninggal akibat penyakit kardiovaskuler yang disebabkan oleh kelebihan kolesterol dan angka tersebut terus meningkat mencapai 23,2 juta pada tahun 2030<sup>(1)</sup>.

Hiperkolesterolemia umumnya diderita oleh orang kelebihan berat badan atau lanjut usia, tetapi tidak menutup kemungkinan gangguan metabolisme ini dapat terjadi pada orang yang memiliki berat badan normal atau di usia muda<sup>(1,2)</sup>. Hiperkolesterolemia merupakan kondisi gangguan metabolisme lemak ditandai dengan tingginya kadar kolesterol total dalam darah. Dalam jangka panjang gumpalan lemak dalam pembuluh darah berisiko terjadi aterosklerosis. Pada penderita penyakit jantung yang disebabkan aterosklerosis, dapat terjadi hambatan aliran darah yang kaya oksigen menuju jantung karena penyempitan dan pengerasan pembuluh darah.

Pengobatan hiperkolesterolemia dengan obat kimia menyebabkan efek samping yang tidak diinginkan. Oleh karena itu dikembangkan obat tradisional agar meminimalkan efek samping. Pada penelitian yang dilakukan oleh Ngoc TH et al., (2008) ekstrak metanol buah okra (*Abelmoschus esculentus* (L) Moench) dapat menurunkan kadar kolesterol pada tikus<sup>(3)</sup>. Penelitian yang dilakukan Sabitha, V (2011) ekstrak kulit buah dan biji *Abelmoschus esculentus* (L) Moench memiliki efek antihiperlipidemia dan antidiabetik pada tikus diabetes<sup>(4)</sup>. Hal ini menunjukkan buah okra memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai obat antikolesterol, dengan adanya kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid kuersetin, fitosterol dan pektin.

Salah satu upaya untuk meningkatkan efektifitas dari buah okra adalah dengan membentuk nanoemulsi<sup>(5)</sup>. Dimana pelarut yang digunakan adalah capmul (glyceryl caprylat), propilenglikol dan gliserin<sup>(6)</sup>. Komponen tersebut merupakan pelarut yang bersifat non-toksik, biodegradable, biocompatible, serta tingkat imunogenitas yang rendah dan dapat dipreparasi menjadi nanopartikel, sehingga sangat sesuai untuk sistem penghantaran obat<sup>(7)</sup>. Partikel dengan ukuran nano dapat meningkatkan terjadinya distribusi yang lebih baik pada tubuh serta dapat memperluas permukaan kontak partikel<sup>(8,9)</sup>.

Metode pengukuran kadar kolesterol secara *in vitro* dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu metode kolorimetri dari Rudel-Morris dan Zak ( $\text{FeCl}_3\text{-H}_2\text{SO}_4$ ) dan metode fotometri dengan mereaksikan larutan kolesterol dengan pereaksi Liebermann-Burchard yang dideteksi secara spektrofotometri<sup>(10,11)</sup>. Penelitian kali ini dilakukan untuk melihat potensi ekstrak kental etanol 70% dari buah okra (*Abelmoschus esculentus* (L) Moench) (EEBO) dan nanoemulsi EEBO yang berpotensi dalam menurunkan kadar kolesterol dengan menggunakan metode Liebermann-Burchard. Metode Liebermann-Burchard dipilih karena kemudahan alat, bahan, akurasi dan cara pengerjaan sederhana.

## BAHAN DAN METODE

**BAHAN.** Buah okra (*Abelmoschus esculentus* (L) Moench) diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro), Bogor. NaOH,  $\text{NH}_4\text{OH}$ , natrium asetat, kloroform, HCl, amilalkohol, besi (III) klorida, eter, asam asetat anhidrat,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , lempeng Mg, etanol, aquadest, propilenglikol, capmul dan gliserin dibeli dari PT. Merck Indonesia. Pereaksi mayer, pereaksi dragendorff, pereaksi stiasny diperoleh dari Q-Lab Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.

**Alat.** Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain spektrofotometer ultraviolet – cahaya tampak (Shimadzu UV 1800), *rotary vacuum evaporator* (BUCHI R-220), timbangan analitik, maserator (IKA), kertas saring, lumpang alu, pengayak No.14, pengayak No.18, magnetic stirrer (IKA C-MAG HS7), alat-alat gelas (Pyrex), dan Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd.), Transmission Electron Microscope (JEOL 1010), dan Particle sizer Analyser (DelsaNano<sup>TM</sup>).

**METODE. Determinasi Tanaman.** Dilakukan determinasi terhadap buah okra (*Abelmoschus esculentus* (L) Moench) yang bertujuan untuk memastikan kebenaran tanaman yang digunakan. Determinasi dilakukan di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi, LIPI Cibinong, Bogor.

**Ekstraksi Buah Okra.** Penyediaan simplisia dilakukan dengan cara menggiling buah okra kering menjadi serbuk dengan derajat halus 4/18 seperti yang dipersyaratkan oleh Materia Medika Indonesia (MMI). Serbuk buah okra diekstraksi dengan cara maserasi kinetik sebanyak 6 kali menggunakan pelarut etanol 70%. Kemudian maserat yang diperoleh dipekatkan dengan vacuum rotavapor dengan suhu 40° C, tekanan 175 mmHg, dan 60 rpm hingga diperoleh ekstrak kental EEBO.

Penapisan Fitokimia. Identifikasi golongan

senyawa kimia dari simplisia dan ekstrak buah okra dilakukan menurut metode *Phytochemical Screening* Farnsworth, meliputi identifikasi alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, kuinon, steroid/terpenoid, kumarin dan minyak atsiri<sup>(12,13)</sup>.

**Pembuatan Nanoemulsi Ekstrak Kental Buah Okra.** Sebanyak 100 mg EEBO dilarutkan dalam campuran pelarut capmul (glyceryl caprylat), propilenglikol, gliserin (1 : 2,5 : 2 mL). Kemudian ditambahkan air murni ad 10 mL hingga diperoleh konsentrasi sebesar 1%. Kemudian dihomogenkan hingga diperoleh nanoemulsi. Kemudian diamati kestabilan emulsi nanopartikel ekstrak kental buah okra selama 5 hari yang meliputi warna, kekeruhan, dan endapan<sup>(14)</sup>.

**Evaluasi Nanoemulsi Ekstrak Buah Okra.** Analisis nanoemulsi EEBO menggunakan metode pada penelitian yang dilakukan oleh Deni R et al (2013) dengan sedikit penyesuaian<sup>(8)</sup>. Dilakukan pemeriksaan ukuran dan distribusi partikel dengan Particle sizer Analyser DelsaNano™. Pemeriksaan zeta potensial nanopartikel dengan menggunakan alat pengukur zeta potensial dari Malvern. Pemeriksaan morfologi partikel nanoemulsi dengan menggunakan Transmission Electron Microscope JEOL 1010 di Laboratorium TEM dan Histologi Lembaga Eijkman.

**Uji Aktivitas Antikolesterol.** Uji aktivitas antikolesterol dilakukan sesuai dengan metode yang dilakukan oleh Daksha. A et al., (2010) dengan beberapa modifikasi<sup>(15)</sup>. Pembuatan kurva standar dilakukan dengan membuat seri konsentrasi 125-375 µg/mL ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard dengan perbandingan 5 : 3. Kemudian dibuat seri konsentrasi EEBO dan nanoemulsi EEBO 375-875 µg/mL ditambahkan pereaksi Liebermann Burchard dengan perbandingan 5 : 3 dan didiamkan sesuai *operating time*-nya hingga terbentuk perubahan warna menjadi hijau. Dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Hasil warna yang diperoleh, dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 675 nm. Sebagai blanko digunakan methanol-kloroform. Pada kontrol negatif yang digunakan berupa larutan kolesterol 375 µg/mL.

Nilai serapan larutan baku kolesterol dan sisa serapan larutan baku kolesterol setelah direaksikan dengan ekstrak yang diperoleh dari pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menghitung % inhibisi kolesterol dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{Ab - As}{Ab} \times 100 \% \quad (1)$$

Ab = serapan larutan baku kolesterol

As = serapan baku kolesterol setelah bereaksi dengan ekstrak

Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dari persamaan  $y = a + bx$ , dimana y adalah 50 dan x adalah IC<sub>50</sub>. Persamaan  $y = a + bx$  tersebut didapat dari hubungan konsentrasi ekstrak dengan % IC<sup>(15)</sup>.

Nilai IC<sub>50</sub> EEBO dan nanoemulsi EEBO diperoleh dari 3 seri dengan konsentrasi yang sama ditambah dengan perhitungan standar deviasi. Kemudian dianalisis statistik Independent Sample T – Test (Uji T Tidak Berpasangan) antara EEBO dengan nanoemulsi EEBO untuk mengetahui perbedaan bermakna uji penghambatan reaksi Liebermann-Burchard terhadap kolesterol.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Determinasi Tanaman.** Hasil determinasi di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi, LIPI Cibinong, Bogor berdasarkan Surat No. 591/IPH.1.01/lf.07/III/2018 menunjukkan bahwa tanaman okra yang digunakan adalah benar *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. dari suku Malvaceae.

**Penetapan Pengukuran Derajat Halus Serbuk Simplisia.** Hasil penetapan derajat halus serbuk simplisia buah okra melalui ayakan No. 4 sebesar 101,12 % dan melalui ayakan No. 18 sebesar 23,96%. Dari hasil pengukuran derajat halus 4/18 diperoleh hasil serbuk memenuhi persyaratan ukuran serbuk menurut Materia Medika Indonesia, yaitu semua serbuk 100% dapat melewati pengayak no. 4 dan tidak lebih dari 40 % dapat melewati pengayak no. 18<sup>(16)</sup>.

Tujuan dari pembuatan serbuk 4/18 adalah agar serbuk mudah terbasahi oleh pelarut yang digunakan, sehingga mempermudah dan memberikan hasil yang maksimal pada proses ekstraksi, karena serbuk simplisia dengan ukuran partikel kecil memiliki luas permukaan total yang lebih besar dari serbuk dengan ukuran partikel besar. Namun, jika serbuk simplisia terlalu halus, maka akan mempersulit dan menyumbat pori-pori kertas saring pada saat proses penyaringan ekstrak (17).

**Pembuatan Ekstrak Kental.** Hasil ekstraksi diperoleh rendemen sebesar 9,97 % dan DER-native 10,0305. Penggunaan metode maserasi kinetik (cara dingin) dimaksudkan agar tidak ada senyawa yang rusak atau hilang saat proses ekstraksi<sup>(18)</sup>.

Penapisan Fitokimia. Hasil identifikasi kandungan metabolit sekunder serbuk simplisia buah okra dan EEBO dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa serbuk simplisia dan EEBO mengandung metabolit sekunder flavonoid, saponin, steroid dan kumarin. Pada skrining fitokimia yang dilakukan Saha (2011) ekstrak etanol dan air dari buah okra mengandung karbohidrat, gum, musilago,

protein, fitosterol, flavonoid, tannin, senyawa polifenol, dan minyak atsiri<sup>(19)</sup>.

**Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia.**

| Nama senyawa         | Hasil pengamatan |                |
|----------------------|------------------|----------------|
|                      | Serbuk simplisia | Ekstrak kental |
| Alkaloid             | -                | -              |
| Flavonoid            | +                | +              |
| Saponin              | +                | +              |
| Tanin                | -                | -              |
| Kuinon               | -                | -              |
| Steroid/Triterpenoid | +/-              | +/-            |
| Kumarin              | +                | +              |
| Minyak Atsiri        | -                | -              |

#### Pembuatan Nanoemulsi Ekstrak Buah Okra.

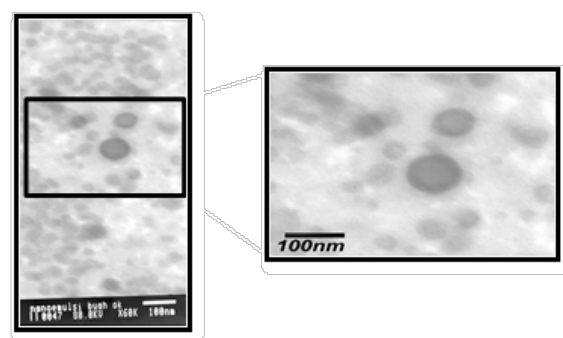
Hasil pengamatan nanoemulsi EEBO sampai hari ke-5 stabil diperoleh warna kuning coklat bening, dengan kekeruhan stabil, dan tidak ada endapan. Pembuatan nanoemulsi EEBO dibuat dengan menggunakan metode emulsifikasi spontan, dimana pada prinsipnya yaitu terjadi pencampuran antara fase organik dan fase air<sup>(20)</sup>. Pada penambahan capmul (glyceryl caprylat) memiliki kemampuan dalam melarutkan komponen organik dengan baik yaitu dengan propilenglikol dan gliserin, juga dapat bercampur dengan etanol 70% sehingga dapat membuat ekstrak tersebut menjadi lebih larut<sup>(21)</sup>. Karena proses difusi spontan dari pelarut menyebabkan terjadinya turbulensi antarmuka antara dua fase sehingga ukuran dari partikel yang dihasilkan semakin kecil.

#### Hasil Uji Evaluasi Nanoemulsi EEBO.

Pemeriksaan ukuran partikel larutan nanoemulsi EEBO menggunakan alat Delsa™ Nano diperoleh rata-rata diameter partikel 134,7 nm dan indeks polidispersiti 0,512. Secara ukuran partikel memenuhi kriteria ukuran nanopartikel 50-500 nm<sup>(21)</sup>. Hasil indeks polidispersitas menunjukkan nilai distribusi partikel yang homogen.

Dari hasil pengujian potensial zeta, didapatkan nilai sebesar -26,72 mV menggunakan alat Malvern. Nilai zeta potensial berasal dari adanya gugus hidroksil flavonoid kuersetin yang memiliki muatan (-)<sup>(22)</sup>. Terjadi aksi tolak menolak dengan pelarut capmul (glyceryl caprylat), propilenglikol dan gliserin yang tidak memiliki muatan (nonionik), Sehingga hasil zeta potensial yang diberikan adalah bermuatan (-), sehingga dapat mencegah terjadinya pengendapan nanoemulsi ekstrak. Nilai potensial kurang dari -30 mV, nanoemulsi yang dihasilkan relatif stabil karena muatan listrik droplet cukup kuat untuk menolak antara droplet dominan dalam sistem emulsi<sup>(23)</sup>.

Hasil morfologi nanopartikel EEBO di Laboratorium TEM dan Histologi Lembaga Eijkman dapat dilihat pada Gambar 1. Nanoemulsi EEBO dapat terbentuk dengan baik, globul memiliki bentuk yang sferis dengan ukuran 100 nm dan distribusi aliran cukup merata<sup>(24)</sup>.



**Gambar 1. Hasil uji morfologi nanoemulsi EEBO dengan perbesaran 60.000 kali.**

Hasil Uji Penghambatan Kolesterol. Pada pengukuran kurva baku kolesterol diperoleh persamaan regresi  $y = 0,0184x + 0,0016824$ . Pada pengujian menggunakan pereaksi Liebermann-Buchard terjadi mekanisme ketika asam sulfat ditambahkan ke dalam campuran yang berisi kolesterol, maka molekul air berpindah dari gugus C3 kolesterol, kolesterol kemudian teroksidasi membentuk 3,5-kolestadiena. Produk ini dikonversi menjadi polimer yang mengandung kromofom yang menghasilkan warna hijau.

Berdasarkan hasil data, rata-rata nilai  $IC_{50}$  EEBO dari 3 seri dengan konsentrasi yang sama adalah sebesar  $764,11 \pm 5,31 \mu\text{g/mL}$ . Sedangkan nanoemulsi EEBO dari 3 seri dengan konsentrasi yang sama adalah sebesar  $712,50 \pm 6,51 \mu\text{g/mL}$ . Hasil yang diperoleh nanoemulsi EEBO memiliki  $IC_{50}$  yang lebih rendah dibandingkan dengan EEBO sehingga dapat dikatakan nanoemulsi memiliki aktivitas antikolesterol lebih baik daripada bentuk ekstraknya. Berdasarkan hasil analisis statistik Independent Sample T – Test (Uji T Tidak Berpasangan) antara EEBO dengan nanoemulsi EEBO terdapat perbedaan bermakna uji penghambatan reaksi Liebermann-Burchard terhadap kolesterol. Data perhitungan uji T yang dihasilkan adalah normal dan homogen dengan taraf nyata 0,05.

Capmul berfungsi sebagai co-surfaktan yang dapat meningkatkan kelarutan dan kemampuannya dalam melarutkan komponen-komponen organik, juga dapat bercampur dengan etanol 70%. Propilenglikol berfungsi sebagai co-surfaktan yang juga dapat meningkatkan kelarutan. Sedangkan gliserin berfungsi sebagai co-emulsi, dari ketiga pelarut yang digunakan dalam pembuatan emulsi nanopartikel

dapat diperoleh hasil nanopartikel yang baik, sehingga pada kestabilannya lebih dapat mencapai target dan memiliki bioavailabilitas yang lebih baik dalam menghambat kolesterol secara *in vitro* dengan menggunakan pereaksi Liebermann Burchard dibandingkan dengan ekstrak yang tanpa dibuat nanopartikel.

Senyawa yang bertanggungjawab memberi aktivitas antikolesterol diduga berasal dari flavonoid kuersetin yang memiliki kemampuan mencegah proses oksidasi dari *Low Density Lipoprotein* (LDL) dengan cara menangkap radikal bebas, sehingga lebih baik untuk menurunkan kadar kolesterol<sup>(22)</sup>. Kuersetin juga memperlihatkan aktivitas sebagai penurun kolesterol total, LDL dengan menghambat peroksidasi lemak. Selain itu pektin juga dapat mengikat kolesterol LDL dan VLDL yang menyebabkan plak pada pembuluh darah<sup>(25)</sup>. Sebaliknya, HDL positif yang bertanggung jawab atas pengangkatan sedimentasi (plak) dari pembuluh darah dan arteri, tidak terikat dan tetap berada didalam tubuh. Fitosterol dapat menurunkan kolesterol karena memiliki struktur kimia yang sama dengan kolesterol sehingga memiliki kemampuan dalam berkompetisi dengan kolesterol dalam penyerapannya di usus, dan jumlah kolesterol jahat yang diserap oleh tubuh menjadi berkurang<sup>(26)</sup>.

### SIMPULAN

Nanoemulsi EEBO dapat dikembangkan menjadi obat antikolesterol. Nanoemulsi EEBO memiliki ukuran partikel 134,7 nm dengan zeta potensial sebesar -26,72 mV dengan  $IC_{50}$  764,1104  $\mu$ g/mL lebih besar dari  $IC_{50}$  EEBO.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan untuk Laboratorium Penelitian Dosen Fakultas Farmasi Universitas Pancasila dan dukungan dana hibah internal dari Universitas Pancasila.

### DAFTAR PUSTAKA

- Rahajoe AU. The Collaboration In Fighting Hypertension and Its Complications Cardiologist's Prespective. Indonesia Society of Hypertension. World Health Organization (WHO); 2013.
- Listiana L, TY P. Kadar kolesterol total pada usia 25-60 tahun. Electron J UM Surabaya. 2010;5(1):36-40.
- Ngoc TH, Ngoc QN, Tran A, Phung NV. Hypolipidemic effect of extracts from *Abelmoschus esculentus* L.(Malvaceae) on Tyloxapol-induced hyperlipidemia in mice. J Pharm Sci. 2008;35:42-6.
- Sabitha V, Ramachandran S, Naveen KR, Panneerselvam K. Antidiabetic and antihyperlipidemic potential of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. in streptozotocin-induced diabetic rats. J Pharm bioallied Sci. 2011;3(3):397.
- Lovelyn C, Attama AA. Current state of nanoemulsions in drug delivery. J Biomater Nanobiotechnol. 2011;2(05):626.
- Pawar KR, Babu RJ. Lipid materials for topical and transdermal delivery of nanoemulsions. Crit Rev Ther Drug Carr Syst. 2014;31(5).
- Martien R, Adhyatmika A, Irianto IDK, Farida V, Sari DP. Perkembangan teknologi nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat. Maj Farm. 2012;8(1):133-44.
- Rahmat D, Müller C, Shahnaz G, Leithner K, Laffleur F, Khan MI, et al. HEC-cysteamine particles: influence of particle size, zeta potential, morphology and sulfhydryl groups on permeation enhancing properties. Drug Dev Ind Pharm. 2013;39(9):1338-45.
- Suh WH, Suslick KS, Stucky GD, Suh Y-H. Nanotechnology, nanotoxicology, and neuroscience. Prog Neurobiol. 2009;87(3):133-70.
- Rudel LL, Morris MD. Determination of cholesterol using o-phthalaldehyde. J Lipid Res. 1973;14(3):364-6.
- Musa WJA, Situmeang B, Sianturi J. Anti-cholesterol triterpenoid acids from *Saurauia vulcani* Korth. (Actinidiaceae). Int J Food Prop. 2019;22(1):1439-44.
- Djamil R, Anelia T. Penapisan fitokimia, uji BSLT, dan uji antioksidan ekstrak metanol beberapa spesies Papilionaceae. J Ilmu Kefarmasian Indones. 2009;7(2):65-71.
- Farnsworth NR. Biological and phytochemical screening of plants. J Pharm Sci. 1966;55(3):225-76.
- Djamil R, Rahmat D, Zaidan S, Latifah MN. Anticholesterol Activity of Okra Fruit Extract (*Abelmoschus esculentus* (L) Moench) and Its Nanoemulsion in Vivo. Pharmacogn J. 2020;12(2):1-5.
- Daksha A, Jaywant P, Bhagyashree C, Subodh P. Estimation of sterols content in edible oil and ghee samples. Electron J Environ Agric Food Chem. 2010;9:1593-7.
- Ditjen POM, Depkes RI. Materia Medika Indonesia. Ed kelima, Jakarta Dep Kesehat RI Hal. 1995;32-6.
- Devahastin S. Panduan Praktis Mujumdar untuk Pengerangan Industrial. IPB Press; 2001.
- Depkes RI. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Jakarta Dep Kesehat Republik Indones. 2000;3-30.
- Saha D, Jain B, Jain VK. Phytochemical evaluation and characterization of hypoglycemic activity of various extracts of *Abelmoschus esculentus* Linn. fruit. Int J Pharm Pharm Sci. 2011;3(2):183-5.
- Diba RF, Yasni S, Yuliani S. Nanoemulsifikasi spontan ekstrak jintan hitam dan karakteristik produk enkapsulasinya. J Teknol dan Ind Pangan. 2014;25(2):134.
- Sahu GK, Sharma H, Gupta A, Kaur CD. Advancements

- in microemulsion based drug delivery systems for better therapeutic effects. *Int J Pharm Sci Dev Res* 1 008. 2015;15(008).
22. Seiva FRF, Chuffa LGA, Braga CP, Amorim JPA, Fernandes AAH. Quercetin ameliorates glucose and lipid metabolism and improves antioxidant status in postnatally monosodium glutamate-induced metabolic alterations. *Food Chem Toxicol.* 2012;50(10):3556–61.
  23. Mungure TE, Roohinejad S, Bekhit AE-D, Greiner R, Mallikarjunan K. Potential application of pectin for the stabilization of nanoemulsions. *Curr Opin food Sci.* 2018;19:72–6.
  24. Mardikasari SA, Jufri M, Djajadisastra J. Formulasi dan Uji Penetrasi In-Vitro Sediaan Topikal Nanoemulsi Genistein dari Tanaman *Sophora japonica* Linn. *J Ilmu Kefarmasian Indones.* 2017;14(2):190–8.
  25. Sriamornsak P. Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: A review. *Silpakorn Univ Int J.* 2003;3(1–2):206–28.
  26. Marangoni F, Poli A. Phytosterols and cardiovascular health. *Pharmacol Res.* 2010;61(3):193–9.

