

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA METABOLIT SEKUNDER  
EKSTRAK METANOLIK BUAH PARIJOTO (*Medinilla speciosa*  
Blume) SEBAGAI ANTIKOLESTEROL MENGGUNAKAN  
METODE LIEBERMAN-BURCHARD**

**Skripsi**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai gelar Sarjana Farmasi



Disusun Oleh :  
**Dyana Shirvi Za'im**  
**33101700013**

**PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG  
SEMARANG  
2021**

## SKRIPSI

# ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK METANOLIK BUAH PARIJOTO (*Medinilla speciosa* *Blume*) SEBAGAI ANTIKOLESTEROL MENGGUNAKAN METODE LIEBERMAN-BURCHARD

Dipersiapkan dan disusun oleh  
Dyana Shirvi Za'im  
33101700013

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
Pada tanggal, 9 Desember 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

### Susunan Tim Penguji

Pembimbing I	 <u>Apt. Rina Wijayanti, M.Sc</u>	Anggota Tim Penguji I	 <u>Apt. Hudan Taufiq, M.Sc</u>
Pembimbing II	 <u>Apt. Ika Buana Januarti, M.Sc</u>	Anggota Tim Penguji II	 <u>Windi Susmayanti, M.Sc</u>

Semarang, 9 Desember 2021

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H.

## SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dyana Shirvi Za'im

NIM : 33101700013

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

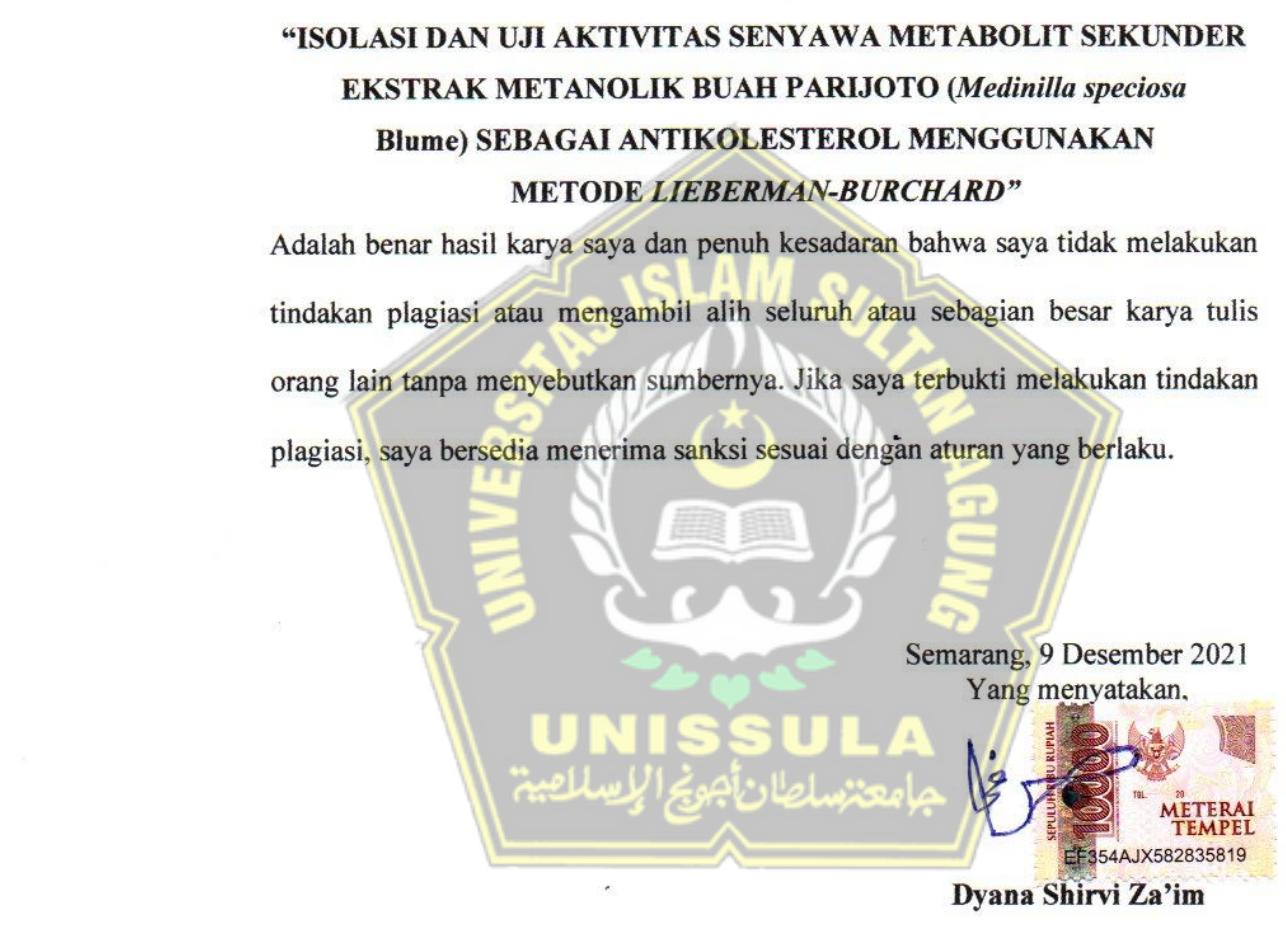
**"ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA METABOLIT SEKUNDER  
EKSTRAK METANOLIK BUAH PARIJOTO (*Medinilla speciosa*  
Blume) SEBAGAI ANTIKOLESTEROL MENGGUNAKAN  
METODE LIEBERMAN-BURCHARD"**

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 9 Desember 2021  
Yang menyatakan,



Dyana Shirvi Za'im



## **PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Dyana Shirvi Za'im

NIM : 33101700013

Program studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran

Alamat Asal : Desa Jadi Rt.1 Rw.2 Kec.Sumber Kab.Rembang

No HP/ Email : 087838217846 / [dyanashirvi20@gmail.com](mailto:dyanashirvi20@gmail.com)

Dengan ini menyerahkan karya tulis ilmiah berupa skripsi dengan judul :

**“ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA METABOLIT SEKUNDER  
EKSTRAK METANOLIK BUAH PARIJOTO (*Medinilla speciosa* Blume)  
SEBAGAI ANTIKOLESTEROL MENGGUNAKAN METODE  
LIEBERMAN- BURCHARD”**

Dan menyetujui menjadi hak milik Universitas Islam Sultan Agung serta memberikan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif untuk disimpan, dialih mediakan, dikelola dalam pangkalan data dan dipublikasikan di internet atau media lain untuk kepentingan akademis selama tetap mencantumkan nama penulis sebagai pemilik Hak Cipta.

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh-sungguh. Apabila di kemudian terbukti ada pelanggaran Hak Cipta Plagiarisme dalam karyatulis ini, maka segala bentuk tuntutan hukum yang timbul akan saya tanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Universitas Islam Sultan Agung.

Semarang, 9 Desember 2021

Yang menyatakan,



**Dyana Shirvi Za'im**

## PRAKATA

*Assalamualaikum Wr. Wb*

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK METANOLIK BUAH PARIJOTO (*Medinilla speciosa* Blume) SEBAGAI ANTIKOLESTEROL MENGGUNAKAN METODE LIEBERMAN-BURCHARD**” untuk memenuhi syarat menempuh program Pendidikan Sarjana Farmasi di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Sholawat serta salam tetap tercurahkan kepada Nabi Besar Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya.

Dengan terselesaikannya skripsi ini, terbuka kesempatan bagi penulis untuk menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar – besarnya kepada mereka yang telah membantu tersusunya skripsi ini. Ucapan terima kasih penulis haturkan kepada :

1. Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Ibu Rina Wijayanti, M.Sc., Apt selaku Ketua Prodi Farmasi Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Ibu Rina Wijayanti, M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing I dan Ibu Ika Buana Januarti, M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan

bimbingan dan pengarahan dengan sabar dan penuh pengertian pada penulis dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini.

4. Bapak Hudan Taufiq, M.Sc., Apt selaku penguji I dan Ibu Windi Susmayanti, M.Sc selaku penguji II yang telah memberi masukan dan saran kepada penulis untuk perbaikan skripsi ini.
5. Unit Lembaga Penelitian dan Pengembangan Unissula yang telah mendanai penelitian ini dalam skema Penelitian Internal tahun 2021.
6. Kedua orang tua tercinta, Bapak M. Dyanto Abdillah, Ibu Munasih, adik tercinta M. Iklil A'la Za'im dan keluarga besar. Terima kasih yang tak terhingga atas doa, semangat, kasih sayang, dan pengorbanan dalam mendampingi. Serta selalu memberi dukungan baik moril maupun materil dan doa yang tak kunjung usai menyertai penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Sahabat terdekat (Lailatul Maghfiroh, Fatika Anindita Putri, Ummi Kultsum, Nurita Indriani, Silfiya Rahma) yang selalu memberi dukungan, motivasi dan semangat dalam penyusunan skripsi ini.
8. Tim penelitian Parijoto Squad (Rosyida Hidayati, Silfiya Rahma, Nawang Yudi Rizki Wulandari) yang selalu berjuang dan saling mendoakan, memberikan semangat, motivasi dalam terselesaiannya skripsi ini.
9. Teman-teman asisten laboratorium teknologi herbal (Rosyida Hidayati, Silfiya Rahma, Nawang Yudi Rizki Wulandari, Tri Puji Fatmawati, Melati Purnamasari, M. Zidnal Huda) yang selalu memberikan semangat dan memotivasi dalam penyusunan skripsi ini.

10. Keluarga besar Sedativa 2017 yang menemani berjuang dari awal sampai akhir hingga dapat menempuh skripsi dan terselesaikannya skripsi ini.
11. Analis Laboratorium Farmasi FK UNISSULA (mb Ninis, mb Indah) yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.
12. Serta pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terima kasih atas bantuan dalam penyusunan skripsi ini.

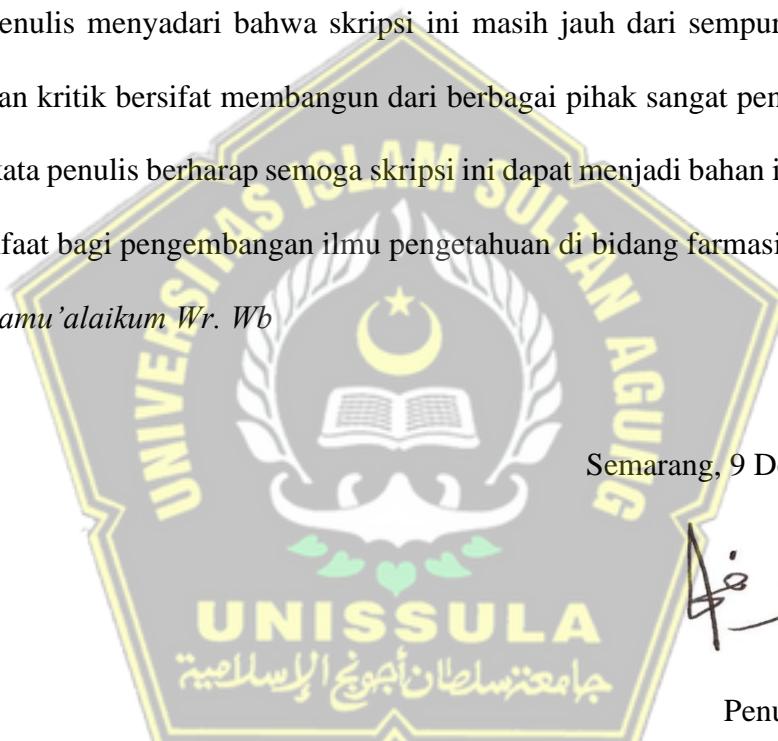
Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, karena itu saran dan kritik bersifat membangun dari berbagai pihak sangat penulis harapkan. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat menjadi bahan informasi yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di bidang farmasi.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb*

Semarang, 9 Desember 2021



Penulis



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....	iv
PRAKATA.....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR SINGKATAN .....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
INTISARI.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1. Tujuan Umum .....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian .....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis .....	4
1.4.2. Manfaat Praktis .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Kajian Teori .....	5
2.1.1. Tanaman Parijoto ( <i>Medinilla speciosa</i> Blume).....	5
2.1.2. Klasifikasi Tanaman Parijoto .....	5
2.1.3. Morfologi Tanaman Parijoto .....	6
2.1.4. Kandungan Kimia .....	6
2.1.5. Khasiat.....	7
2.1.6. Flavonoid.....	7
2.2. Ekstraksi.....	8

2.2.1. Definisi Ekstraksi .....	8
2.2.2. Metode Ekstraksi.....	9
2.3. Fraksinasi .....	10
2.4. Isolasi .....	10
2.5. Hiperkolesterolemia .....	11
2.6. Metode Lieberman- Burchard .....	12
2.7. Spektrofotometri UV-Vis.....	13
2.8. Hubungan antara isolat parijoto dengan aktivitas antikolesterol	14
2.9. Kerangka Teori.....	16
2.10. Kerangka Konsep .....	17
2.11. Hipotesis.....	17
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>18</b>
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian .....	18
3.2. Variabel dan Definisi Operasional .....	18
3.2.1. Variabel.....	18
3.2.2. Definisi Operasional.....	18
3.3. Populasi dan Sampel Penelitian .....	20
3.3.1. Populasi Penelitian .....	20
3.3.2. Sampel Penelitian.....	20
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian.....	21
3.4.1. Instrumen Penelitian.....	21
3.4.2. Bahan Penelitian.....	21
3.5. Prosedur Penelitian.....	21
3.5.1. Determinasi Tanaman .....	21
3.5.2. Pembuatan Ekstrak Metanol Buah Parijoto .....	21
3.5.3. Pembuatan Fraksinasi.....	22
3.5.4. Skrining Fitokimia Ekstrak Parijoto.....	23
3.5.5. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanolik Buah Parijoto.....	24
3.5.6. Isolasi fraksi metanol dan fraksi n-heksan buah parijoto.	26
3.5.7. Uji Kemurnian Isolat Parijoto .....	27

3.5.8. Uji Aktivitas Penurunan Kadar Kolesterol Dengan Metode <i>lieberman-burchard</i> .....	27
3.6. Tempat dan Waktu Penelitian .....	32
3.6.1. Tempat .....	32
3.6.2. Waktu.....	32
3.7. Analisis Data .....	33
3.8. Alur Penelitian .....	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	35
4.1. Hasil Penelitian .....	35
4.1.1. Determinasi Tanaman Parijoto ( <i>Medinilla speciosa</i> Blume).....	35
4.1.2. Rendemen Tanaman Buah Parijoto.....	36
4.1.3. Pemeriksaan Kadar Air .....	36
4.1.4. Skrining Fitokimia.....	37
4.1.5. Kadar Senyawa Flavonoid Total Ekstrak Mtanolik, Fraksi metanol dan Fraksi N- Heksan Buah Parijoto ( <i>Medinilla speciosa</i> Blume) .....	37
4.1.6. Hasil Uji Aktivitas Antikolesterol Pada Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Dan Fraksi N Heksan Buah Parijoto .....	38
4.1.7. Hasil Isolasi Fraksi Metanol Buah Parijoto.....	40
4.1.8. Uji Kemurnian Isolat Metanol Buah Parijoto .....	41
4.1.9. Hasil Uji Aktivitas Antikolesterol Pada Isolat Metanol Bawah Dan Isolat Metanol Atas Buah Parijoto .....	42
4.1.10. Analisis Statistik Pengukuran Persen Penurunan Kadar Kolesterol Pada Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Fraksi N- Heksan, Isolat Metanol Atas, Dan Isolat Metanol Bawah Buah Parijoto. ....	44
4.2. Pembahasan.....	46
4.2.1. Determinasi Tanaman .....	46
4.2.2. Ekstraksi Metanolik Buah Parijoto .....	46

4.2.3. Fraksinasi .....	49
4.2.4. Uji Skrining Fitokimia .....	52
4.2.5. Uji Kadar Senyawa Flavonoid Total .....	53
4.2.6. Isolasi Fraksi Metanol Buah Parijoto .....	55
4.2.7. Uji Kemurnian Isolat Metanol Bawah Dan Isolat Metanol Atas Buah Parijoto .....	58
4.2.8. Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Fraksi N Heksan, Dan Isolat Buah Parijoto Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol .....	59
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>71</b>
5.1. Kesimpulan .....	71
5.2. Saran.....	71
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>73</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>79</b>



## DAFTAR SINGKATAN

$\mu\text{l}$	: Mikroliter
$\text{AlCl}_3$	: <i>Aluminium chloride</i>
C	: Celcius
EMBP	: Ekstrak Metanolik Buah Parijoto
g	: Gram
GC-MS	: <i>Gas Chromatography-Mass Spectometry</i>
HCl	: <i>Hidrogen Klorida</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HMG-Co A	: <i>3-hydroxy-3-methylglutaroyl-coenzyme A</i>
$\text{H}_2\text{SO}_4$	: Asam Sulfat
IMA	: Isolat Metanol Atas
IMB	: Isolat Metanol Bawah
IR	: <i>Infra Red</i>
Kg	: Kilogram
KLTP	: Kromatografi Lapis Tipis Preparatif
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
mg	: miligram
ml	: mililiter
$\text{NaNO}_3$	: Natrium Nitrat
nm	: nanometer
NMR	: <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
Uv-Vis	: <i>Ultraviolet Visibel.</i>

## DAFTAR TABEL

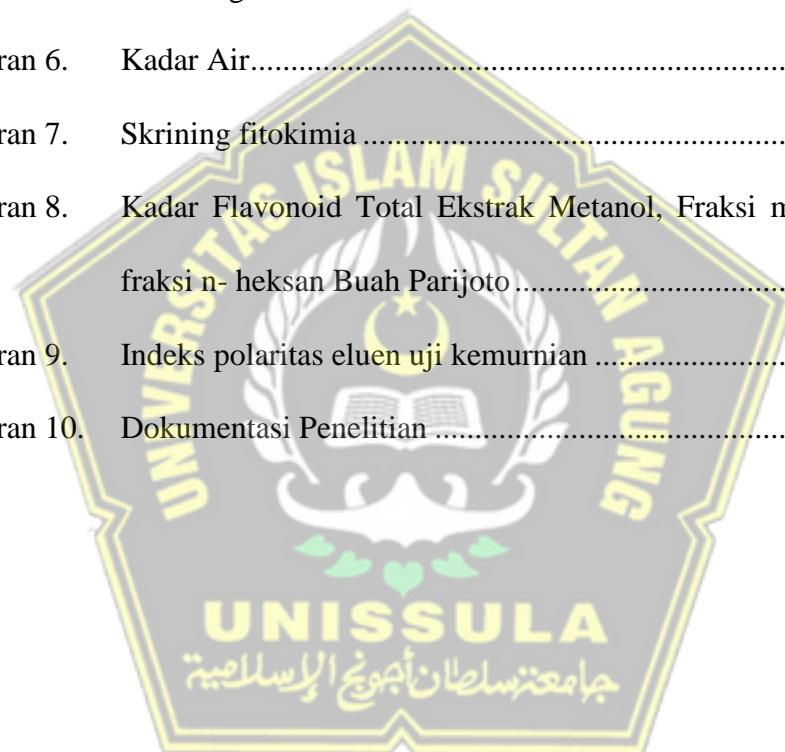
Tabel 4.1.	Skrining Fitokimia Ekstrak Metanolik, Fraksi N- Heksan dan Tak Larut N-Heksan Buah Parijoto .....	37
Tabel 4.2.	Kadar Senyawa Flavonoid Total Ekstrak Metanolik, Fraksi metanol dan fraksi n- heksan Buah Parijoto .....	38
Tabel 4.3.	Persen Penurunan Kadar Kolesterol Kontrol Positif, Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Dan Fraksi N-heksan Buah Parijoto.....	39
Tabel 4.4.	Persen Penurunan Kadar Isolat Metanol Bawah Dan Isolat Metanol Atas Buah Parijoto .....	43
Tabel 4.5.	Analisis Statistik Uji normalitas, Homogenitas, dan <i>Kruskal Wallis</i> Persen Penurunan Kadar Kolesterol .....	45
Tabel 4.6.	Analisis Statistik Uji <i>Mann Whitney</i> Persen Penurunan Kadar Kolesterol.....	45

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Buah Parijoto ( <i>Medinilla speciosa</i> Blume) .....	5
Gambar 2.2.	Struktur Dasar Flavonoid .....	8
Gambar 2.3.	Kerangka Teori .....	16
Gambar 2.4.	Kerangka Konsep. ....	17
Gambar 4.1.	Kurva Aktivitas Antikolesterol Kontrol Positif, Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Dan Fraksi N- heksan.....	39
Gambar 4.2.	Isolat Metanol Bawah Dan Isolat Metanol Atas.....	41
Gambar 4.3.	Hasil Uji Kemurnian KLT Multi Eluen Pada Isolat Metanol Bawah (MB) Dan Isolat Metanol Atas (MA).....	42
Gambar 4.4.	Kurva Aktivitas Antikolesterol Isolat Metanol Atas Dan Isolat Metanol Bawah Buah Parijoto.....	43
Gambar 4.5.	Reaksi pembentukan warna hijau pada kolesterol dengan pereaksi lieberman burchard .....	60
Gambar 4.6.	Ikatan kimia antara kolesterol dengan senyawa flavonoid.....	60

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	<i>Ethical Clearance</i> .....	79
Lampiran 2.	Determinasi Tanaman .....	80
Lampiran 3.	Sertifikat Analisis Baku Kolesterol.....	81
Lampiran 4.	Sertifikat Analisis Asam Asetat Anhidrat .....	82
Lampiran 5.	Perhitungan Hasil Randeman .....	83
Lampiran 6.	Kadar Air.....	84
Lampiran 7.	Skrining fitokimia .....	84
Lampiran 8.	Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanol, Fraksi metanol dan fraksi n- heksan Buah Parijoto .....	88
Lampiran 9.	Indeks polaritas eluen uji kemurnian .....	93
Lampiran 10.	Dokumentasi Penelitian .....	127



## INTISARI

Ekstrak metanol buah parijoto terbukti memiliki aktivitas sebagai antikolesterol sebesar 30%. Akan tetapi belum ada penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antikolesterol pada fraksi dan isolat, sehingga proses isolasi perlu dilakukan supaya diperoleh senyawa murni yang strukturnya dapat dimodifikasi dan dikembangkan sebagai penemuan obat antikolesterol. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa murni dan aktivitas yang paling tinggi antara ekstrak, fraksi, dan isolat buah parijoto (*Medinilla speciosa* B.) terhadap penurunan kadar kolesterol menggunakan metode *Lieberman Burchard* secara *in-vitro*.

Penelitian dilakukan dengan pendekatan *boiassay guided isolation* melalui pemantauan uji aktivitas pada setiap tahap isolasi (ekstraksi, fraksinasi, dan isolasi). Sampel terbagi menjadi 7 kelompok. Kelompok I (ekstrak metanol), II (fraksi metanol), III (fraksi n- heksan), IV (Isolat metanol atas), V (isolat metanol bawah), VI (kontrol positif), dan VII (kontrol negatif) masing-masing dibuat konsentrasi sampel 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm. Pengujian dilakukan menggunakan spektrofotometri UV- Vis. Analisis menggunakan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan uji *Mann Whitney*.

Hasil penelitian terdapat perbedaan bermakna antara kontrol negatif dengan semua kelompok. Rerata presentase penurunan kadar kolesterol kelompok I, II, III, IV, V, dan VI secara berturut-turut sebesar 55,02%, 37,65%, 36,79%, 61,96%, 87,40%, 56,13%.

Kesimpulan penelitian bahwa ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi n-heksan, isolat metanol atas, dan isolat metanol bawah mempunyai aktivitas terhadap penurunan kadar kolesterol secara *in-vitro* dan menunjukkan aktivitas paling tinggi pada isolat metanol bawah dengan rerata presentase penurunan kadar kolesterol sebesar 87,40%.

**Kata Kunci:** Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Fraksi N- Heksan, Isolat Metanol Atas, Isolat Metanol Bawah, Kadar Kolesterol.

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1. Latar belakang**

Ekstrak metanol buah parijoto mengandung senyawa flavonoid yang berkhasiat sebagai antikolesterol dan mampu menurunkan kadar kolesterol. Aktivitas antikolesterol pada ekstrak metanol parijoto menunjukkan penurunan kadar kolesterol sebesar 30%. Di dalam tubuh, flavonoid mampu mengikis endapan kolesterol pada dinding pembuluh darah koroner, serta memiliki mekanisme menghambat kerja dari enzim HMG Co-A reduktase yang mampu menurunkan kadar kolesterol. Kandungan kolesterol yang tinggi menjadi pemicu adanya penyakit degeneratif kardiovaskular (hiperkolesterolemia). Hiperkolesterolemia merupakan suatu keadaan dimana kadar kolesterol dalam darah diatas batas normal yaitu  $>200\text{mg/dl}$ . Prevalensi hiperkolesterolemia berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013 di Indonesia, diperoleh penduduk dengan kadar kolesterol diatas normal pada perempuan sebesar 39,6% dan pada laki-laki sebesar 30%. (Amin, 2015 ; Yani, 2015 ; Ghani *et al.*, 2016).

Penggunaan antikolesterol yang berasal dari tumbuhan dapat menurunkan efek samping yang berbahaya bagi tubuh dan biaya lebih murah daripada obat sintetik. Efek samping berbahaya dari antikolesterol sintetik antara lain dismotilitas usus dan dapat menyebabkan rabdomiolisis jika digunakan dalam jangka waktu yang lama. Perkembangan penemuan obat saat ini adalah dengan memanfaatkan tanaman herbal melalui eksplorasi

kandungan metabolit sekunder yang dapat bermanfaat sebagai obat (Hariadini *et al.*, 2020) . Berdasarkan penelitian Wijayanti dan Lestari (2020) ekstrak etanolik parijoto (*Medinilla speciosa* B.) memiliki kandungan flavonoid, saponin, tannin, dan kardenolin. Tumbuhan yang mempunyai kandungan flavonoid mempunyai aktivitas antikolesterol (Wijayanti and Lestari, 2020 ; Anggraini & Nabillah.,2018). Penelitian tentang aktivitas antikolesterol ekstrak etanol parijoto secara *in vitro* telah dilakukan oleh Amin (2015) menunjukkan hasil pada konsentrasi 50, 75, 100, 125 dan 150 ppm masing-masing mampu menurunkan kolesterol sebesar 16,741%; 24,031%; 28,357%; 30,178%; dan 30,396% (Amin, 2015). Fraksi metanol buah parijoto mengandung senyawa polar flavonoid, tannin, saponin, glikosida, dan pada fraksi n- heksan mengandung senyawa non polar terpenoid (Niswah, 2014 ; Vifta & Advistasari, 2018).

Kandungan buah parijoto yang mempunyai potensi sebagai antikolesterol dapat dioptimalkan menjadi sebuah produk herbal terstandar. Akan tetapi belum ada penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas fraksi dan isolat parijoto (*Medinillas speciosa* B.) sebagai antikolesterol. Langkah yang dapat dilakukan dalam mengeksplorasi senyawa aktif buah parijoto sehingga diperoleh senyawa murni yang strukturnya dapat dimodifikasi dan dikembangkan sebagai penemuan obat antikolesterol yaitu melalui tahap isolasi. Isolasi senyawa bahan alam dapat dilakukan melalui pendekatan fitokimia dan pendekatan *bioassay guided isolation*. Isolasi melalui pendekatan *bioassay guided isolation* lebih menguntungkan daripada melalui

pendekatan fitokimia, karena pada setiap tahap proses isolasi (ekstraksi, fraksinasi, dan isolasi) dilakukan pemantauan uji aktivitas sehingga memerlukan waktu penggerjaan yang lebih singkat, biaya yang lebih murah dan senyawa hasil isolasi adalah senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas yang diuji (Perera *et al.*, 2019).

Untuk mengetahui aktivitas antikolesterol yang paling aktif pada ekstrak, fraksi, dan isolat parijoto digunakan metode lieberman-burchard. Metode ini digunakan karena mempunyai tingkat spesifitas yang tinggi untuk mengukur senyawa golongan steroid berupa kolesterol. Berdasarkan uraian diatas penelitian ini dalam rangka membuktikan aktivitas buah parijoto (*Medinilla Speciosa* Blume) sebagai antikolesterol menggunakan metode lieberman- burchard. Lebih lanjut penelitian ini dapat digunakan sebagai penuntun dalam rangka menemukan senyawa aktif yang terdapat pada isolate buah parijoto (*Medinilla Speciosa* Blume) sehingga dapat dilakukan modifikasi struktural senyawa aktif dengan tujuan untuk menurunkan toksisitas dan efek samping dalam peningkatan efektivitas farmakologis.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, dapat dibuat rumusan masalah penelitian sebagai berikut : Bagaimana isolasi dan aktivitas senyawa metabolit sekunder ekstrak metanolik buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) sebagai antikolesterol menggunakan metode lieberman-burchard?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1. Tujuan Umum**

Untuk mengetahui isolasi dan aktivitas senyawa metabolit sekunder ekstrak metanolik buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) sebagai antikolesterol menggunakan metode lieberman- burchard.

#### **1.3.2. Tujuan Khusus**

Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder hasil isolasi dan untuk mengetahui aktivitas ekstrak, fraksi, dan isolat buah parijoto pada konsentrasi 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm sebagai antikolesterol menggunakan metode lieberman-burchard.

### **1.4. Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1. Manfaat Teoritis**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait isolasi dan aktivitas senyawa metabolit sekunder ekstrak metanolik buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) sebagai antikolesterol menggunakan metode lieberman- burchard.

#### **1.4.2. Manfaat Praktis**

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan penelitian uji praklinis untuk menggali informasi terkait metabolit sekunder hasil isolasi dan potensi senyawa yang paling aktif dari ekstrak, fraksi, dan isolat buah parijoto sebagai antikolesterol.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Kajian Teori**

##### **2.1.1. Tanaman Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)**

Gambar buah Parijoto tersaji pada Gambar 2.1 berikut :



**Gambar 2.1. Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)**

##### **2.1.2. Klasifikasi Tanaman Parijoto**

Klasifikasi tanaman *Medinilla speciosa* Blume adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Filum : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Myrales

Famili : Melastomataceae

Genus : Medinilla

Spesies : *Medinilla speciosa* Blume (GBIF, 2013).

### 2.1.3. Morfologi Tanaman Parijoto

Buah parijoto yang mempunyai nama latin *Medinilla Spesiosa* Blume, mudah dijumpai di hutan yang terletak di lereng lereng pegunungan. Salah satunya di lereng pegunungan muria tepatnya di desa Colo, Kecamatan Dawe, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah (Pertiwi & Hidayah, 2017). Ciri fisik Tanaman *Melastomataceae* yaitu tinggi tumbuhan berkisar 1-3 meter, batang berbentuk bulat dengan tekstur kasar, bergerigi, terdapat lapisan gabus di kulit yang tua, dan memiliki warna abu-abu kecoklatan. Jenis daunnya khas dengan ujung yang lancip. Pangkal daun bulat, bagian atas permukaan daun berkilau, lebar dan panjang daun masing-masing 15 cm dan 27 cm, dan warna permukaan daun hijau. Jumlah mahkota bunga yang dimiliki ada 5, dengan panjang dan lebar mahkota masing- masing 3 cm, berwarna merah keunguan dan termasuk jenis bunga sempurna. Bentuk dari buah parijoto yaitu bulat-bulat kecil dengan diameter rata-rata 0,7-0,8 cm, berwarna ungu kemerahan dan daging buah yang berwarna putih (Hanum *et al.*, 2017).

### 2.1.4. Kandungan Kimia

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Wijayanti dan Lestari (2020), menyebutkan bahwa kandungan fitokimia pada buah parijoto berupa senyawa flavonoid, tannin, saponin, dan kardenolin. Jenis flavonoid yang dimiliki tanaman parijoto adalah flavonol (Wijayanti dan Lestari, 2020 ; Wachidah, 2013 ; Niswah, 2014).

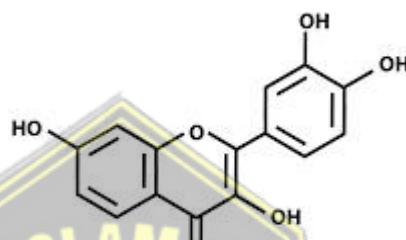
### 2.1.5. Khasiat

Buah parijoto mengandung senyawa flavonoid, dimana senyawa flavonoid mempunyai khasiat sebagai antikolesterol (Anggraini & Nabillah, 2018). Flavonoid sebagai antikolesterol mempunyai mekanisme menghambat kerja enzim HMG Co-A reductase. Kerja dari HMG Co-A reductase ini untuk mengubah HMG Co-A menjadi mevalonat, selain itu flavonoid mampu mengikis endapan kolesterol pada dinding pembuluh darah koroner (Anggraini & Nabillah, 2018).

### 2.1.6. Flavonoid

Flavonoid merupakan metabolit sekunder dari famili polifenol yang larut dalam air dan senyawa menghasilkan warna kuning, merah, biru, dan ungu pada buah, bunga dan daun, salah satu dari ciri tersebut terdapat pada buah parijoto. Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, yang mempunyai arti kerangka karbonnya terdiri dari dua gugus C6 (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Arifin & Ibrahim, 2018). Flavonoid memiliki mekanisme kerja sebagai pereduksi LDL dalam tubuh, menaikkan densitas reseptor LDL dihati, dan mengikat alipoprotein B. Selain itu flavonoid dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah dengan mekanismenya menghambat kerja enzim HMG Co-A reductase. Kerja dari HMG Co-A reductase ini untuk mengubah HMG

Co-A menjadi mevalonat. Dengan terhambatnya HMG Co-A reductase bisa dipastikan mevalonat tidak terbentuk (terhambat). Mekanisme tersebut mirip dengan cara kerja obat antikolesterol golongan inhibitor HMG Co-A reductase atau golongan statin (Azhari *et al.*, 2017). Struktur dasar flavonoid tersaji dalam Gambar 2.3.



**Gambar 2.2.** Struktur Dasar Flavonoid  
(Kumar & Abhay, Panday, 2011)

## 2.2. Ekstraksi

### 2.2.1. Definisi Ekstraksi

Ekstraksi yaitu proses penarikan komponen zat terlarut dalam larutannya dalam air oleh pelarut lain dengan memakai pelarut yang sesuai dan dengan prosedur metode ekstraksi yang sesuai. Pada ekstraksi pelarut melibatkan distribusi solut antara dua fasa cair yang tidak saling bercampur, pada posisi tersebut memungkinkan terjadinya pemisahan analisis (Hasrianti *et al.*, 2016). Tujuan dilakukannya ekstraksi adalah untuk mencapai bagian terapeutik yang diinginkan juga bertujuan menghilangkan bahan yang tidak diinginkan dalam pengobatan dengan pelarut yang sesuai (Tiwari, P. *et al.*, 2011).

### 2.2.2. Metode Ekstraksi

Metode yang digunakan dalam ekstraksi ada dua metode yaitu metode ekstraksi dengan cara dingin yang terbagi menjadi dua metode dan metode ekstraksi dengan cara panas yang terbagi menjadi lima metode. Pada ekstraksi cara dingin terdapat metode maserasi dan perkolasasi, sedangkan pada ekstraksi cara panas meliputi dekok, reflux, soxhlet, digesti, dan infundasi.

#### 2.2.2.1. Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi cara dingin yang paling sederhana. Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai kedalam wadah inert yang tertutup rapat dan pada suhu kamar dengan dilakukan pengadukan sesekali. Setelah kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman tercapai maka ekstraksi dihentikan dan dilanjutkan dengan pemisahan pelarut dari sampel dengan penyaringan (Mukhriani, 2014).

Kelebihan dari metode maserasi adalah menghindari terjadinya kerusakan pada senyawa yang bersifat termolabil. Metode ini juga mempunyai kekurangan yaitu waktu yang digunakan panjang, jumlah pelarut yang dibutuhkan banyak, memungkinkan hilangnya beberapa senyawa, dan adanya

senyawa yang sulit diekstrak pada suhu kamar (Mukhriani, 2014).

### **2.3. Fraksinasi**

Fraksinasi merupakan suatu proses yang digunakan untuk mendapatkan senyawa yang lebih spesifik dengan prinsip penarikan senyawa pada ekstrak menggunakan dua pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang biasa digunakan adalah n-heksan untuk senyawa non polar dan lemak, etil untuk senyawa semi polar dan metanol untuk senyawa polar (Irwan, 2017). Fraksinasi dilakukan dengan tujuan dapat memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Seperti halnya pada prinsip senyawa polar akan larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa non polar akan larut dengan pelarut non polar (Uthia *et al.*, 2017). Fraksinasi cair cair adalah metode pemisahan senyawa menggunakan corong pisah didasarkan pada satu atau lebih senyawa diantara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Dari penelitian Niswah (2014) menunjukkan bahwa fraksi n-heksan terdapat pada senyawa terpenoid. Sedangkan pada fraksi metanol terdapat senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan glikosida (Niswah, 2014).

### **2.4. Isolasi**

Isolasi merupakan proses pemisahan dan pemurnian senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada suatu fraksi tumbuhan. Proses isolasi mempunyai tujuan untuk memperoleh senyawa murni dari suatu fraksi. Sehingga dari hasil uji fitokimia dapat diketahui kandungan metabolit

sekunder. Metode yang dilakukan dalam isolasi adalah kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). Alasan pemilihan metode kromatografi lapis tipis preparatif adalah untuk memperoleh fase gerak dengan tingkat pemisahan paling baik. Untuk memaksimalkan fase gerak yang diperoleh maka pada proses kromatografi kolom ditambahkan beberapa fase gerak. Metode gradien dipilih dalam kromatografi kolom untuk memisahkan senyawa-senyawa dalam suatu fraksi. Metode gradien menggunakan perbandingan fase gerak pada proses isolasi (Wati *et al.*, 2017).

## 2.5. Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia adalah suatu keadaan dimana jumlah kadar kolesterol di dalam darah melebihi batas normal. Jumlah batas normal kadar kolesterol dalam darah adalah  $<200\text{mg/dl}$ . Meningkatnya kadar kolesterol dalam darah dipengaruhi oleh gaya hidup seperti suka merokok, pola makan yang suka mengkonsumsi makanan yang mengandung tinggi kolesterol disertai kurangnya asupan serat, faktor lingkungan, kurangnya aktivitas fisik dan stress berkepanjangan. Keadaan hiperkolesterol dapat mengakibatkan tingginya risiko terkena aterosklerosis, penyakit jantung koroner, pankreatitis (peradangan pada pankreas), diabetes melitus, gangguan tiroid, penyakit hepar, dan penyakit ginjal. Asupan zat gizi dari makanan sumber lemak sangat mempengaruhi kadar kolesterol total. Meningkatnya kolesterol total sebanyak  $2\text{-}3\text{mg/dl}$  dipengaruhi oleh tingginya konsumsi lemak sebanyak  $100\text{mg/hari}$ . Keadaan seperti ini akan berpengaruh terhadap proses biosintesis kolesterol. Salah satu faktor sintesis kolesterol adalah penurunan aktivitas

HMG KoA reduktase yang dapat menurunkan sintesis kolesterol (Yani, 2015).

## 2.6. Metode Lieberman- Burchard

Metode Lieberman- Burchard adalah metode yang digunakan untuk mengukur senyawa golongan steroid berupa kolesterol dengan tingkat spesifitas tinggi. Metode ini dipilih karena mempunyai tingkat spesifitas yang tinggi dalam mengukur kadar kolesterol dengan mekanisme gugus hidroksil pada kolesterol bereaksi dengan gugus keton pada flavonoid dan membentuk hemiasetal. Alat spektrofotometer pada penelitian ini digunakan untuk mengukur kolesterol bebas tidak pada kolesterol yang terikat flavonoid. Gugus hidroksil pada kolesterol akan bereaksi dengan gugus karbonil pada flavonoid membentuk ikatan hidrogen. Senyawa lain yang tidak terikat pada sampel adalah kolesterol bebas yang bereaksi dengan pelarut lieberman burchard (Anggraini & Nabillah, 2018). Selain mempunyai spesifitas yang tinggi metode ini cara penggerajanya cukup sederhana dibandingkan dengan metode lain seperti kromatografi gas yang penggerjaannya meliputi ekstraksi lipida total, menguapkan pelarut yang digunakan, saponifikasi alkalis dari lipida, ekstraksi senyawa tak tersaponifikasi dan derivatisasi senyawa tak tersaponifikasi. Keunggulan lain metode lieberman burchard dengan alat pendekksi berupa spektrofotometer UV Vis yaitu memiliki batas deteksi (LOD) sebesar 0,511 ppm dan batas kuantitas (LOQ) sebesar 1,703 ppm (Muhammadi, 2011 ; Sahriawati, 2019).

Pereaksi yang digunakan dalam metode Lieberman- Burchard adalah gabungan dari asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Kegunaan dari asam asetat anhidrat adalah untuk mengekstraksi kolesterol, media yang digunakan dipastikan bebas dari air, dan membentuk turunan asetil dari steroid. Penetesan asam sulfat pekat melalui dinding akan menghasilkan warna hijau untuk senyawa steroid termasuk kolesterol. Untuk melarutkan kolesterol perlu dilakukan penambahan kloroform dengan tujuan supaya satu bagian dari kolesterol yang non polar larut dalam pelarut non polar pada 4,5 bagian kloroform, hal ini sesuai dengan prinsip “like dissolve like” dimana senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar. Ketika asam sulfat ditambahkan kedalam larutan yang berisi campuran kolesterol akan terjadi mekanisme molekul air berpindah dari gugus C<sub>3</sub> kolesterol, kolesterol selanjutnya teroksidasi membentuk 3,5-kolestadiena. Produk ini dikonversi menjadi polimer yang mengandung kromofor yang akan didapatkan warna hijau. Warna hijau dihasilkan karena adanya gugus hidroksi (-OH) dari kolesterol yang bereaksi bersama pereaksi Lieberman Burchard dan meningkatkan konjugasi dari ikatan tak jenuh dalam cincin yang berdekatan. Warna hijau menunjukkan hasil yang didapat positif (Sahriawati, 2019).

## 2.7. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode instrumen yang digunakan untuk mendekripsi senyawa padat atau cair yang didasarkan pada absorbansi proton. Derivatisasi sampel harus dilakukan supaya sampel bisa

menyerap foton pada daerah UV-Vis atau pada panjang gelombang foton 200 nm- 700 nm. Salah satu contoh derivatisasi adalah menambahkan reagen dalam pembentukan garam kompleks (Irawan, 2019). Cara kerja dari spektrofotometri UV-Vis adalah saat ada cahaya monokromatik lewat melalui suatu media berupa larutan, maka sebagian cahaya tersebut akan diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian lagi dipancarkan. Hasil yang didapatkan dari pengukuran menggunakan spektrofotometri UV-Vis secara kualitatif didasarkan pada puncak-puncak hasil dari spektrum pada unsur tertentu dan pada panjang gelombang tertentu. Pada hasil kuantitatif didasarkan pada nilai absorbansi hasil dari spektrum disertai adanya senyawa pengkompleks sesuai dengan unsur yang sedang dianalisis. Hukum Lambert-Beer adalah landasan pengukuran yang digunakan dalam spektrofotometri, yaitu apabila cahaya monokromatis dilewatkan melalui media transparan, maka intensitas cahaya yang ditransmisikan akan sama dengan tebal dan kepekaan media larutan yang dipakai (Yanlinastuti & Fatimah, 2016).

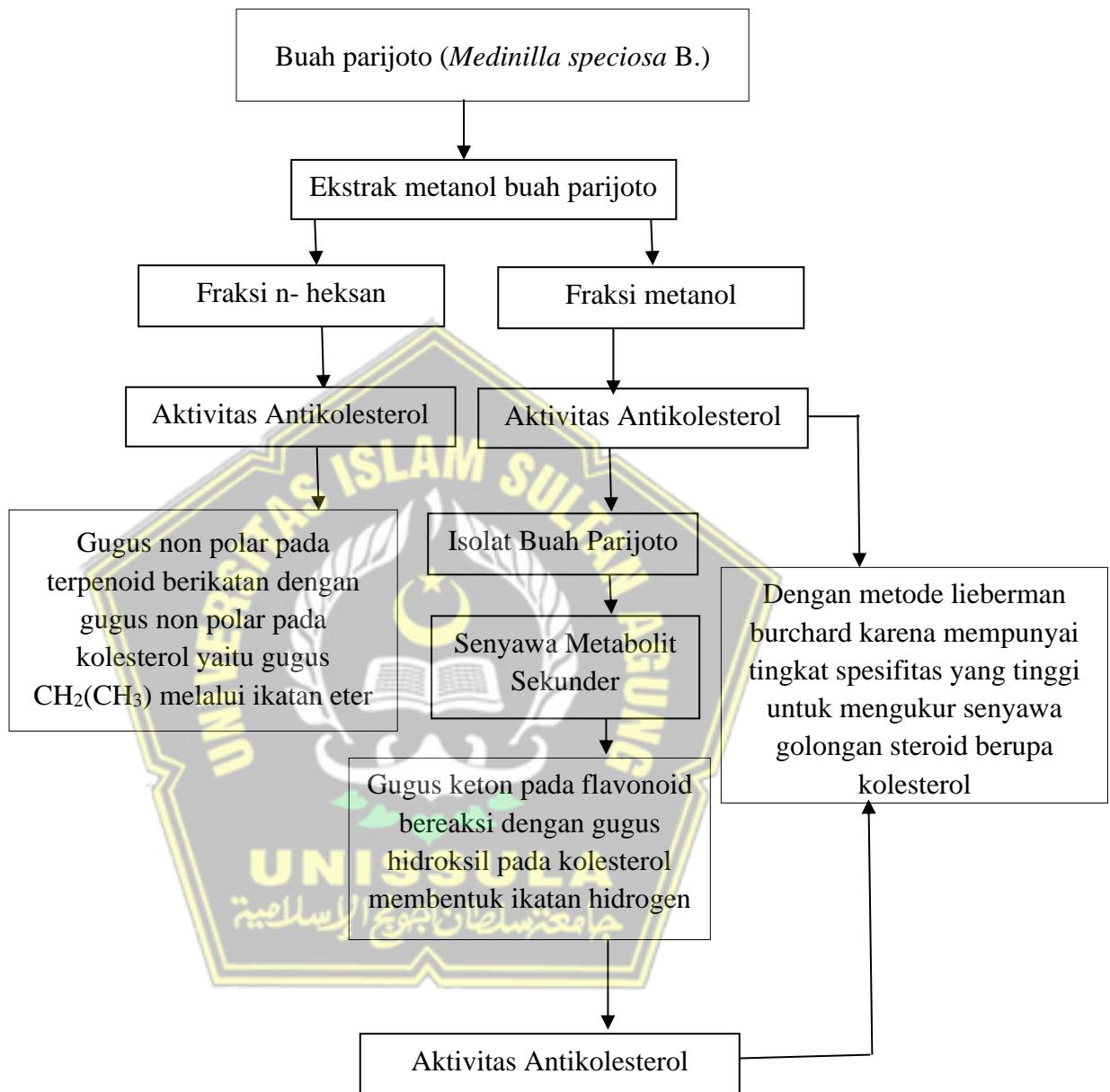
## 2.8. Hubungan antara isolat parijoto dengan aktivitas antikolesterol

Berdasarkan penelitian dari Wijayanti dan Lestari (2020) bahwa buah parijoto mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan kardenolin. Anggraini & Nabillah (2018) menyatakan bahwa tumbuhan yang mempunyai kandungan flavonoid mempunyai aktivitas sebagai antikolesterol. Pada penelitian Amin (2015) menjelaskan bahwa ekstrak etanolik parijoto pada konsentrasi 50, 75, 100, 125 dan 150 ppm masing-masing mampu menurunkan kolesterol sebesar 16,741%; 24,031%; 28,357%; 30,178%; dan

30,396%. Flavonoid sebagai antikolesetrol mampu menurunkan kadar kolesterol dalam darah dengan menghambat kerja enzim HMG Co-A reductase. Jika enzim HMG Co-A reductase dihambat maka pengubahan HMG Co-A menjadi mevalonat tidak bisa dilakukan (terhambat). Mekanisme tersebut sama dengan cara kerja obat antikolesterol golongan inhibitor HMG Co-A reductase atau golongan statin (Azhari *et al.*, 2017).

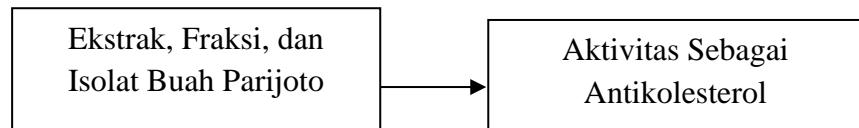


## 2.9. Kerangka Teori



**Gambar 2.3.** Kerangka Teori

## 2.10. Kerangka Konsep



Gambar 2. 4. Kerangka Konsep

## 2.11. Hipotesis

Ekstrak, fraksi, dan Isolat dari buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) masing- masing memiliki aktivitas sebagai antikolesterol terhadap kolesterol total.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian**

Penelitian eksperimental laboratorium menggunakan desain *post-test only control group design*.

#### **3.2. Variabel dan Definisi Operasional**

##### **3.2.1. Variabel**

###### **3.2.1.1. Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak, fraksi, dan isolat buah parijoto dengan konsentrasi yang digunakan adalah 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm

###### **3.2.1.2. Variabel Tergantung**

Variabel tergantung dari penelitian ini adalah kadar kolesterol total.

##### **3.2.2. Definisi Operasional**

###### **3.2.2.1. Ekstrak Metanol, Fraksi metanol dan fraksi n- heksan Buah Parijoto**

Ekstrak metanol, Fraksi metanol dan fraksi n- heksan buah Parijoto (*Mednilla speciosa* Blume) yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari daerah Kudus, Jawa Tengah.

Pembuatan ekstrak metanol buah Parijoto (*Mednilla speciosa* Blume) menggunakan metode maserasi dengan pelarut

metanol 1:10. Fraksinasi dilakukan dengan menambahkan pelarut metanol dan n-heksan pada ekstrak Parijoto masing-masing sebanyak 100 mL. Penambahan pelarut n-heksan dilakukan dengan jumlah yang sama hingga pelarut n-heksan terlihat bening. Ekstrak metanol buah Parijoto (*Mednilla speciosa* Blume), Fraksi metanol dan fraksi n- heksan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm

Skala : rasio

### 3.2.2.2. Isolat buah parijoto

Isolat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm yang dihasilkan dari proses isolasi menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP). Fraksi metanol dan n-heksan buah parijoto ditambahkan pelarut metanol dan kloroform masing-masing 1 ml. Kemudian dibuat fase gerak menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 5 : 1, selanjutnya dielusikan dalam chamber dan disaring menggunakan pelarut n- heksan dan etil asetat perbandingan 5 : 1.

Skala ukur : Rasio

### 3.2.2.3. Kadar kolesterol total

Penentuan kadar kolesterol total dalam berbagai konsentrasi isolat, ditetapkan dengan metode Lieberman-Burchard menggunakan pelarut  $H_2S0_4$  pekat dan asam asetat anhidrat. Dilakukan dengan mereaksikan larutan kolesterol dengan pereaksi Lieberman Burchard kemudian dideteksi menggunakan alat spesifik berupa spektrofotometer UV- Vis pada panjang gelombang 423 nm. Jumlah kolesterol ditentukan dengan menerapkan reaksi Lieberman Burchard dan dibandingkan dengan larutan standard kolesterol yang diketahui.

Skala ukur : Rasio

## 3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

### 3.3.1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah baku kolesterol 10 mg dengan konsentrasi 1000 ppm

### 3.3.2. Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah baku kolesterol pada konsentrasi 1000 ppm yang dibuat seri konsentrasi dengan mengambil larutan induk dari kolesterol 0,2; 0,25; 0,3; 0,35; 0,4; 0,45; 0,5; dan 1 ml kemudian masing- masing volumenya dicukupkan sampai 10 ml menggunakan kloroform. Sehingga didapatkan konsentrasi masing-masing larutan 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, dan 200 ppm.

### **3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian**

#### **3.4.1. Instrumen Penelitian**

Instrumen atau alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi Spektrofotometer UV-Vis, neraca analitik, tabung reaksi, gelas beaker, gelas ukur, pipet volume, labu takar, corong kaca, pipet tetes, vial, pipa kapiler, plat KLT, cawan porselin, dan vortex.

#### **3.4.2. Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan pada penelitian antara lain serbuk isolat buah parijoto dari fraksi methanol dan n-heksan buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.), aquadest, methanol, n-heksan, etil asetat, klorofom, baku kolesterol, Asam sulfat pekat, asam asetat anhidrat.

### **3.5. Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1. Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman Parijoto bertujuan untuk membuktikan kebenaran jenis tanaman yang digunakan. Sampel yang diambil yaitu buah Parijoto. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.

#### **3.5.2. Pembuatan Ekstrak Metanol Buah Parijoto**

Pembuatan Ekstrak Metanol Buah Parijoto (EMBP) dilakukan menggunakan metode remaserasi. Buah segar Parijoto berusia 3 bulan diambil buahnya yang berwarna ungu, kemudian disortasi basah dengan pencucian menggunakan air mengalir hingga bersih, ditiriskan dan dikeringkan sehingga bebas dari air. Buah parijoto diblender

selama 2 menit dan diesktraksi menggunakan pelarut etanol 70% perbandingan (1:10) dan dimasukkan dalam wadah selama 1 hari (1x24 jam). Maserat yang terbentuk selanjutnya diuapkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu kurang lebih  $45^{\circ}\text{C}$  dan filtrate yang dihasilkan diuapkan menggunakan waterbath pada suhu  $45^{\circ}\text{C}$  hingga diperoleh ekstrak kental (Wijayanti *et al.*, 2021).

### 3.5.3. Pembuatan Fraksinasi

Ekstrak yang telah didapat dipartisi menggunakan pelarut metanol dan n-heksan. Sebanyak 10 g ekstrak dilarutkan dengan 100 mL metanol hingga ekstrak dapat dituang kedalam corong pisah. Ditambahkan n-heksan sebanyak 100 mL kedalam corong pisah kemudian dikocok selama 5 menit sambil sesekali membuka kran pada corong pisah untuk mengeluarkan gas yang terbentuk. Larutan yang terbentuk dibiarkan beberapa menit sampai terlihat bidang batas antara lapisan metanol dan lapisan n-heksan. Lapisan yang berada diatas adalah lapisan yang bersifat non polar yaitu n-heksan sedangkan lapisan yang berada dibawah adalah lapisan metanol. Lapisan dipisahkan dengan cara membuka kran corong pisah untuk mengambil lapisan metanol, lapisan atas yang tertinggal dicorong pisah ditambahkan pelarut n-heksan yang baru dengan perbandingan yang sama yaitu 100 mL. Partisi dilakukan dengan cara yang sama hingga pelarut n-heksan terlihat bening (Wijayanti *et al.*, 2021).

### 3.5.4. Skrining Fitokimia Ekstrak Parijoto

#### 3.5.4.1. Identifikasi Tanin

Ekstrak ditetesi dengan laurtan NaOH. pembentukan warna kuning intens, yang kemudian memudar saat perubahan larutan asam, menunjukkan adanya tanin (Nugrahani *et al.*, 2016).

#### 3.5.4.2. Identifikasi Saponin

Sebanyak 1 ml ekstrak kental buah parijoto dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml air panas dan dididihkan selama 5 menit. Setelah itu, disaring dan filtratnya digunakan sebagai larutan uji. Filtrat dimasukkan kedalam tabung reaksi tertutup kemudian dikocok selama  $\pm$  10 detik dan dibiarkan selama 10 menit, ditambahkan 1 ml HCL 2M. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil selama 10 menit (Nugrahani *et al.*, 2016).

#### 3.5.4.3. Identifikasi Flavonoid

1 ml ekstrak metanol buah parijoto dimasukkan dalam tabung reaksi + 5 tetes etanol kemudian dikocok ad homogen + serbuk Magnesium dan HCL pekat + tetesi sedikit demi sedikit. Perubahan warna merah muda pink menunjukkan flavonoid (Nugrahani *et al.*, 2016).

#### 3.5.4.4. Identifikasi Terpenoid

Pada sejumlah 0,5 g masing – masing ekstrak ditambah 2 mL kloroform. Kemudian ditambahkan 3 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> untuk membentuk lapisan. Terbentuknya warna coklat kemerahan pada permukaan menunjukkan adanya terpenoid (Nugrahani *et al.*, 2016).

#### 3.5.4.5. Identifikasi Glikosida

Sejumlah 0,5 g ekstrak yang diencerkan dengan 5mL air ditambah dengan asam asetat glasial yang berisi satu tetes larutan FeCl<sub>3</sub>. Kemudian ditambah dengan 1 mL asam sulfat. Terbentuknya cincin coklat pada permukaan mengindikasikan adanya gula deoksi kardeolida (Kurniawati, 2015).

### 3.5.5. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanolik Buah Parijoto

#### 3.5.5.1. Penentuan *Operating Time*

Baku quersetin dengan konsentrasi 1 mg/ml yaitu dengan melarutkan 10 mg quersetin dengan penambahan aquadest sampai 10,0 mL, kemudian pegulangan dilakukan pada menit ke- 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 dan 60 menit dengan panjang gelombang 510 nm (John *et al.*, 2014).

### 3.5.5.2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Penentuan panjang gelombang maksimal menggunakan salah satu seri kadar baku quersetin yaitu 1 mg/ml. Larutan uji dibiarkan selama waktu yang sesuai dengan *operating time* setelah dilakukan penambahan aquadest sampai 10,0 mL, selanjutnya diukur pada panjang gelombang 500 - 600 nm (John *et al.*, 2014).

### 3.5.5.3. Pembuatan Kurva Baku Quersetin

Baku quersetin ditimbang 10 mg yang kemudian dilarutkan dengan aquadest sampai 10,0 mL sehingga didapat konsentrasi baku induk 1000 ppm. Deret baku dibuat dengan cara mengencerkan baku induk sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm (1 mL), 80 ppm (0,8 mL), 60 ppm (0,6 mL), 40 ppm (0,4 mL) dan 20 ppm (0,2 mL) yang masing-masing dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, selanjutnya tambah 0,3 mL NaNO<sub>2</sub> 5%, dibiarkan selama 5 menit, kemudian ditambahkan 0,3 mL AlCl<sub>3</sub> 10%, setelah didiamkan 5 menit, ditambah 2 mL NaOH 1M dan aquadest sampai volume 10,0 mL. Deret baku didiamkan sesuai waktu *operating time* dan diukur pada panjang gelombang maksimal (John *et al.*, 2014).

### 3.5.5.4. Penentuan Kadar Flavonoid Total dalam Ekstrak Metanolik Buah Parijoto

EMBP dengan masing-masing penyari dilarutkan aquadest, kemudian dipipet sebesar 1 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 mL dan ditambah pelarut ad 10,0 mL. Perlakuan selanjutnya sama seperti perlakuan pada baku quersetin. Kandungan flavonoid total dinyatakan sebagai mg equivalen quersetin dalam setiap gram ekstrak (John *et al.*, 2014).

### 3.5.6. Isolasi fraksi metanol dan fraksi n-heksan buah parijoto

Proses isolasi menggunakan metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) dengan menggunakan fase diam silica gel G60 F254, dan fase gerak yang digunakan adalah etil asetat : n-heksan dengan perbandingan 1 : 5. Fraksi metanol dan n-heksan buah parijoto ditimbang 0,5 kemudian dilarutkan menggunakan pelarut metanol dan kloroform masing masing 1 : 1, dan dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah homogen campuran dari fraksi dan pelarut ditotolkan pada plat KLT silica gel G60 F254 sebanyak tiga kali penotolan. Selanjutnya plat KLT dimasukkan dalam kolom dan ditunggu sampai jenuh. Setelah jenuh dilakukan penyemprotan menggunakan serium sulfat dan pemanasan pada bagian yang disemprot, hal ini bertujuan untuk menampakkan noda pada plat KLT. Selanjutnya pada noda KLT dikerok secara garis lurus pada plat silica gel G60 F254 dan disaring

menggunakan pelarut etil asetat dan n-heksan dengan perbandingan 1 : 5. Kemudian dilakukan penguapan dan hasil dari proses isolasi berupa isolat ditampung dalam vial (Wati *et al.*, 2017).

### **3.5.7. Uji Kemurnian Isolat Parijoto**

Plat KLT dipotong sesuai ukuran 4 x 10 cm. Kemudian isolat dilarutkan dengan masing-masing pelarut yaitu metanol dan n-heksan dan ditotolkan pada salah satu sisi plat dengan pipa kapiler, selanjutnya plat KLT dimasukkan kedalam chamber gelas yang berisi fase gerak n-heksan : etil asetat (5:1) yang telah dijenuhkan. Setelah dielusi, plat dibiarkan kering sesaat. Dilihat dibawah lampu UV 254 nm dan 366 nm dilakukan sebelum penyemprotan serium sulfat untuk pendeksi noda. Setelah dipanaskan, jika menunjukkan satu pola noda maka dapat dikatakan isolat tersebut relatif murni (Pramita *et al.*, 2013).

### **3.5.8. Uji Aktivitas Penurunan Kadar Kolesterol Dengan Metode LIEBERMAN-BURCHARD.**

#### **3.5.8.1. Penentuan *Operating Time***

Larutan induk kolesterol 1000 ppm diambil 0,5 ml dan ditambahkan metanol dan n-heksan sampai mencapai volume 5 ml, direaksikan dengan asam asetat anhidrat 2,0 ml dan 0,1 ml H<sub>2</sub>S0<sub>4</sub>. Pengukuran dilakukan tiap 2 menit dengan panjang gelombang maksimal untuk mendeksi kolesterol. Untuk tahu waktu pengukuran yang stabil maka dibuat

hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbsi larutan (Amin, 2015).

### 3.5.8.2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Penentuan panjang gelombang maksimal menggunakan spektrofotometri UV- Vis dengan melakukan scanning panjang gelombang larutan standar kolesterol pada konsentrasi 100 ppm dalam labu 5 ml dari pengambilan larutan induk 1000 ppm sebanyak 0,5 ml ditambahkan metanol dan n-heksan sampai mencapai volume 5 ml, untuk melindungi dari cahaya digunakan alumunium untuk menutupi lapisan luar dari tabung, kemudian direaksikan dengan asam asetat anhidrat dan  $H_2SO_4$  masing- masing 2,0 ml dan 0,1 ml. Didiamkan 15 menit, selanjutnya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-700 nm. ( Karyati, 2013).

### 3.5.8.3. Pembuatan larutan baku kolesterol

Untuk larutan baku kolesterol dibuat pada konsentrasi 1000 ppm, 100 mg serbuk kolesterol dilarutkan dalam metanol dan n-heksan sebanyak 100 ml diatas waterbath dengan suhu kurang lebih  $45^0 C$ , dengan diaduk sesekali sampai terlarut (Amin, 2015).

#### 3.5.8.4. Pembuatan kurva standar

Pembuatan kurva baku dibuat dari larutan induk kolesterol konsentrasi 1000 ppm dengan 7 seri konsentrasi dari larutan induk yang diambil sebanyak 0,2; 0,25; 0,3; 0,35; 0,4; 0,45; dan 0,5 ml kemudian ditambahkan metanol dan n-heksan sampai mencapai volume 5 ml. Sehingga menghasilkan konsentrasi masing-masing larutan 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm. Masing-masing sampel kolesterol dilakukan penambahan asam asetat anhidrat 2,0 ml dan 0,1 ml H<sub>2</sub>S0<sub>4</sub> pada masing-masing larutan dan dihomogenkan dengan vortex, untuk melindungi dari cahaya digunakan alumunium voil pada lapisan luar tabung, didiamkan 15 menit baru kemudian diukur absorbansinya menggunakan panjang gelombang maksimum. Selanjutnya dibuat kurva hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi (Karyati, 2013).

#### 3.5.8.5. Penentuan aktivitas Antikolesterol dari ekstrak metanol buah parijoto

Untuk menentukan aktivitas antikolesterol konsentrasi 1000 ppm diambil 10 mg dari ekstrak metanol parijoto dibuat konsentrasi 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm. Diambil 5 ml dari masing-masing konsentrasi dan dimasukkan ke tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan sebanyak 5 ml baku

kolesterol dengan konsentrasi 200 ppm dalam pelarut kloroform. Dari campuran tersebut diambil 5 ml, divortex selama 2 menit lalu ditambahkan asam asetat anhidrat dan H<sub>2</sub>S0<sub>4</sub> pekat masing- masing 2ml dan 0,1 ml. Selama 15 menit larutan didiamkan hingga berubah warna menjadi hijau. Kemudian hasil warna yang didapatkan dibaca pada spektrofotometer UV- Vis dengan panjang gelombang maksimum. Sebanyak 5 kloroform ditambahn asam asetat anhidrat 2 ml dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat 0,1 ml digunakan sebagai blanko. Untuk kontrol negatif menggunakan 5 ml larutan kolesterol konsentrasi 100 ppm dalam kloroform ditambahkan asam asetat anhidrat dan H<sub>2</sub>S0<sub>4</sub> pekat masing-masing 2 ml dan 0,1 ml (Amin, 2015).

3.5.8.6. Penentuan aktivitas Antikolesterol dari fraksi metanol dan n-heksan buah parijoto  
Untuk menentukan aktivitas antikolesterol konsentrasi 1000 ppm diambil 10 mg dari fraksi metanol dan n-heksan parijoto dibuat konsentrasi 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm. Diambil 5 ml dari masing- masing konsentrasi dan dimasukkan ke tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan sebanyak 5 ml baku kolesterol dengan konsentrasi 200 ppm dilarutkan masing- masing dalam pelarut kloroform. Dari campuran tersebut diambil 5 ml, divortex selama 2 menit lalu

ditambahkan asam asetat anhidrat dan  $H_2S0_4$  pekat masing-masing 2ml dan 0,1 ml. Selama 15 menit larutan didiamkan hingga berubah warna menjadi hijau. Kemudian hasil warna yang didapatkan dibaca pada spektrofotometer UV- Vis dengan panjang gelombang maksimum. Sebanyak 5 ml kloroform ditambahkan asam asetat anhidrat 2 ml dan  $H_2SO_4$  pekat 0,1 ml digunakan sebagai blanko. Untuk kontrol negatif menggunakan 5 ml larutan kolesterol konsentrasi 100 ppm yang dilarutkan masing- masing dalam kloroform ditambahkan asam asetat anhidrat dan  $H_2S0_4$  pekat masing-masing 2 ml dan 0,1 ml (Amin, 2015).

### 3.5.8.7. Penentuan aktivitas Antikolesterol dari isolat metanol dan n-heksan buah parijoto

Untuk menentukan aktivitas antikolesterol konsentrasi 1000 ppm diambil 10 mg dari isolat metanol parijoto dibuat konsentrasi 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm. Diambil 5 ml dari masing- masing konsentrasi dan dimasukkan ke tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan sebanyak 5 ml baku kolesterol dengan konsentrasi 200 ppm dalam masing-masing pelarut kloroform. Dari campuran tersebut diambil 5 ml, divortex selama 2 menit lalu ditambahkan asam asetat anhidrat dan  $H_2S0_4$  pekat masing- masing 2ml dan 0,1 ml. Selama 15 menit larutan didiamkan hingga berubah warna

menjadi hijau. Kemudian hasil warna yang didapatkan dibaca pada spektrofotometer UV- Vis dengan panjang gelombang maksimum. Sebanyak 5 ml kloroform ditambahkan asam asetat anhidrat 2 ml dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat 0,1 ml digunakan sebagai blanko. Untuk kontrol negatif menggunakan 5 ml larutan kolesterol konsentrasi 100 ppm yang dilarutkan masing-masing dalam kloroform ditambahkan asam asetat anhidrat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat masing-masing 2 ml dan 0,1 ml (Amin, 2015).

### **3.6. Tempat dan Waktu Penelitian**

#### **3.6.1. Tempat**

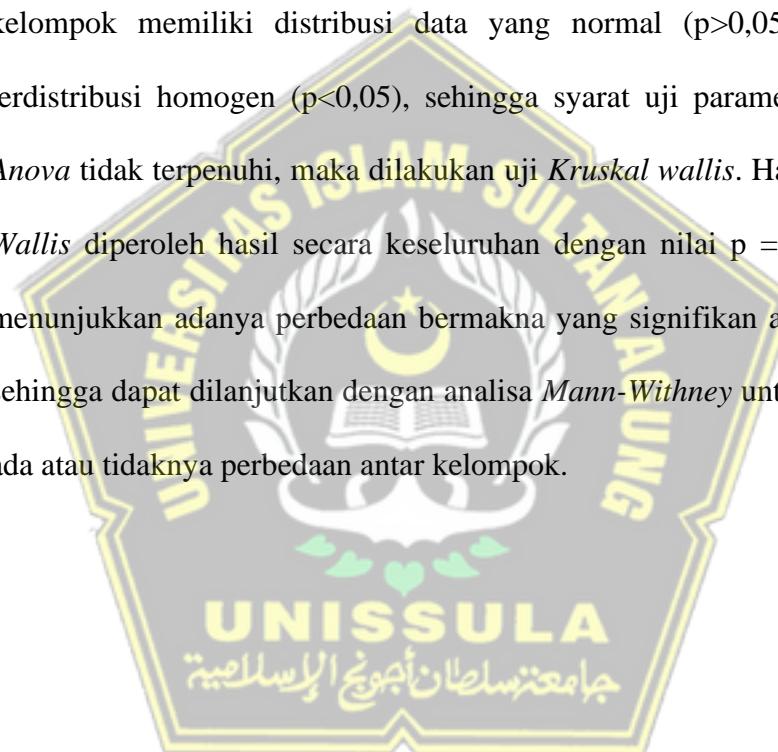
Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

#### **3.6.2. Waktu**

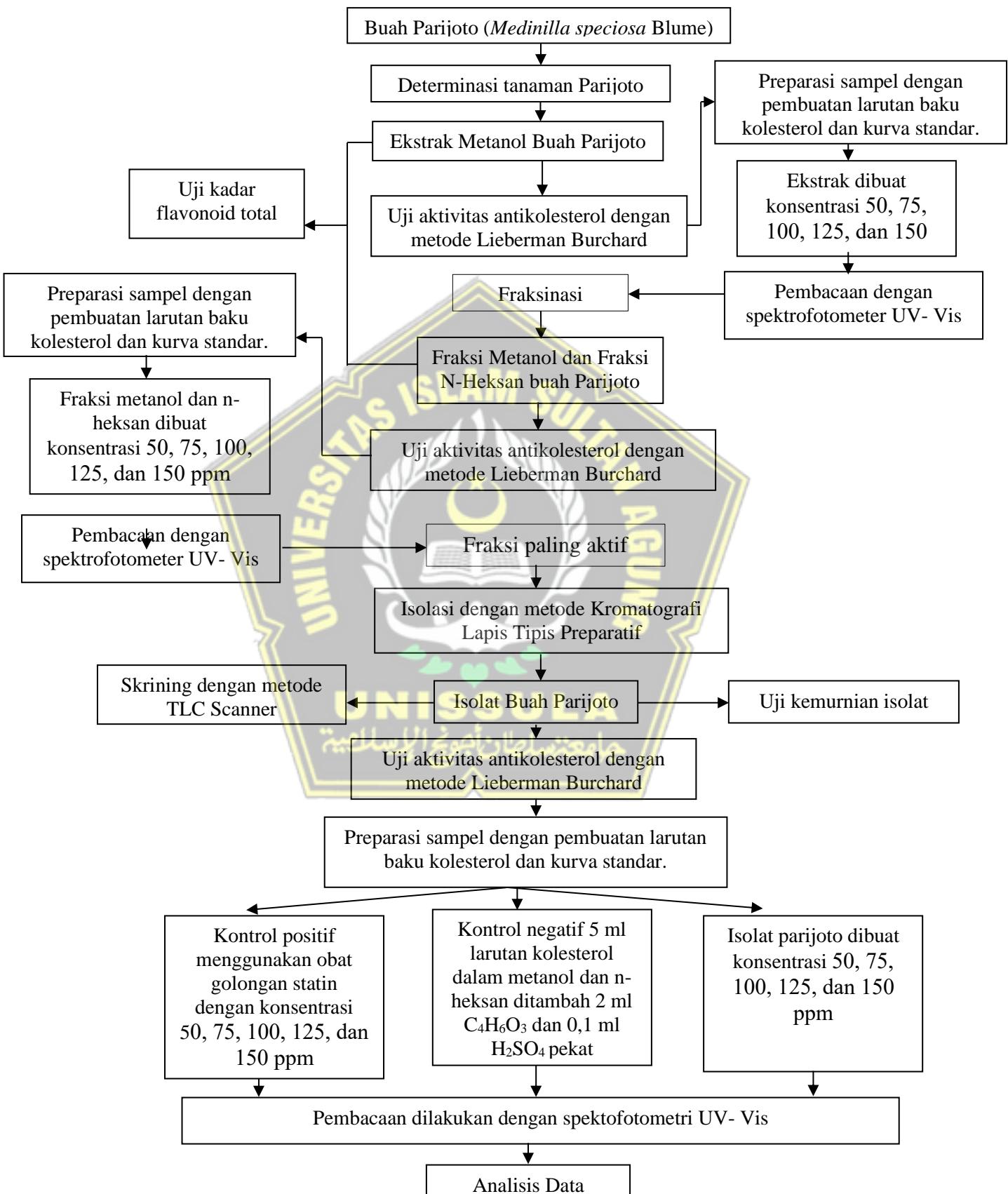
Penelitian isolasi dan uji aktivitas senyawa metabolit sekunder ekstrak metanolik buah parijoto (*medinilla speciosa* Blume) sebagai antikolesterol dilakukan pada bulan Mei sampai dengan bulan Oktober 2021.

### 3.7. Analisis Data

Data hasil persen penurunan kadar kolesterol pada ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi n- heksan, isolat metanol atas, dan isolat metanol bawah dianalisis menggunakan analisis statistik. Dari semua kelompok diuji normalitasnya menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitasnya menggunakan lavene test. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semua kelompok memiliki distribusi data yang normal ( $p>0,05$ ) tetapi tidak terdistribusi homogen ( $p<0,05$ ), sehingga syarat uji parametrik *One Way Anova* tidak terpenuhi, maka dilakukan uji *Kruskal wallis*. Hasil uji *Kruskal Wallis* diperoleh hasil secara keseluruhan dengan nilai  $p = 0,000$ , hal ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna yang signifikan antar kelompok sehingga dapat dilanjutkan dengan analisa *Mann-Withney* untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan antar kelompok.



### 3.8. Alur Penelitian



**Gambar 3.1.** Alur Penelitian

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1. Hasil Penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2021 – September 2021 di Laboratorium Terpadu prodi Farmasi Fakultas Kedokteran UNISSULA Semarang dan Laboratorium Biologi UNNES. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antikolesterol yang paling tinggi dari ekstrak metanolik buah parijoto, fraksi metanol dan n- heksan buah parijoto, serta isolat metanol dan n- heksan buah parijoto. Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu determinasi tanaman buah Parijoto, ekstraksi, fraksinasi, uji skrining fitokimia, uji kadar senyawa flavonoid total, uji aktivitas antikolesterol pada ekstrak metanolik, fraksi metanol dan n- heksan, isolat metanol dan tahap analisis data.

##### **4.1.1. Determinasi Tanaman Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)**

Determinasi pada tanaman Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Hasil determinasi tanaman diperoleh sebagai berikut, tertuang pada Lampiran 2.

Divisio	: Magnoliophyta
Classis	: Magnoliopsida
SubClassis	: Rosidae
Ordo	: Myrales
Familia	: Melastomaceae

Genus	: Medinilla
Species	: <i>Medinilla speciosa</i> (Reinw, ex Bl.) Bl.
Syn	: <i>Medinilla verrucosa</i> (Bl.) Bl.
Vern. Name	: Parijoto

Hasil determinasi tersebut menunjukkan bahwa tanaman Parijoto yang digunakan dalam penelitian ini merupakan spesies *Medinilla speciosa* (Reinw, ex Bl.) Bl. Dengan sinonim *Medinilla verrucosa* (Bl.) Bl.

#### 4.1.2. Rendemen Tanaman Buah Parijoto

Didapatkan hasil ekstrak kental buah parijoto sebesar 375,28 gram dari 5 kg buah Parijoto. Nilai rendemen ekstrak metanolik buah Parijoto menghasilkan nilai sebesar 7,5056 %, sedangkan untuk Fraksi metanol dan Fraksi n- heksan masing – masing nilai rendemennya sebesar 2,243% dan 1,0115% (Lampiran 5).

#### 4.1.3. Pemeriksaan Kadar Air

Pemeriksaan kadar air dilakukan dengan menggunakan alat *moisturizer test*. Hasil kadar air ekstrak buah Parijoto yang dihasilkan sebesar 8%, sedangkan untuk Fraksi metanol dan fraksi n- heksan masing-masing sebesar 5,99% dan 5,47% (Lampiran 6).

#### 4.1.4. Skrining Fitokimia

Metode yang digunakan dalam skrining fitokimia yaitu analisa kualitatif metode tabung dengan cara mengamati perubahan warna yang terjadi. Hasil skrining fitokimia ekstrak metanolik, Fraksi N-Heksan dan tak larut n- heksan buah Parijoto tersaji pada Tabel 4.1 (Lampiran 7).

**Tabel 4.1. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanolik, Fraksi N- Heksan dan Tak Larut N-Heksan Buah Parijoto**

Parameter Uji	Ekstrak Metanol	Fraksi N-Heksan	Fraksi metanol	Parameter uji Positif jika-
Flavonoid	++	-	+++	Kuning, jingga, merah
Saponin	++	-	++	Terbentuk busa
Tanin	+	-	+	Kuning intensif
Glikosida	+	-	+	Terbentuk cincin ciklat
Terpenoid	+	+	-	Terbentuk warna coklat, kemerah

Keterangan :

- +++ : Memberikan reaksi banyak
- ++ : Memberikan reaksi sedang
- + : Memberikan reaksi sedikit
- : Memberikan reaksi negative

#### 4.1.5. Kadar Senyawa Flavonoid Total Ekstrak Mtanolik, Fraksi metanol dan Fraksi N- Heksan Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)

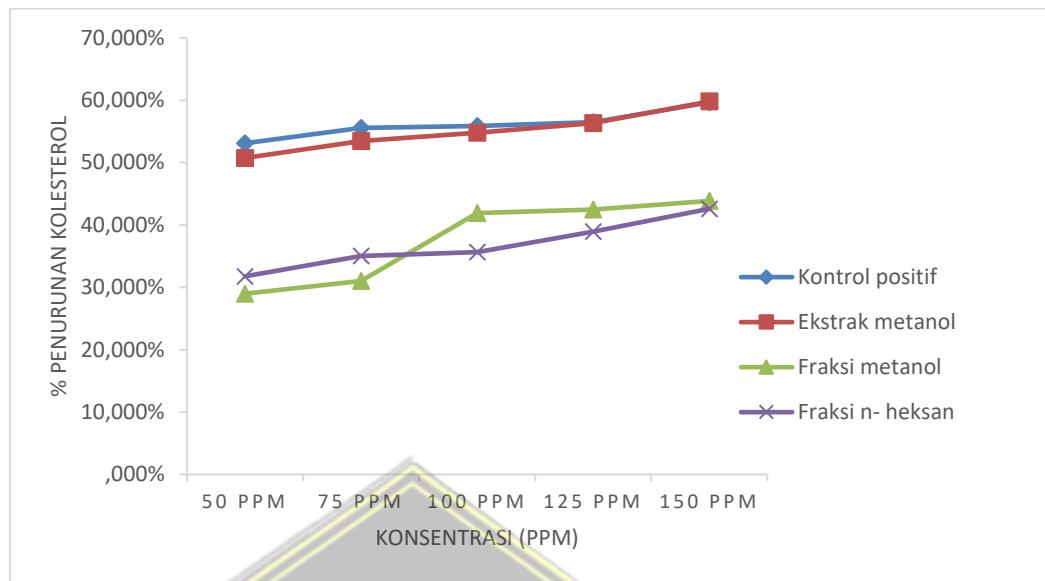
Pengukuran kadar senyawa flavonoid ekstrak metanol, Fraksi metanol dan fraksi n- heksan buah Parijoto dilakukan dengan metode spektrofotometer dengan standar kuersetin. Hasil kadar senyawa flavonoid ekstrak metanolik, fraksi metanol dan fraksi n- heksan buah parijoto tersaji pada Tabel 4.2 (Lampiran 8).

**Tabel 4.2. Kadar Senyawa Flavonoid Total Ekstrak Metanolik, Fraksi metanol dan fraksi n- heksan Buah Parijoto**

Sampel	Kadar flavonoid total
Ekstrak Metanolik	0,052 mg/g QE
Fraksi n-heksan	0,0134 mg/g QE
Fraksi metanol	0,0188 mg/g QE

#### **4.1.6. Hasil Uji Aktivitas Antikolesterol Pada Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Dan Fraksi N Heksan Buah Parijoto**

Uji aktivitas antikolesterol dilakukan dengan metode spektrofotometri kolesterol menggunakan reaksi *Lieberman Burchard*. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah obat simvastatin. Hasil pengujian aktivitas antikolesterol pada ekstrak metanol, fraksi metanol, dan fraksi n heksan buah parijoto diperoleh nilai absorbansi. Nilai absorbansi tersebut dihitung kadar kolesterolnya kemudian dibandingkan dengan kontrol negatif untuk dihitung persen penurunan kadar kolesterolnya. Hasil persen penurunan kadar kolesterol pada kontrol positif, ekstrak metanol, fraksi metanol, dan fraksi n heksan tersedia pada Tabel 4.3 (Lampiran 10).



**Gambar 4.1.** Kurva Aktivitas Antikolesterol Kontrol Positif, Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Dan Fraksi N- heksan

**Tabel 4.3. Persen Penurunan Kadar Kolesterol Kontrol Positif, Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Dan Fraksi N-heksan Buah Parijoto**

Sampel	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Rerata Absorbansi	Persamaan Regresi	Kadar Kolesterol	Persen penurunan kolesterol
Kontrol positif (Simvastatin)	50	0,5922	$y = 0,014x + 0,5193$ $r = 0,8884$	8,26 ppm	53,11%
	75	0,5702		7,83 ppm	55,57%
	100	0,5676		7,78 ppm	55,86%
	125	0,5621		7,67 ppm	56,47%
	150	0,5337		7,11 ppm	59,64%
Ekstrak Metanol	50	0,6134	$y = 0,021x + 0,4874$ $r = 0,9701$	8,68 ppm	50,74%
	75	0,5889		8,19 ppm	53,48%
	100	0,5771		7,96 ppm	54,79%
	125	0,5635		7,69 ppm	56,31%
	150	0,5323		7,08 ppm	59,80%
Fraksi Metanol	50	0,8081	$y = 0,0412x + 0,2528$ $r = 0,853$	12,51 ppm	28,98%
	75	0,7898		12,15 ppm	31,02%
	100	0,6923		10,23 ppm	41,92%
	125	0,6872		10,13 ppm	42,49%
	150	0,6749		9,89 ppm	43,86%
Fraksi N- Heksan	50	0,7831	$y = 0,0256x + 0,2913$ $r = 0,9622$	12,02 ppm	31,77%
	75	0,7540		11,44 ppm	35,02%
	100	0,7484		11,33 ppm	35,65%
	125	0,7189		10,75 ppm	38,95%
	150	0,6863		10,11 ppm	42,59%

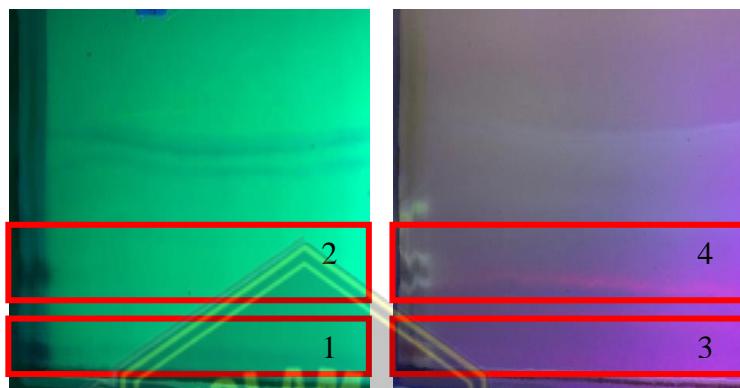
Absorbansi kontrol negatif = 1,0674

Setelah diketahui aktivitas antikolesterol dari ekstrak metanol, fraksi metanol, dan fraksi n- heksan, proses selanjutnya yang dilakukan dalam rangka pengembangan obat adalah mencari isolat untuk diketahui senyawa aktifnya. Tujuan dari isolasi yaitu untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung sehingga bisa dikembangkan untuk penemuan obat. Dari hasil aktivitas antikolesterol menunjukkan fraksi metanol mempunyai aktivitas lebih tinggi dari fraksi n- heksan yaitu mampu menurunkan kadar kolesterol sampai dengan 43,86%. Sehingga proses isolasi dilakukan pada fraksi yang menunjukkan aktivitas paling tinggi yaitu pada fraksi metanol buah parijoto.

#### **4.1.7. Hasil Isolasi Fraksi Metanol Buah Parijoto**

Dari hasil uji aktivitas antikolesterol pada fraksi metanol dan fraksi n- heksan buah parijoto, didapatkan fraksi paling aktif yang dapat menurunkan kadar kolesterol yaitu pada fraksi metanol. Selanjutnya proses isolasi dilakukan pada fraksi metanol buah parijoto menggunakan metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) dengan fase gerak yang digunakan yaitu etil asetat dan n- heksan (1 : 5). Hasil isolasi fraksi metanol buah parijoto didapatkan 2 kromatogram pada plat KLTP yaitu isolat metanol bawah dengan nilai RF 0,50 dan isolat metanol atas dengan nilai RF 0,87. Hasil kromatogram pada plat KLTP tersaji pada gambar 4.2 (Lampiran 10). Hasil isolat berupa gumpalan berwarna putih pada kromatogram atas

sebesar 0,25 g dari 40 g fraksi metanol buah parijoto, dan pada kromatogram bawah sebesar 0,1416 g dari 40 g fraksi metanol buah parijoto (Lampiran 5).



**Gambar 4.2.** Kromatogram Pada Plat KLTP Isolat Metanol Atas Dan Isolat Metanol Bawah Bawah Pada Panjang Gelombang 254 nm dan 366 nm

Keterangan gambar:

- (1) Isolat metanol bawah (panjang gelombang 254 nm) RF 0,50
- (2) Isolat metanol atas (panjang gelombang 254 nm) RF 0,87
- (3) Isolat metanol bawah (panjang gelombang 366 nm) RF 0,50
- (4) Isolat metanol atas (panjang gelombang 366 nm) RF 0,87

#### 4.1.8. Uji Kemurnian Isolat Metanol Buah Parijoto

Uji kemurnian isolat metanol atas dan isolat metanol bawah buah parijoto dilakukan menggunakan metode KLT multi eluen dengan fase gerak pelarut yang digunakan yaitu n-heksan dan etil asetat (5 : 1), toluena : etil asetat (1:1), kloroform : etil asetat (1:1), n-heksan : etil asetat (5:1), kloroform : etil asetat (2:1), toluena : etil asetat (4:2) . Bercak yang dihasilkan dalam uji kemurnian pada masing-masing variasi pelarut menunjukkan satu bercak noda pada plat KLT. Bercak tunggal hasil uji KLT membuktikan bahwa isolat

mempunyai kemurnian yang tinggi. Hasil uji KLT multi eluen tersaji pada gambar 4.4 (Lampiran 9).



**Gambar 4.3.** Hasil Uji Kemurnian KLT Multi Eluen Pada Isolat Metanol Bawah (MB) Dan Isolat Metanol Atas (MA)

Keterangan gambar:

- (1) Eluen n- heksan : etil asetat (5:1) Rf 0,50
- (2) Eluen toluena : etil asetat (1:1) Rf 0,75
- (3) Eluen kloroform : etil asetat (1:1) Rf 0,87
- (4) Eluen n- heksan : etil asetat (5:1) Rf 0,50
- (5) Eluen kloroform : etil asetat (2:1) Rf 0,87
- (6) Eluen toluena : etil asetat (4:2) Rf 0,68

#### 4.1.9. Hasil Uji Aktivitas Antikolesterol Pada Isolat Metanol Bawah

#### Dan Isolat Metanol Atas Buah Parijoto

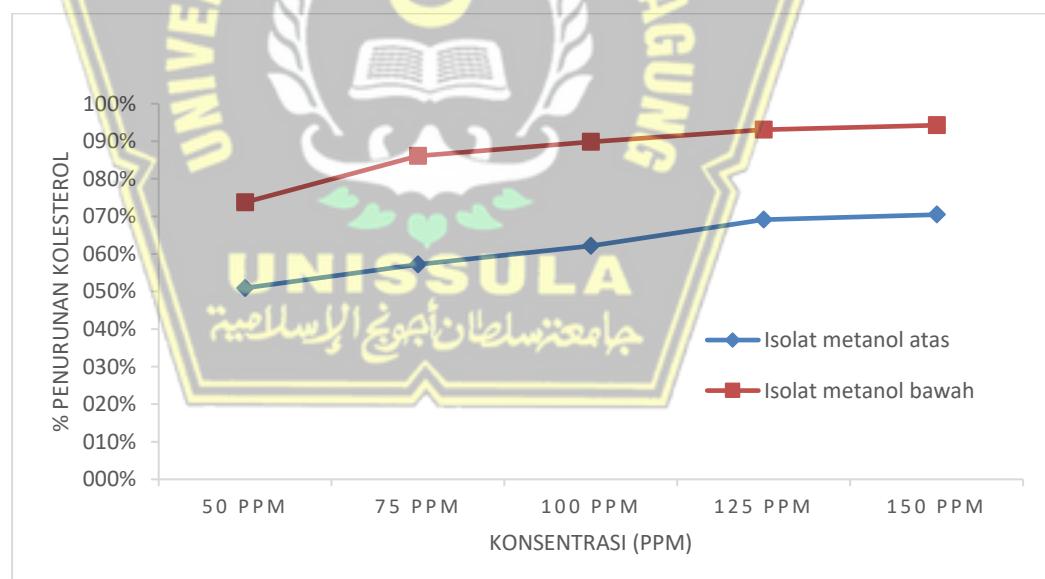
Pengujian aktivitas antikolesterol isolat metanol bawah dan isolat metanol atas menggunakan metode spektrofotometri kolesterol menggunakan pereaksi *Lieberman Burchard*. Hasil pengujian aktivitas antikolesterol isolat metanol bawah dan isolat metanol atas

buah parijoto dinyatakan dengan persen penurunan kadar. Hasil persen penurunan kadar kolesterol isolat metanol bawah dan isolat metanol atas tersedia pada Tabel 4.4 (Lampiran 10)

**Tabel 4.4. Persen Penurunan Kadar Isolat Metanol Bawah Dan Isolat Metanol Atas Buah Parijoto**

Sampel	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Rerata Absorbansi	Persamaan Regresi	Kadar Kolesterol	Persen penurunan kolesterol
Isolat Metanol Atas	50	0,6117	$y = 0,051x + 0,4668$ $r = 0,9706$	8,64 ppm	50,93%
	75	0,5556		7,54 ppm	57,20%
	100	0,5113		6,67 ppm	62,15%
	125	0,4491		5,44 ppm	69,10%
	150	0,4369		5,20 ppm	70,46%
Isolat Metanol Bawah	50	0,4074	$y = 0,048x + 0,7299$ $r = 0,8443$	4,62 ppm	73,76%
	75	0,2973		2,45 ppm	86,06%
	100	0,2635		1,79 ppm	89,84%
	125	0,2344		1,22 ppm	93,09%
	150	0,2239		1,01 ppm	94,27%

Absorbansi kontrol negatif = 1,0674



**Gambar 4.4. Kurva Aktivitas Antikolesterol Isolat Metanol Atas Dan Isolat Metanol Bawah Buah Parijoto**

#### **4.1.10. Analisis Statistik Pengukuran Persen Penurunan Kadar Kolesterol Pada Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Fraksi N-Heksan, Isolat Metanol Atas, Dan Isolat Metanol Bawah Buah Parijoto.**

Hasil penelitian ini dilakukan uji statistik untuk mengetahui perbandingan persen penurunan kadar kolesterol pada ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi n- heksan, isolat metanol atas, dan isolat metanol bawah. Langkah awal Sebelum dilakukan uji parametrik *One Way Anova*, perlu dilakukan pengujian normalitas dan homogenitas pada data. Pada uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* karena jumlah data tidak lebih dari 50 data, dan pada uji homogenitas menggunakan *Levene-Test*. Hasil analisis statistik menunjukkan semua kelompok memiliki distribusi data yang normal dengan nilai signifikansi ( $p<0,05$ ), kemudian dilakukan uji homogenitas, pada hasil uji homogenitas menggunakan *Lavene-Test* data menunjukkan hasil yang tidak homogen ( $p<0,05$ ), sehingga kriteria uji parametrik *One Way Anova* tidak terpenuhi. Selanjutnya data yang diperoleh dilanjutkan uji menggunakan *Kruskal Wallis* untuk menunjukkan adanya perbedaan bermakna yang signifikan antar kelompok, dan dilanjutkan dengan analisa *Mann-Withney* untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan antar kelompok. Hasil analisis statistik persen penurunan kadar kolesterol tersaji pada tabel 4.5 dan tabel 4.6. (Lampiran 10)

**Tabel 4.5. Analisis Statistik Uji normalitas, Homogenitas, dan Kruskal Wallis Persen Penurunan Kadar Kolesterol**

Perlakuan	Uji Shapiro Wilk	Ket.	Uji Levene Test	Ket.	Kruskal Wallis
Kelompok I	0,990	Normal			
Kelompok II	0,087	Normal			
Kelompok III	0,908	Normal	0,015	Tidak Homogen	0,000*
Kelompok IV	0,226	Normal			
Kelompok V	0,660	Normal			
Kelompok VI	0,713	Normal			
Kelompok VII	0,967	Normal			

Keterangan: \* (nilai signifikansi  $p < 0,05$ ) = berbeda bermakna

**Tabel 4.6. Analisis Statistik Uji Mann Withney Persen Penurunan Kadar Kolesterol**

Perlakuan	Signifikansi	Mann Withney
		Keterangan
Kelompok VII dan VI	0,009	berbeda bermakna
Kelompok VII dan I	0,009	Berbeda bermakna
Kelompok VII dan II	0,009	berbeda bermakna
Kelompok VII dan III	0,009	berbeda bermakna
Kelompok VII dan IV	0,009	Berbeda bermakna
Kelompok VII dan V	0,009	berbeda bermakna
Kelompok VII dan I	0,602	Tidak berbeda bermakna
Kelompok VI dan II	0,009	berbeda bermakna
Kelompok VI dan III	0,009	Berbeda bermakna
Kelompok VI dan IV	0,009	berbeda bermakna
Kelompok VI dan V	0,175	Tidak Berbeda bermakna
Kelompok I dan II	0,009	Berbeda bermakna
Kelompok I dan III	0,009	berbeda bermakna
Kelompok I dan IV	0,009	berbeda bermakna
Kelompok I dan V	0,117	Tidak berbeda bermakna
Kelompok II dan III	0,917	Tidak berbeda bermakna
Kelompok II dan IV	0,009	berbeda bermakna
Kelompok II dan V	0,009	Berbeda bermakna
Kelompok III dan IV	0,009	Berbeda bermakna
Kelompok III dan V	0,009	berbeda bermakna
Kelompok IV dan V	0,009	Berbeda bermakna

Keterangan:

- I = Ekstrak metanol
- II = Fraksi metanol
- III = Fraksi h- heksan
- IV = Isolat metanol bawah
- V = Isolat metanol atas
- VI = Kontrol positif (Simvastatin)
- VII = Kontrol negatif

## 4.2. Pembahasan

### 4.2.1. Determinasi Tanaman

Tanaman Parijoto yang digunakan untuk determinasi didapatkan dari desa Colo, Kecamatan Ndawe, Kabupaten Kudus. Determinasi tanaman bertujuan untuk memastikan kebenaran identitas tanaman yang digunakan dalam penelitian sehingga diharapkan tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan bahan yang akan digunakan pada penelitian. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Hasil determinasi menunjukkan bahwa benar tanaman Parijoto berasal dari famili Melastomaceae dengan spesies *Medinilla speciosa* (Reinw. ex Bl.) Bl. dengan sinonim *Medinilla verrucosa* (Bl.) Bl.

### 4.2.2. Ekstraksi Metanolik Buah Parijoto

Tahap ekstraksi buah parijoto untuk menjadi ekstrak kental meliputi tahap awal yaitu proses penyortiran. Buah parijoto disortir dengan cara dipilih buah yang berwarna merah keunguan. Buah parijoto yang sudah dipilih dilakukan pencucian untuk memisahkan kotoran-kotoran yang melekat pada buah dan dikering anginkan, sehingga jumlah kotoran dan mikroba pada buah berkurang (Prasetyo & Inoriah, 2013). 250 mg buah parijoto dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut metanol 0,25 L dengan perbandingan (1: 10) kemudian dimasukkan dalam wadah kaca dan didiamkan selama 1 hari (1 x 24 jam) (Soemari *et al.*, 2016). Metode yang dipilih untuk

ekstraksi adalah metode maserasi yaitu metode yang dilakukan dengan cara dingin atau tidak melalui proses pemanasan dengan melakukan perendaman bahan menggunakan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil. Keuntungan yang didapat dari metode ini yaitu memudahkan terpisahnya zat aktif karena pelarut yang dipilih berdasarkan kelarutan dan kepolaran, memungkinkan dihasilkannya banyak senyawa karena waktu yang lama dan keadaan diam selama proses maserasi, menjamin zat aktif yang terkandung tidak akan rusak karena tidak melalui proses pemanasan, terjadinya pemecahan dinding sel dan membran saat proses perendaman yang disebabkan adanya perbedaan tekanan antara luar sel dan dalam sel, sehingga membuat metabolit sekunder dalam sitoplasma pecah dan dapat terlarut dengan pelarut yang digunakan (Chairunnisa *et al.*, 2019 ; Susanty & Bachmid, 2016). Kriteria buah parijoto yang digunakan dalam ekstraksi yaitu buah yang sudah matang, berusian antara 3-4 bulan, dan memiliki warna merah keunguan. Hal ini dikarenakan senyawa bioaktif yang terkandung dalam tanaman akan mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya umur tanaman (Bahriul *et al.*, 2014). Sebelum dilakukan maserasi, buah parijoto dihaluskan terlebih dahulu supaya luas permukaannya menjadi besar sehingga lebih banyak bagian buah parijoto yang berkонтак dengan pelarut dan penyarian menjadi lebih sempurna (Prasetyo & Inoriah, 2013). Alasan menggunakan pelarut metanol adalah kelarutan metanol lebih besar

dari pada pelarut lain dikarenakan metanol bersifat polar. Pelarut metanol mampu menarik senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid pada tumbuhan. Selain tingkat kepolarannya yang tinggi pelarut metanol juga bersifat universal sehingga membuat sebagian besar senyawa - senyawa yang bersifat polar dan non polar dapat terekstraksi (Verdiana *et al.*, 2018). Hasil filtrat yang didapat berupa ekstrak encer yang kemudian dikentalkan menggunakan rotary evaporator pada suhu  $45^0$  C. Sehingga dapat diketahui jumlah senyawa yang terlarut dimana pelarut yang digunakan akan menguap dan didapatkan ekstrak kental (BPOM, 2000). Ekstrak kental yang didapatkan kemudian dilakukan uji kadar airnya menggunakan alat *moisturizer test*. Penetapan kadar air terhadap ekstrak memiliki tujuan untuk memberi batasan minimal terkait kandungan air pada ekstrak. Karena menurunnya aktivitas biologis senyawa saat penyimpanan disebabkan adanya pertumbuhan jamur dan kapang pada keadaan kadar air yang tinggi. Persyaratan kadar air pada ekstrak yaitu jika hasil yang didapat kurang dari 10%, maka proses pengeringan dapat dihentikan. Hal ini dikarenakan pada kadar air kurang dari 10%, reaksi enzimatik dan pertumbuhan mikroorganisme dapat berkurang (Najib *et al.*, 2017 ; Prasetyo & Inorah, 2013). Hasil pengecekan kadar air ekstrak Parijoto didapatkan hasil sebesar 8% yang menandakan bahwa ekstrak Parijoto memenuhi standar parameter kadar air yakni  $<10\%$  (BPOM, 2014).

Hasil dari ekstrak kental Parijoto 375,28 gram dilakukan perhitungan rendemen yakni didapatkan hasil sebesar 7,5056% sedangkan pada penelitian sebelumnya dengan ekstrak kasar 64 gram dihasilkan rendemen sebesar 4,6%. Kecilnya nilai rendemen yang didapat kemungkinan dipengaruhi oleh ukuran partikel sampel yang digunakan dan perbandingan jumlah sampel terhadap jumlah pelarut yang digunakan (Maulida & Guntarti, 2015).

#### 4.2.3. Fraksinasi

Metode fraksinasi yang digunakan adalah metode fraksinasi cair cair yaitu metode pemisahan senyawa yang dilakukan dengan cara pengocokan didasarkan pada tingkat kepolaran dan bobot jenis antara dua pelarut yang tidak saling bercampur (Pratiwi et al., 2016). Penggunaan corong pisah pada metode fraksinasi cair cair memiliki tujuan untuk memisahkan golongan suatu senyawa dengan senyawa lain berdasarkan tingkat kepolaran yang sama dengan pelarut yang digunakan dan memungkinkan dua jenis pelarut tidak saling bercampur (Vifta & Advistasari, 2018). Fraksinasi adalah proses pemisahan menggunakan dua pelarut yang berbeda dengan tujuan memperoleh senyawa yang lebih spesifik. Pada proses fraksinasi digunakan pelarut n heksan dan metanol. Berdasarkan kepolarannya pelarut n- heksan digunakan untuk menarik senyawa – senyawa yang bersifat non polar dan lemak. Sedangkan metanol digunakan untuk menarik senyawa – senyawa polar. Dari proses ini dapat diketahui

bahwa senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar, dan sebaliknya senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Irwan, 2017). Ekstrak parijoto yang didapat dipartisi menggunakan pelarut n- heksan dan metanol. Sebanyak 10 g ekstrak dilarutkan dalam pelarut metanol 100 ml kemudian dituang ke corong pisah. Ditambahkan pelarut n- heksan 100 ml ke dalam corong pisah selajutnya dilakukan pengocokan selama 5 menit sambil sesekali membuka tutup kran pada corong pisah untuk mengeluarkan gas yang terbentuk. Larutan yang terbentuk didiamkan beberapa menit sampai terbentuk dua lapisan yang berbeda dan terlihat bidang batas antara metanol dan n- heksan. lapisan yang berada di atas merupakan lapisan yang bersifat non polar yaitu n- heksan. Sedangkan lapisan bawah adalah lapisan polar berupa pelarut metanol. Pemisahan dilakukan dengan cara membuka kran pada corong pisah untuk mengambil larutan metanol. Sedangkan lapisan atas yang tertinggal ditambahkan pelarut n- heksan dengan perbandingan sama yaitu 100 ml. Partisi dilakukan memakai cara yang sama sampai n- heksan terlihat bening (Vifta & Advistasari, 2018). Dari fraksinasi didapatkan hasil fraksi metanol sebesar 44,86 gram, sedangkan pada fraksi n- heksan didapatkan hasil sebesar 20,23 gram. Selanjutnya dilakukan uji kadar air menggunakan alat *moisturizer test*. Didapatkan hasil kadar air pada fraksi metanol 5,99%, dan hasil kadar air pada n- heksan yaitu 5,47%. Hal ini menunjukkan kadar air pada fraksi metanol dan fraksi n-

heksan memenuhi parameter kadar air yaitu kurang dari 10% (BPOM, 2014). Nilai rendemen dari fraksi metanol didapatkan hasil sebesar 2,243% sedangkan pada fraksi n- heksan didapatkan hasil sebesar 1,0115%. Hasil tersebut, lebih kecil dari nilai rendemen fraksi metanol dan fraksi n- heksan buah parijoto pada penelitian yang dilakukan Wachidah (2013) yaitu pada fraksi metanol 43,96 g didapatkan nilai redemen 75,79% dan fraksi n- heksan 2,61 g didapatkan nilai rendemen sebesar 4,51%. Hal ini dipengaruhi oleh perbedaan jumlah sampel yang digunakan, perbandingan pelarut, dan perbedaan sampel ekstrak parijoto yang digunakan. Adanya perbedaan nilai rendemen dari fraksi metanol dengan hasil lebih tinggi daripada fraksi n- heksan, mengindikasikan bahwa pada pelarut metanol memiliki gugus polar yang kuat sehingga dapat mengekstrak senyawa dengan sifat kepolaran yang tinggi, kandungan senyawa non polar pada buah sedikit sehingga nilai rendemen dari fraksi n- heksan rendah, serta adanya perbedaan komposisi fitokimia yang terlarut dalam pelarut metanol dan larut dalam pelarut n- heksan. Hal ini sesuai dengan prinsip *like dissolves like* dimana senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Barrett, 2015 ; Wachidah, 2013).

#### 4.2.4. Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dari penelitian sebelumnya pada ekstrak dan fraksi buah parijoto dilakukan dengan cara kualitatif menggunakan metode tabung. Hasil dari skrining fitokimia menunjukkan bahwa pada ekstrak metanolik buah parijoto mempunyai kandungan senyawa flavonoid, saponin, tanin, glikosida, dan tpenoid (Anggraeni *et al.*, 2020). Ekstrak diidentifikasi mengandung senyawa flavonoid, karena mengalami perubahan warna menjadi jingga setelah diuji menggunakan pereaksi asam klorida dan magnesium. Perubahan warna tersebut disebabkan oleh terbentuknya garam flaviliun dari reaksi asam klorida dan magnesium yang mereduksi inti benzopiron dalam struktur flavonoid (Ergina *et al.*, 2014). Senyawa saponin teridentifikasi pada ekstrak metanol karena setelah penambahan pereaksi HCL dan dilakukan pengocokan menghasilkan buih yang stabil. Buih yang terbentuk karena senyawa saponin mempunyai gugus polar berupa glikosil dan gugus nonpolar berupa steroid yang menjadikan aktif dipermukaan kemudian membentuk misel. Struktur misel pada gugus polar mengarah keluar dan struktur misel pada gugus nonpolar mengarah ke dalam. Keadaan seperti inilah yang menjadikan terlihat seperti busa (Habibi *et al.*, 2018). Senyawa tanin teridentifikasi pada ekstrak metanol karena setelah direaksikan dengan NaOH mengalami perubahan warna menjadi kuning intens dan memudar saat terjadi perubahan larutan

asam. Hal ini dikarenakan adanya reaksi antara tanin dan NaOH yang membentuk senyawa kompleks dan menjadi sebuah ligan (Shaikh & Patil, 2020 ; Singh & Kumar, 2017). Senyawa terpenoid juga teridentifikasi pada ekstrak metanol yang dibuktikan dengan adanya perubahan warna menjadi coklat kemerahan setelah direaksikan dengan kloroform dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Hal tersebut dikarenakan senyawa terpenoid mempunyai kemampuan membentuk warna oleh pereaksi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Habibi *et al.*, 2018). Identifikasi senyawa glikosida pada ekstrak metanol menunjukkan hasil positif karena setelah direaksikan dengan asam asetat glasial dan asam sulfat membentuk cincin coklat pada permukaan yang mengindikasikan adanya gula deoksi kardeolia (Shaikh & Patil, 2020 ; Singh & Kumar, 2017).

Pada Fraksi Metanol mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan glikosida. Sedangkan pada fraksi n- heksan hanya mengandung senyawa terpenoid. Hal ini dikarenakan pada senyawa-senyawa polar lebih banyak terpartisi kedalam pelarut polar sehingga pada fraksi n- heksan tidak terdapat senyawa-senyawa yang bersifat polar sehingga hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu (Anggraeni *et al.*, 2020 ; Wachidah, 2013).

#### **4.2.5. Uji Kadar Senyawa Flavonoid Total**

Uji kadar senyawa flavonoid total dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV- Vis. Pengukuran metode spektrofotometri UV – Vis berdasarkan energi dari sinar visibel yang

mempunyai panjang gelombang tertentu dan monokromatik pada suatu molekul atau zat kimia. Senyawa quersetin digunakan sebagai standar dikarenakan pada quersetin adalah flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3, dan pada ikatan yang terbentuk antara quersetin dan flavonoid mudah bereaksi satu sama lain sehingga mempermudah proses analisis. Prinsip penetapan kadar flavonoid dilihat dari adanya reaksi antara flavonoid dengan  $\text{AlCl}_3$  membentuk kompleks berwarna kuning kemudian dengan penambahan  $\text{NaOH}$  akan membentuk kompleks berwarna merah muda dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510 nm. Kurva kalibrasi didapatkan persamaan regresi linier yaitu  $y=0,0916x + 0,0161$  dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9833. Hasil nilai  $r$  yang mendekati 1 menunjukkan kurva kalibrasi linier dan terdapat hubungan antara konsentrasi larutan quersetin dengan nilai serapan. Hasil pengukuran pada masing-masing ekstrak metanol, Fraksi Metanol maupun Fraksi n-heksan dapat dilihat pada tabel 4.2. Kandungan flavonoid total dinyatakan dalam QE (*Quersetin Equivalent*) yaitu jumlah kesetaraan miligram quersetin dalam 1 gram sampel (Wachidah, 2013). Hasil pengukuran kadar flavonoid total pada masing-masing ekstrak metanol, Fraksi Metanol, dan Fraksi n-heksan mempunyai kadar yang berbeda-beda. Kadar flavonoid total terbesar terdapat pada ekstrak metanol dengan hasil sebesar 0,052 mg/ g QE, selanjutnya pada Fraksi Metanol

sebesar 0,0188 mg/g QE, dan pada Fraksi n- heksan sebesar 0,0134 mg/g QE. Pada penelitian sebelumnya kadar flavonoid total pada ekstrak etanol, fraksi etanol, dan fraksi n- heksan buah parijoto menggunakan standar *Quarsetin* berturut-turut adalah 1,46 mg/ g QE, 1,85 mg/ g QE, 0,2 mg/ g QE. Kecilnya kadar flavonoid total yang didapat, kemungkinan karena perbedaan jenis pelarut yang digunakan, sampel parijoto yang digunakan berasal dari tempat yang berbeda. Karena geografis berpengaruh pada kandungan flavonoid buah parijoto. Dari hasil kadar flavonoid total yang didapatkan, kadar tertinggi didapatkan pada ekstrak metanol, diikuti dengan fraksi metanol kemudian fraksi n- heksan. Hal ini membuktikan bahwa flavonoid lebih terekstrak dari senyawa polar ke senyawa non polar (Legawati *et al.*, 2020 ; Shutiawan *et al.*, 2020).

#### **4.2.6. Isolasi Fraksi Metanol Buah Parijoto**

Dalam rangka pengembangan obat, proses isolasi dilakukan agar diketahui senyawa aktif untuk penemuan obat. Isolasi dilakukan pada fraksi metanol karena mempunyai aktivitas antikolesterol lebih besar dari fraksi n- heksan yaitu mampu menurunkan kadar kolesterol sampai dengan 43,86%. Isolasi merupakan proses pemurnian senyawa bahan alam menggunakan pelarut yang sesuai. Metode isolasi yang digunakan adalah metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) yaitu metode pemisahan senyawa yang terdiri dari dua fase dengan proses migrasi diferensial dinamis, sampel bergerak secara kontinyu

pada arah yang sudah ditentukan dan perbedaan mobilitas tergantung dari kelarutan, adsorpsi, partisi, tekanan uap, ukuran molekul, dan kepekaan muatan ion. Isolasi menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif digunakan karena metode ini sesuai untuk pemisahan pada cuplikan kecil 50 mg sampai 1 gram dari senyawa yang kurang atsiri. Keuntungan menggunakan metode KLTP yaitu dapat memisahkan campuran reaksi sehingga didapatkan senyawa yang murni, untuk meneliti bahan alam yang umumnya berjumlah kecil serta memiliki campuran yang rumit dan keuntungan menggunakan KLTP daripada kromatografi kolom yaitu dapat menghasilkan pemisahan yang lebih baik dikarenakan hasilnya berupa bercak yang tidak bergerak , senyawa-senyawa yang terpisah secara individu lebih mudah diambil dengan cara mengeroknya dan mengumpulkan tiap-tiap lapisan dan alat-alat yang digunakan lebih sederhana. Prinsip pemisahan pada kromatografi lapis tipis (KLTP) yaitu pada fase diam menggunakan silika gel dan pada fase gerak menggunakan eluen. Eluen yang digunakan dalam isolasi yaitu n heksan dan etil asetat (5 : 1), karena berdasarkan pemisahan yang menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polaritas fase gerak yang dipilih akan menentukan kecepatan migrasi solut yang mempengaruhi nilai RF. Penambahan pelarut semi polar seperti etil asetat ke dalam pelarut non polar seperti n- heksan mampu meningkatkan nilai RF secara signifikan. Pelarut etil aetat dan n- heksan mampu mengelusi sampel dengan baik, karena

pelarut yang dipilih untuk fase gerak harus memiliki kepolaran yang lebih rendah dibanding dengan silika. Dengan tujuan agar senyawa senyawa yang bersifat polar dan non polar dapat terisolasi dengan baik (Dinasti, 2016).

Kromatografi lapis tipis digunakan dalam proses isolasi dengan cara melarutkan cuplikan dalam sedikit pelarut kemudian dilakukan penotolan dengan pipa kapiler dengan jarak sesempit mungkin pada plat KLT. Proses elusi plat KLT dilakukan dalam bejana kaca yang dijaga tetap jenuh dengan pelarut pengembang. Pada KLTP terkandung indikator fluoresensi yang mampu mendeteksi letak pita yang terpisah pada senyawa yang menyerap sinar ultraviolet. Plat KLT disemprot dengan senyawa penampak berupa noda cerium sulfate untuk mendeteksi senyawa yang tidak menyerap sinar ultraviolet. Senyawa hasil KLTP diambil dengan cara dikerik pada noda yang terbentuk dan hasilnya diekstraksi dengan adsorben pelarut yang sesuai. Selanjutnya hasil KLTP disaring untuk dipisahkan dengan pelarutnya. Hal ini bertujuan untuk memisahkan beberapa senyawa sehingga dapat diperoleh senyawa murni (Mutriana *et al.*, 2016). Hasil noda yang terbentuk pada plat KLTP terdapat dua noda yaitu pada kromatogram atas dan bawah, hal ini dikarenakan noda yang berada pada kromatogram bawah memiliki nilai  $R_f$  yang 0,50 dan cenderung bersifat polar karena lebih tertahan pada plat silika. Sedangkan noda dengan kromatogram atas memiliki nilai  $R_f$  0,87 dan

cenderung bersifat non polar karena terbawa oleh eluen yang memiliki sifat non polar. Noda yang mempunyai koefisien distribusi besar lebih terdistribusi pada fase diam, sebaliknya noda dengan koefisien distribusi kecil terdistribusi ke fase gerak (Dinasti, 2016).

#### **4.2.7. Uji Kemurnian Isolat Metanol Bawah Dan Isolat Metanol Atas Buah Parijoto**

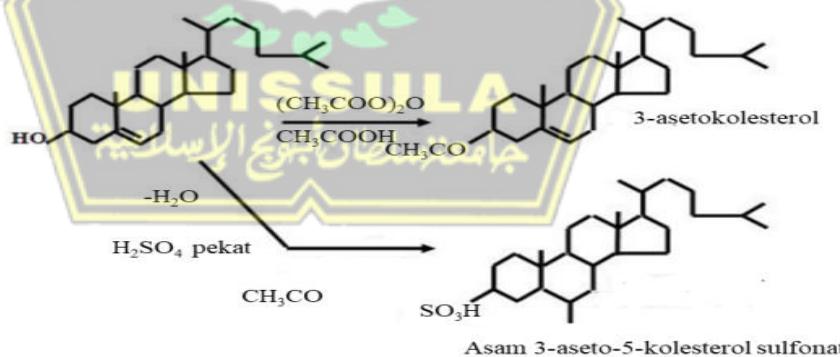
Setelah dilakukan isolasi untuk mengetahui isolat yang telah didapatkan mengandung senyawa tunggal, maka perlu dilakukan uji kemurnian pada isolat. Metode uji kemurnian yang dipakai adalah metode KLT multi eluen dengan parameter hasil jika pada plat KLT terdapat bercak noda tunggal maka isolat yang dihasilkan murni senyawa tunggal. Hasil dari uji kemurnian pada masing masing variasi eluen yang digunakan pada eluen n-heksan dan etil asetat (5 : 1) isolat metanol atas dan perbandingan (5 : 1) pada isolat metanol bawah, dengan indeks polaritas masing-masing 0,49 dan 0,68 yang cenderung bersifat non polar. Pelarut tersebut digunakan karena didapatkan nilai Rf yang lebih variatif dan menghasilkan bercak noda tunggal dengan nilai Rf IMA dan IMB sebesar 0,50 (Suputri *et al.*, 2021). Eluen toluena dan etil asetat (1 : 1) pada isolat metanol atas dan (4 : 2) pada isolat metanol bawah dengan indeks polaritas masing-masing 0,75 dan 0,68 yang cenderung bersifat non polar digunakan karena pada penelitian sebelumnya menunjukkan nilai Rf senyawa flavonoid pada rentang 0,4 sampai 0,88 (Reveny, 2011 ; Rompas *et al.*, 2013). dan

menghasilkan bercak noda tunggal dengan nilai Rf 0,75. Eluen kloroform dan etil asetat (1 : 1) pada isolat metanol atas dan perbandingan (2 : 1) pada isolat metanol bawah dipakai karena eluen tersebut menunjukkan pemisahan yang baik dibuktikan dengan noda yang dihasilkan terlihat bagus, pemisahan terlihat jelas, dan menghasilkan bercak noda tunggal dengan nilai Rf 0,87 (Wutsqa *et al.*, 2021). Dari bercak noda masing-masing variasi eluen yang digunakan menghasilkan noda tunggal, maka dapat disimpulkan bahwa isolat yang dihasilkan adalah murni senyawa tunggal (Kosman & Tappang, 2012).

#### **4.2.8. Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Fraksi N Heksan, Dan Isolat Buah Parijoto Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol**

Pengujian aktivitas antikolesterol pada ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi n heksan, dan isolat dilakukan menggunakan metode *Lieberman Burchard*. Metode ini dipilih karena pengerjaannya relatif sederhana, biaya lebih terjangkau, mempunyai sensitifitas yang tinggi untuk mengukur senyawa golongan steroid salah satunya kolesterol, dan metode ini spesifik dalam menghambat penyerapan komponen lain dalam matriks (Adu *et al.*, 2019). Reaksi yang didapat dari metode lieberman burchard berfungsi untuk mengetahui jumlah kolesterol bebas pada sampel yang bereaksi menjadi warna hijau yang kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis. Jika semakin banyak kolesterol dalam larutan sampel maka warna hijau yang

terbentuk akan semakin pekat sehingga akan berpengaruh pada hasil pengukuran absorbansi pada spektrofotometer UV- Vis. Dalam pengerjaannya metode lieberman burchard harus terbebas dari air dikarenakan reaksi sangat sensitif dan tidak stabil terhadap air dan pada metode lieberman burchard perlu dilakukan Penambahan asam asetat anhidrat dan  $H_2SO_4$  pekat. Fungsi dari asam asetat anhidrat adalah untuk mengekstraksi kolesterol, media yang digunakan dipastikan bebas dari air, dan membentuk turunan asetil yang selanjutnya ditetesi dengan asam sulfat pekat melalui dindingnya akan menghasilkan warna hijau untuk senyawa steroid termasuk kolesterol. Adapun reaksi pembentukan warna hijau pada kolesterol dengan pereaksi lieberman burchard adalah sebagai berikut (Anggraini & Nabillah, 2018).



**Gambar 4.5.** Reaksi pembentukan warna hijau pada kolesterol dengan pereaksi lieberman burchard (Anggraini & Nabillah, 2018)

Simvastatin digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini karena simvastatin merupakan obat yang digunakan secara luas dalam pengobatan hiperkolesterolemia dengan dua mekanismenya

yaitu secara kompetitif menghambat enzim 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reduktase dan penurunan reseptor kolesterol LDL. Ketika enzim HMG-CoA reduktase dihambat maka asetil-CoA tidak bisa berubah menjadi asam mevalonat, sehingga biosintesis dari kolesterol akan dihambat dan akan terjadi penurunan kolesterol. Pada struktur simvastatin terdapat gugus hidroksil (OH) yang akan berikatan dengan gugus hidroksil (OH) kolesterol membentuk ikatan hidrogen, sehingga pada metode lieberman burchard kolesterol bebas yang tidak berikatan dengan simvastatin dapat diukur (Wulandari *et al.*, 2015 ; Arfa, 2019). Mekanisme simvastatin dengan cara menurunkan reseptor kolesterol dimulai dengan mengikat kolesterol intraseluler yang mengakibatkan sel meningkatkan jumlah reseptor kolesterol permukaan yang mengikat dan menginternalisasi kolesterol yang beredar. Korelasi yang terbentuk antara metode lieberman burchard dengan kontrol positif simvastatin yaitu pada pengikatan kolesterol intraseluler oleh simvastatin dan pengikatan kolesterol oleh gugus keton flavonoid pada metode lieberman burchard (Wahyuni *et al.*, 2013).

Untuk mengetahui aktivitas antikolesterol pada sampel yaitu dengan cara membandingkan absorbansi senyawa berwarna hasil dari reaksi antara kolesterol bebas dengan asam asetat anhidrat dan  $H_2SO_4$  pekat dari kontrol negatif (kolesterol 200 ppm + asam asetat anhidrat 2 ml + 0,1 ml  $H_2SO_4$  pekat) dengan larutan uji (kolesterol 200 ppm +

sampel parijoto + asam asetat anhidrat 2 ml + 0,1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat) yang kemudian dihitung persen penurunan kolesterolnya (Amin, 2015). Konsentrasi kolesterol yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan orientasi yaitu 200 ppm dalam kloroform. Pemilihan kloroform sebagai pelarut berdasarkan kelarutan kolesterol dalam kloroform yaitu 1 bagian kolesterol yang mempunyai sifat non polar larut dalam 4,5 bagian kloroform. Begitu juga dengan pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel dibuat sama yaitu dengan kloroform dengan tujuan antara larutan baku kolesterol dan larutan sampel dapat bercampur dan bereaksi. Pengukuran panjang gelombang dibutuhkan dalam analisis spektrofotometri yaitu untuk mengetahui panjang gelombang yang memberikan serapan optimum yang didapatkan dengan cara mengukur absorbansi larutan baku kolesterol pada rentang panjang gelombang visibel 400-700 nm. Panjang gelombang maksimal yang diperoleh dari larutan baku kolesterol 200 ppm yaitu 415 nm, dilihat dari puncak kurva yang membentuk serapan yang maksimal. Hasil tersebut terjadi penyimpangan sedikit dengan literatur yang menyebutkan bahwa panjang gelombang maksimum dari larutan baku kolesterol yang direaksikan dengan asam asetat anhidrat 2 ml dan asam sulfat pekat 0,1 ml adalah 420,40 nm. Panjang gelombang maksimum dipilih untuk meningkatkan proses absorpsi larutan terhadap sinar dan penyimpangan kecil yang terjadi selama percobaan mengakibatkan

kesalahan yang kecil dalam pengukuran. Selanjutnya dilakukan penentuan operating time yang bertujuan untuk mengetahui waktu pengukuran suatu senyawa yang diperoleh saat absorbansi paling stabil. Hasil dari operating time dilihat dari tidak adanya penurunan absorbansi pada pengukuran menit ke 10 sampai ke menit 30. Hasil absorbansi dari menit ke 18 sampai menit ke 24 larutan baku kolesterol stabil dengan jarak penurunan masing-masing 0,002 nm. Sehingga waktu pembacaan absorbansi yang dipilih adalah 20 menit. Setelah mendapatkan panjang gelombang maksimum dan operating time, langkah selanjutnya membuat kurva standar kolesterol dengan cara mereaksikan 7 konsentrasi kolesterol dengan 2 ml asam asetat anhidrat dan 0,1 ml asam sulfat pekat. Hasil koefisien korelasi dari kurva standar kolesterol adalah 0,9937. Hasil yang didapat sesuai dengan parameter linearitas yang baik yaitu apabila nilai koefisien regresi mendekati 1 (Karyati, 2013 ; Amin, 2015).

Kemudian dilanjutkan uji aktivitas antikolesterol pada sampel ekstrak metanol parijoto selanjutnya pada fraksi metanol, fraksi n-heksan, dan pada isolat metanol buah parijoto. Masing-masing sampel dibuat sebanyak 5 seri konsentrasi yaitu 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm dalam kloroform. Deret seri konsentrasi tersebut digunakan karena pada penelitian yang dilakukan Amin (2015), terkait aktivitas ekstrak metanolik buah parijoto pada konsentrasi 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm mempunyai aktivitas antikolesterol sebesar 30,40%. Dari deret

konsentrasi pada sampel diambil 5 ml kemudian ditambahkan 5 ml baku kolesterol konsentrasi 200 ppm. Kemudian campuran antara sampel dan kolesterol di vortex selama 2 menit supaya terbentuk larutan yang homogen. Dari campuran tersebut diambil 5 ml dan direaksikan dengan 2 ml asam asetat anhidrat dan 0,1 ml asam sulfat pekat. Untuk pembanding yang digunakan yaitu baku kolesterol 200 ppm yang direaksikan dengan 2 ml asam asetat anhidrat dan 0,1 ml asam sulfat pekat. Larutan sampel dan larutan pembanding yang sudah direaksikan didiamkan selama 15 menit agar larutan dapat membentuk kompleks warna hijau dan inkubasi dilakukan ditempat gelap serta terlindung dari cahaya, hal ini dilakukan karena kolesterol bersifat fotodegradasi (tidak stabil terhadap cahaya) dan akan berubah menjadi kolestanon. Setelah didiamkan 15 menit, sebelum dibaca pada spektrofotometer larutan didiamkan selama 20 menit sesuai operating time yang digunakan. Pembacaan dilakukan menggunakan spektrofotometer UV- Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 415 nm. Penggunaan panjang gelombang visibel dikarenakan reaksi larutan yang membentuk kompleks warna berwarna hijau yang dapat diukur dengan panjang gelombang visibel. Setelah larutan uji dibaca dengan spektrofotometer UV- Vis, selanjutnya dihitung persen penurunan kadar kolesterol dengan cara : kadar kolesterol awal 200 ppm dikurangi kadar kolesterol dengan penambahan sampel uji dibagi

dengan kadar kolesterol awal 200 ppm kemudian dikali 100 persen (Amin, 2015 ; Karyati, 2013).

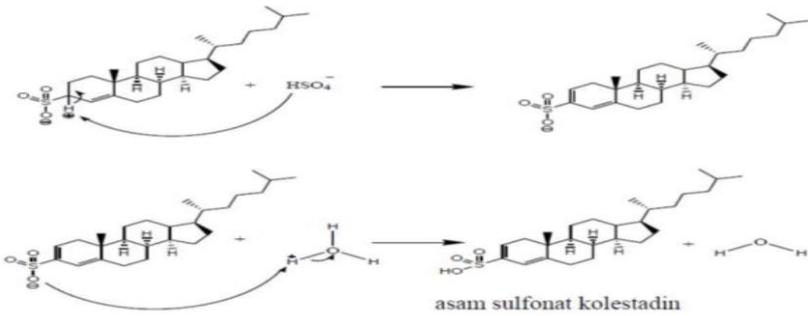
Hasil analisis data SPSS menunjukkan perbedaan yang bermakna pada kontrol negatif dengan seluruh kelompok, artinya ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi n- heksan, isolat metanol atas, dan isolat metanol bawah mempunyai aktivitas antikolesterol. Berdasarkan hasil persen penurunan kolesterol yang didapat, ekstrak metanol pada konsentrasi 150 ppm mampu menurunkan kolesterol sebesar 59,80%. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak metanol buah parijoto mempunyai aktivitas sebagai antikolesterol dengan adanya kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, tannin, dan saponin. Hasil tersebut lebih besar dibandingkan dengan penelitian Amin (2015) yang menyatakan bahwa ekstrak metanol parijoto dengan konsentrasi 150 ppm mampu menurunkan kolesterol sebesar 30,40%. Hasil persen penurunan kadar kolesterol pada fraksi metanol buah parijoto dengan konsentrasi 150 ppm sebesar 43,86%. Hasil tersebut berbeda bermakna dibandingkan dengan ekstrak metanol parijoto dikarenakan pada ekstrak metanol parijoto mempunyai lebih banyak kandungan senyawa seperti flavonoid, saponin, tannin, dan terpenoid sehingga dapat mengikat lebih banyak kolesterol. Pada penelitian yang dilakukan oleh Naim (2017) menyebutkan bahwa ekstrak tumbuhan yang mempunyai kandungan senyawa aktif flavonoid, saponin, tannin, dan terpenoid dapat membantu menurunkan kadar

kolesterol. Sehingga pada ekstrak metanol parijoto mempunyai aktivitas yang lebih besar dari fraksi metanol yang hanya mempunyai kandungan senyawa flavonoid, saponin, dan tannin. Hasil persen penurunan kadar pada fraksi n- heksan konsentrasi 150 ppm tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan fraksi metanol, hal tersebut dikarenakan pada fraksi n- heksan mengandung senyawa terpenoid yang bersifat non polar, sehingga akan berikatan dengan gugus non polar pada kolesterol yaitu gugus  $\text{CH}_2(\text{CH}_3)$  melalui ikatan eter. Pada uji kadar flavonoid total, terdapat perbedaan bermakna antara fraksi metanol dan fraksi n- heksan, dimana fraksi metanol mempunyai kandungan senyawa flavonoid lebih tinggi yang berperan aktif sebagai senyawa antikolesterol dan secara deskriptif persen penurunan kadar kolesterol dari fraksi metanol lebih tinggi yaitu sebesar 42,59%. Proses isolasi untuk mengetahui senyawa murni yang memiliki aktivitas antikolesterol dilanjutkan pada fraksi yang mampu menurunkan kadar kolesterol lebih besar dan memiliki mekanisme yang sama dengan kontrol positif simvastatin supaya selanjutnya dapat dilakukan uji *in-vivo* yaitu pada fraksi metanol buah parijoto (Anggraeni *et al.*, 2020 ; Yang *et al.*, 2020 ; Amin, 2015 ; Naim *et al.*, 2017 ; Hillier & Lathe, 2019).

Hasil dari persen penurunan kadar kolesterol pada isolat metanol bawah dengan konsentrasi 150 ppm mampu menurunkan kadar kolesterol sebesar 94,27% hasil tersebut menunjukkan perbedaan

yang bermakna dibandingkan dengan isolat metanol atas, dimana dengan konsentrasi yang sama hanya mampu menurunkan kadar kolesterol sebesar 70,47%. Hal tersebut dikarenakan pada isolat metanol bawah mempunyai nilai Rf yang lebih rendah dari isolat metanol atas, sehingga lebih bersifat polar karena lebih tertahan pada plat silika. Semakin polar suatu sampel maka semakin banyak gugus hidroksil (OH) yang berikatan dengan gugus hidroksil (OH) pada kolesterol (Dinasti, 2016). Pada isolat metanol atas dan metanol bawah mempunyai nilai Rf yang berbeda sehingga dimungkinkan memiliki senyawa metabolit yang beda sebagai antikolesterol. Hal tersebut dikarenakan adanya aktivitas antikolesterol pada senyawa metabolit sekunder selain flavonoid yaitu pada senyawa tanin dan saponin yang bekerja mengikat kolesterol sehingga mengganggu reaksi antara kolesterol dengan pereaksi *lieberman burchard* (Amin, 2015). Dari grafik persen penurunan kolesterol ditunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pada sampel, maka aktivitas antikolesterol yang dihasilkan semakin besar. Hasil persen penurunan kadar kolesterol antara kelompok 1, kelompok 2, kelompok 3, kelompok 4, dan kelompok 5, yang mempunyai aktivitas antikolesterol paling besar adalah kelompok 5 yaitu isolat metanol bawah dengan nilai persen penurunan kadar sampai dengan 94,27%. Hasil tersebut lebih besar dan berbeda bermakna dengan aktivitas kontrol positif simvastatin dikarenakan pada tablet simvastatin 10 mg yang

dihaluskan kemudian ditimbang untuk dibuat larutan baku, memungkinkan sampel yang ditimbang lebih banyak bahan tambahan dari tablet, dan tidak murni simvastatin 10 mg. Hasil penurunan kolesterol yang tinggi pada isolat metanol bawah, membuktikan bahwa isolat metanol bawah mempunyai aktivitas antikolesterol yang besar. Aktivitas antikolesterol yang tinggi pada isolat metanol bawah, diduga karena adanya senyawa metabolit sekunder flavonoid. Hal ini sesuai dengan jurnal Anggraini & Nabillah (2018) yang menyatakan bahwa tanaman yang mempunyai kandungan flavonoid dapat berkhasiat menurunkan kadar kolesterol. Gugus alkanon (keton) pada flavonoid bereaksi dengan gugus hidroksil pada kolesterol membentuk ikatan hidrogen, sehingga kolesterol yang diukur menggunakan alat spektrofotometer adalah kolesterol bebas yang bereaksi dengan asam asetat anhidrat dan  $H_2SO_4$ , bukan pada kolesterol yang terikat flavonoid. Tingginya persen penurunan kolesterol pada isolat metanol bawah daripada isolat metanol atas dikarenakan, pada isolat metanol bawah mempunyai nilai rf 0,50 dengan sifat cenderung lebih polar yang pasti akan mempunyai lebih banyak gugus keton yang termasuk senyawa polar, sehingga mampu mengikat lebih banyak kolesterol. Adapun ikatan kimia yang terjadi antara flavonoid dan kolesterol adalah sebagai berikut (Karyati, 2013 ; Amin, 2015 ; Anggraini & Nabillah, 2018).

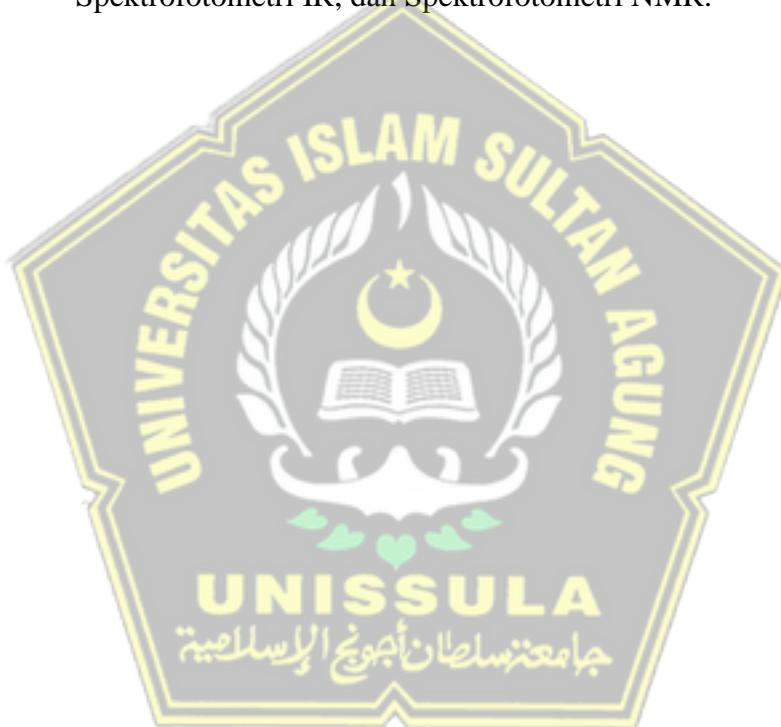


**Gambar 4.6.** Ikatan kimia antara kolesterol dengan senyawa flavonoid  
(Anggraini & Nabillah, 2018)

Aktivitas antikolesterol buah parijoto secara *in vitro* yang disebutkan diatas, berkaitan dengan kemampuan senyawa flavonoid dalam menentukan kadar kolesterol secara *in-vivo*. Pada penelitian Azhari (2017) menyebutkan, ekstrak buah *Averrhoa bilimbi* dengan kandungan flavonoid mampu menurunkan kadar kolesterol sebesar 11,03% pada tikus jantan galur wistar dengan dosis 63 mg/kgbb. Flavonoid mempunyai beberapa mekanisme dalam menurunkan kadar kolesterol yaitu secara kompetitif menghambat kerja dari enzim 3-*hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A* (HMG-CoA) reduktase, dengan terhambatnya enzim HMG Co-A reduktase maka asam mevalonat tidak akan terbentuk dan kadar kolesterol mengalami penurunan. Mekanisme flavonoid lainnya adalah dapat meningkatkan aktivitas dari enzim *Lechitin Cholesterol Acyl* (LCAT). Enzim LCAT bekerja dengan mengkonversi kolesterol bebas menjadi ester kolesterol yang sifatnya lebih hidrofobik, oleh karena itu ester kolesterol bisa berikatan dengan lipoprotein dan membentuk HDL baru. Selain itu, flavonoid juga mampu mengikat LDL dan dapat

mengikis endapan kolesterol pada pembuluh darah koroner sehingga kadar kolesterol akan berkurang (Amin, 2015 ; Anggraini & Nabillah, 2018 ; Azhari *et al.*, 2017).

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah belum dilakukan identifikasi terkait struktur senyawa aktif pada isolat metanol atas dan isolat metanol bawah buah parijoto menggunakan metode GC-MS, Spektrofotometri IR, dan Spektrofotometri NMR.



## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1. Kesimpulan**

- 5.1.1. Ekstrak metanol buah parijoto, fraksi metanol, fraksi n-heksan, isolat metanol atas, dan isolat metanol bawah buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) mempunyai aktivitas sebagai antikolesterol dan aktivitas paling tinggi adalah isolat metanol bawah dengan rerata presentase penurunan kadar kolesterol sebesar 87,40%.
- 5.1.2. Penurunan kadar kolesterol ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi n-heksan, isolat metanol atas, dan isolat metanol bawah buah parijoto pada konsentrasi 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm secara berturut-turut adalah ekstrak metanol (50,74%, 53,48%, 54,79%, 56,31%, 59,80%), fraksi metanol (28,98%, 31,02%, 41,92%, 42,49%, 43,86%), fraksi n-heksan (31,77%, 35,02%, 35,65%, 38,95%, 42,59%), isolat metanol atas (50,93%, 57,20%, 62,15%, 69,10%, 70,46%), dan isolat metanol bawah (73,76%, 86,06%, 89,84%, 93,09%, 94,27%).

#### **5.2. Saran**

- 5.2.1. Perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut dalam rangka menemukan struktur senyawa aktif yang terdapat dalam isolat metanol atas dan isolat metanol bawah buah Parijoto sehingga dapat dilakukan modifikasi struktur dan bisa dikembangkan sebagai penemuan obat.

5.2.2. Untuk penelitian selanjutnya dapat dilakukan uji aktivitas antikolesterol buah parijoto (*Medinilla speciosa* B.) secara in-vivo.



## DAFTAR PUSTAKA

- Adu, J. K., Amengor, C. D. K., Kabiri, N., Orman, E., Abla, S., Patamia, G., & Okrah, B. K. (2019). *Validation of a Simple and Robust Liebermann – Burchard Colorimetric Method for the Assay of Cholesterol in Selected Milk Products in Ghana*. 2019.
- Amin, M. S. (2015). Studi In-vitro : Efek Antikolesterol Dari Ekstrak Metanol Buah Parijoto (*Medinilla speciosa Blume*) Terhadap Kolesterol Total. *Skripsi*.
- Anggraeni, Y. D., Wijayanti, R., & Utami, K. D. (2020). Pengaruh Pemberian Ekstrak Metanol, Fraksi Larut Dan Tak Larut N-Heksan Buah Parijoto (*Medinilla Speciosa Blume*) Terhadap Diameter Tubulus Seminiferus Dan Jumlah Spermatosit Primer Tikus Jantan Galur Sprague dawley. *Unissula*.
- Anggraini, D. I., & Nabillah, L. F. (2018). Activity Test of Suji Leaf Extract (*Dracaena angustifolia Roxb.*) on in vitro cholesterol lowering. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 21(2), 54–58. <https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.54-58>
- Arfa, F. A. (2019). Penurunan Kadar Kolesterol Dari Ekstrak Etanol Buah Kemloko (*Phyllanthus Emblica L.*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. In *Jurnal Pembangunan Wilayah & Kota* (Vol. 1, Issue 3).
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29. <https://doi.org/10.31629/zarah.v6i1.313>
- Azhari, B., Luliana, S., & Robiyanto. (2017). Uji Aktivitas Antihiperkolesterolemia Ekstrak Air Belimbing Wuluh ( *Averrhoa bilimbi Linn .* ) Pada Pemodelan Tikus Jantan Galung Wistar Antihiperkolesterolemia. *Traditional Medicine Journal*, 22(1), 57–62.
- Bahriul, P., Rahman, N., & Diah, A. W. M. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzyngium polyanthum*) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 368–374.
- Barrett, L. (2015). *Olive Leaf Extract: The Mediterranean Healing Herb*. Healthy Living Publications. Summertown.
- BPOM. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Depkes RI.
- BPOM. (2014). *Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. Jakarta. Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- Chairunnissa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana L.*) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551. <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07>

- Dinasti, A. R. (2016). Isolasi Dengan KLTP Dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Steroid Fraksi Etil Asetat Mikroalga Chlorella sp. *Revista Brasileira de Geografia Física*, 11(9), 141–156. [http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/monografias/GEBIS -RJ/RBG/RBG1995v57\\_n1.pdf%0Ahttps://periodicos.ufpe.br/revistas/rbgfe/article/view/234295](http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/monografias/GEBIS -RJ/RBG/RBG1995v57_n1.pdf%0Ahttps://periodicos.ufpe.br/revistas/rbgfe/article/view/234295)
- Ergina, Nuryanti, S., & Purtisari, I. D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (*Agave*). *J. Akad. Kim*, 3(3), 165–172.
- GBIF. (2013). *GBIF Backbone Taxonomy*.
- Ghani, L., Susilawati, M. D., & Novriani, H. (2016). Faktor Risiko Dominan Penyakit Jantung Koroner di Indonesia. *Buletin Penelitian Kesehatan*, 44(3), 153–164. <https://doi.org/10.22435/bpk.v44i3.5436.153-164>
- Habibi, A. I., Firmansyah, R. A., & Setyawati, S. M. (2018). Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(1), 1–4.
- Hanum, A. S., Prihastanti, E., & Jumari. (2017). Ethnobotany of utilization, role, and philosophical meaning of parijoto (*Medinilla*, spp) on Mount Muria in Kudus Regency, Central Java. *AIP Conference Proceedings*, 1868(2017). <https://doi.org/10.1063/1.4995210>
- Hariadini, A. L., Sidharta, B., Ebtavanny, T. gusti, & Minanga, E. putri. (2020). Hubungan Tingkat Pengetahuan Dan Ketepatan Penggunaan Obat Simvastatin Pada Pasien Hipercolesterolemia Di Apotek Kota Malang. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 005(02), 91–96. <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2020.005.02.4>
- Hasrianti, Nururrahmah, & Nurasia. (2016). Pemanfaatan Ekstrak Bawang Merah dan Asam Asetat Sebagai Pengawet Alami Bakso. *Jurnal Dinamika*, 07(1), 9–30.
- Hillier, S. G., & Lathe, R. (2019). Terpenes, hormones and life: Isoprene rule revisited. *Journal of Endocrinology*, 242(2), R9–R22. <https://doi.org/10.1530/JOE-19-0084>
- Irawan, A. (2019). Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran dalam Kegiatan Penelitian dan Pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(2), 1. <https://doi.org/10.22146/ijl.v1i2.44750>
- Irwan, A. S. (2017). Uji Aktivitas Antimikroba Hasil Fraksinasi Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus Calamus L.*) Terhadap Bakteri Patogen. *Makassar, UIN*

- Alauddin. <https://ci.nii.ac.jp/naid/40021243259/>
- John, B., Sulaiman, C. T., George, S., & Reddy, V. R. K. (2014). Total phenolics and flavonoids in selected medicinal plants from Kerala. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 406–408.
- Karyati, H. (2013). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Dan Isolat Flavonoid Daun Murbei (*Morus Alba L.*) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Secara In Vitro. *Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Semarang*.
- Kosman, R., & Tappang, K. (2012). Isolasi Dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Fraksi Dietil Eter Daun Beruwas Laut (*Scaevola Taccada* (Gaertn.) Roxb.) Asal Kabupaten Pinrang (Sulawesi Selatan). *ISSN*, 04(02), 219–227.
- Kumar, S., & Abhay, Panday, K. (2011). Flavonoids. *Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview*, The Scient. <https://doi.org/10.2307/j.ctt1w0ddx8.35>
- Kurniawati, A. N. I. (2015). Uji efek antihiperlipidemia ekstrak etanol buah parijoto (*medinilla speciosa Blume*) terhadap kolesterol total, trigliserida, dan VLDL pada tikus putih jantan. 1–124. <https://id.123dok.com/document/ozl7mxgy-uji-efek-antihiperlipidemia-ekstrak-etanol-buah-parijoto-medinilla-speciosa-Blume-terhadap-kolesterol-total-trigliserida-dan-vldl-pada-tikus-putih-jantan-1.html>
- Legawati, H. E., Kunarto, B., & Sani, E. Y. (2020). Fraksinasi Ekstrak Buah Parijoto (*Medinella speciosa L.*) dan Stabilitas Antosianinnya pada Berbagai Lama Pemanasan. *Repository Universitas Semarang*, 16, 23–29. <http://journals.usm.ac.id/index.php/jtphp>
- Maulida, R., & Guntarti, A. (2015). The influence of particle size of black rice (*Oryza sativa L.*) on extract yield and total anthocyanin content. *Pharmaciana*, 5(1), 9–16.
- Muharrami, L. K. (2011). Penentuan Kadar Kolesterol Dengan Metode. *Agrointek*, 5(1), 28–32.
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, VII(2). <https://doi.org/10.17969/agripet.v16i2.4142>
- Mutiara, R., Djangi, M. J., & Herawati, N. (2016). Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Kulit Buah Mangrove Pidada (*Sonneratia caseolaris*) Isolation and Antioxidant Activity Test of Secondary Metabolites Compound Methanol Extract of Mangrove Pidada Rind's. *Jurnal Chemical*, 17(2), 52–62.
- Naim, F., Marianti, A., & Susanti, R. (2017). Aktivitas Ekstrak Daun Jati Belanda Terhadap Kadar Kolesterol HDL dan LDL pada Tikus Hiperkolesterolemia.

- Life Science*, 6(1), 1–8.
- Najib, A., Malik, A., Ahmad, A. R., Handayani, V., Syarif, R. A., & Waris, R. (2017). Standarisasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda Dan Teh Hijau. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), 241–245. <https://doi.org/10.33096/jffi.v4i2.268>
- Niswah, L. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Buah Parijoto ( Medinilla speciosa Blume ) Menggunakan Metode Difusi Cakram. *Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, September*, 1–28.
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2016). Phytochemical Screening of Beans (*Phaseolus vulgaris* L) Extract in Powder Preparation. *Ipa Educational Research Journal (JPPIPA)*, 2(1), 96–103. <http://www.esciencecentral.org/journals/minimum-inhibitory-and-bactericidal-concentrations-mic-2327-5162-3-171.php?aid=32968>
- Perera, W. H., Meepagala, K. M., Fronczek, F. R., Cook, D. D., Wedge, D. E., & Duke, S. O. (2019). Bioassay-Guided Isolation and Structure Elucidation of Fungicidal and Herbicidal Compounds from Ambrosia salsola (Asteraceae). *Molecules*, 24(5), 1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules24050835>
- Pertiwi, R. B., & Hidayah, I. N. (2017). *Berbagai Pengolahan Pangan*. 24.
- Pramita, D., Sayekti, E., Kimia, P. S., & Tanjungpura, U. (2013). Karakterisasi Senyawa Alkaloid Dari Fraksi Etil Asetat Daun Kesum. 2(3), 1–6.
- Prasetyo, & Inorah, E. (2013). Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Simplisia). In *Perpustakaan Nasional Ri: Katalog Dalam Terbitan* (pp. 1–85).
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., & Pramono, S. (2016). Ethanol Extract, Ethyl Acetate Extract, Ethyl Acetate Fraction, and n-Heksan Fraction Mangosteen Peels (*Garcinia mangostana* L.) As Source of Bioactive Substance Free-Radical Scavengers. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 1(2), 71. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v1i2.1936>
- Reveny, J. (2011). Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah ( *Piper betle* Linn .) Antimicrobial Activity of the Extract and Fraction of Red Betel Leaf ( *Piper betle* Linn .). *Jurnal ILMU DASAR*, 12, 6–12.
- Rompas, R. aldi, Edy, H. J., & Yudistira, A. (2013). Isolasi Dan Identifikasi Flavonoid Dalam Daun Lamun (*Syringodium Isoetifolium*). *Fmipa Unsrat*, 1689–1699.
- Sahriawati, S. & W. S. (2019). Validasi Metode dan Penetapan Kadar Kolesterol Ayam Broiler dengan Metode Liebermann-Burchard. *Lutjanus*, 9(1), 31–40.

- Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 603–608. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
- Shutiawan, M. A., Vifta, R. L., & Yuswantina, R. (2020). Penetapan Kadar Total Flavonoid Pada Buah Parijoto (Medinilla Speciosa B) Berdasarkan Tempat Tumbuh Yang Berbeda Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Universitas Ngudi Waluyo, 1*.
- Singh, V., & Kumar, R. (2017). Study of Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity of Allium sativum of Bundelkhand Region. *International Journal of Life-Sciences Scientific Research*, 3(6), 1451–1458. <https://doi.org/10.21276/ijlssr.2017.3.6.4>
- Soemari, Y. B., Sapri, & Maghfiroh, F. (2016). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Daun Senggani (Melastoma Malabathricum L.) Terhadap Penghambatan Pertumbuhan Koloni Bakteri Pada Daging Sapi (Activities. *Media Sains*, 9(April), 49–57.
- Suputri, Y. D., Ananto, A. D., & Andayani, Y. (2021). Analisis Kualitatif Kandungan Fenolik dalam Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Metanol dari Ekstrak Kulit Jagung (*Zea mays L.*). *Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 2(1), 109. <https://doi.org/10.31764/lf.v2i1.3758>
- Susanty, S., & Bachmid, F. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87. <https://doi.org/10.24853/konversi.5.2.87-92>
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Gurpreet, K., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review, Internationale Pharmaceutical Sciencia. *Hepatology*, 1(No 1), 98–106. <https://doi.org/10.1002/hep.29375>
- Uthia, R., Arifin, H., & Efrianti, F. (2017). Pengaruh hasil fraksinasi ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) terhadap aktivitas susunan saraf pusat pada mencit putih jantan. *Farmasi Higea*, 9(1), 85–95.
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2018). Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon (Linn.) Burm F.*). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4), 213. <https://doi.org/10.24843/itepa.2018.v07.i04.p08>
- Vifta, R. L., & Advistasari, Y. D. (2018a). Analisis Penurunan Kadar Glukosa Fraksi n-Heksan Buah Parijoto (Medinilla speciosa B ) secara in vitro dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(3), 249–253.

- Vifta, R. L., & Advistasari, Y. D. (2018b). Skrining Fitokimia , Karakterisasi , dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto ( *Medinilla speciosa B* ). *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 1, 8–14.
- Wachidah, L. N. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Serta Penentuan Kandungan Fenolat Dan Flavonoid Total Dari Buah Parijoto (*Medinilla speciosa Blume*). Universitas Syarif Hidayatullah.
- Wahyuni, F. D., Aisyah, I. N., & Hariyadi, S. (2013). Pengaruh Ekstrak N-Heksana Daging Buah Delima Putih (*Punica Granatum*) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Darah Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus L.*) Dan Pemanfaatannya Sebagai Buku Suplemen. *Pancaran*, 2(4), 89–99. <https://doi.org/10.2331/suisan.35.791>
- Wati, M., Erwin, & Tarigan, D. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat pada Daun Berwarna Merah Pucuk Merah (*Syzygium myrtifilum Walp.*). *Kimia FMIPA Unmul*, 14(2), 100–107.
- Wijayanti, R., Wahyuono, S., Puspitasari, I. K. A., & Rizal, D. M. (2021). Increased Reproductive Capacity of Sprague Dawley Male Rats Assessed from the Number of Leydig Cells, Sertoli Cells, Primary Spermatocytes, and the Diameter of The Seminiferous Tubules through the Effect of Methanol Extract, Soluble and Insoluble Fraction. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 13(01), 3148–3154. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2021.13.01.484>
- Wulandari, R. L., Susilowati, S., & Asih, M. (2015). Muricata L . ) Dan Simvastatin Terhadap Kadar Kolesterol. *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik, Ldl*, 24–32.
- Wutsqa, Y. U., Lusi, S., & Sari, A. (2021). *Detection of terpenoids and steroids in Lindsaea obtusa with thin layer chromatography*. 19(2), 65–68. <https://doi.org/10.13057/biofar/f190204>
- Yang, W., Chen, X., Li, Y., Guo, S., Wang, Z., & Yu, X. (2020). *Advances in Pharmacological Activities of Terpenoids*. <https://doi.org/10.1177/1934578X20903555>
- Yani, M. (2015). Mengendalikan Kadar Kolesterol Pada Hiperkolesterolemia. *Jurnal Olahraga Prestasi*, 11(2), 115737. <https://doi.org/10.21831/jorpres.v11i2.5749>
- Yanlinastuti, & Fatimah, S. (2016). Pengaruh Konsentrasi Pelarut untuk Menentukan Kadar Zirkonium dalam Paduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Pengelolaan Instalasi Nuklir*, 1(17),22–33.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Ethical Clearance

**KOMISI BIOETIKA PENELITIAN KEDOKTERAN/KESEHATAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG SEMARANG**

Sekretariat : Gedung C Lantai I Fakultas Kedokteran Unissula

Jl. Raya Kaligawe Km 4 Semarang, Telp. 024-6583584, Fax 024-6594366

## Ethical Clearance

No. 200/VII/2021/Komisi Bioetik

Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, setelah melakukan pengkajian atas usulan penelitian yang berjudul :

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK METANOL BUAH PARROTIA (*Medinilla speciosa Blume*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIKOLESTEROL SECARA INVITRO**

Peneliti Utama : Apt. Rina Wijayanti, M. Sc

Anggota : Windi Sasmayanti, S.Si., M.Sc

Tempat Penelitian : Lab Farmasi PK UNISSULA

dengan ini menyatakan bahwa usulan penelitian diatas telah memenuhi prasyarat etik penelitian. Oleh karena itu Komisi Bioetika merekomendasikan agar penelitian ini dapat dilaksanakan dengan mempertimbangkan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki dan panduan yang teruang dalam Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI tahun 2004.

Semarang, 30 Juli 2021

Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan

Fakultas Kedokteran Unissula

Ketua,



(dr. Sofwan Dahlan, Sp.F(K))

## Lampiran 2. Determinasi Tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
 UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG  
 FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LABORATORIUM JURUSAN BIOLOGI**

Alamat : Gedung D11 FMIPA UNNES Kampus Sekaran Gunungpati Semarang 50229  
 website : biologi.unnes.ac.id, email : labbiologi.unnes@yahoo.com

Semarang, 18 Juni 2019

No. : 430 /UN.37.1.4.5/LT/2019  
 Lampiran : -  
 Perihal : Hasil identifikasi tumbuhan

Kepada Yth.

Sdr. Rina Wijayanti – NIM. 18435333/SFA/00167

Mahasiswa Program Studi S3 Ilmu Farmasi - Fakultas Farmasi  
 Universitas Gadjah Mada (UGM)  
 Yogyakarta

Dengan hormat,  
 Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang Saudara kirimkan  
 ke Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi-FMIPA Universitas Negeri  
 Semarang (UNNES), adalah sebagai berikut.

Divisio	:	Magnoliophyta
Classis	:	Magnoliopsida
SubClassis	:	Rosidae
Ordo	:	Myrales
Familia	:	Melastomaceae
Genus	:	Medinilla
Species	:	<i>Medinilla speciosa</i> (Reinw. ex Bl.) Bl.
Vern. name	:	Parijoto

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.  
**UNISSULA**  
 جامعى سلطان احمد بن سلطان  
 UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

Mengetahui  
 Ketua Jurusan Biologi FMIPA UNNES

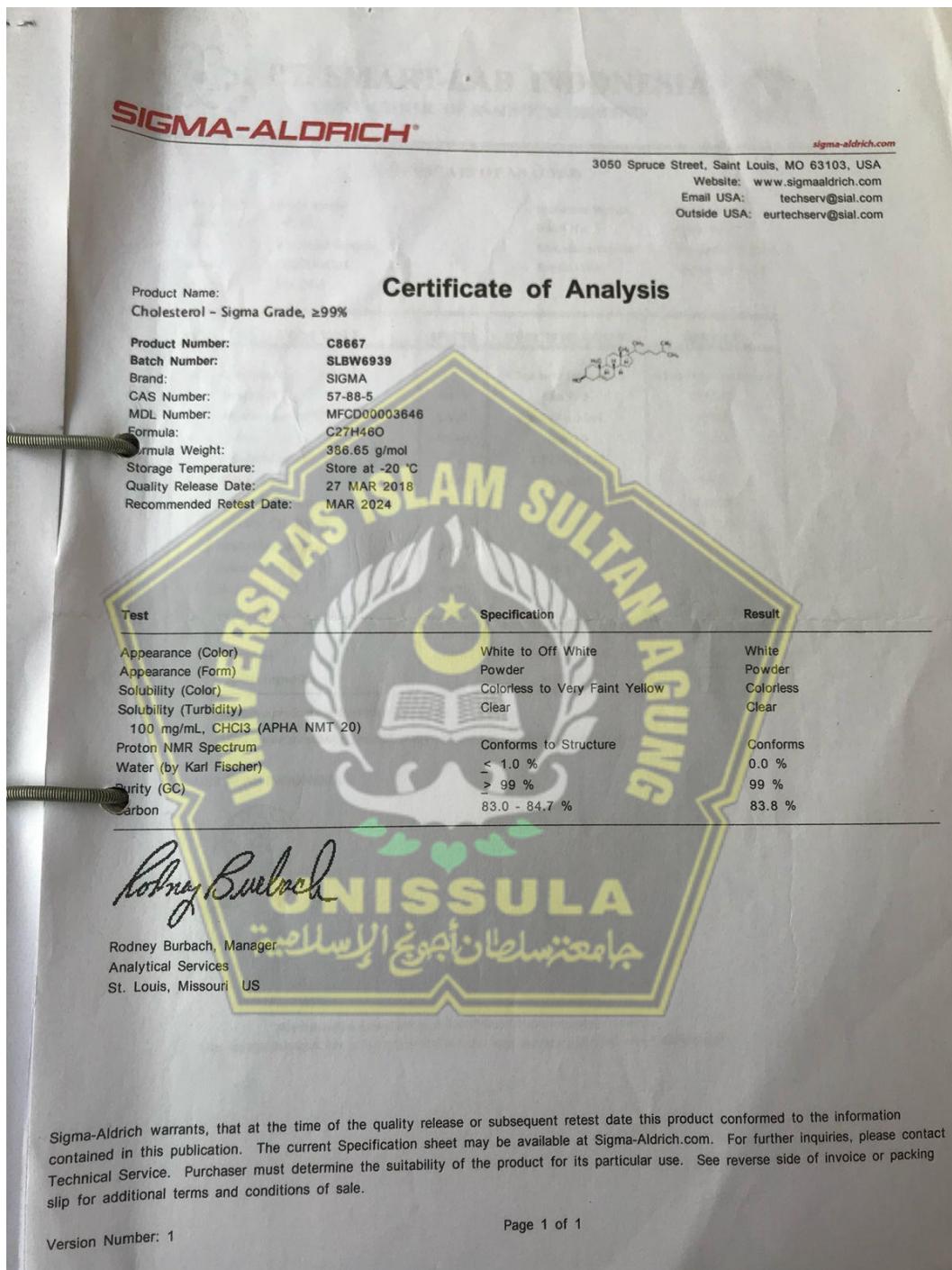
Kepala Laboratorium Biologi



Dra. Endah Peniati, M.Si.  
 NIP. 196511161991032001

Dr. Ning Setiati, M.Si.  
 NIP. 195903101987032001

### Lampiran 3. Sertifikat Analisis Baku Kolesterol



## Lampiran 4. Sertifikat Analisis Asam Asetat Anhidrat



### Specification

1.00042.2500 Acetic anhydride for analysis EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur

Specification		
Purity (GC)	≥ 99.5	%
Identity (IR)	conforms	
Appearance	clear	
Color	≤ 10	Hazen
Chloride (Cl)	≤ 2	ppm
Sulfate (SO <sub>4</sub> )	≤ 5	ppm
Phosphate (PO <sub>4</sub> )	≤ 5	ppm
Heavy metals (as Pb)	≤ 2	ppm
Residues carbonizable substances	conforms	
Substances reducing potassium permanganate (as Cr)	≤ 150	ppm
Al (Aluminum)	≤ 0.5	ppm
B (Boron)	≤ 0.22	ppm
Ba (Barium)	≤ 0.1	ppm
Ca (Calcium)	≤ 0.5	ppm
Co (Cadmium)	≤ 0.06	ppm
Cr (Cobalt)	≤ 0.02	ppm
Cr (Chromium)	≤ 0.04	ppm
Cu (Copper)	≤ 0.02	ppm
Fe (Iron)	≤ 0.1	ppm
Mg (Magnesium)	≤ 0.1	ppm
Mn (Manganese)	≤ 0.03	ppm
Ni (Nickel)	≤ 0.02	ppm
Pb (Lead)	≤ 0.1	ppm
Sn (Tin)	≤ 0.1	ppm
Zn (Zinc)	≤ 0.1	ppm
Evaporation residue	≤ 20	ppm

Jeanette David  
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

## Lampiran 5. Perhitungan Hasil Randemen

Randemen Ekstrak Metanol, Fraksi N- Heksan, dan Fraksi Metanol

Buah Parijoto

	Berat	Randemen %
Ekstrak Metanol	375,28 g	7,5056 %
Fraksi N- Heksan	44,86 g	1,0115%
Fraksi Metanol	20,23 g	2,243 %

Jumlah rendemen pada Ekstrak Metanol, Fraksi N- Heksan, dan Fraksi Metanol

Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)

$$\% \text{ randemen} = \frac{\text{Berat Hasil Olahan}}{\text{Berat Awal Olahan}} \times 100\%$$

$$\% \text{ randemen Ekstrak Metanol} = \frac{375,28 \text{ g}}{5000 \text{ g}} \times 100\% = 7,5056\%$$

$$\% \text{ randemen Fraksi n - heksan} = \frac{20,23 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100\% = 1,0115\%$$

$$\% \text{ randemen Fraksi metanol} = \frac{44,86 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100\% = 2,243\%$$

$$\% \text{ randemen Isolat Metanol Atas} = \frac{0,25 \text{ g}}{40 \text{ g}} \times 100\% = 0,625\%$$

$$\% \text{ randemen Isolat Metanol Bawah} = \frac{0,1416 \text{ g}}{40 \text{ g}} \times 100\% = 0,354\%$$

### Lampiran 6. Kadar Air

TIME 10:46 PHO. 1 UNIT M/W MODE TIME TEMP 120C STOP 00:15	TIME 09:45 PHO. 1 NO.0002IT M/W NO.0003DE TIME TEMP 120C STOP 00:15	Dry W(g) 0.502
Wet W(g) 0.500	Wet W(g) 0.676	00:15:00 5,99 %
TIME M/W(%) 00:00:00 0,00	NO.0004 M/W(%) 00:00:00 0,00	00:15:00 5,99 %
*00:15:00 8,00	*00:15:00 5,47	00:15:00 5,99 %
Dry W(g) 0,460		
Ekstrak	Fraksi N- Heksan	Fraksi Metanol

Kadar air Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, dan Fraksi n-Heksan

Buah Parijoto.

Kadar Air %

Ekstrak Metanol	8 %
Fraksi N- Heksan	5,47%
Fraksi Metanol	5,99 %

### Lampiran 7. Skrining fitokimia

Skrinning Fitokimia Ekstrak Metanol, Fraksi Larut, dan Fraksi tak Larut n-

Heksan Buah Parijoto

Parameter Uji	Ekstrak Metanol	Fraksi larut	Fraksi tak larut n-heksan	Reagen	Parameter uji Positif jika-
Flavonoid	++	-	+++	HCl, serbuk Mg	Jingga, merah
Saponin	++	-	++	H <sub>2</sub> O	Buih busa
Tanin	+	-	+	FeCl <sub>3</sub>	Kuning intensif
Glikosida	+	-	+	FeCl <sub>3</sub>	Cincin coklat
Terpenoid	+	+	-	Liebermann burchard	Coklat kemerahan

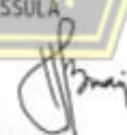
Parameter Uji	Reagen	Warna	Metode	Gambar					
				Ekstrak	Fraksi larut n-heksan	Fraksi tak larut n-heksan			
Flavonoid	Serbuk Mg, HCl pekat	Kuning, jingga, merah	Tabung		Positif		Negatif		Positif
Saponin	HCl 2M	Terbentuk busa	Tabung		Positif		Negatif		Positif
Tamin	NaOH	Kuning intensif	Tabung		Positif		Negatif		Positif
Glikosida	FeCl <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Terbentuk cincin ciklat	Tabung		Positif		Negatif		Positif
Terpenoid	Kloroform, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Terbentuk warna coklat, kemerahan	Tabung		Negatif		Positif		Negatif


**YAYASAN BADAN WAKAF SULTAN AGUNG**  
**UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG (UNISSULA)**  
 Jl. Raya Kaligawe Km.4 Setiausaha 50112 Telp.(024) 6583584 (8 Sal) Fax.(024) 6582455  
 email: informasi@unissula.ac.id web: www.unissula.ac.id

  
**56**  
 MUHARRAM  
 1441 H / 2019 M

Sampel	Parameter uji	Reagen	Hasil Identifikasi	Metode	Kesimpulan
Ekstrak Metanol	Glikosida	$\text{FeCl}_3, \text{H}_2\text{SO}_4$	Terbentuk cincin coklat	Tabung	Positif
Fraksi Larut N-heksan					Negatif
Fraksi Tak larut N-heksan	Temponoid	Kloroform, $\text{H}_2\text{SO}_4$	Terbentuk warna coklat,kemerahan	Tabung	Positif
Ekstrak Metanol					Negatif
Fraksi Larut N-heksan	Temponoid	Kloroform, $\text{H}_2\text{SO}_4$	Terbentuk warna coklat,kemerahan	Tabung	Positif
Fraksi Tak larut N-heksan					Negatif

  
 Semarang, 22 September 2020  
**UNISSULA**  
 Laboran Prodi Farmasi  
 FK UNISSULA

  
 Kepala Laboratorium Prodi Farmasi  
 FK UNISSULA

  
Nisrina Nur A, Amd. AF

  
Ika Buana Januarti, M.Sc., Apt  
 NIK. 211213007

 <p align="center"><b>YAYASAN BADAN WAKAF SULTAN AGUNG UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG (UNISSULA)</b> Jl. Raya Kolombar Km. 3 Matraman, 30132 Telp. (021) 65013044/65013045 email: <a href="mailto:unissula@unissula.ac.id">unissula@unissula.ac.id</a> - <a href="http://www.unissula.ac.id">www.unissula.ac.id</a></p>  <p align="right">Bermula Memimpin Generasi Khairi Ummah</p> <p align="center"><b>LAPORAN HASIL UJI</b></p> <p align="center">No. Sertifikat : 03/LPF/II/2020</p>					
PRODI FARMASI					
Informasi Peneliti					
Nama : Hesti Ratnasari	Tanggal Pengujian: 7 Maret 2020				
NIM : 33101600443					
Hasil Pengujian					
<b>Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol, Fraksi Larut dan Tak Larut-N-heksan Buah Parijoto (<i>Medinilla speciosa</i> B.):</b>					
Sampel	Parameter uji	Reagen	Hasil Identifikasi	Metode	Kesimpulan
Ekstrak Metanol				Tabung	Positif
Fraksi Larut N-heksan					Negatif
Fraksi Tak larut N-heksan			Kuning jingga, merah		Positif
Ekstrak Metanol				Tabung	Positif
Fraksi Larut N-heksan					Negatif
Fraksi Tak larut N-heksan					Positif
Ekstrak Metanol				Tabung	Positif
Fraksi Larut N-heksan					Negatif
Fraksi Tak larut N-heksan					Positif

**Lampiran 8. Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanol, Fraksi metanol dan fraksi n- heksan Buah Parijoto**

**Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Metanolik Buah Parijoto**

$$\text{Konsentrasi ekstrak (\%)} = \frac{0.001\text{ g}}{1\text{ ml}} \times 100\% = 0,1\%$$

Setara dengan

Konsentrasi sampel uji = 1 mg/ml

**Pembuatan Absorbasi Larutan Sampel**

1 ml larutan sampel + 0,3 ml NaNO<sub>2</sub> 5% + 0,3 ml AlCl<sub>3</sub> 10% + 2 ml NaOH 1 M  
+ ad 10 ml aquadest

**Pembuatan Larutan Baku Kuersetin**

$$\text{Konsentrasi 1000 ppm Kuersetin} = \frac{10\text{ mg}}{10\text{ ml}} = 1\text{ mg/ml} = 1000\text{ }\mu\text{g/ml}$$

**Pembuatan Larutan Standar**

$$\text{Konsentrasi 50 ppm Kuersetin} = V1.C1 = V2. C2$$

$$= V1. 1000\text{ ppm} = 10\text{ ml} . 50\text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} &= V1 \\ &= \frac{10\text{ ml}.50\text{ ppm}}{1000\text{ ppm}} \\ &= 0,5\text{ ml} \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi 40 ppm Kuersetin} = V1.C1 = V2. C2$$

$$= V1. 1000\text{ ppm} = 10\text{ ml} . 40\text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} &= V1 \\ &= \frac{10\text{ ml}.40\text{ ppm}}{1000\text{ ppm}} \end{aligned}$$

$$= V1 = 0,4\text{ ml}$$

$$\text{Konsentrasi 30 ppm Kuersetin} = V1.C1 = V2. C2$$

$$= V1. 1000\text{ ppm} = 10\text{ ml} . 30\text{ ppm}$$

$$= V1 = \frac{10 \text{ ml} \cdot 30 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$= V1 = 0,3 \text{ ml}$$

Konsentrasi 20 ppm Kuersetin =  $V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$$= V1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 20 \text{ ppm}$$

$$= V1 = \frac{10 \text{ ml} \cdot 20 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$= V1 = 0,2 \text{ ml}$$

Konsentrasi 10 ppm Kuersetin =  $V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$$= V1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 10 \text{ ppm}$$

$$= V1 = \frac{10 \text{ ml} \cdot 10 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$= V1 = 0,1 \text{ ml}$$

### **Kurva Kalibrasi**

1 ml larutan standar + 0,3 ml NaNO<sub>2</sub> 5% + 0,3 ml AlCl<sub>3</sub> 10% + 2 ml NaOH 1 M +

ad 10 ml aquadest

### **Larutan Blangko**

0,3 ml NaNO<sub>2</sub> 5% + 0,3 ml AlCl<sub>3</sub> 10% + 2 ml NaOH 1 M + ad 10 ml aquadest

### **Pembuatan NaNO<sub>2</sub> 5%**

$$\text{NaNO}_2 \text{ 5\% p.a} = \frac{5 \text{ g NaNO}_2}{100 \text{ ml Aquadest}}$$

### **Pembuatan AlCl<sub>3</sub> 10 %**

$$\text{AlCl}_3 \text{ 10\% p.a} = \frac{10 \text{ g AlCl}_3}{100 \text{ ml aquadest}}$$

### Pembuatan NaOH 1 M

$$M = \frac{g}{mr} \times \frac{1000}{ml}$$

$$1 = \frac{g}{40} \times \frac{1000}{2}$$

$$1 = \frac{1000 g}{80}$$

$$1 = 12,5 \text{ g}$$

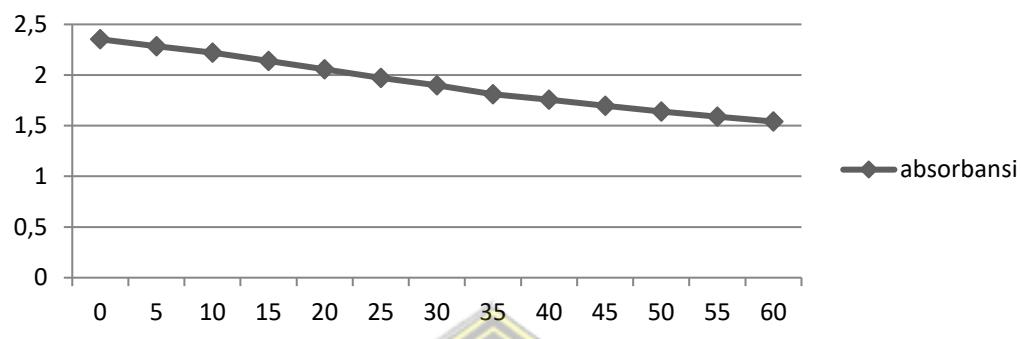
$$g = \frac{1}{12,5}$$

$$g = 0,08 \text{ gram}$$

### Penentuan Operating Time Kadar Flavonoid Total

Menit ke -	Absorbansi
0	2,3529
5	2,2855
10	2,2198
15	2,1405
20	2,0574
25	1,9719
30	1,8984
35	1,8108
40	1,7566
45	1,6957
50	1,6396
55	1,5891
60	1,5411

### Kurva Penentuan Operating Time Uji Flavonoid Total



### Kurva Baku Penentuan (Kurva Baku Kuersetin)

[mg/ml]	R1	R2	R3	Rata - rata
10	0,1265	0,125	0,115	0,122167
20	0,1951	0,1993	0,181	0,1918
30	0,2807	0,2864	0,2889	0,285333
40	0,3932	0,352	0,3288	0,358
50	0,5267	0,4952	0,4693	0,497067

### Kurva Baku Kuersetin

[ $\mu$ g/ml]	A <sub>510nm</sub>
10	0,122167
20	0,1918
30	0,285333
40	0,358
50	0,497067



### Perhitungan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanolik Buah Parijoto

$$A = 0,0161$$

$$B = 0,0916$$

$$R = 0,9833$$

Persamaan regresi linier :

$$y = B\chi + A$$

$$y = 0,0916\chi + 0,0161$$

y = absorbansi sampel

$\chi$  = kadar flavonoid sampel ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

#### Konsentrasi Flavonoid Total (x)

Sampel	R1	R2	R3	Rerata
Ekstrak	0,0118	0,0102	0,012	0,01133
Fraksi atas	0,019	0,0171	0,0159	0,01733
Fraksi bawah	0,017	0,0185	0,018	0,01783

#### Ekstrak

$$y = B\chi + A$$

$$y = 0,0916\chi + 0,0161$$

$$0,01133 = 0,0916\chi + 0,0161$$

$$0,01133 - 0,0161 = 0,0916 \times$$

$$-0,00477 = 0,0916 \times$$

$$X = -0,052 \text{ mg/g}$$

#### Fraksi N- Heksan N-heksan

$$y = B\chi + A$$

$$y = 0,0916\chi + 0,0161$$

$$\begin{aligned}
 0,01733 &= 0,0916 + 0,0161 \\
 0,01733 - 0,0161 &= 0,0916 x \\
 0,00123 &= 0,0916 x \\
 X &= 0,0134 \text{ mg/g}
 \end{aligned}$$

### Fraksi Metanol

$$\begin{aligned}
 y &= B\chi + A \\
 y &= 0,0916\chi + 0,0161 \\
 y &= B\chi + A \\
 y &= 0,0916\chi + 0,0161 \\
 0,01783 &= 0,0916 + 0,0161 \\
 0,01783 - 0,0161 &= 0,0916 x \\
 0,00173 &= 0,0916 x \\
 X &= 0,0188 \text{ mg/g}
 \end{aligned}$$

### Kadar Senyawa Flavonoid Total Ekstrak Metanolik, Fraksi Metanol dan Fraksi N-Heksan Buah Parijoto

Sampel	Kadar flavonoid total
Ekstrak metanolik	-0,052 mg/g
Fraksi metanol	0,0134 mg/g
Fraksi n-heksan	0,0188 mg/g

### Lampiran 9. Indeks polaritas eluen uji kemurnian Indeks polaritas pelarut

Pelarut	Indeks polaritas
N-heksan	0,1
Etil Asetat	4,4
Toluena	2,4
Kloroform	4,1

### Indeks polaritas eluen uji kemurnian

Sampel	Fase gerak	Indeks polaritas
1. Isolat metanol atas	N- heksan : Etil asetat (5 : 1)	0,49
	Toluena : Etil asetat (1 : 1)	0,68
	Kloroform : Etil asetat (1 : 1)	0,85
2. Isolat metanol bawah	N- heksan : Etil asetat (5 : 1)	0,49
	Toluena : Etil asetat (2 : 1)	1,26
	Kloroform : Etil asetat (4 : 2)	1,84

### Perhitungan indeks polaritas

$$\text{N- heksan : Etil asetat} = (\text{Konsentrasi} \times \text{IP}) \text{ N-heksan} + (\text{Konsentrasi} \times \text{IP}) \text{ Etil asetat}$$

$$(5 : 1) = 0,5 \times 0,1 + 0,1 \times 4,4$$

$$= 0,05 + 0,44$$

$$= 0,49$$

$$\text{Toluena : Etil asetat} = (\text{Konsentrasi} \times \text{IP}) \text{ Toluena} + (\text{Konsentrasi} \times \text{IP}) \text{ Etil asetat}$$

$$(5 : 1) = 0,1 \times 2,4 + 0,1 \times 4,4$$

$$= 0,24 + 0,44$$

$$= 0,68$$

$$\text{Kloroform : Etil asetat} = (\text{Konsentrasi} \times \text{IP}) \text{ N-heksan} + (\text{Konsentrasi} \times \text{IP}) \text{ Etil asetat}$$

$$(5 : 1) = 0,1 \times 4,1 + 0,1 \times 4,4$$

$$= 0,41 + 0,44$$

$$= 0,85$$

$$\text{N- heksan : Etil asetat} = (\text{Konsentrasi} \times \text{IP}) \text{ N-heksan} + (\text{Konsentrasi} \times \text{IP}) \text{ Etil asetat}$$

$$(5 : 1) = 0,5 \times 0,1 + 0,1 \times 4,4$$

$$= 0,05 + 0,44$$

$$= 0,49$$

$$\text{Kloroform : Etil asetat} = (\text{Konsentrasi} \times \text{IP}) \text{ N-heksan} + (\text{Konsentrasi} \times \text{IP}) \text{ Etil asetat}$$

$$(5 : 1) = 0,2 \times 4,1 + 0,1 \times 4,4$$

$$= 0,82 + 0,44$$

$$= 1,26$$

$$\text{Toluena : Etil asetat} = (\text{Konsentrasi} \times \text{IP}) \text{ Toluena} + (\text{Konsentrasi} \times \text{IP}) \text{ Etil asetat}$$

$$(4 : 2) = 0,4 \times 2,4 + 0,2 \times 4,4$$

$$= 0,96 + 0,88$$

$$= 1,84$$

**Lampiran 10. Perhitungan % penurunan kolesterol pada kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi n- heksan, isolat metanol bawah, dan isolat metanol atas.**

**Larutan baku kolesterol**

Dibuat larutan baku sampel 1000 ppm dalam labu ukur 50 ml.

$$\text{Ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{L}} \longrightarrow 1000 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{0,05 \text{ L}}$$

$$\text{mg} = 1000 \text{ ppm} \times 0,05 \text{ L}$$

= 50 mg  $\longrightarrow$  Baku kolesterol yang dibutuhkan

**Penentuan panjang gelombang**

Baku kolesterol 200 ppm + 2 ml asam asetat anhidrat + 0,1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

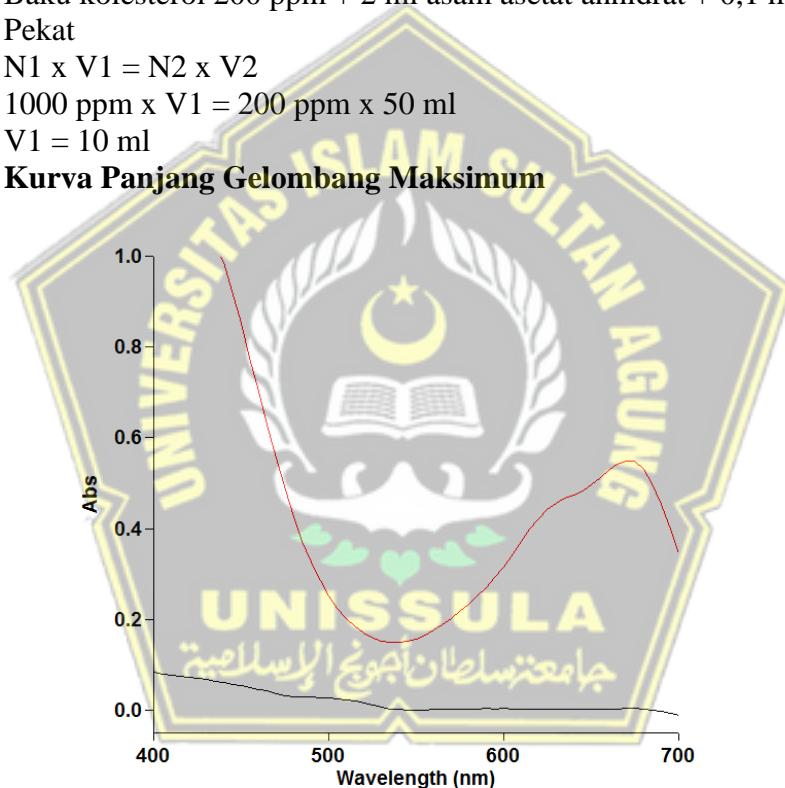
Pekat

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 200 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = 10 \text{ ml}$$

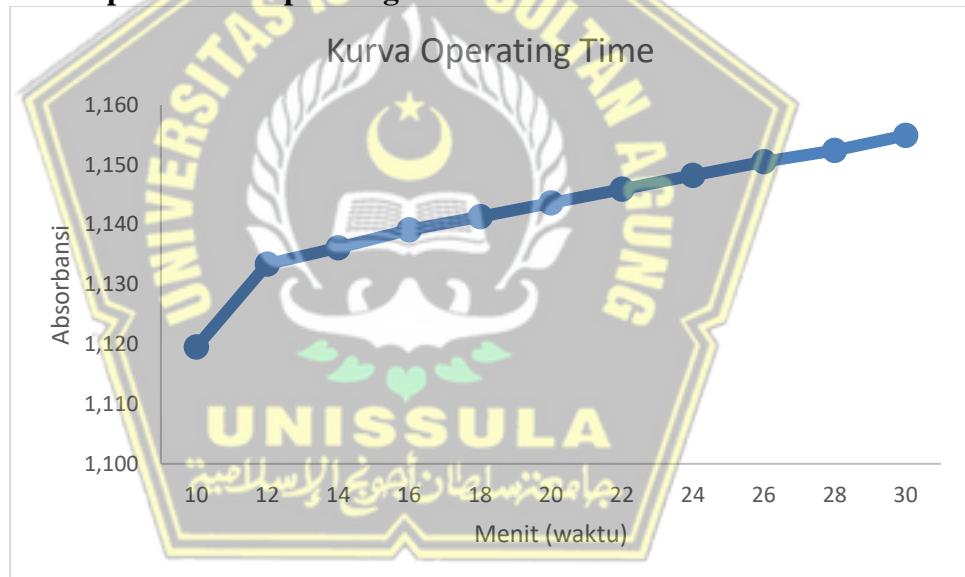
**Kurva Panjang Gelombang Maksimum**



### Penentuan *Operating Time* Baku kolesterol

Menit ke -	Absorbansi
10	1,1195
12	1,1334
14	1,1361
16	1,1391
18	1,1413
20	1,1436
22	1,1459
24	1,1482
26	1,1505
28	1,1524
30	1,1549

### Kurva penentuan Operating Time



### Kurva Standar Kolesterol

Kolesterol dengan konsentrasi 40,50,60,70,80,90, dan 100 ppm + 2 ml

asam asetat anhidrat + 0,1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat

### Pembuatan Larutan Standar Kolesterol

Rumus pengenceran = N<sub>1</sub> × V<sub>1</sub> = N<sub>2</sub> × V<sub>2</sub>

$$40 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm} \times V_1 = 40 \text{ ppm} \times 5 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ ml}$$

$$50 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \text{ ppm} \times 5 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ ml}$$

$$60 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm} \times V_1 = 60 \text{ ppm} \times 5 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,3 \text{ ml}$$

$$70 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm} \times V_1 = 70 \text{ ppm} \times 5 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,35 \text{ ml}$$

$$80 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm} \times V_1 = 80 \text{ ppm} \times 5 \text{ ml}$$

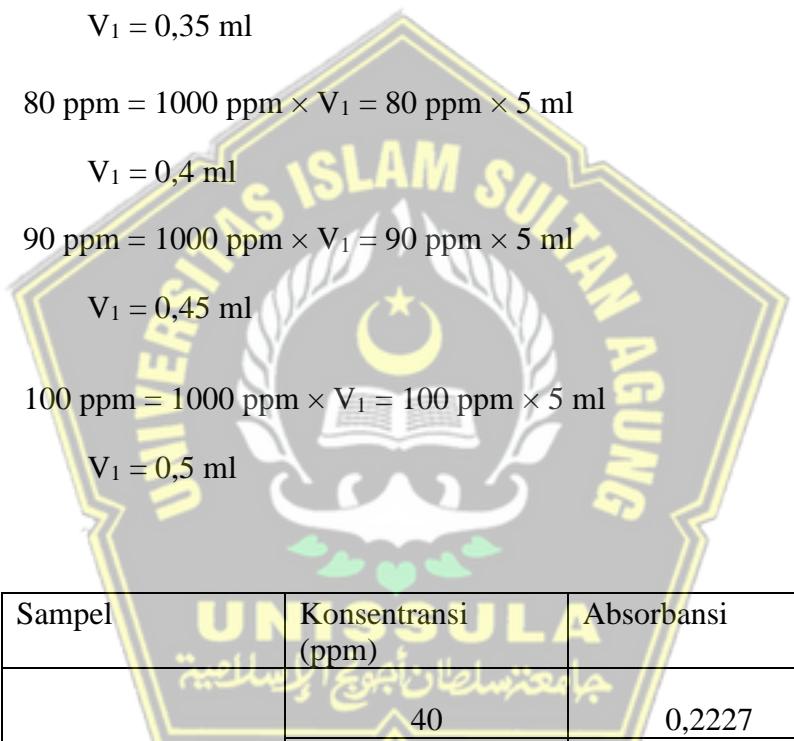
$$V_1 = 0,4 \text{ ml}$$

$$90 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm} \times V_1 = 90 \text{ ppm} \times 5 \text{ ml}$$

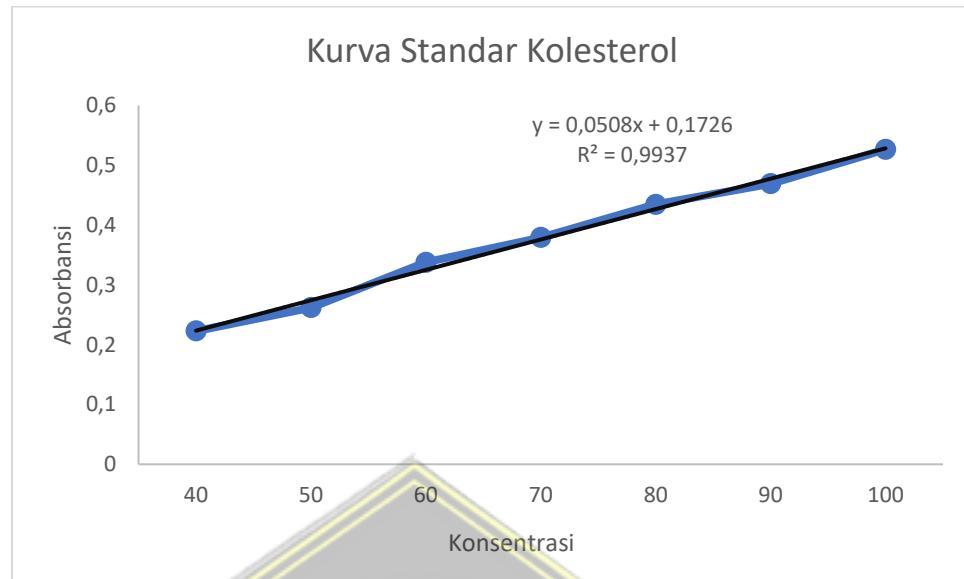
$$V_1 = 0,45 \text{ ml}$$

$$100 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 5 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$



Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Persamaan Regresi
Kolesterol	40	0,2227	$y = 0,0508x + 0,1726$ $R^2 = 0,9937$
	50	0,2618	
	60	0,3376	
	70	0,3791	
	80	0,4344	
	90	0,4689	
	100	0,5266	



**Pembuatan Larutan Baku Sampel Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Fraksi N-Heksan, Isolat Metanol Atas Dan Isolat Metanol Bawah Buah Parijoto**

Dibuat larutan baku sampel 1000 ppm dalam labu ukur 10 ml.

$$\text{Ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{L}} \longrightarrow 1000 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{0,01 \text{ L}}$$

$$\begin{aligned} \text{mg} &= 1000 \text{ ppm} \times 0,01 \text{ L} \\ &= 10 \text{ mg} \longrightarrow \text{sampel yang dibutuhkan} \end{aligned}$$

**Pembuatan Larutan Standar Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Fraksi N-Heksan, Isolat Metanol Atas Dan Isolat Metanol Bawah Buah Parijoto**

Rumus pengenceran =  $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$

$$50 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

$$75 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm} \times V_1 = 75 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,75 \text{ ml}$$

$$100 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

$$125 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm} \times V_1 = 125 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1,25 \text{ ml}$$

$$150 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm} \times V_1 = 150 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1,5 \text{ ml}$$

### Data Absorbansi Spektrofotometer UV- Vis Ekstrak Metanol, Fraksi

**Metanol, Fraksi N- Heksan, Isolat Metanol Atas, Isolat Metanol Bawah,**

**Kontrol Positif, Dan Kontrol Negatif**

No.	Sampel	konsentrasi	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 4	Rata-rata absorbansi
1	Ekstrak metanol	50 ppm	0,6137	0,6131	0,6132	0,6138	0,6134
		75 ppm	0,5883	0,5887	0,5882	0,5904	0,5889
		100 ppm	0,5773	0,5765	0,5770	0,5779	0,5771
		125 ppm	0,5627	0,563	0,5640	0,5643	0,5635
		150 ppm	0,5319	0,5324	0,5324	0,5326	0,5323
2	Fraksi metanol	50 ppm	0,8080	0,8082	0,8083	0,8082	0,8081
		75 ppm	0,7890	0,7894	0,7913	0,7895	0,7898
		100 ppm	0,6925	0,6920	0,6925	0,6923	0,6923
		125 ppm	0,6866	0,6868	0,6877	0,6880	0,6872
		150 ppm	0,6747	0,6750	0,6750	0,6749	0,6749
3	Fraksi n-heksan	50 ppm	0,7816	0,7820	0,7842	0,7847	0,7831
		75 ppm	0,7536	0,7540	0,7541	0,7543	0,7540
		100 ppm	0,7483	0,7483	0,7485	0,7486	0,7484
		125 ppm	0,7179	0,7188	0,7192	0,7198	0,7189

		150 ppm	0,6859	0,6860	0,6867	0,6867	0,6863
4	Isolat metanol atas	50 ppm	0,6118	0,6118	0,6115	0,6119	0,6117
		75 ppm	0,5552	0,5558	0,5556	0,5561	0,5556
		100 ppm	0,5113	0,5115	0,5111	0,5115	0,5113
		125 ppm	0,4490	0,4491	0,4489	0,4494	0,4491
		150 ppm	0,4366	0,4372	0,4370	0,4370	0,4369
5	Isolat metanol bawah	50 ppm	0,4082	0,4069	0,4072	0,4074	0,4074
		75 ppm	0,2975	0,2967	0,2977	0,2974	0,2973
		100 ppm	0,2634	0,2634	0,2638	0,2634	0,2635
		125 ppm	0,2355	0,2304	0,2417	0,2302	0,2344
		150 ppm	0,2238	0,2238	0,2238	0,2242	0,2239
6	Kontrol positif	50 ppm	0,5921	0,5918	0,5920	0,5931	0,5922
		75 ppm	0,5697	0,5701	0,5704	0,5709	0,5702
		100 ppm	0,5668	0,5676	0,5679	0,5681	0,5676
		125 ppm	0,5615	0,5616	0,5620	0,5633	0,5621
		150 ppm	0,5334	0,5342	0,5337	0,5336	0,5337
7	Kontrol negatif	200 ppm	1,0655	1,0673	1,0684	1,0686	1,0674

### Perhitungan kadar kolesterol ekstrak metanol parijoto

1. Kontrol negatif ( kolesterol 200 ppm)

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$1,0674 = 0,0508x + 0,1726$$

$$\begin{array}{r} x = 1,0674 - 0,1726 \\ \hline 0,0508 \end{array}$$

$$x = 17,6141 \text{ ppm}$$

2. Konsentrasi ekstrak 50 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,6134 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,6134 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 8,6771 \text{ ppm}$$

3. Konsentrasi ekstrak 75 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,5889 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,5889 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 8,1948 \text{ ppm}$$

4. Konsentrasi ekstrak 100 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,5771 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,5771 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 7,9625 \text{ ppm}$$

5. Konsentrasi ekstrak 125 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,5635 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,5635 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 7,6948 \text{ ppm}$$

6. Konsentrasi ekstrak 150 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,5323 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,5323 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 7,0807 \text{ ppm}$$

**perhitungan persen penurunan kadar kolesterol ekstrak metanol buah parijoto**

$$\% \text{ penurunan kolesterol} = \frac{\text{kadar kolesterol awal } 100 \text{ ppm} - (\text{kadar kolesterol} + \text{isolat})}{\text{kadar kolesterol awal } 100 \text{ ppm}} \times 100\%$$

1. Ekstrak metanol 50 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 8,6771}{17,6141} \times 100\% \\ = 50,7377\%$$

2. Ekstrak metanol 75 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 8,1948}{17,6141} \times 100\% \\ = 53,4759\%$$

3. Ekstrak metanol 100 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 7,9625}{17,6141} \times 100\% \\ = 54,7947\%$$

4. Ekstrak metanol 125 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 7,6948}{17,6141} \times 100\% \\ = 56,3145\%$$

5. Ekstrak metanol 150 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 7,0807}{17,6141} \times 100\% \\ = 59,8009\%$$

**Perhitungan kadar kolesterol fraksi metanol parijoto**

1. Kontrol negatif ( kolesterol 100 ppm)

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$1,0674 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{1,0674 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 17,6141 \text{ ppm}$$

2. Konsentrasi fraksi metanol 50 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,8081 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,8081 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 12,5098 \text{ ppm}$$

3. Konsentrasi fraksi metanol 75 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,7898 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,7898 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 12,1496 \text{ ppm}$$

4. Konsentrasi fraksi metanol 100 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,6923 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,6923 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 10,2303 \text{ ppm}$$

5. Konsentrasi fraksi metanol 125 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,6872 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,6872 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 10,1299 \text{ ppm}$$

6. Konsentrasi fraksi metanol 150 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,6749 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,6749 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 9,8877 \text{ ppm}$$

#### **perhitungan persen penurunan kadar kolesterol pada fraksi metanol parijoto**

1. Fraksi metanol 50 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 12,5098}{17,6141} \times 100\% \\ = 28,9784\%$$

2. Fraksi metanol 75 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 12,1496}{17,6141} \times 100\% \\ = 31,0234\%$$

3. Fraksi metanol 100 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 10,2303}{17,6141} \times 100\% \\ = 41,9198\%$$

4. Fraksi metanol 125 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 10,1299}{17,6141} \times 100\% \\ = 42,4898\%$$

5. Fraksi metanol 150 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 9,8877}{17,6141} \times 100\% \\ = 43,8648\%$$

#### **Perhitungan kadar kolesterol fraksi n heksan parijoto**

1. Kontrol negatif (kolesterol 100 ppm)

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$1,0674 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{1,0674 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 17,6141 \text{ ppm}$$

2. Konsentrasi fraksi n heksan 50 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,7831 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,7831 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 12,0177 \text{ ppm}$$

3. Konsentrasi fraksi n heksan 75 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,7540 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,7540 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 11,4448 \text{ ppm}$$

4. Konsentrasi fraksi n heksan 100 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,7484 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,7484 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 11,3346 \text{ ppm}$$

5. Konsentrasi fraksi n heksan 125 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,7189 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,7189 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 10,7539 \text{ ppm}$$

6. Konsentrasi fraksi n heksan 150 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,6863 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,6863 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 10,1122 \text{ ppm}$$

#### perhitungan persen penurunan kadar kolesterol pada fraksi n-heksan parijoto

1. Fraksi n- heksan 50 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 12,0177}{17,6141} \times 100\% \\ = 31,7722\%$$

2. Fraksi n- heksan 75 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 11,4448}{17,6141} \times 100\% \\ = 35,0247\%$$

3. Fraksi n- heksan 100 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 11,3346}{17,6141} \times 100\% \\ = 35,6504\%$$

4. Fraksi n- heksan 125 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 10,7539}{17,6141} \times 100\% \\ = 38,9472\%$$

5. Fraksi n- heksan 150 ppm

$$\begin{aligned}\% \text{ penurunan kadar kolesterol} &= \frac{17,6141 - 10,1122}{17,6141} \times 100\% \\ &= 42,5903\%\end{aligned}$$

**Perhitungan kadar kolesterol isolat metanol atas parijoto**

1. Kontrol negatif (kolesterol 100 ppm)

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$1,0674 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{1,0674 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 17,6141 \text{ ppm}$$

2. Konsentrasi isolat metanol atas 50 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,6117 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,6117 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 8,6437 \text{ ppm}$$

3. Konsentrasi isolat metanol atas 75 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,5556 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,5556 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 7,5394 \text{ ppm}$$

4. Konsentrasi isolat metanol atas 100 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,5113 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,5113 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 6,6673 \text{ ppm}$$

5. Konsentrasi isolat metanol atas 125 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,4491 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,4491 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 5,4429 \text{ ppm}$$

6. Konsentrasi isolat metanol atas 150 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,4369 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,4369 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 5,2028 \text{ ppm}$$

#### **perhitungan persen penurunan kadar kolesterol pada isolat metanol atas parijoto**

1. Isolat metanol atas 50 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 8,6437}{17,6141} \times 100\% \\ = 50,9274 \%$$

2. Isolat metanol atas 75 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 7,5394}{17,6141} \times 100\% \\ = 57,1970 \%$$

3. Isolat metanol atas 100 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 6,6673}{17,6141} \times 100\% \\ = 62,1478 \%$$

4. Isolat metanol atas 125 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 5,4429}{17,6141} \times 100\% \\ = 69,0991 \%$$

5. Isolat metanol atas 150 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 5,2028}{17,6141} \times 100\% \\ = 70,4626 \%$$

**Perhitungan kadar kolesterol isolat metanol bawah parijoto**

1. Kontrol negatif ( kolesterol 100 ppm)

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$1,0674 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{1,0674 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 17,6141 \text{ ppm}$$

2. Konsentrasi isolat metanol bawah 50 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,4074 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,4074 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 4,6220 \text{ ppm}$$

3. Konsentrasi isolat metanol bawah 75 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,2973 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,2973 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 2,4547 \text{ ppm}$$

4. Konsentrasi isolat metanol bawah 100 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,2635 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,2635 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 1,7894 \text{ ppm}$$

5. Konsentrasi isolat metanol bawah 125 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,2344 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,2344 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 1,2165 \text{ ppm}$$

6. Konsentrasi isolat metanol bawah 150 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,2239 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,2239 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 1,0098 \text{ ppm}$$

#### **perhitungan persen penurunan kadar kolesterol pada isolat metanol bawah parijoto**

1. Isolat metanol bawah 50 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 4,6220}{17,6141} \times 100\% \\ = 73,7594 \%$$

2. Isolat metanol bawah 75 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 2,4547}{17,6141} \times 100\% \\ = 86,0639 \%$$

3. Isolat metanol bawah 100 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 1,7894}{17,6141} \times 100\% \\ = 89,8413 \%$$

4. Isolat metanol bawah 125 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 1,2165}{17,6141} \times 100\% \\ = 93,0934 \%$$

5. Isolat metanol bawah 150 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 1,0098}{17,6141} \times 100\% \\ = 94,2669 \%$$

#### **Perhitungan kadar kolesterol kontrol positif (Simvastatin)**

1. Kontrol negatif (kolesterol 100 ppm)

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$1,0674 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{1,0674 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 17,6141 \text{ ppm}$$

2. Konsentrasi simvastatin 50 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,5922 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,5922 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 8,2598 \text{ ppm}$$

3. Konsentrasi simvastatin 75 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,5702 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,5702 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 7,8267 \text{ ppm}$$

4. Konsentrasi simvastatin 100 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,5676 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,5676 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 7,7755 \text{ ppm}$$

5. Konsentrasi simvastatin 125 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,5621 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,5621 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 7,6673 \text{ ppm}$$

6. Konsentrasi simvastatin 150 ppm

$$y = 0,0508x + 0,1726; R^2 = 0,9937$$

$$0,5337 = 0,0508x + 0,1726$$

$$x = \frac{0,5337 - 0,1726}{0,0508}$$

$$x = 7,1082 \text{ ppm}$$

**perhitungan persen penurunan kadar kolesterol pada Kontrol positif (Simvastatin)**

1. Simvastatin 50 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 8,2598}{17,6141} \times 100\% \\ = 53,1068\%$$

2. Simvastatin 75 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 7,8267}{17,6141} \times 100\% \\ = 55,5657\%$$

3. Simvastatin 100 ppm

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 7,7755}{17,6141} \times 100\% \\ = 55,8563\%$$

4. Simvastatin 125 ppm

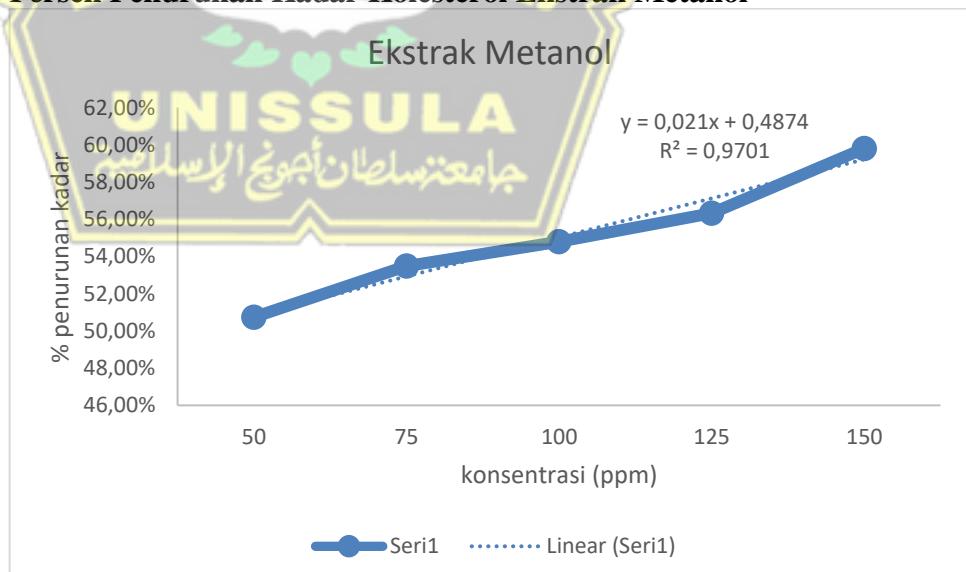
$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 7,6673}{17,6141} \times 100\% \\ = 56,4706\%$$

5. Simvastatin 150 ppm

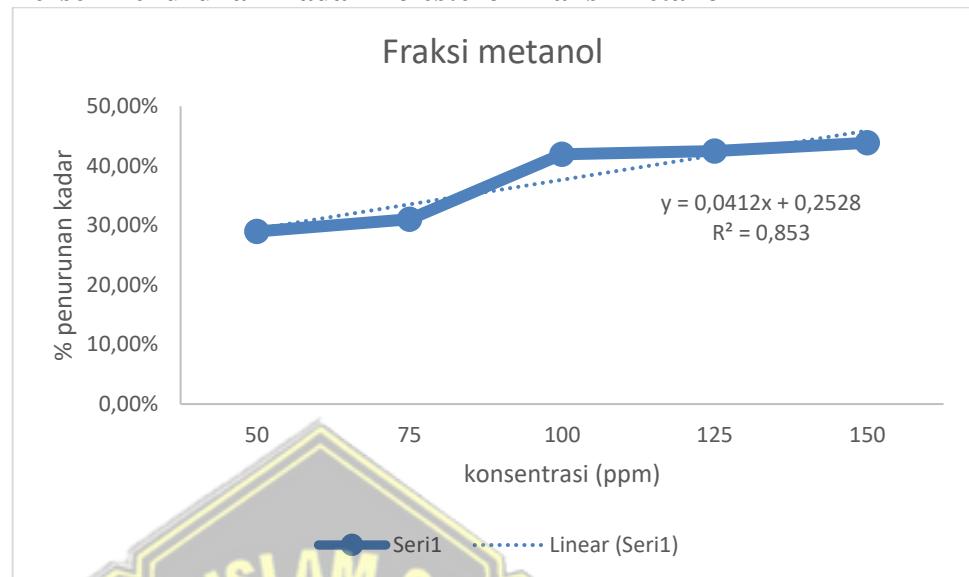
$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol} = \frac{17,6141 - 7,1082}{17,6141} \times 100\% \\ = 59,6448\%$$

**Kurva Persen Penurunan Kadar Kolesterol Masing-Masing Sampel**

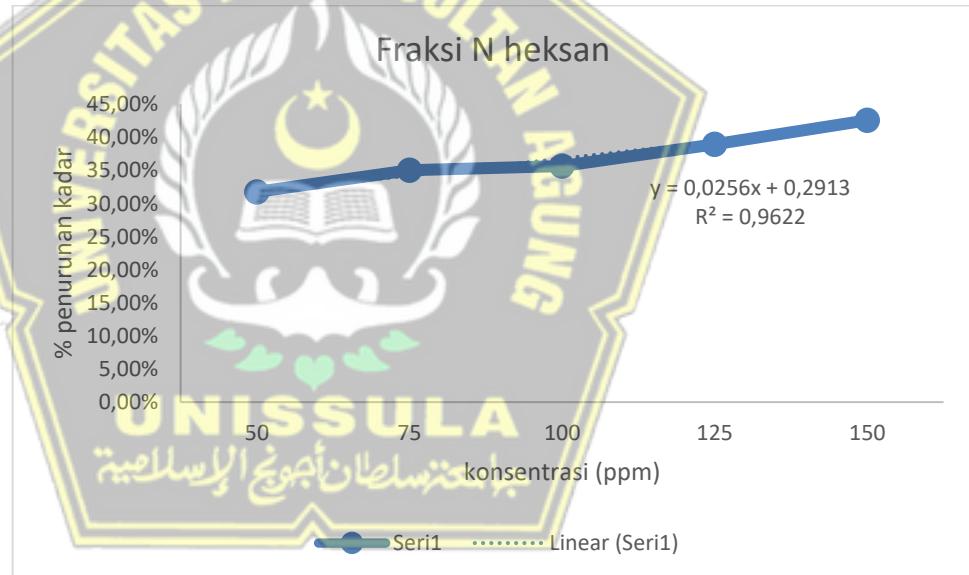
**Persen Penurunan Kadar Kolesterol Ekstrak Metanol**

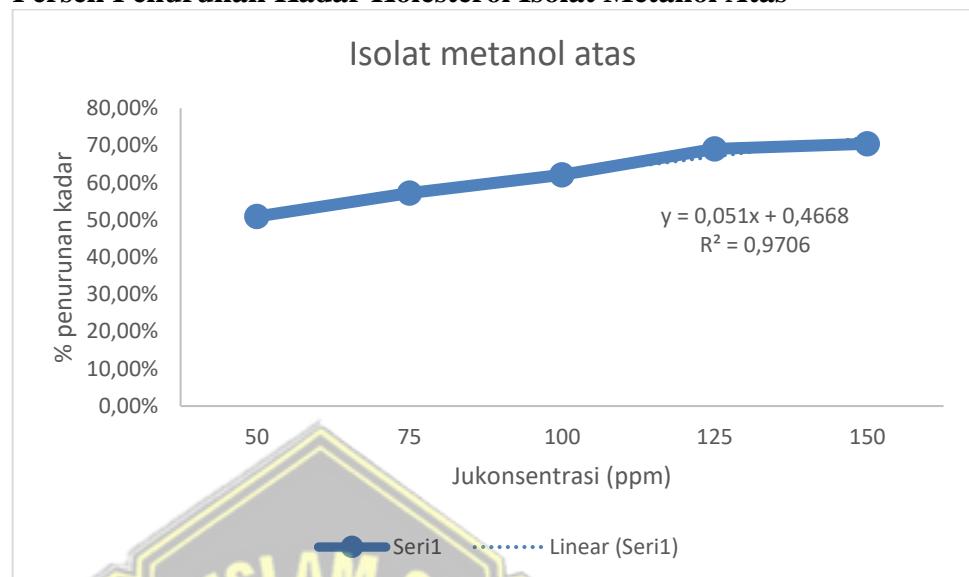
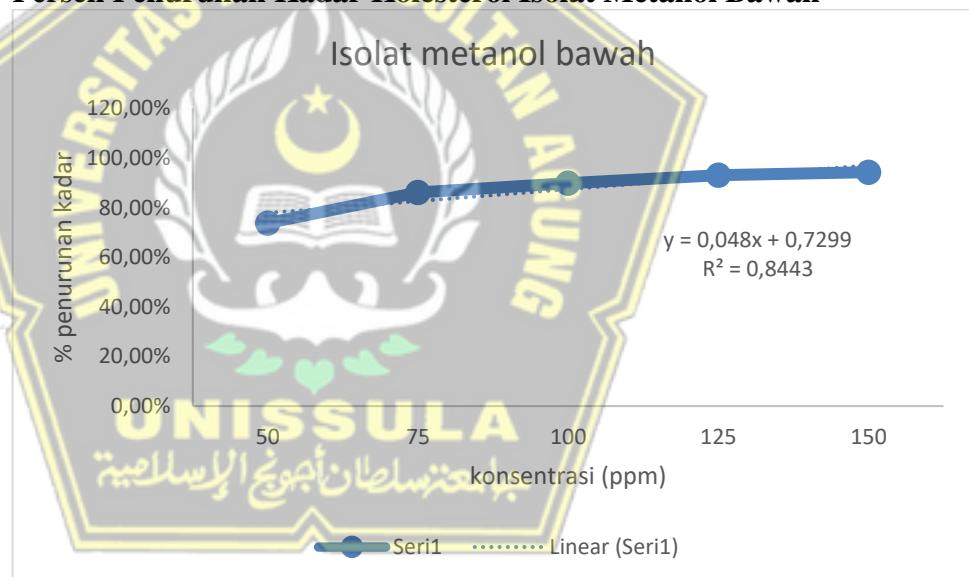


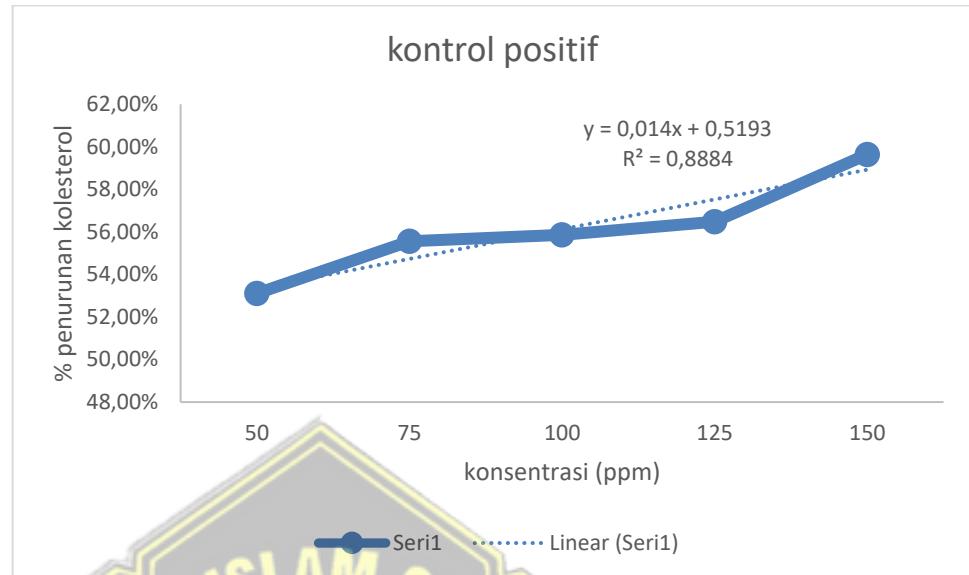
### Persen Penurunan Kadar Kolesterol Fraksi Metanol



### Persen Penurunan Kadar Kolesterol Fraksi N- Heksan



**Persen Penurunan Kadar Kolesterol Isolat Metanol Atas****Persen Penurunan Kadar Kolesterol Isolat Metanol Bawah**

**Penurunan Kadar Kolesterol Kontrol Positif**

**Lampiran 10. Hasil SPSS Persen Penurunan Kadar Kolesterol Pada Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Fraksi N- Heksan, Isolat Metanol Atas, Isolat Metanol Bawah, Kontrol Positif, Dan Kontrol Negatif**

**Deskriptive**

	Sampel	Statistic	Std. Error
% penurunan kadar	ekstrak metanol	Mean	55,0240%
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound
			50,8475%
			Upper Bound
			59,2005%
		5% Trimmed Mean	54,9967%
		Median	54,7900%
		Variance	11,314
		Std. Deviation	3,36360%
		Minimum	50,74%
		Maximum	59,80%
		Range	9,06%
		Interquartile Range	5,95%
		Skewness	,315
		Kurtosis	,452
	fraksi metanol	Mean	37,6540%
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound
			28,8884%
			Upper Bound
			46,4196%
		5% Trimmed Mean	37,7911%
		Median	41,9200%
		Variance	49,837
		Std. Deviation	7,05954%
		Minimum	28,98%
		Maximum	43,86%
		Range	14,88%
		Interquartile Range	13,17%
		Skewness	-,610
		Kurtosis	-2,988
	fraksi n heksan	Mean	36,7960%
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound
			31,6788%
			Upper Bound
			41,9132%
		5% Trimmed Mean	36,7533%
		Median	35,6500%

	Variance	16,985	
	Std. Deviation	4,12124%	
	Minimum	31,77%	
	Maximum	42,59%	
	Range	10,82%	
	Interquartile Range	7,38%	
	Skewness	,419	,913
	Kurtosis	-,208	2,000
isolat metanol bawah	Mean	87,4040%	3,69711%
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	77,1392%
		Upper Bound	97,6688%
	5% Trimmed Mean	87,7806%	
	Median	89,8400%	
	Variance	68,343	
	Std. Deviation	8,26698%	
	Minimum	73,76%	
	Maximum	94,27%	
	Range	20,51%	
isolat metanol atas	Interquartile Range	13,77%	
	Skewness	-1,490	,913
	Kurtosis	2,159	2,000
	Mean	61,9680%	3,65776%
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	51,8124%
		Upper Bound	72,1236%
	5% Trimmed Mean	62,1094%	
	Median	62,1500%	
	Variance	66,896	
	Std. Deviation	8,17900%	
kontrol positif	Minimum	50,93%	
	Maximum	70,46%	
	Range	19,53%	
	Interquartile Range	15,72%	
	Skewness	-,364	,913
	Kurtosis	-1,534	2,000
	Mean	56,1288%	1,04888%
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	53,2167%
		Upper Bound	59,0410%
	5% Trimmed Mean	56,1014%	

	Median	55,8563%	
	Variance	5,501	
	Std. Deviation	2,34536%	
	Minimum	53,11%	
	Maximum	59,64%	
	Range	6,54%	
	Interquartile Range	3,72%	
	Skewness	,507	,913
	Kurtosis	1,764	2,000
kontrol negatif	Mean	3,0000%	0,70711%
	95% Confidence Interval for Mean	1,0368%	
		Upper Bound	4,9632%
	5% Trimmed Mean	3,0000%	
	Median	3,0000%	
	Variance	2,500	
	Std. Deviation	1,58114%	
	Minimum	1,00%	
	Maximum	5,00%	
	Range	4,00%	
	Interquartile Range	3,00%	
	Skewness	,000	,913
	Kurtosis	-1,200	2,000

### Uji Normalitas

#### Tests of Normality

sampel	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
% penurunan kadar ekstrak metanol	,151	5	,200*	,993	5	,990
fraksi metanol	,327	5	,086	,804	5	,087
fraksi n heksan	,210	5	,200*	,975	5	,908
isolat metanol bawah	,235	5	,200*	,860	5	,226
isolat metanol atas	,208	5	,200*	,939	5	,660
kontrol positif	,242	5	,200*	,947	5	,713
kontrol negatif	,136	5	,200*	,987	5	,967

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

## Uji Homogenitas

**Test of Homogeneity of Variances**

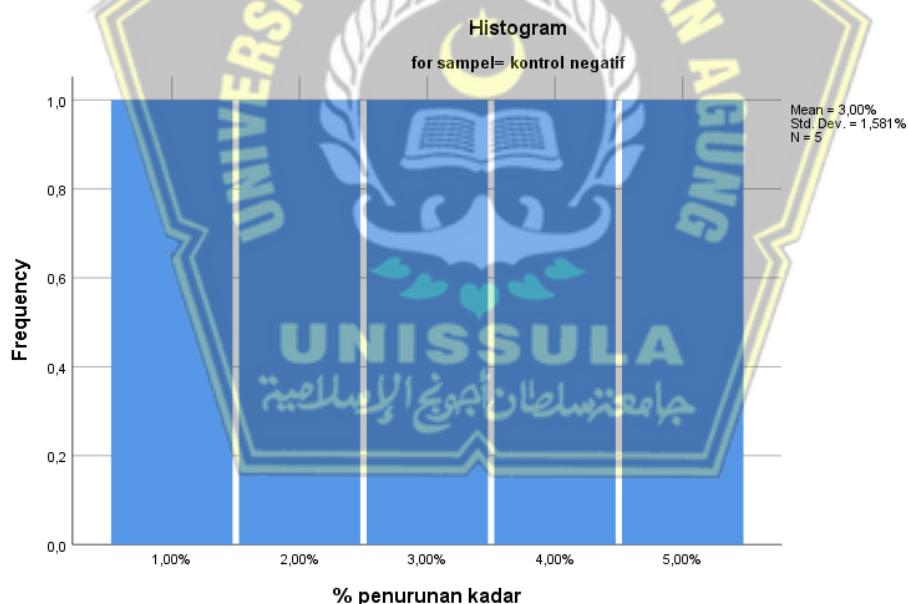
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
% penurunan kadar	Based on Mean	3,265	6	28	,015
	Based on Median	1,381	6	28	,256
	Based on Median and with adjusted df	1,381	6	14,531	,286
	Based on trimmed mean	3,077	6	28	,019

## ANOVA

% penurunan kadar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20601,035	6	3433,506	108,569	,000
Within Groups	885,500	28	31,625		
Total	21486,536	34			

## Histogram



### Kruskal-Wallis

#### Ranks

	sampel	N	Mean Rank
% penurunan kadar	ekstrak metanol	5	21,00
	fraksi metanol	5	10,60
	fraksi n heksan	5	10,40
	isolat metanol bawah	5	33,00
	isolat metanol atas	5	25,80
	kontrol positif	5	22,20
	kontrol negatif	5	3,00
	Total	35	

#### Test Statistics<sup>a,b</sup>

% penurunan  
kadar

Kruskal-Wallis H	30,952
df	6
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: sampel

### Kelompok Kontrol Negatif vs Kontrol Positif

#### Ranks

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	kontrol positif	5	8,00	40,00
	kontrol negatif	5	3,00	15,00
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: sampel

b. Not corrected for ties.

### Kelompok Kontrol Negatif vs Ekstrak Metanol

#### Ranks

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	ekstrak metanol	5	8,00	40,00
	kontrol negatif	5	3,00	15,00
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611

Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: sampel  
 b. Not corrected for ties.

### Kelompok Kontrol Negatif vs Fraksi Metanol

**Ranks**

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	fraksi metanol	5	8,00	40,00
	kontrol negatif	5	3,00	15,00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: sampel  
 b. Not corrected for ties.

### Kelompok Kontrol Negatif vs Fraksi N- Heksan

**Ranks**

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	fraksi n heksan	5	8,00	40,00
	kontrol negatif	5	3,00	15,00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: sampel  
 b. Not corrected for ties.

### Kelompok Kontrol Negatif vs Isolat Metanol Bawah

**Ranks**

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	isolat metanol bawah	5	8,00	40,00
	kontrol negatif	5	3,00	15,00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: sampel  
b. Not corrected for ties.

**Kelompok Kontrol Negatif vs Isolat Metanol Atas****Ranks**

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	isolat metanol atas	5	8,00	40,00
	kontrol negatif	5	3,00	15,00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: sampel  
b. Not corrected for ties.

**Kelompok Kontrol Positif vs Ekstrak Metanol****Ranks**

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	ekstrak metanol	5	5,00	25,00
	kontrol positif	5	6,00	30,00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	10,000
Wilcoxon W	25,000
Z	-,522
Asymp. Sig. (2-tailed)	,602
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,690 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: sampel  
b. Not corrected for ties.

### Kelompok Kontrol Positif vs Fraksi Metanol Ranks

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	fraksi metanol	5	3,00	15,00
	kontrol positif	5	8,00	40,00
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: sampel

b. Not corrected for ties.

### Kelompok Kontrol Positif vs Fraksi N- Heksan Ranks

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	fraksi n heksan	5	3,00	15,00
	kontrol positif	5	8,00	40,00
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: sampel

b. Not corrected for ties.

### Kelompok Kontrol Positif vs Isolat Metanol Bawah Ranks

	Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	isolat metanol bawah	5	8,00	40,00
	kontrol positif	5	3,00	15,00
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: sampel

b. Not corrected for ties.

### Kelompok Kontrol Positif vs Isolat Metanol Atas Ranks

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	isolat metanol atas	5	6,80	34,00
	kontrol positif	5	4,20	21,00
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: sampel

b. Not corrected for ties.

### Kelompok Ekstrak Metanol vs Fraksi Metanol Ranks

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	ekstrak metanol	5	8,00	40,00
	fraksi metanol	5	3,00	15,00
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: sampel

b. Not corrected for ties.

### Kelompok Ekstrak Metanol vs Fraksi N- Heksan Ranks

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	ekstrak metanol	5	8,00	40,00
	fraksi n heksan	5	3,00	15,00
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: sampel  
 b. Not corrected for ties.

### Kelompok Ekstrak Metanol vs Isolat Metanol Bawah Ranks

	Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	ekstrak metanol	5	3,00	15,00
	isolat metanol bawah	5	8,00	40,00
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: sampel  
 b. Not corrected for ties.

### Kelompok Ekstrak Metanol vs Isolat Metanol Atas Ranks

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	ekstrak metanol	5	4,00	20,00
	isolat metanol atas	5	7,00	35,00
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	5,000
Wilcoxon W	20,000
Z	-1,567
Asymp. Sig. (2-tailed)	,117
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,151 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: sampel  
 b. Not corrected for ties.

### Kelompok Fraksi Metanol vs Fraksi N- Heksan Ranks

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	fraksi metanol	5	5,60	28,00
	fraksi n heksan	5	5,40	27,00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	12,000
Wilcoxon W	27,000
Z	-,104
Asymp. Sig. (2-tailed)	,917
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: sampel

b. Not corrected for ties.

**Kelompok Fraksi Metanol vs Isolat Metanol Bawah  
Ranks**

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	fraksi metanol	5	3,00	15,00
	isolat metanol bawah	5	8,00	40,00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: sampel

b. Not corrected for ties.

**Kelompok Fraksi Metanol vs Isolat Metanol Atas  
Ranks**

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	fraksi metanol	5	3,00	15,00
	isolat metanol atas	5	8,00	40,00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: sampel

b. Not corrected for ties.

**Kelompok Fraksi N- Heksan vs Isolat Metanol Bawah  
Ranks**

	Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	fraksi n heksan	5	3,00	15,00
	isolat metanol bawah	5	8,00	40,00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: sampel  
b. Not corrected for ties.

**Kelompok Fraksi N- Heksan vs Isolat Metanol Atas  
Ranks**

	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	fraksi n heksan	5	3,00	15,00
	isolat metanol atas	5	8,00	40,00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**% penurunan  
kadar

Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: sampel  
b. Not corrected for ties.

**Kelompok Isolat Metanol Bawah vs Isolat Metanol Atas  
Ranks**

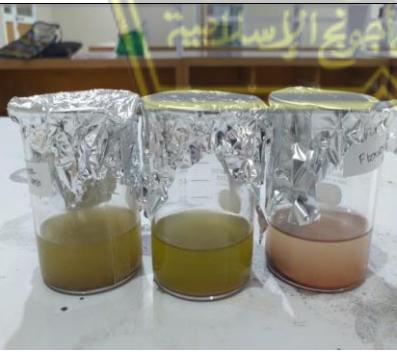
	sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
% penurunan kadar	isolat metanol bawah	5	8,00	40,00
	isolat metanol atas	5	3,00	15,00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**% penurunan  
kadar

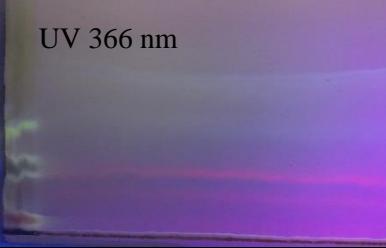
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: sampel  
b. Not corrected for ties.

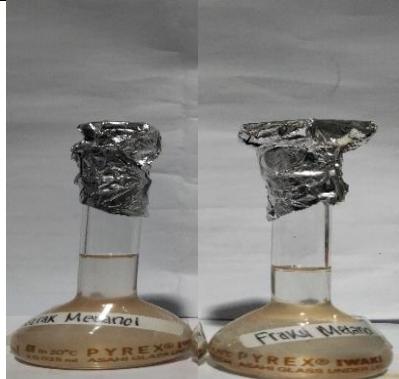
### Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian

Keterangan n	Gambar	Keterangan n	Gambar
1). Sortasi buah parijoto		2). Penimbangan buah parijoto kering	
3). Penghalusan buah parijoto		4). Proses ekstraksi maserasi	
5). Hasil ekstraksi		6). Proses fraksinasi	
7). Hasil fraksinasi		8). Pengukuran kadar flavonoid	

<b>9).</b> Vortex fraksi		<b>10).</b> Pengaktif an plat KLTP dalam oven suhu 1050 selama 30 menit	
<b>11).</b> Penotolan fraksi pada KLTP		<b>12).</b> Penjenuhan KLTP dengan eluen n-heksan : etil asetat (5 : 1)	
<b>13).</b> Penyempitan plat KLTP dengan cerium sulfate		<b>14).</b> plat KLTP setelah disemprot dengan cerium sulfate	
<b>15).</b> Pemanasan plat KLTP		<b>16).</b> Plat KLTP setelah dipanaskan	
<b>17).</b> Penampakan noda pada plat KLTP di UV 254 nm dan 366 nm	UV 254 nm	<b>18).</b> Pengerokan isolat	

	UV 366 nm 		
19). Penyaringan isolat di medipump		20). Penguapan isolat diatas waterbath pada suhu 50° C	
21). Hasil isolasi		22). Uji kemurnian isolat	
23). Larutan induk kolesterol 1000 ppm		24). Larutan induk simvastatin 1000 ppm	

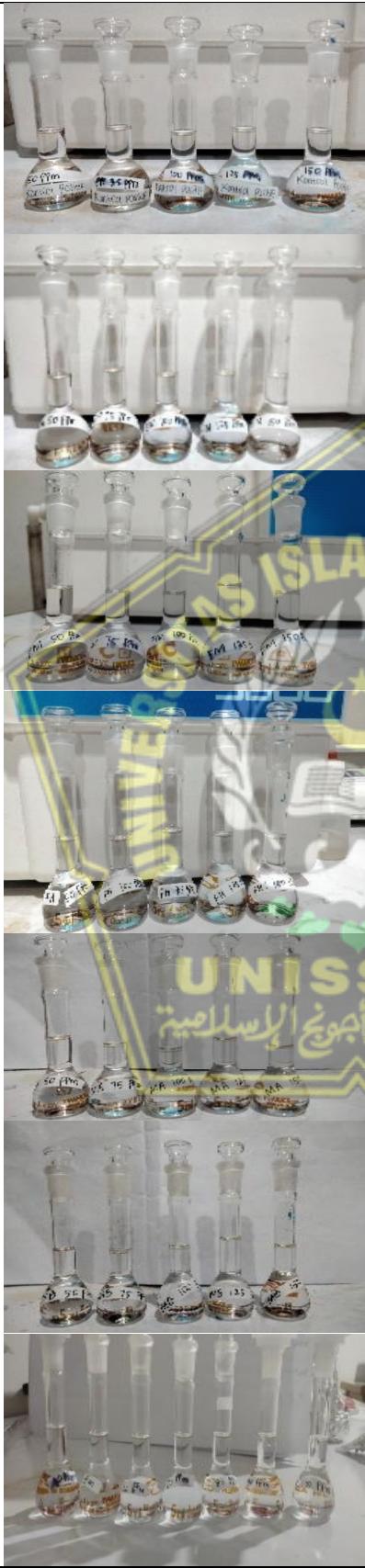
25).  
Larutan  
induk  
sampel  
1000 ppm



26).  
Preparasi  
pembuata  
n larutan  
seri



27).  
Larutan  
seri sampel  
50, 75, 100,  
125, dan  
150 ppm



28).  
Preparasi  
pencampuran  
sampel +  
kolesterol  
200 ppm  
di ruang  
gelap



<p><b>29).</b> Larutan uji kurva standar kolesterol</p>		<p><b>30).</b> Larutan blanko (klorofor m + 2 ml asam asetat anhidrat + 0,1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat)</p>	
<p><b>31).</b> Larutan uji aktivitas antikolesterol ekstrak metanol</p>		<p><b>32).</b> Larutan uji aktivitas antikolesterol fraksi metanol</p>	
<p><b>33).</b> Larutan uji aktivitas antikolesterol fraksi n-heksan</p>		<p><b>34).</b> Larutan uji aktivitas antikolesterol isolat metanol atas</p>	
<p><b>35).</b> Larutan uji aktivitas antikolesterol isolat metanol bawah</p>		<p><b>36).</b> Larutan uji aktivitas antikolesterol kontrol positif (simvastatin)</p>	

37). Larutan kontrol negatif 200 ppm		38). Pembacaan spektrofotometer UV- Vis	
--	---	--	---

