

Identifikasi Fitosterol dengan Kromatografi Gas – Spektrometer Massa pada Ekstrak Kloroform Biji Buah Atung (*Parinarium Glaberimum* Hassk) Asal Kabupaten Seram Bagian Barat, Maluku

Candra Yulius Tahya^{1*}, Elen Tiwery², Mega Gracelia Monaten³, & Tryani K. Junita Lumbantoruan⁴

¹ Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Ilmu Pendidikan, Universitas Pelita Harapan, Indonesia.

² SMP Negeri 1 Kairatu Barat, Maluku, Indonesia

³ Fakultas Kedokteran, Universitas Pattimura, Indonesia

⁴ Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura, Indonesia

Corresponding author: candra.tahya@uph.edu

Abstrak

Article history

Received: 6th July, 2020

Received in revised form: 30th August, 2020

Accepted: 28th September, 2020

DOI:

10.17977/um0260v4i12020p014

Kata-kata kunci:

Atung,

Ekstrak kloroform

Fitosterol

GC-MS

Salah satu potensi alam yang dapat digunakan sebagai obat tradisional dan pengawet alami adalah biji buah Atung yang dapat ditemukan di pulau Ambon, Seram dan Pulau-Pulau Lease. Tujuan penelitian ini adalah untuk indentifikasi senyawa fitosterol bioaktif dalam ekstrak kloroform biji buah Atung. Telah diidentifikasi 5 senyawa utama dalam ekstrak kloroform biji buah Atung (*Parinarium glaberimum* Hassk) yaitu asam linoleat (8,88%); asam stearate (8,23%); stigmasta-5,22-dien-3-ol,(3 β ,22E) atau stigmasterol (10,37%); stigmast-5-en-3-ol,(3 β) atau β -sitosterol (19,59%); dan stigmast-5-en-3-ol,(3 β ,24S) atau γ -sitosterol (33,74%) melalui kromatografi gas - spektrometer massa dengan analisis kesamaan berat molekulnya dan fragmen ion positif massa/muatan dan berdasarkan perbandingan waktu retensi GC-MS isomer senyawa fitosterol. Penelitian ini adalah yang pertama melaporkan adanya stigmasterol, β -sitosterol dan γ -sitosterol dalam ekstrak kloroform biji buah Atung (*Parinarium glaberimum* Hassk). γ -Sitosterol yaitu epimer dari β -sitosterol memiliki kelimpahan terbesar dalam ekstrak kloroform biji buah Atung.

Abstract

*One of the natural potentials that can be used as traditional medicine and natural preservatives is the seeds of Atung which can be found in Ambon, Seram and Lease Islands. The purpose of this study was to identify bioactive phytosterols in the chloroform extract of Atung fruit seeds. Five main compounds have been identified in the chloroform extract of Atung fruit seeds (*Parinarium glaberimum* Hassk) which are linoleic acid (8.88%); stearic acid (8.23%); stigmasta-5,22-dien-3-ol,(3 β ,22E) or stigmasterol (10.37%); stigmast-5-en-3-ol,(3 β) or β -sitosterol (19.59%); and stigmast-5-en-3-ol, (3 β , 24S) or γ -sitosterol (33.74%) through gas chromatography-mass spectroscopy by analyzing the similarity of molecular weight and positive ion mass/charge fragments and based on the comparison of the GC-MS retention time of phytosterols. This study is the first to report the presence of stigmasterol, β -sitosterol and γ -sitosterol in the chloroform extract of Atung fruit seeds (*Parinarium glaberimum* Hassk). γ -Sitosterol, the epimer of β -sitosterol, has the greatest abundance in the chloroform extract of Atung fruit seeds.*

PENDAHULUAN

Banyak jenis obat herbal tradisional telah digunakan untuk mengobati berbagai penyakit dan penggunaan lainnya seperti pengawet alami dari generasi ke generasi di Maluku. Salah satu potensi alam yang dapat digunakan sebagai obat tradisional (Ferdinandus, Ufie, & Liubana, 2017)

dan pengawet alami adalah biji buah Atung yang banyak ditemukan terutama Pulau Ambon, Seram dan Pulau-Pulau Lease (Mohiharapon & Mohiharapon, 2015).

Di Indonesia, Pohon Atung banyak ditemukan di pulau Sumatera, Sulawesi dan Maluku. Di Sumatera (Aceh) Pohon Atung disebut Pele Kambing dan di Sulawesi (Makassar) disebut

Lomo. Orang Bugis menyebutnya Samaka. Masyarakat Ambon menyebutnya Atong. Pohon Atung yang tumbuh di Maluku memiliki kekhasannya sendiri disebabkan oleh aspek-aspek geografis Maluku sebagai provinsi dengan gugusan pulau-pulau kecil. Diperkirakan pohon Atung yang ada di Maluku memiliki varietas tersendiri (Moniharapon, Pattipeilohy, Sormin, & Gaspersz, 2006). Pohon Atung (*Parinarium glaberimum* Hassk) merupakan contoh tumbuhan yang tumbuh subur di wilayah Maluku. Tumbuhan Atung umumnya tumbuh pada tanah-tanah yang mengandung cukup unsur hara dengan pH tanah antara 6.0 – 6.5. Atung tumbuh pada ketinggian yang berkisar dari 0 – 300 m dari permukaan laut. Namun secara umum tanaman ini dapat tumbuh pada daerah dataran rendah (Matinahoru, 2010).

Hiariey, et al (2013) melakukan penelitian tentang ekstrak biji Atung (*Parinarium glaberimum* Hassk) dalam pelarut air yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Mohiharapon et al (2004) juga melaporkan bahwa ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol dari biji Atung dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella enteritidis*. Mereka menemukan adanya senyawa aktif asam azelaik sebagai senyawa yang bersifat antibakteri (Moniharapon, Abdegaleil, Moniharapon, Watanabe, & Hashinaga, 2004). Asam azelaik tidak memiliki toksisitas pada sel hewan dan secara industri diproduksi dari ozonolisis asam oleat (Hiariey S. L., 2013). Hasil penelitian lainnya oleh Ongkers (2017) menunjukkan bahwa infusa biji Atung memiliki efek antidiare pada hewan uji mencit betina melalui metode transit intestinal.

Sterol termasuk lipid yang tidak dapat disaponifikasi. Sterol yang terdapat banyak pada tanaman tingkat tinggi disebut sebagai fitosterol, dan dikelompokkan sebagai triterpen yang memiliki sistem cincin siklopentana perhidrofenantrena. Fitosterol ada sebagai bentuk bebas dan terikat glukosida sederhana (Nariya, et al., 2014). Fitosterol juga memiliki fungsi untuk mengatur sifat-sifat membran sel tumbuhan dan berpartisipasi dalam kontrol proses metabolisme yang berkaitan dengan membran sel. Selain itu, sterol juga berperan sebagai substrat untuk sintesis metaboit sekunder seperti glikoalkaloid dan saponin (Sheng & Chen, 2009). Ekstrak *Lagenaria siceraria* yang mengandung fitosterol yakni fucosterol, stigmasterol, racemosol, dan stigmasta-7,22-dien-3 β ,4 β -diol, diketahui dapat menurunkan

kadar kolesterol, trigliserida, LDL, dan VLDL dalam serum darah tikus Wistar sehingga efektif sebagai antihiperlipidemik (Kalsait, Khedekar, Saoji, & Bhusar, 2011).

Fitosterol yang sangat melimpah adalah β -sitosterol dan campesterol, sementara stigmasterol dan brassicasterol ditemukan lebih sedikit di tanaman. Fitosterol yang memiliki gugus hidroksil (-OH) pada C-3, dan memiliki ikatan kovalen rangkap dua pada C-5/C-6 yang disebut delta-5- contohnya β -sitosterol, campesterol dan stigmasterol. Yang membedakan satu jenis fitosterol delta-5- dengan lain, terletak pada rantai samping yang terikat pada C-17 (Bolanos-Carrillo, Ventura-Gallegos, Saldivar-Jimenez, Zentella-Dehesa, & Martinez-Vazquez, 2015). Campesterol dan β -sitosterol memiliki rantai samping yang jenuh, sedangkan stigmasterol memiliki rantai samping tak jenuh dengan ikatan rangkap dua pada C-22/C-23.

Senyawa β -sitosterol merupakan senyawa yang sangat kuat untuk menurunkan kadar kolesterol dalam serum darah dibandingkan jenis fitosterol yang lain. Struktur β -sitosterol yang memiliki ikatan rangkap pada C-5, dan gugus α -etil pada C-24. β -sitosterol memiliki epimer yaitu γ -sitosterol yaitu isomer yang memiliki gugus β -etil pada C-24. Keduanya dapat dibedakan dengan melihat waktu retensi pada kromatogramnya, dan membandingkan fragmentasi massa dari *chart standard library* MS Wiley 7 (Sheng & Chen, 2009).

Tujuan penelitian ini adalah untuk indentifikasi senyawa fitosterol bioaktif dalam ekstrak kloroform biji buah Atung dilakukan dengan menggunakan alat Kromatografi gas - Spektrometer Massa (GC-MS). Pelarut kloroform digunakan sebab pelarut ini mampu melarutkan senyawa-senyawa kimia yang bersifat semipolar dan nonpolar. Alasan lain penggunaan kloroform sebagai pelarut adalah berdasarkan kajian yang dilakukan Moniharapon (2004) yang menyatakan bahwa ekstrak semipolar memiliki kemampuan menghambat bakteri lebih besar daripada ekstrak polar biji buah Atung. Ekstraksi dengan kloroform karena sifatnya yang dapat melarutkan senyawa semipolar dan nonpolar sehingga dapat sangat memudahkan dan sesuai untuk analisis senyawa aktif menggunakan kromatografi gas (Kosma, Molina, & Rowland, 2015).

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah parutan, ayakan, wadah plastik dan kaca, seperangkat alat gelas Pyrex, timbangan analitik, alat shaker incubator Shel Lab, Rotavapor Buchi dan Kromatografi Gas-Spektrofotometer Massa QP-2010 plus, Shimadzu. Bahan yang digunakan adalah kloroform p.a (Merck), kertas saring, aluminium foil, dan biji buah Atung diambil dari Desa Kairatu, Kabupaten Seram Bagian Barat, Provinsi Maluku.

Proses Ekstraksi

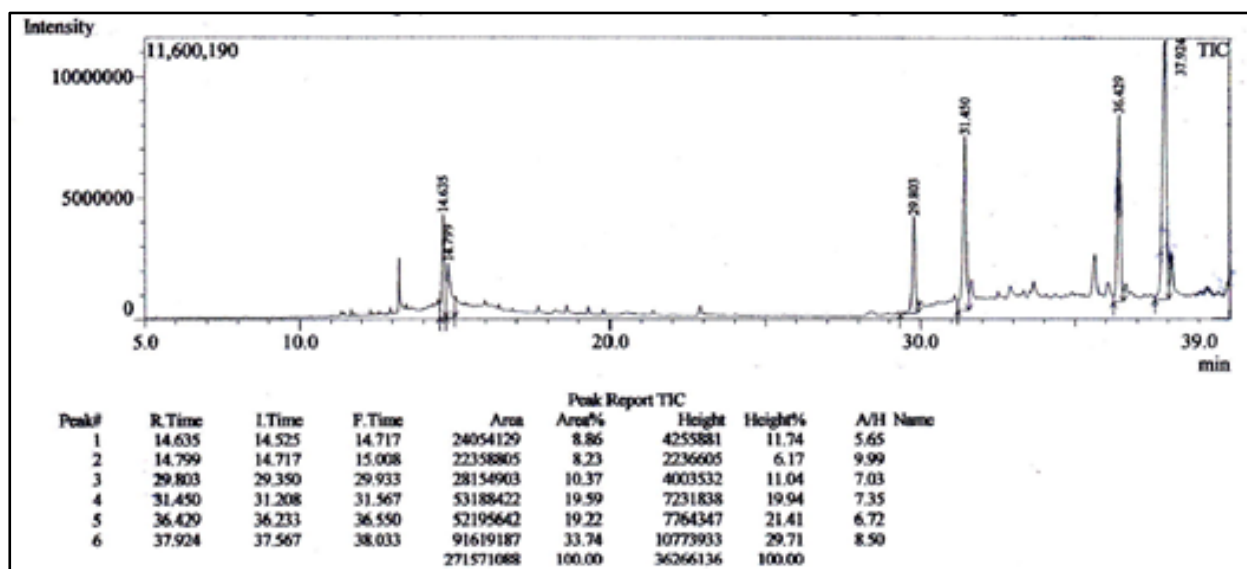
Buah Atung kering yang telah jatuh dari pohonnya, dikumpulkan dan telah dicuci bersih kemudian dikeringkan, buah dibelah menjadi 2 bagian kemudian dipisahkan kulit dan biji. Parut biji buah Atung kemudian dibiarkan pada suhu ruang selama 24 jam supaya kering. Serbuk biji buah Atung ditimbang sebanyak 57,73 gram dan dimasukkan dalam Erlenmeyer 250 mL, kemudian ditambahkan kloroform (CHCl₃) sebanyak 200 mL. Campuran kemudian dimasukan ke dalam *shaker incubator* pada suhu 22,4 °C dengan waktu 2,5 jam (150 menit) dengan kecepatan 200 rpm. Setelah itu campuran disaring dengan menggunakan kertas saring dan pelarut dievaporasi dengan menggunakan Rotavapor Buchi untuk menghilangkan kloroform. Ekstrak

biji buah Atung kemudian dianalisis dengan menggunakan Kromatografi Gas - Spektrometer Massa QP-2010 plus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

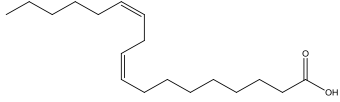
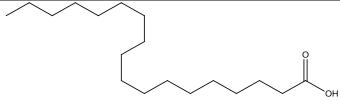
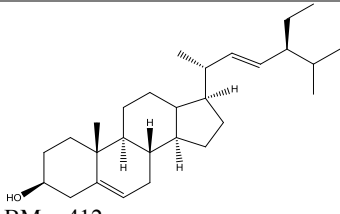
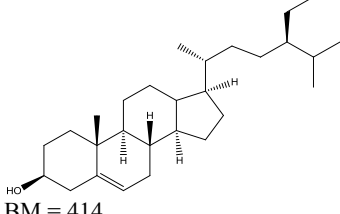
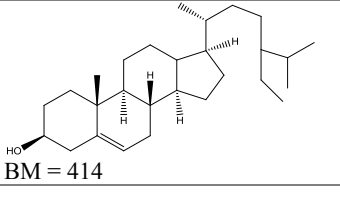
Hasil GC-MS

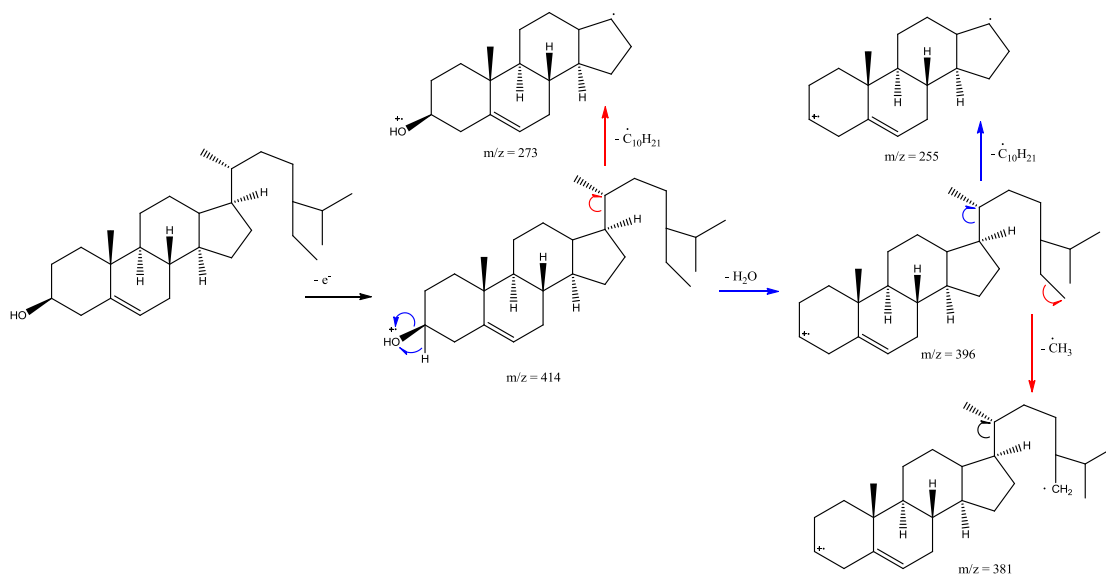
Jumlah ekstrak yang diperoleh sebanyak 1,22 gram (2,11%). Kromatogram hasil analisis kromatografi gas (GC) terhadap ekstrak kloroform ditunjukkan pada Gambar 1. Kromatogram ini menunjukkan terdapat 6 senyawa utama yaitu asam linoleat (8,88%), asam stearate (8,23%), stigmasta-5,22-dien-3-ol atau stigmasterol (10,37%), stigmast-5-en-3-ol,(3 β) atau β -sitosterol (19,59%) dan isomer stigmasterol (19,22%), serta stigmast-5-en-3-ol,(3 β ,24S) atau γ -sitosterol (33,74%). Semua senyawa ini diidentifikasi berdasarkan pola spektrum senyawa dengan *database* spektrum massa Wiley 7 dan mempertimbangkan data MS di laman NIST melalui analisis kesamaan berat molekulnya dan fragmen ion positif massa/muatan (Sermakkani & Thangapadian, 2012) dan berdasarkan perbandingan waktu retensi GC-MS isomer senyawa sitosterol yaitu bahwa senyawa β -sitosterol dan γ -sitosterol memiliki perbedaan waktu retensi yang besar sekalipun memiliki berat molekul sama (Sheng & Chen, 2009).



Gambar 1. Kromatogram ekstrak kloroform biji buah Atung

Tabel 1. Senyawa utama ekstrak kloroform biji buah Atung (*Parinarium glaberimum* Hassk)

Senyawa	Struktur Molekul dan BM	Fragmen ion m/z	Waktu Retensi (Menit)	% kelimpahan	SI
Asam linoleat ($C_{18}H_{32}O_2$)	 BM = 280	280, 264, 221, 207, 180, 167, 151, 137, 110, 97, 83, 55 , 41	14,635	8,88	91
Asam Stearat ($C_{18}H_{36}O_2$)	 BM = 284	284, 241, 227, 199, 185, 171, 157, 143, 129, 115, 97, 85, 74, 55 , 41	14,779	8,23	86
Stigmasta-5,22-dien-3-ol atau stigmasterol ($C_{29}H_{48}O$)	 BM = 412	412, 394, 379, 351, 341, 271, 255, 213, 199, 159, 145, 133, 123, 115, 90, 83, 69, 55 , 41	29,803	10,37	89
Stigmast-5-en-3-ol, (3β) atau β-sitosterol ($C_{29}H_{50}O$)	 BM = 414	414, 396, 381, 329, 303, 274, 255, 231, 210, 199, 188, 171, 158, 145, 130, 121, 107, 95, 81, 47, 43 , 41	31,450	19,59	85
Isomer stigmasterol (belum teridentifikasi dengan MS) ($C_{29}H_{48}O$)	BM = 412	412, 394, 379, 353, 341, 271, 255, 213, 199, 159, 145, 133, 123, 115, 90, 83, 69, 55 , 41	36,429	19,22	90
Stigmast-5-en-3-ol, (3β,24S) atau γ-sitosterol ($C_{29}H_{50}O$)	 BM = 414	414, 397, 381, 329, 303, 274, 255, 231, 210, 199, 188, 171, 158, 145, 130, 121, 107, 95, 81, 47, 43 , 41	37,924	33,74%	84

**Gambar 2.** Usulan Fragmentasi massa ion positif γ -sitosterol disesuaikan dengan Tewari, et al (2013)

Diskusi

Fragmentasi massa ion positif γ -sitosterol ditunjukkan pada Gambar 2. Fragmentasi ini dibuat berdasarkan data ion positif dari spektrum massa yang dihasilkan, dibandingkan dengan fragmentasi massa oleh Tewari, et al (2013).

Dalam studi pustaka sejauh yang dilakukan penulis, penelitian ini adalah yang pertama melaporkan adanya stigmasterol, β -sitosterol dan γ -sitosterol dalam ekstrak kloroform biji buah Atung (*Parinariium glaberimum* Hassk). Proses identifikasi senyawa aktif yang pernah dilakukan oleh Moniharapon et al., (2004), tidak melaporkan fitosterol dalam ekstrak etil asetat atau n-heksan. Senyawa aktif yang diidentifikasi dalam ekstrak etil asetat adalah asam azelaik sebagai senyawa dengan aktifitas antioksidan. Ekstrak biji Atung juga telah diteliti mampu menjadi pengawet alami daging ikan dan produk laut lainnya (Moniharapon, Pattipeilohy, Mailoa, & Souhotta, 2019) karena memiliki kemampuan antibakteri dan jamur (Hiariey, Pujantoro, & Sugiyono, 2013).

Senyawa fitosterol yaitu stigmasterol, β -sitosterol dan γ -sitosterol yang terkandung dalam ekstrak biji buah Atung dapat meningkatkan nilai ekonomis dari biji buah atung, mengingat manfaat yang sangat besar di bidang farmasi sebagaimana yang telah dijelaskan sebelumnya dari senyawa-senyawa fitosterol tersebut.

γ -Sitosterol adalah epimer dari β -sitosterol. γ -sitosterol menunjukkan aktivitas antihiperlipemik dengan meningkatkan sekresi insulin dalam respons terhadap glukosa dalam darah, yang dikonfirmasi melalui studi histokimia imum (Balamurungan, Duraipandiyani, & Ignacimuthu, 2011). Selain itu, Sundarraj et al., (2012), juga berhasil menunjukkan penggunaan etnomedis γ -sitosterol melawan kanker melalui inhibisi dan apoptosis sel kanker payudara dan usus (Sundarraj, et al., 2012), juga sela kanker hati (Endrini, Rahmat, Ismail, & Taufiq-Yap, 2014).

Stigmasterol dapat menghambat biosintesis kolesterol melalui inhibisi sterol-reduktase pada manusia (Kaur, Chaudhary, Jain, & Kishore, 2011). Stigmasterol dan jenis fitosterol lainnya dapat berkompetisi dengan kolesterol dalam sistem penyerapan di usus halus sehingga dapat menurunkan konsentrasi kolesterol dalam plasma darah (Kaur, Chaudhary, Jain, & Kishore, 2011). Stigmasterol memiliki aktivitas antiarterosklerotik dengan cara mencegah peningkatan kolesterol bebas dan menurunkan konsentrasi spesi oksigen reaktif (ROS) sehingga

menghambat apoptosis sel β pankreas, meningkatkan produksi insulin sehingga mengurangi glukolipotoksisitas (Ward, Li, Barbosa-Lorenzi, & Hao, 2017). Stigmasterol berpotensi menjadi obat untuk perawatan pasien diabetes.

Fitosterol yang telah banyak digunakan untuk berbagai pengobatan moderen saat ini adalah β -sitosterol terutama untuk menurunkan kadar LDL (Kolesterol buruk) dalam plasma darah dengan menghambat sekresi protein β -amiloid (Shi, Liu, Wu, Yew, & Xu, 2011). β -sitosterol dan glikosidanya juga dilaporkan memiliki efek *immunomodulator*, anti-inflamasi, anti-neoplasik, anti-piretik, secara in vitro dan in vivo pada hewan babi (Fraille, et al., 2012) dan tidak menstimulasi perkembangan sel kanker payudara MCF-7 pada hewan uji tikus dan menghambat pertumbuhan sel kanker payudara manusia (Novontny, Abdel-Hamid, & Hunakova, 2017). Beta-sitosterol juga dapat memodulasi polarisasi makrofag dan mengurangi peradangan reumatoid pada tikus percobaan (Liu, et al., 2019).

Fitosterol dengan jumlah terbesar dalam ekstrak kloroform biji buah Atung adalah γ -sitosterol 33,74% (Fragmentasi ion m/z pada Gambar 2). Jumlah ini adalah jumlah yang cukup besar dibandingkan kandungan senyawa yang sama dalam ekstrak beberapa tanaman lainnya, seperti *Scolymus maculatus* L (7,54%) (Abu-lafi, et al., 2019), *Jatropha neopauciflora* Pax (3,48%) (Hernandez-Hernandez, et al., 2016). Genus *Lagerstomia* seperti *L. indica*, *L. villosa*, dan *L. floribunda* mengandung γ -sitosterol antara 14,70 – 23,20% (Sirikhansaeng, Tanee, Sudmoon, & Chaveerach, 2017).

KESIMPULAN

Ekstrak kloroform biji buah Atung mengandung asam linoleat (8,88%), asam stearate (8,23%), stigmasterol-5,22-dien-3-ol atau stigmasterol (10,37%), stigmasterol-5-en-3-ol, (3β) atau β -sitosterol (19,59%) dan stigmasterol-5-en-3-ol, (3β ,24S) atau γ -sitosterol (33,74%) berdasarkan hasil analisis GC-MS.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada LPPM dan Fakultas Ilmu Pendidikan, Universitas Pelita Harapan yang mendukung penelitian dan publikasi penulisan ini.

DAFTAR RUJUKAN

- Aboobucker, S. I., & Suza, W. P. (2019, March). Why Do Plants Convert Sitosterol to Stigmasterol? *Frontiers in Plant Science*, 1-8.
- Abu-lafi, S., Rayan, M., Masalha, M. A.-F., Al-Jaas, H., Abu-lafi, M., & Rayan, A. (2019). Phytochemical Composition and Biological Activities of Wild *Scolymus maculatus* L. *Medicines*, 6(52), 1-11.
- Balamurungan, R., Duraipandiyan, V., & Ignacimuthu, S. (2011). Antidiabetic activity of gamma-sitosterol isolated from *Lippia nodiflora* L. in streptozotocin induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*, 667, 410-418.
- Bolanos-Carrillo, M. A., Ventura-Gallegos, J. L., Saldívar-Jiménez, A. D., Zentella-Dehesa, A., & Martínez-Vázquez, M. (2015). Effect of Sterol Isolated from *Myrtillocactus geometrizans* on Growth Inhibition of Colon and Breast Cancer Cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-9.
- Endrini, S., Rahmat, A., Ismail, P., & Taufiq-Yap, Y. H. (2014). Cytotoxic effect of gamma-sitosterol from *Ejibeling* (*Strobilanthes crispus*) and its mechanism of action toward c-myc gene expression and apoptotic pathway. *Medical Journal of Indonesia*, 23(4), 203-208.
- Ferdinandus, M. F., Ufie, C., & Liubana, S. (2017). Karakteristik Lahan Konstruksi Tabel Kebutuhan bagi Pengembangan Atung (*Parinarium galberimum* Hassk) di Negeri Haruku. *Jurnal Budidaya Pertanian*, 13(1), 42-48.
- Fraile, L., Crisci, E., Cordoba, L., Ferrando, M. A., Osada, J., & Montoya, M. (2012). Immunomodulatory properties of Beta-sitosterol in Pig immune Responses. *International Immunopharmacology*, 13(3), 316-321.
- Hernandez-Hernandez, A., Alarcon-Aguilar, F. J., Jimenez-Estrada, M., Hernandez-Portilla, L. B., Flores-Ortiz, C., & Rodriguez-Monroy, M. A. (2016). Biological Properties and Chemical Composition of *Jatropha neopauciflora* Pax. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, 14(1), 32-42.
- Hiarley, S. L. (2013). *Ekstraksi biji Atung (Parinarium glaberimum Hassk) untuk mendapatkan bahan pengawet alami dan aplikasinya pada pengasapan filet ikan Tongkol (Euthynnus affinis)*. Intitut Pertanian Bogor.
- Hiarley, S., Pujantoro, L., & Sugiyono. (2013, Agustus). Water extraction of Atung (*Parinarium galberimum* Hassk) to Obtain a Natural Preservative. *Jurnal Keteknik Pertanian*, 49-52.
- Kalsait, R. P., Khedekar, P. B., Saoji, A. N., & Bhusar, K. P. (2011). Isolation of phytosterols and antihyperlipidemic activity of *Lagenaria siceraria*. *Pharmaceutical Research*, 1599-1604.
- Kaur, N., Chaudhary, J., Jain, A., & Kishore, L. (2011). Stigmasterol: A Comprehensive Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(9), 2259-2265.
- Kosma, D. K., Molina, I., & Rowland, O. (2015). GC-MS-Based Analysis of Chloroform Extracted Suberin-Associated Root Waxes from *Arabidopsis* and Other Plant Species. *Bio-protocol*, 5(24), e-1679. doi:10.21769/BioProtoc.1679
- Liu, R., Hao, D., Xu, W., Li, J., Li, X., Shen, D., . . . Zhang, Y. (2019). B-sitosterol modulates macrophages polarization and attenuates rheumatoid inflammation in mice. *Pharmaceutical Biology*, 161-168.
- Matinahoru, J. M. (2010). *Beberapa Aspek Botani, Ekologi dan Silvikultur Tumbuha Atong (Parinarium glaberimum, Hassk)*. Fakultas Pertanian. Universitas Pattimura.
- Mohiharapon, T., & Mohiharapon, A. (2015). Application of Atung (*Parinarium glaberimum*, HASSK) in Handling of Fresh Pelagis Fish. *International Symposium on Aquatic Product Processing 2013* (pp. 70-76). KnE Life Sciences.
- Moniharapon, E., Abdegaleil, S. A., Moniharapon, T., Watanabe, Y., & Hashinaga, F. (2004). Purification and Identification of Antibacterial Compound of Atung (*Parinarium Glaberimum* Hassk) Seed. *Pakistan Journal of Biological Science*, 7(10), 1667-1670.
- Moniharapon, T., Pattipeilohy, F., Mailoa, M. N., & Souhotta, L. M. (2019). Aplikasi Pengawet Alami Atung (*Parinarium glaberimum*, Hassk) pada Industri Tuna Loin di Dusun Parigi Desa Wahai. *Majalah Biam*, 70-76.

- Moniharapon, T., Pattipeilohy, F., Sormin, R. B., & Gaspersz, F. F. (2006). *Aplikasi Penggunaan Atung (Parinarium glaberimum Hassk) pada Penanganan PAska Tangkap dan Bahan Baku Ikan Olahan di Maluku*. Ambon: Universitas Pattimura.
- Nariya, P. B., Shukla, V. J., Acharya, R. N., Nariya, M. B., Bhatt, P. V., & Tada, R. (2014). Isolation and Characterization of Phytosterol from Cordia macleodii (HOOK F. and Thomson) Bark ny Chromatographic and Spectroscopic method. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(5).
- Novontny, L., Abdel-Hamid, M. E., & Hunakova, L. (2017). Anticancer Potential of B-Sitosterol. *Intenational Journal of Clinical Pharmacology & Pharmacotherapy*, 2(129), 1-5.
- Ongkers, V. J. (2017). *Efek antidiare infusa biji atung (Parinarium Glaberimum Hassk) pada mencit berina galur swiis dengan metode transit intestinal*. Farmasi. Sanata Dharma University.
- Sermakkani, M., & Thangapadian, V. (2012). GC_MS Analysis of Cassia Italica Leaf Methanol Extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(2), 90-94.
- Sheng, Y., & Chen, X.-B. (2009). Isolation and identification of an isomer of B-sitosterol by HPLC and GC-MS. *Health*, 1(3), 203-206.
- Shi, C., Liu, J., Wu, F. Z., Yew, D. T., & Xu, J. (2011, December). B-sitosterol Inhibits High Cholesterol-Induced Platelet B-amyloid Release. *J Bioenerg Biomembr*, 43(6), 691-697.
- Sirikhansaeng, P., Tanee, T., Sudmoon, R., & Chaveerach, A. (2017). Major Phytochemical as Gamma-Sitosterol Disclosing and Toxicity Testing in Lagerstroemia. *Evidance-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-10.
- Sundarraaj, S., Thangam, R., Sreevani, V., Kaveri, K., Gunasekaran, P., Achiraman, S., & Kannan, S. (2012). Gamma-sitosterol from Acacia Nilotica L. Induces G2/M Cell Cycle Arrest and Apoptosis Through c-Myc Supression in MCF-T and A549 Cells. *J Ethnopharmacol*, 141(3), 803-809.
- Tewari, N., Misra, H., & Jain, d. c. (2013). Phytochemical investigation of ethyl acetate extract from Curcuma aromatica Salisb. rhizomes. *Arabian Journal of Chemistry*, 6. doi:10.1016/j.arabjc.2010.10.007.
- Ward, M. G., Li, G., Barbosa-Lorenzi, V. C., & Hao, M. (2017, Agustus). *Scientific Reports*, 1-13.