

**UJI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL FRAKSI METANOL DAN FRAKSI  
N-HEKSAN EKSTRAK METANOLIK DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica*  
L.) MENGGUNAKAN METODE LIEBERMAN -BURCHARD**

**Skripsi**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai gelar Sarjana Farmasi



diajukan oleh :

**Siti Ulfa Koirulnikma**

**33101800080**

**PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG**

**SEMARANG**

**2023**

**SKRIPSI**  
**UJI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL FRAKSI METANOL DAN FRAKSI**  
**N-HEKSAN EKSTRAK METANOLIK DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica***  
**L.) MENGGUNAKAN METODE LIEBERMAN -BURCHARD**

Dipersiapkan dan disusun oleh

**Siti Ulfa Koirulnikma**

**33101800080**

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji  
Pada tanggal 23 Februari 2023  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

**Susunan Tim Penguji**

Pembimbing I

**Apt. Ika Buana Januarti., M.Sc**

Anggota Tim Penguji I

**Dwi Endah Kusumawati., M.Si**

Pembimbing II

**Apt. Rina Wijayanti., M.Sc**

Anggota Tim Penguji II

**Apt. Azmi Rahmadani., M.Pharm.Sci**

Semarang, 23 Februari 2023  
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran  
Universitas Islam Sultan Agung Semarang  
Dekan,



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

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Yang Bertanda Tangan Di Bawah Ini :

Nama : Siti Ulfa Koirulnikma

NIM : 33101800080

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**“ UJI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL FRAKSI METANOL DAN FRAKSI  
N-HEKSAN EKSTRAK METANOLIK DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.)  
MENGUNAKAN METODE LIEBERMAN -BURCHARD “**

Adalah benar karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil sebagian atau seluruh hasil karya tulis ilmiah orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Apabila dikemudian hari saya terbukti melakukan tindakan plagiat tersebut maka saya siap menerima sanksi apapun termasuk penutupan gelar sarjana yang telah diberikan.

Semarang, 23 Februari 2023

Yang Menyatakan,

  
  
Siti Ulfa Koirulnikma

## PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Siti Ulfa Koirulnikma

NIM : 33101800080

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran

Alamat : Desa Temengeng Rt 01 Rw 03, Kec.Sambong Kab.Blora

No HP/ Email : 085290330127/ [ulfah5169@gmail.com](mailto:ulfah5169@gmail.com)

Dengan ini menyatakan karya tulis ilmiah berupa skripsi dengan judul:

**“UJI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL FRAKSI METANOL DAN FRAKSI  
N-HEKSAN EKSTRAK METANOLIK DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.)  
MENGUNAKAN METODE LIEBERMAN -BURCHARD “**

Dan menyetujuinya menjadi milik Universitas Islam Sultan Agung Semarang 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. Apabila dikemudian terbukti ada pelanggaran Hak Cipta/ Plagiarisme dalam karya ilmiah ini, maka segala bentuk tuntutan hukum yang timbul akan saya tanggung secara pribadi tanpa melibatkan Universitas Islam Sultan Agung.

Semarang, 23 Februari 2023

Yang Menyatakan,



METERAI  
TEMPEL  
58AAKX320698529

Siti Ulfa Koirulnikma

## PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr Wb.

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan nikmat, rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penyusunan skripsi ini dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL FRAKSI METANOL DAN FRAKSI N-HEKSAN EKSTRAK METANOLIK DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.) MENGGUNAKAN METODE LIEBERMAN-BURCHARD”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.

Dalam proses penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bimbingan serta arahan dari berbagai pihak. Untuk itu ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan terutama kepada :

1. Bapak Prof. Dr. H.Gunarto, SH., M. Hum., selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., SH selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Ibu apt. Rina Wijayanti, M.Sc. selaku Ketua Prodi Farmasi Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
4. Ibu apt. Ika Buana Januarti, M. Sc. selaku pembimbing I dan Ibu apt. Rina Wijayanti, M.Sc. selaku pembimbing II yang telah senantiasa membimbing, mengarahkan dan memotivasi penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

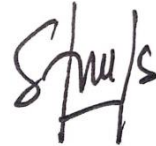
5. Ibu Dwi Endah Kusumawati, M.Si selaku penguji I dan Ibu Azmi Rahmadini, M.Pharm.Sci Selaku penguji II yang telah memberikan saran dan masukan kepada penulis.
6. Segenap civitas akademika Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang terutama seluruh dosen, terima kasih atas segala ilmu dan bimbingannya.
7. Bapak H.Sunardi dan Ibu Hj.Lasmiyati tercinta serta kakak M. Nanang Rahman dan Siti Nurma Lihatina yang senantiasa memberikan cinta kasih, berkat, doa dan dukungannya dari waktu ke waktu.
8. Sahabat serta saudara terdekat saya yang sudah mensupport dari belakang layar.
9. Teman- teman kost jasmine yang saya cintai ( Nadya Rizky, Nafisyatul Ulfa, Nur Hariyati, Syifa Audina Banin, Sabila Nur Fitri, Lusiana Dwi, arfiana Nindya, Tiara Putri, Silfia Eka, Sisky Elsyanda dan Diah Permata Sari)
10. Teman-teman angkatan formicidae'18 yang selalu saling mendukung satu sama lain dan memberi motivasi.
11. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik moril maupun materil.

Dengan segala kerendahan hati penulis telah berusaha menyelesaikan skripsi ini, apabila masih terdapat kekurangan dan kelemahan yang terdapat pada skripsi ini maka saran dan kritik yang bersifat membangun dari pembaca

akan diterima untuk penyempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat berguna bagi penulis ilmu pendidikan saat ini.

Wassalamu'alaikum Wr Wb.

Semarang, 23 Februari 2023



Siti Ulfa Koirulnikma



## DAFTAR ISI

JUDUL PENELITIAN.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	iv
PRAKATA.....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR SINGKATAN.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan masalah.....	3
1.3 Tujuan penelitian.....	3
1.4 Manfaat penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Kajian Teori.....	5
2.1.1 Tanaman Daun Beluntas ( <i>Pluchea indica</i> L.).....	5
2.1.2 Klasifikasi Tanaman Beluntas.....	5
2.1.3 Morfologi Tanaman Beluntas.....	6
2.1.4 Kandungan Kimia.....	6
2.1.5 Khasiat.....	7
2.2 Ekstraksi.....	7
2.2.1 Definisi Ekstraksi.....	7
2.2.2 Maserasi.....	8
2.3 Fraksinasi.....	9
2.4 Hiperkolesterolemia.....	9



2.5	Metode Lieberman-Burchard .....	10
2.6	Spektrofotometri UV-vis .....	11
2.7	Hubungan Fraksi metanol dan Fraksi n-heksan Daun Beluntas dengan Aktivitas Antikolesterol.....	12
2.8	Kerangka Teori.....	13
2.9	Kerangka Konsep .....	14
2.10	Hipotesis .....	14
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>		<b>15</b>
3.1	Jenis Penelitian Dan Rancangan Penelitian.....	15
3.2	Variabel dan Definisi Operasional .....	15
3.2.1.	Variabel.....	15
3.2.2.	Definisi Operasional .....	15
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian.....	16
3.3.1	Populasi Penelitian.....	16
3.3.2	Sampel Penelitian .....	16
3.4	Instrumen dan Bahan Penelitian .....	17
3.4.1	Instrumen Penelitian .....	17
3.4.2	Bahan Penelitian .....	17
3.5	Prosedur Penelitian.....	17
3.5.1	Determinasi Tanaman .....	17
3.5.2	Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Beluntas .....	18
3.5.3	Pembuatan Fraksinasi .....	18
3.5.4	Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Beluntas .....	19
3.5.5	Identifikasi Flavonoid Fraksi metanol dan n-heksana daun Beluntas... ..	21
3.5.6	Uji Kadar Flavonoid total .....	22
3.5.7	Uji Aktivitas Penurunan Kadar Kolesterol dengan Metode Lieberman- Burchard.....	23
3.6	Tempat dan Waktu Penelitian.....	26
3.6.1	Tempat Penelitian .....	26
3.6.2	Waktu Penelitian.....	27

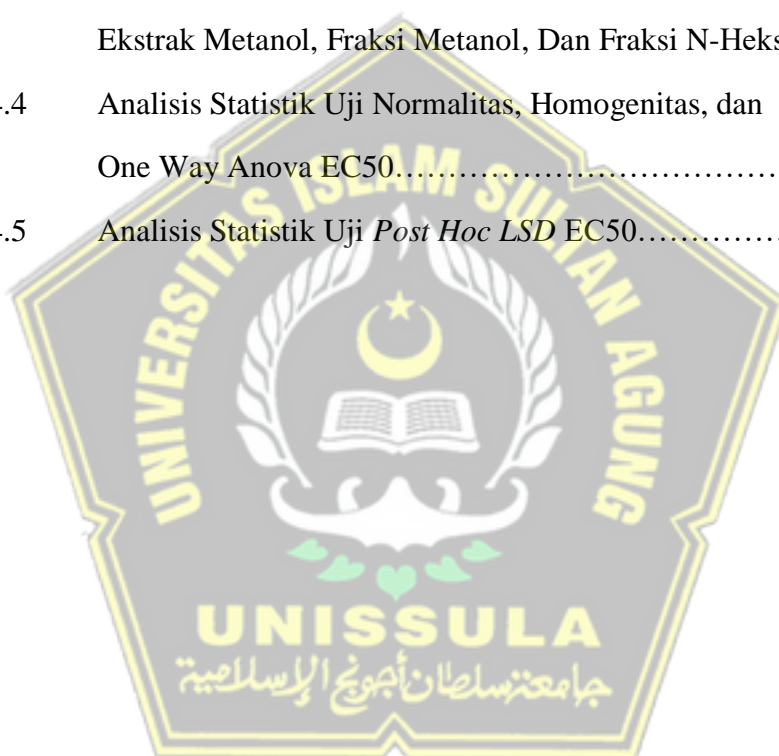
3.7	Analisis Data.....	27
3.8	Alur Penelitian.....	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....		29
4.1	Hasil Penelitian.....	29
4.1.1	Determinasi Tanaman Beluntas .....	29
4.1.2	Rendemen Tanaman Beluntas .....	30
4.1.3	Pemeriksaan Kadar Air .....	30
4.1.4	Skrining fitokimia .....	30
4.1.5	Identifikasi Flavonoid Fraksi metanol dan n-heksana daun Beluntas.....	32
4.1.6	Kadar Senyawa Flavonoid Total Fraksi Metanol dan Fraksi n-heksan Daun Beluntas.....	33
4.1.7	Hasil Uji Aktivitas Antikolesterol Pada Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol dan Fraksi n-heksan.....	33
4.1.8	Analisis Statistik Pengukuran EC50 Penurunan Kadar Kolesterol Pada Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol dan Fraksi n-heksan.....	35
4.2	Pembahasan .....	37
4.2.1.	Determinasi Tanaman .....	37
4.2.2.	Ekstraksi Metanolik Daun Beluntas .....	37
4.2.3.	Fraksinasi Daun Beluntas .....	39
4.2.4.	Uji Skrining Fitokimia .....	41
4.2.5.	Identifikasi Flavonoid Fraksi Metanol dan Fraksi n-heksan Daun beluntas .....	42
4.2.6.	Uji Kadar Flavonoid Total .....	43
4.2.7.	Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol dan Fraksi n-heksan Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol.....	45
BAB V PENUTUP.....		52
5.1	Kesimpulan.....	52
5.2	Saran .....	52
DAFTAR PUSTAKA .....		53
LAMPIRAN.....		58

## DAFTAR SINGKATAN

$\text{AlCl}_3$	: Alumunium Klorida
ANOVA	: <i>Analysis Of Variance</i>
BB	: Berat Badan
$^{\circ}\text{C}$	: Derajat Celcius
cm	: Centimeter
g	: Gram
HCl	: Asam Klorida
HDL	: <i>High Density</i> Lipoprotein
HMG-CoA	: Hydroxy Methyl Glutaryl-Coenzyme A
$\text{H}_2\text{SO}_4$	: Asam Sulfat
Kg	: Kilogram
KLT	: Kromatografi Lapis Tipis
LDL	: <i>Low Density</i> Lipoprotein
m	: Meter
mg	: milligram
mL	: Mililiter
NaOH	: Natrium Hidroksida
nm	: Nanometer
ppm	: Part Per Million
Rf	: <i>Retention Factor</i>
rpm	: Rotasi Per menit
UV-Vis	: <i>Ultraviolet Visible</i>
VLDL	: <i>Very Low Density</i> Lipoprotein
$\mu\text{g}$	: Mikrogram

## DAFTAR TABEL

Tabel 1	Rincian Kegiatan Penelitian.....	27
Tabel 4.1	Skrining Fitokimia.....	31
Tabel 4.2	Kadar Senyawa Flavonoid Total Fraksi Metanol dan Fraksi n-heksan Daun Beluntas.....	33
Tabel 4.3	Persen Penurunan Kadar Kolesterol Pada Kontrol Positif, Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Dan Fraksi N-Heksan.....	34
Tabel 4.4	Analisis Statistik Uji Normalitas, Homogenitas, dan One Way Anova EC50.....	36
Tabel 4.5	Analisis Statistik Uji <i>Post Hoc</i> LSD EC50.....	36



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Daun Beluntas ( <i>Pluchea indica</i> L.) .....	5
Gambar 2.2	Kerangka Teori.....	13
Gambar 2.3	Kerangka Konsep .....	14
Gambar 4.1	Identifikasi Flavonoid Fraksi Metanol Dan Fraksi N-Heksan (a. Kuersetin, b. Fraksi n-heksan, c. Fraksi metanol) .....	32
Gambar 4.2	Kadar Senyawa Flavonoid Total Fraksi Metanol dan Fraksi n- heksan Daun Beluntas .....	33
Gambar 4.3	Kurva % Penurunan kadar Pada Kontrol Positif, Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol Dan Fraksi N-Heksan.....	34



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	<i>Etichal Clearance</i> .....	58
Lampiran 2.	Determinasi Tanaman.....	59
Lampiran 3.	Baku Kolesterol.....	60
Lampiran 4.	Sertifikat Analisis Asam Asetat Anhidrat.....	61
Lampiran 5.	Perhitungan Hasil Randemen.....	62
Lampiran 6.	Kadar Air.....	62
Lampiran 7.	Skrining Fitokimia.....	63
Lampiran 8.	Identifikasi Flavonoid Fraksi metanol dan Fraksi n-heksan daun beluntas.....	65
Lampiran 9.	Uji Kadar Flavonoid Total.....	66
Lampiran 10.	Perhitungan % penurunan kolesterol ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi n-heksan dan simvastatin.....	71
Lampiran 11.	Hasil SPSS EC50.....	93
Lampiran 12.	Dokumentasi Penelitian.....	97



## INTISARI

Ekstrak metanol daun beluntas terbukti memiliki aktivitas antikolesterol sebesar 10%, namun belum ada penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antikolesterol pada fraksi maupun isolat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antikolesterol dari ekstrak metanol, fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas (*Pluchea indica* L) menggunakan metode *Lieberman Burchard*.

Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan desain *post-test only control group design*. Tahapan yang dilakukan diantaranya ekstraksi, fraksinasi, skrining fitokimia, identifikasi flavonoid, uji kadar flavonoid total, dan uji aktivitas penurunan kadar kolesterol dengan metode *Lieberman Burchard*. Terdapat beberapa sampel yaitu ekstrak metanol, fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas yang dibuat seri konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250 dan 300 ppm. Pengujian aktivitas antikolesterol dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis. Analisis menggunakan *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan *Post Hoc LSD*.

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kontrol negatif dengan semua kelompok sampel. Persen penurunan kadar kolesterol pada ekstrak metanol sebesar 33,64%, fraksi metanol 36,75%, fraksi n-heksan 32,58%, dan simvastatin 10 mg 39,25%. Hasil dari nilai  $EC_{50}$  ekstrak metanol 284,05 ppm, fraksi metanol 279,14 ppm, fraksi n-heksan 294,13 ppm dan simvastatin 270,53 ppm.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak metanol, fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas memiliki aktivitas sebagai penurun kadar kolesterol.

Kata kunci : Daun Beluntas, Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Fraksi N-heksan, , Kadar Kolesterol

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

Ekstrak metanolik daun beluntas mengandung senyawa flavonoid yang berkhasiat sebagai antikolesterol. Kolesterol merupakan senyawa yang berpartisipasi dalam hormone yaitu steroid serta asam lemak maupun dalam pembentukan membran sel. Pada badan manusia, flavonoid dapat digunakan dalam menghilangkan kolesterol yang mengendap di dinding pembuluh darah koroner dan memiliki mekanisme kerja sebagai penghambat enzim HMG-CoA reduktase untuk turunya kadar kolesterol dalam tubuh. Kandungan kolesterol yang tinggi menjadi pemicu adanya penyakit degeneratif kardiovaskular (hiperkolesterolemia). Hiperkolesterolemia adalah kadar kolesterol didalam darah manusia yang meningkat dan melebihi batas normal yaitu >200mg/dL (Koban et al., 2019 ; Ghani et al., 2016).

Prevalensi hiperkolesterolemia berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesmas) 2018 di Indonesia, kadar kolesterol total meningkat pada penduduk umur  $\geq 15$  tahun yaitu sebesar 54,3 %. Nilai hiperkolesterolemia paling tinggi yaitu pada usia 55-64 tahun yaitu terjadi sebanyak 12,6%. Pada tahun 2016 penderita hiperkolesterolemia mencapai 42% total manusia. Berdasarkan *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2018, 160 juta penduduk didunia



mengalami penyakit hiperkolesterolemia dimana kadar kolesterol total >200 mg/dL.

Daun beluntas adalah diantara dari tanaman yang sudah diteliti mampu menurunkan kadar kolesterol. Penelitian Sukaryana (2017) menunjukkan bahwa ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* L ) menurunkan kadar kolesterol 10% secara baik sebesar (156 mL/dL), HDL (44 mg/dL), dan LDL (144 mL/dL). Hal ini dijadikan landasan untuk pengujian fraksi metanol dan n-heksan. Ekstrak metanolik daun beluntas sebagai antikolesterol dimana konsentrasinya 50, 100, 150, 200, 250 dan 300 µg/mL, terbukti dapat menurunkan kadar kolesterol dari  $76,87 \pm 3,99$  ke  $71,93 \pm 2,05$  (Sirichaiwetchakoon et al., 2020).

Kandungan ekstrak daun beluntas yang memiliki potensi sebagai antikolesterol dapat dioptimalkan menjadi sebuah produk herbal terstandar yang diduga mempunyai efek samping kecil dibandingkan obat kimia. Ekstrak metanolik daun beluntas belum ada penelitian berlanjut mengenai aktivitas fraksi daun beluntas sebagai antikolesterol, sehingga peneliti bermaksud untuk memfraksinasi ekstrak daun beluntas dengan pelarut metanol dan n-heksan untuk mendapatkan fraksi paling aktif. Mengetahui aktivitas antikolesterol pada fraksi daun beluntas digunakan metode Lieberman-Burchard. Metode ini digunakan karena mempunyai tingkat spesifitas yang tinggi untuk mengukur aktivitas kolesterol yang termasuk senyawa golongan steroid. Tujuannya untuk mengetahui

aktivitas antikolesterol fraksi yang aktif dari fraksi metanol serta fraksi n-heksan daun beluntas.

## 1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat ditarik sebuah rumusan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas antikolesterol fraksi metanol dan fraksi n-heksan ekstrak metanolik daun beluntas (*Pluchea indica* L.) menggunakan metode Lieberman-Burchard?

## 1.3 Tujuan penelitian

### 1.3.1 Tujuan umum

Untuk mengetahui aktivitas antikolesterol fraksi metanol dan fraksi n-heksan ekstrak metanolik daun beluntas (*Pluchea indica* L.) menggunakan metode Lieberman-Burchard.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk mengetahui aktivitas antikolesterol fraksi metanol dan fraksi n-heksan ekstrak metanolik daun beluntas (*Pluchea indica* L.) pada konsentrasinya 50, 100, 150, 200, 250 dan 300 µg/mL menggunakan metode Lieberman-Burchard.

## 1.4 Manfaat penelitian

### 1.4.1 Manfaat teoritis

Berharap mampu memberikan informasi ilmiah terkait dengan aktivitas antikolesterol fraksi metanol dan n-heksan ekstrak metanolik daun beluntas (*Pluchea indica* L.) menggunakan metode Lieberman-Burchard.

### 1.4.2 Manfaat praktis

Berharap mampu sebagai acuan penelitian untuk menggali terkait potensi senyawa fraksi metanol dan n-heksan ekstrak metanolik daun beluntas sebagai antikolesterol.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kajian Teori

##### 2.1.1 Tanaman Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)

Gambar daun beluntas tersaji pada gambar 2.1 berikut:



**Gambar 2. 1 Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)**

##### 2.1.2 Klasifikasi Tanaman Beluntas

Klasifikasi tanaman daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Filum : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Asterales

Famili : Asteraceae

Genus : *Pluchea*

Spesies : *Pluchea indica* (L.) Less

### 2.1.3 Morfologi Tanaman Beluntas

Tanaman beluntas adalah golongan tanaman dengan cabang banyak serta tinggi batang mencapai 2 - 5 m. Daun warnanya hijau muda, berambut dan memiliki bentuk yang oval terbalik untuk pangkal daun berbentuk runcing dan bergigi pada pucuk daunnya. Bertangkai pendek dengan panjang daun 2 sampai 9 cm dengan lebar sekitar 1 cm. Bunganya mempunyai sari berwarna ungu ataupun nila, serta bercabang menjadi dua yang menjulang sangat jauh untuk tangkai putiknya, berbentuk bongkol kecil, kumpul pada malai rata majemuk terminal. Buahnya keras serta warnanya coklat, berukuran kecil yaitu panjangnya 1 mm dengan biji yang kecil warna coklat keputihan (Mohamad, 2017).

### 2.1.4 Kandungan Kimia

Hasil yang diteliti oleh Febrianta et al., (2015) menunjukkan bahwa tumbuhan beluntas memiliki kandungan tanin dan flavonoid. Daun beluntas pada bagian pertengahan ranting diambil karena terdapat kandungan flavonoid yang lebih tinggi daripada pucuk daun (Koirewoa, 2012). Dalam tubuh membutuhkan asupan flavonoid oleh karena itu senyawa flavonoid berperan penting. Salah satu manfaat flavonoid yaitu berfungsi agar kadar kolesterol turun dengan cara terkikisnya kolesterol yang mengendap yang berada di pembuluh darah manusia. Hasil

terkikisnya endapan kolesterol tersebut dapat meminimalkan tidak ada timbulnya penyakit lain yang berhubungan dengan kolesterol (Anggraini & Fathrah, 2018).

### **2.1.5 Khasiat**

Daun beluntas memiliki kandungan flavonoid, dimana kandungan flavonoid mempunyai khasiat sebagai antikolesterol. Mekanisme kerja flavonoid yaitu terhambatnya enzim HMG-CoA reduktase menyebabkan turunnya kolesterol yang tinggi. Kerja dari HMG-CoA reduktase diubahnya HMG-CoA hingga terbentuk mevalonat, selain itu flavonoid mampu menurunkan kolesterol yang membentuk endapan pada pembuluh darah sehingga pembuluh darah berjalan dengan baik (Anggraini & Fathrah, 2018).

## **2.2 Ekstraksi**

### **2.2.1 Definisi Ekstraksi**

Ekstraksi di definisikan suatu langkah untuk pemisahan komponen terdapat pada suatu sampel atau bahan biologi yang aktif. Ekstraksi menggunakan pelarut untuk mengekstraksi senyawa bioaktif tanaman dengan pelarut yang sesuai (Spigno et al., 2010). Tercapainya keseimbangan antara konsentrasi senyawa dengan konsentrasi dalam sel tanaman maka dihentikan untuk proses ekstraksinya. Setelah proses

ekstraksi selesai, ekstrak dilakukan penyaringan agar tersari dengan bersih tanpa ada serbuk(Mukhtarini, 2011). Tujuan dilakukan ekstraksi adalah untuk memisahkan senyawa dan menarik senyawa yang tidak diinginkan beserta campuran yang ada didalam tanaman(Syamsul et al, 2020).

### **2.2.2 Maserasi**

Maserasi adalah metode yang sering digunakan karena memiliki pengerjaan yang sangat sederhana dibandingkan dengan yang lainnya. Metode ini dilakukan dengan cara menimbang dan dimasukkan tanaman yang sudah di blender atau serbuk pada pelarut yang cocok di toples kaca selanjutnya ditutup rapat serta disimpan sesuai suhu ruang serta di tutup dengan aluminium foil. Tercapainya keseimbangan antara konsentrasi senyawa yang ada dalam suatu tanaman maka dihentikan untuk proses ekstraksinya. Setelah proses ekstraksi selesai, ekstrak dilakukan penyaringan agar tersari dengan bersih tanpa ada serbuk. Keunggulan dari metode ini yaitu terhindar dari rusaknya senyawa atau kandungan yang sifatnya mudah rusak, dan adapun kekurangannya adalah dalam proses maserasi menggunakan waktu yang lebih banyak, banyaknya pelarut yang dibutuhkan dan kemungkinan senyawa akan hilang (Mukhtarini, 2011).

### 2.3 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan metode untuk memisahkan suatu senyawa dari senyawa lain dengan menggunakan pelarut yang berbeda. Prinsip Fraksinasi adalah tertariknya suatu senyawa menggunakan dua pelarut tersebut yang berbeda dengan tingkat polaritasnya. Pelarutnya menggunakan n-heksan bertujuan agar mampu mengekstrak senyawa non polar serta pelarut metanol menarik senyawa polar (Firdausi et al, 2015).

Fraksinasi dilakukan harus saling bersambung sama lain, yang terlebih dahulu dari pelarutnya polar selanjutnya pelarut non polar. Fraksinasi selanjutnya di dapat hasil yang berurutan dari polar, semi polar serta non polar. Senyawa yang terabsorpsi pada sel itu tergantung dari tingkat kepolaran suatu senyawa dari bahan aktif, oleh karena itu senyawa akan mudah masuk dan terserap (Purwanto, 2015).

### 2.4 Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia merupakan kondisi tubuh mengalami peningkatan kadar kolesterol total serta *Low Density* Lipoprotein (LDL) dan menurunnya *High Density* Lipoprotein (HDL) darah (Nurman et al,2018). Hiperkolesterolemia dapat menyebabkan aterosklerosis yaitu merupakan adanya lemak kolesterol pada pembuluh darah yang berlebih, akan mengakibatkan terjadinya pembuluh darah manusia mengalami penebalan



lemak dan mengecilnya arteri sehingga pembuluh darah mengalami penyempitan (Anggraini & Fathrah, 2018).

Jumlah nilai kadar kolesterol dalam darah yaitu 200 mg/mL. mengkonsumsi makanan yang berlemak dan kekurangan zat gizi yang baik dapat mengakibatkan meningkatnya kadar kolesterol pada tubuh. Peningkatan konsumsi lemak dalam tubuh dapat berpengaruh ke biosintesis kolesterol dengan sebanyak 100mg/hari dapat meningkatkan kolesterol total 2-3 mg/dL. Faktor yang mempengaruhi sintesis kolesterol diantaranya turunnya aktivitas HMG- CoA reduktase menyebabkan sintesis kolesterol turun. Solusinya yaitu dengan mengkonsumsi banyak serat maupun vitamin agar kolesterol berlebih dapat menurun (Yani, 2015).

## **2.5 Metode Lieberman-Burchard**

Lieberman-Burchard didefinisikan metode identifikasi kolesterol yang memiliki senyawa steroid. Disebut analisis konsentrasi kolesterol kimia. Prinsipnya yaitu ekstrak terlarut dengan kloroform didalamnya memiliki kolesterol bereaksi dengan asam asetat anhidrat serta  $H_2SO_4$  akan terbentuk reaksinya warna hijau (Sahriawati, 2019).

Asam asetat anhidrat berfungsi sebagai pengekstrak kolesterol, dengan dipastikan sampel yang digunakan terbebas air serta terbentuk turunan asetil dari senyawa steroid, ditetesi  $H_2SO_4$  akan bereaksi berwarna hijau pada

larutan sampel. Kolesterol dilarutkan dengan kloroform, karena satu komponen kolesterol sifatnya non polar terlarut pada pelarutnya non polar dimana 4,5 komponen kloroform, prinsipnya “*like dissolve like*” sehingga senyawa non polar terlarut dengan non polar. Penambahan asam sulfat dicampurkan dengan isinya kolesterol, menyebabkan berpindahnya molekul air di gugus C3 kolesterol, sehingga terjadi oksidasi terbentuk 3,5 - kolestadiena. Dirubah jadi polimer terkandung kromofor sehingga berwarna hijau. Munculnya warna dikarenakan gugus kolesterol (-OH) bereaksi dengan *Lieberman-Burchard*. Berwarna hijau menunjukkan hasilnya positif (Sahriawati, 2019).

## 2.6 Spektrofotometri UV-vis

Spektrofotometri *UV-vis* adalah pengujian memakai panjang gelombang UV serta *Visible* menjadi daerah yang diserap dalam terdeteksinya senyawa yang terdapat di suatu media. Secara umum senyawa yang teridentifikasi dengan spektrofotometri *Uv-Vis* yaitu senyawa dengan gugus kromofor serta auksokrom (Sahumena et al, 2020). Keunggulan dari metode ini adalah untuk menganalisis zat organik, memiliki selektifitas yang tinggi, akurasi tinggi dengan error relatif sebesar 1% sampai 3% , analisis dapat digunakan akurat dan cepat, dan untuk menentukan beberapa zat walaupun dalam jumlah sedikit (Rohmah et al., 2021).

Prinsipnya dari spektrofotometri *UV-vis* adalah ketika cahaya monokromatik melewati medium maka sebagian cahayanya terserap, sebagian terpantulkan, serta sebagiannya terpancarkan. Dalam pengukuran kuantitatif, perbandingan dibuat dengan kurva standar dengan hubungan konsentrasi dari masing-masing seri larutan untuk menganalisis suatu unsur yang berkadar rendah. Penentuan kualitatif didasarkan pada pick yang diperoleh spektrum dengan zat serta gelombang yang didapat, kemudian secara kuantitatif didasarkan pada absorbansi yang diperoleh di spektrum karena zat pengompleks dianalisis. Dasar spektrofotometri *UV-vis* yaitu Lambert-Beer, apabila cahaya monokromatis melewati media transparan, intensitas cahaya yang ditranmisikan sama dengan tebalnya serta kepekaan media larutan yang dipakai (Yanlinastuti & Fatimah, 2016).

## **2.7 Hubungan Fraksi metanol dan Fraksi n-heksan Daun Beluntas dengan Aktivitas Antikolesterol**

Berdasarkan penelitian Febrianta (2015) bahwa tanaman beluntas mengandung berbagai senyawa antara lain flavonoid, alkaloid, minyak atsiri dan tanin. Artha (2017) menyatakan bahwa daun beluntas memiliki kandungan flavonoid, kandungan flavonoidnya memiliki sifat menurunkan kolesterol. Flavonoid merupakan senyawa polar dengan beberapa gula yang berikat, sehingga flavonoid terlarut pada pelarutnya polar yaitu metanol dengan polaritas yang sama. Kerja flavonoid adalah menghambat enzim

HMG-CoA reduktase, menyebabkan sintesisnya kolesterol berkurang. Penelitian Sukaryana (2017) menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak (*Pluchea indica* L) masing-masingnya 10% memberikan hasil terbaik dalam menurunkan kolesterol total sebesar (156 mL/dL), HDL (44 mg/dL), dan LDL (144 mL/dL).

## 2.8 Kerangka Teori



**Gambar 2.2 Kerangka Teori**

## 2.9 Kerangka Konsep



**Gambar 2.3 Kerangka Konsep**

## 2.10 Hipotesis

Fraaksi metanol dan fraksi n-heksan ekstrak metanolik daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) memiliki aktivitas sebagai antikolesterol menggunakan metode Lieberman-Burchard.



## 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 fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas dengan konsentrasinya adalah 50, 100, 150, 200, 250 dan 300 µg/mL

###### 3.2.2.1 Variabel Tergantung

Variabel tergantung yang digunakan adalah kadar kolesterol.

##### 3.2.2. Definisi Operasional

###### 3.2.2.1 Fraksi Daun Beluntas

Daun beluntas yang di ekstrak kemudian difraksinasi memakai pelarutnya metanol dan n-heksan. Pengambilan sampel daun beluntas yang dipakai pada penelitian asalnya dari Colo Kabupaten Kudus, Jawa Tengah. Dilakukan partisi cair-cair pada ekstrak

menggunakan pelarut metanol dan n-heksan. Diawali dengan ditimbang sebanyak 300 g serbuk daun beluntas dan tambahkan metanol dengan perbandingan 1:3. Skala ukur : Rasio

### 3.2.2.2 Penentuan Kadar Kolesterol

Penentuan kadar kolesterol dalam berbagai konsentrasi fraksi ditentukan dengan metode Lieberman-Burchard menggunakan pelarut  $H_2SO_4$  dan asam asetat anhidrat. Mereaksikan antara larutan kolesterol serta pereaksi asam asetat anhidrat dengan  $H_2SO_4$ , selanjutnya dideteksi menggunakan alat yang spesifik yaitu Spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 400-600 nm dengan satuan mg/dL . Skala ukur : Rasio

## 3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

### 3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini yaitu daun beluntas.

### 3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas dengan konsentrasinya adalah 50, 100, 150, 200, 250 dan 300  $\mu\text{g/mL}$ .

### 3.4 Instrumen dan Bahan Penelitian

#### 3.4.1 Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan adalah gelas beaker, plat KLT, spektrofotometer UV-Vis, tabung reaksi, cawan porselin, neraca analitik, pipet volume, pipet tetes, gelas ukur, pipa kapiler, vial, labu takar, gelas ukur, corong kaca, dan *vortex*.

#### 3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah serbuk daun beluntas (*Pluchea indica* L.), n-heksan, akuades, metanol, asam sulfat pekat,  $AlCl_3$ , baku kolesterol, NaOH, etil asetat, kuersetin, kloroform dan asam asetat anhidrat.

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman beluntas memiliki tujuan membuktikan kebenaran jenis tanaman yang dipakai. Sampel yang diambil yaitu daun beluntas. Tempat pengambilan daun beluntas di Colo Kabupaten Kudus, Jawa Tengah. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.



### 3.5.2 Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Beluntas

Langkah awal daun beluntas (*Pluchea indica* L.) dilakukan dengan metode perendaman atau maserasi. Daun beluntas dicuci dengan air yang mengalir, selanjutnya keringkan pada lemari pengering. Daun beluntas yang sudah mengering, haluskan daun dengan blender dan ditimbang sebanyak 300 g lalu ditambahkan metanol dengan perbandingan 1:3. Homogenkan menggunakan *incubator shaker* selama 4 jam dan diamkan selama sehari atau 1x24 jam. Maserat yang dihasilkan lalu dilakukan penguapan menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 50 rpm untuk memisahkan pelarut metanol terkandung dalam daun beluntas berupa senyawa dengan cara menguapkan ekstrak metanol pada suhu 40<sup>0</sup>C sehingga hanya tersisa ekstrak daun beluntas (M & Pratiwi, 2020 ; Sayuti, 2017).

### 3.5.3 Pembuatan Fraksinasi

Partisi dilakukan pada ekstrak menggunakan pelarut metanol dan n-heksan. Masukkan 10 mg ekstrak kental metanol yang ditambahkan 100 mL metanol secara homogen dan ditambahkan 200 mL n-heksan dikocok kuat hingga tercampur dalam 5 menit sambil kran pada corong pisah dibuka agar gas terbentuk keluar. Diamkan larutan selama beberapa menit, kemudian filtrat dipisahkan. Pada bagian atas adalah lapisan n-heksan bersifat non polar sedangkan lapisan bagian bawah

yaitu metanol. Kedua lapisan tersebut dapat dipisahkan dengan cara membuka kran corong pisah secara perlahan untuk mengambil lapisan metanol, setelah selesai ditampung pelarut n-heksan yang dicorong pisah dikeluarkan. Masukkan larutan metanol ke corong pisah dan tambahkan pelarut yang baru dari n-heksan dengan nilai perbandingannya yang sama. Partisi dengan cara yang sama sampai pelarut n-heksan terlihat bening. Setiap hasil fraksinasi diuapkan pada *waterbath* sampai didapat ekstrak kering dan di simpan di kulkas(Wijayanti et al., 2021).

### **3.5.4 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Beluntas**

#### **3.5.4.1 Penentuan Golongan Alkaloid**

Timbang 0,5 g ekstrak dihomogenkan dengan HCl kemudian saring. Filtratnya terbagi menjadi dua, tetesi pereaksi Mayer serta pereaksi Dragendrof. Hasilnya positif endapan putih pada pereaksi Mayer dan endapan merah pada pereaksi Dragendrof (Ahmad, 2013).

#### **3.5.4.2 Penentuan Golongan Flavonoid**

Sebanyak 1 mL ekstrak ditetesi etanol 70% dan ditambahkan serbuk Magnesium dan HCL pekat di tetesi

sedikit demi sedikit. Hasil positif menunjukkan perubahan warna jingga (Nugrahani et al., 2016).

#### **3.5.4.3 Penentuan Golongan Saponin**

Sebanyak 1 mL ekstrak diadd 10 mL air panas. Filtratnya dimasukkan pada tabung reaksi kemudian ditutup, selanjutnya kocok 10 detik serta diamkan 10 menit + 1 mL HCL 2N. Buihnya stabil dalam 10 menit menunjukan positif golongan saponin (Putri et al, 2013).

#### **3.5.4.4 Penentuan Golongan Steroid**

Ekstrak 1 mL tambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat serta ditetesi  $H_2SO_4$  sekitar 4-5 tetes. Hasil positif steroid terbentuk warna hijau kebiruan (Simaremare, 2014).

#### **3.5.4.5 Penentuan Golongan Tanin**

Ekstrak ditetesi dengan larutan NaOH. Akan terjadi perubahan warna kuning intens, yang lama kelamaan memudar seiring perubahan larutan asam yang menandakan adanya tanin ( Prashant et al, 2011).

#### **3.5.4.6 Penentuan Golongan Terpenoid**

Timbang 0,5 g ekstrak larutkan dengan 2 mL kloroform. Tambahkan dengan 3 mL  $H_2SO_4$ . Jika warnanya coklat kemerahan dinyatakan positif terpenoid (Nugrahani et al., 2016).

### 3.5.5 Identifikasi Flavonoid Fraksi metanol dan n-heksana daun Beluntas

Identifikasi flavonoid fraksi metanol dan n- heksan daun beluntas menggunakan analisis kromatografi lapis tipis. Langkah awalnya dilakukan penjenruhan eluen etil asetat dan n-heksan 4:1. Ambil 0,5 gr fraksi metanol dan n-heksan dilarutkan dalam kloroform dan metanol 1:1 dan divortex supaya homogen. Setelah divortex fraksi ditotolkan pada plat KLT dan dielusikan. Pertama diamati secara langsung, jika tidak muncul noda dilakukan dengan mengamati menggunakan UV 254 nm dan 366 nm. Apabila masih belum terlihat noda disemprot dengan cerium sulfat kemudian dilakukan pemanasan sampai muncul noda pada plat KLT. Langkah terakhir hitung nilai Rf pada noda yang tampak dan dibandingkan dengan kuersetin. Sesuai dengan nilai Rf flavonoid yaitu 0,69 sampai dengan 0,8(Kaidun et al., 2022).

### 3.5.6 Uji Kadar Flavonoid total

#### 3.5.6.1. Pembuatan Larutan Kuersetin

Membuat larutan induk kuersetin 1000 ppm. Timbang 100 mg kuersetin, larutkan dengan 100 mL metanol kedalam labu ukur hingga larut (Riskiyani et al.,2020).

#### 3.5.6.2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Gunakan larutan induk kuersetin 1 mL, tambahkan 1 mL  $AlCl_3$  10% serta 8 mL asam asetat 5 %. Diukur spektrofotometer UV-Vis di panjang gelombang 350-450 nm (Riskiyani et al.,2020).

#### 3.5.6.3. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Buat seri kadar 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Ambil 1 mL dari larutan seri kadar reaksi pada 1 mL  $AlCl_3$  10% dan 8 mL asam asetat 5%. Diamkan 15 menit, baca serapan di spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 350-450 nm (Riskiyani et al.,2020).

#### 3.5.6.4. Penentuan Kadar Flavonoid Total

Dibuat larutan untuk fraksi metanol dengan konsentrasinya 1000 ppm. Menimbang 100 mg ekstrak dilarutkan di 100 mL metanol. Ambil 1 mL dan tambahkan dengan 1 mL  $AlCl_3$  10% serta 8 mL asam asetat 5%. Inkubasi 15 menit, baca di panjang gelombang maksimal yang sudah diperoleh pada penentuan  $\lambda$  maksimum (Riskiyani et al., 2020).

### 3.5.7 Uji Aktivitas Penurunan Kadar Kolesterol dengan Metode Lieberman- Burchard

#### 3.5.6.1. Pembuatan Larutan Baku Kolesterol

Dibuat larutan induk kolesterol konsentrasinya 1000 ppm, larutkan serbuk 100 mg di 100 mL metanol dan n-heksan suhu  $45^{\circ}C$  di *waterbath*, sesekali aduk sampai terlarut (Amin, 2015).

#### 3.5.6.2. Penentuan *Operating Time*

Ambil 0,5 mL larutan induk kolesterolnya 1000 ppm di add metanol hingga 5 mL. Reaksikan asam asetat anhidrat 2,0 mL serta  $H_2SO_4$  0,1 mL. Ukur setiap 2 menit dari 10 sampai 30 menit pada panjang gelombang maksimum digunakan mendeteksi kolesterol, selanjutnya tentukan hubungan diantara waktu

pengukuran serta absorbansi sehingga mampu menentukan stabilnya waktu pengukuran (Amin, 2015).

### 3.5.6.3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Digunakan spektrofotometri *UV-Vis* dengan panjang gelombang larutan kolesterol pada konsentrasinya 100 ppm di labu 5 mL dari pengambilan larutan induknya 1000 ppm yaitu 0,5 mL ditambahkan metanol dan n-heksan, untuk melindungi dari cahaya digunakan aluminium foil untuk menutupi lapisan luar dari tabung, selanjutnya reaksi asam asetat anhidrat serta  $H_2SO_4$  masing-masing 2,0 mL serta 0,1 mL. Inkubasi beberapa menit, selanjutnya diukur dengan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 400-700 nm (Karyati, 2013).

### 3.5.6.4. Pembuatan Kurva Standar

Dibuat dari larutan induk kolesterolnya pada 1000 ppm diperoleh 7 rentang konsentrasi yaitu 0,2; 0,25; 0,3; 0,35; 0,4; 0,45; dan 0,5 mL, serta dibuat volume masing-masing 5mL dengan metanol untuk menghasilkan setiap larutan dengan konsentrasinya 40, 50, 60, 70, 80, 90 serta 100 ppm. Setiap larutan di add 2,0 mL asam asetat anhidrat serta 0,1 mL  $H_2SO_4$ , vortex hingga homogen, lapiasi tabung dengan aluminium foil agar terlindung cahaya. Diamkan 15 menit serta ukur daya serapnya

pada panjang gelombang maksimum, sehingga didapat kurva hubungan diantara konsentrasi dan absorbansi ( Karyati, 2013).

### 3.5.6.5. Penentuan Aktivitas Antikolesterol dari Ekstrak Daun Beluntas

Menggunakan ekstrak daun beluntas konsentrasi 1000 ppm buat beberapa konsentrasinya 50, 100, 150, 200, 250 serta 300  $\mu\text{g/mL}$ . Ambil 5 mL disetiap konsentrasi ke tabung reaksi. Tambahkan 5 mL baku kolesterol standar 200 ppm dalam pelarut kloroform. Ambil 5 mL campuran kemudian vortex 2 menit, lalu tambahkan 2,0 mL asam asetat anhidrida serta 0,1 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat. Diamkan di tempat gelap sampai warna berubah hijau, kemudian diukur dengan spektrofotometri *UV-Vis* pada panjang gelombang maksimum. Sebanyak 5 mL kloroform ditambahkan 2,0 mL asam asetat anhidrat dan 0,1 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat sebagai blanko. Kontrol negatifnya 5 mL larutan kolesterol 100 ppm, tambahkan 2 mL asam asetat anhidrat serta 0,1 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Amin, 2015).



### 3.5.6.6. Penentuan Aktivitas Antikolesterol dari Fraksi metanol dan n-heksan Daun Beluntas

Menggunakan ekstrak daun beluntas konsentrasi 1000 ppm, seri konsentrasinya 50, 100, 150, 200, 250 dan 300  $\mu\text{g/mL}$ . Mengambil 5 mL disetiap konsentrasi pada tabung reaksi. Tambahkan dengan 5 mL baku kolesterol standar 200 ppm ke pelarut kloroform. Mengambil 5 mL campuran kemudian di vortex 2 menit, di add 2,0 mL asam asetat anhidrida serta 0,1 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Diamkan tempat yang gelap 15 menit sampai warna berubah hijau, kemudian didapat warna yang dibaca dengan spektrofotometri *UV-Vis* dengan panjang gelombang maksimum. Sebanyak 5 mL kloroform di add 2,0 mL asam asetat anhidrat serta 0,1 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  sebagai blanko. Kontrol negatif 5 mL larutan kolesterol 100 ppm, tambahkan 2,0 mL asam asetat anhidrat serta 0,1 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Amin, 2015).

## 3.6 Tempat dan Waktu Penelitian

### 3.6.1 Tempat Penelitian

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

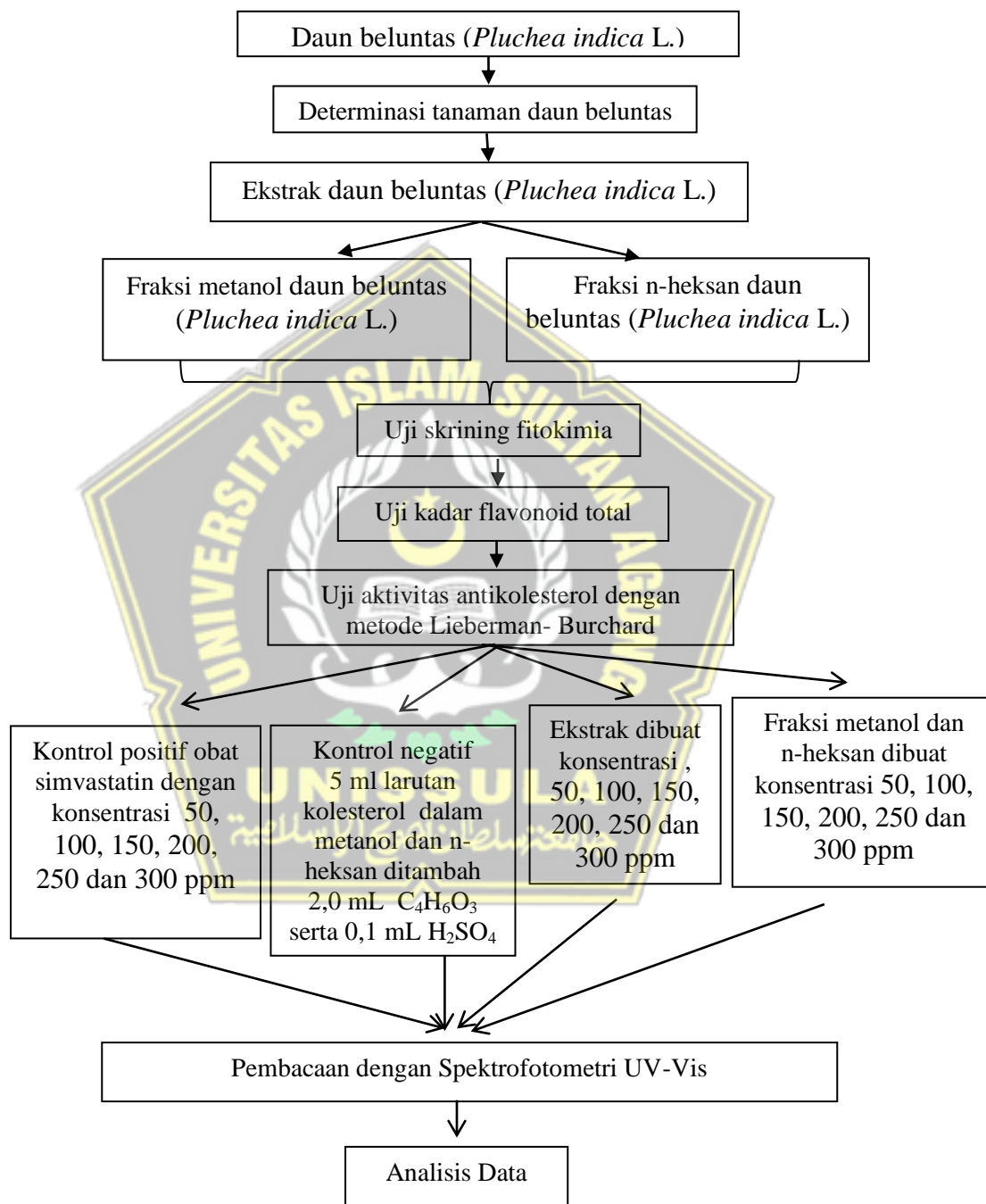
### 3.6.2 Waktu Penelitian

No	Jenis Kegiatan	Waktu 2022				
		Agustus	September	Oktober	November	Desember
1.	Pencarian bahan dan uji pendahuluan					
2.	Pembuatan proposal					
3.	Penyiapan sampel					
4.	Skrining fitokimia ekstrak					
5.	Pembuatan larutan uji kolesterol					
6.	Identifikasi flavonoid fraksi					
7.	Penentuan aktivitas antikolesterol dengan spektrofotometri UV-Vis					
8.	Pengamatan kadar kolesterol					

### 3.7 Analisis Data

Data hasil dari persen penurunan kadar kolesterol pada ekstrak metanol, fraksi metanol dan fraksi n-heksan dianalisis secara statistik. Data hasil dari penelitian yang diperoleh kemudian diuji normalitasnya menggunakan uji *Shapiro wilk* dan uji homogenitas dengan *lavene test* dengan kepercayaan  $p > 0.05$ . Hasil uji statistik menunjukkan data normal dan homogen, sehingga dilakukan analisis uji parametrik yaitu *One Way Anova* serta analisis uji menggunakan *Post Hoc LSD* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar kelompok.

### 3.8 Alur Penelitian



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Penelitian

##### 4.1.1 Determinasi Tanaman Beluntas

Determinasi pada tanaman beluntas (*Pluchea indica* L) dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Hasil determinasi diperoleh sebagai berikut, pada Lampiran 2.



Divisio : Tracheophyta  
Classis : Magnoliopsida  
SuperOrdo : Asteranae  
Ordo : Asterales  
Familia : Asteraceae  
Genus : *Pluchea*  
Species : *Pluchea indica* (L.) Less.

Vern. name : Beluntas

Hasil diatas menunjukkan bahwa tanaman beluntas yang digunakan dalam penelitian merupakan spesies *Pluchea indica* (L.) Less.

#### **4.1.2 Rendemen Tanaman Beluntas**

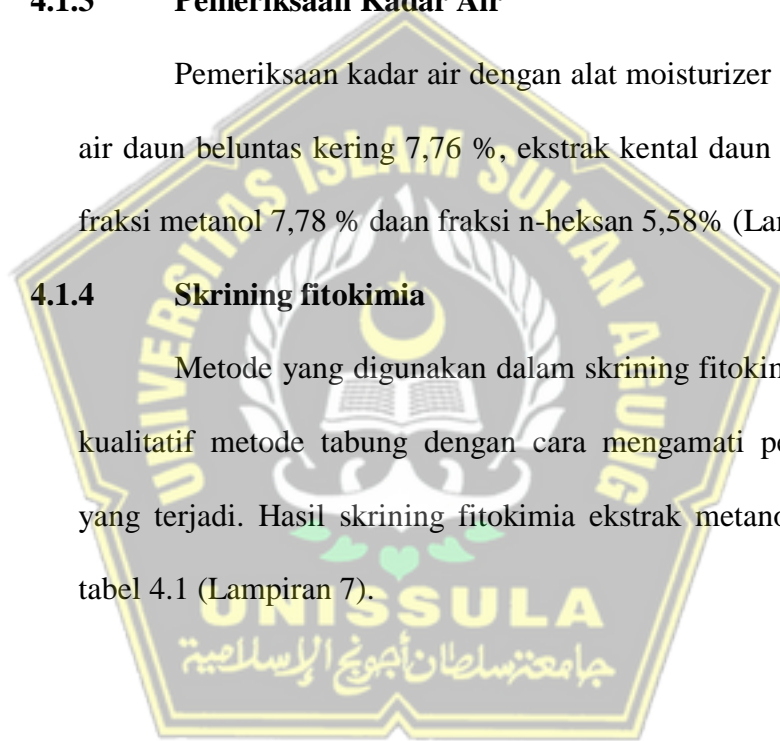
Didapatkan hasil ekstrak kental daun beluntas sebesar 27,3 gram dari 300 gram daun beluntas. Nilai rendemen ekstrak kental menghasilkan sebesar 9,1%, sedangkan untuk fraksi metanol 0,54% dan fraksi n-heksan 0,36% (Lampiran 5).

#### **4.1.3 Pemeriksaan Kadar Air**

Pemeriksaan kadar air dengan alat moisturizer test. Hasil kadar air daun beluntas kering 7,76 %, ekstrak kental daun beluntas 8,16%, fraksi metanol 7,78 % dan fraksi n-heksan 5,58% (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 tersaji pada tabel 4.1 (Lampiran 7).



**Tabel 4.1 Skrining Fitokimia Ekstrak Metanolik Daun Beluntas**

Parameter Uji	Pereaksi	Parameter Uji Positif jika,	Hasil
Saponin	HCl	Terbentuk Busa	+
Alkaloid	Mayer dan Dragendorf	Dragendorf : endapan merah Mayer :endapan putih	-
Flavonoid	NaOH	Kuning, jingga	+
Steroid	asam asetat anhidrida dan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Terbentuk warna hijau kebiruan	+
Terpenoid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Terbentuk warna coklat kemerahan	+
Tanin	NaOH	Kuning intensif	+



#### 4.1.5 Identifikasi Flavonoid Fraksi metanol dan n-heksana daun Beluntas

Identifikasi flavonoid dari fraksi metanol dan fraksi n-heksan yaitu metode KLT menggunakan etil asetat : n-heksan sebagai fase gerak dengan perbandingan 4:1, dengan pembanding yang digunakan yaitu kuersetin. Hasil identifikasi didapatkan bercak noda dari fraksi metanol didapatkan nilai  $R_f$  0,69 dan nilai fraksi n-heksan dengan  $R_f$  0,71, sedangkan bercak noda berwarna kuning dari kuersetin didapatkan hasil  $R_f$  0,69.



**Gambar 4.1 Identifikasi Flavonoid Fraksi Metanol Dan Fraksi N-Heksan**

**(a. Kuersetin, b. Fraksi n-heksan, c. Fraksi metanol) (Ket : Kiri: Cahaya**

**Tampak ; Tengah : UV 254 nm ; Kanan: UV 366 nm)**

#### 4.1.6 Kadar Senyawa Flavonoid Total Fraksi Metanol dan Fraksi n-heksan Daun Beluntas

Pengukuran kadar flavonoid total fraksi metanol dan fraksi n-heksan dilakukan metode spektrofotometer dengan standar yang digunakan yaitu kuersetin. Hasil kadar senyawa flavonoid total fraksi metanol dan fraksi n-heksan tersaji pada tabel 4.2 lampiran 9.

**Gambar 4.2 Kadar Senyawa Flavonoid Total Fraksi Metanol dan Fraksi n-heksan Daun Beluntas**

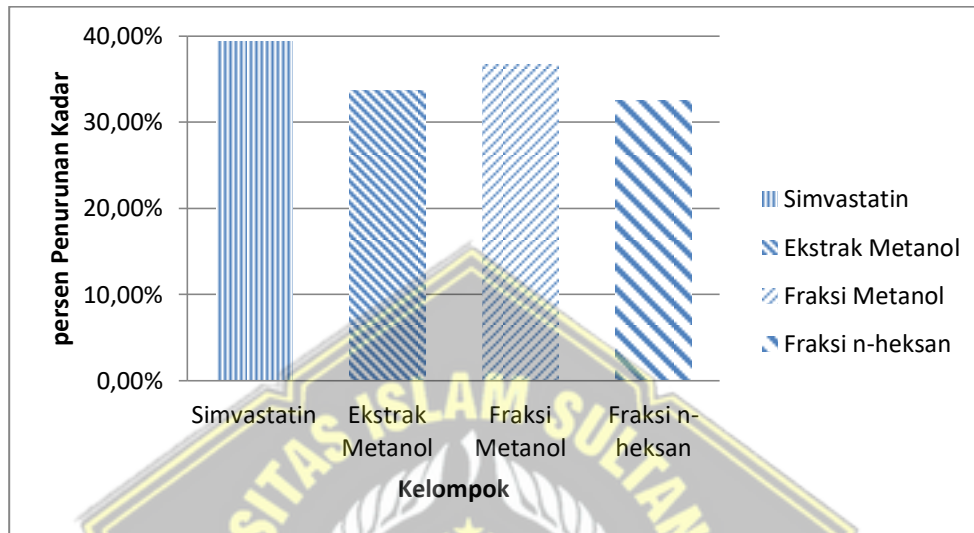
Sampel	Kadar Flavonoid Total
Fraksi Metanol	1,877 mg/g QE
Fraksi n-heksan	0,414 mg/g QE

#### 4.1.7 Hasil Uji Aktivitas Antikolesterol Pada Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol dan Fraksi n-heksan

Uji aktivitas antikolesterol dengan metode spektrofotometri memakai reaksi *Lieberman Burchard*. Obat simvastatin digunakan dalam penelitian ini sebagai kontrol positif. Hasil pengujian aktivitas antikolesterol pada ekstrak metanol, fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas diperoleh nilai absorbansi. Nilai absorbansi masing-masing sampel dihitung kadar kolesterolnya yang 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 Gambar 4.2 dan Tabel 4.3



**Gambar 4.3 Kurva % Penurunan kadar Pada Kontrol Positif, Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol Dan Fraksi N-Heksan**

**Tabel 4.3 Persen Penurunan Kadar Kolesterol Pada Kontrol Positif, Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol Dan Fraksi N-Heksan**

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Kadar Kolesterol (ppm)	Persen Penurunan Kolesterol	EC50
Kontrol Positif (Simvastatin)	50	10,08	39,35% ±1,25	270,53 ppm
	100			
	150			
	200			
	250			
	300			
Ekstrak Metanol	50	11,06	33,64% ±1,93	284,05 ppm
	100			
	150			
	200			
	250			
	300			

Fraksi	50			
Metanol	100			
	150			
	200	10,62	36,75%	279,14
	250		$\pm 1,64$	ppm
	300			
Fraksi	50			
N- heksan	100			
	150			
	200	11,25	32,58%	294,13
	250		$\pm 1,79$	ppm
	300			

Hasil aktivitas antikolesterol menunjukkan bahwa antara fraksi metanol dengan fraksi n-heksan yang memiliki aktivitas penurunan kadar kolesterol lebih tinggi yaitu fraksi metanol sebesar 36,75 %.

#### **4.1.8 Analisis Statistik Pengukuran EC50 Penurunan Kadar Kolesterol Pada Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol dan Fraksi n-heksan.**

Hasil penelitian ini dilakukan dengan menggunakan uji statistik untuk mengetahui presentase penurunan kadar kolesterol ekstrak metanol, fraksi metanol dan fraksi n-heksan. Langkah pertama dalam analisis statistik adalah uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas dilakukan dengan *Shapiro wilk* karena jumlah data kurang dari 50. Uji homogenitas dengan menggunakan *Lavene Test*. Hasil analisis statistik data menunjukkan bahwa semua kelompok memiliki data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi ( $p > 0,05$ ), diperoleh

hasil homogenitas ( $p > 0,05$ ) sehingga kriteria uji parametrik *One Way Anova* terpenuhi dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* menentukan ada tidaknya perbedaan antar kelompok. Hasil analisis statistik tersaji pada tabel 4.4 dan tabel 4.5 . (Lampiran 10)

**Tabel 4.4. Analisis Statistik Uji Normalitas dan Homogenitas EC50**

Perlakuan	Uji Shapiro Wilk	Ket.	Uji Lavene Test	Ket.	One Way Anova
Kelompok 1	.828	Normal			
Kelompok 2	.901	Normal			
Kelompok 3	.729	Normal	.830*	Homogen	.019
Kelompok 4	.301	Normal			
Kelompok 5	.202	Normal			

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

**Tabel 4.5. Analisis Statistik Uji *Post Hoc LSD* EC50**

Perlakuan	Signifikansi	Keterangan
Kelompok 1 dan 2	0,649	Tidak Berbeda Bermakna
Kelompok 1 dan 3	0,849	Tidak Berbeda Bermakna
Kelompok 1 dan 4	0,309	Tidak Berbeda Bermakna
Kelompok 1 dan 5	0,020*	Ada Perbedaan Bermakna
Kelompok 2 dan 3	0,520	Tidak Berbeda Bermakna
Kelompok 2 dan 4	0,569	Tidak Berbeda Bermakna
Kelompok 2 dan 5	0,007*	Ada Perbedaan Bermakna
Kelompok 3 dan 4	0,230	Tidak Berbeda Bermakna
Kelompok 3 dan 5	0,031*	Ada Perbedaan Bermakna
Kelompok 4 dan 5	0,002*	Ada Perbedaan Bermakna

Kelompok 1 = Ekstrak metanol

Kelompok 2 = Fraksi Metanol

Kelompok 3 = Fraksi N-heksan

Kelompok 4 = Kontrol Positif

Kelompok 5 = Kontrol Negatif

## 4.2 Pembahasan

### 4.2.1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman beluntas bertujuan untuk membuktikan kebenaran jenis tanaman yang dipakai. Sampel yang diambil yaitu Daun Beluntas. Tempat pengambilan daun beluntas di desa Colo, Kecamatan Ndawe, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Diperoleh hasil determinasi menunjukkan bahwa benar daun beluntas termasuk dalam famili asteraceae dengan spesies *Pluchea indica* (L.) Less.

### 4.2.2. Ekstraksi Metanolik Daun Beluntas

Tahap ekstraksi sebelum didapatkan ekstrak kental meliputi beberapa tahap yaitu pertama dengan proses penyortiran daun beluntas. Daun beluntas disortir pada awal pengambilan daun yang dipertengahan ranting. Daun beluntas yang sudah diambil dan dipilih selanjutnya dicuci dengan air mengalir untuk memisahkan kotoran-kotoran pada daun beluntas. Tahap ekstraksi digunakan serbuk beluntas 300 g dilarutkan dengan pelarut metanol dengan perbandingan (1:3) yang dimasukkan di dalam toples kaca diamkan selama 1 hari (M & Pratiwi, 2020). Metode yang dipilih dalam ekstraksi menggunakan metode maserasi. Maserasi adalah metode yang sering digunakan karena memiliki pengerjaan yang sangat

sederhana dibandingkan dengan yang lainnya, proses ini dengan cara dingin melalui bahan direndam menggunakan pelarut yang cocok dengan senyawa aktif yang diambil. Metode ini memiliki keuntungan yaitu terhindar dari rusaknya senyawa-senyawa yang mudah rusak (Mukhtarini, 2011).

Kriteria daun yang digunakan yaitu daun beluntas pada bagian tengah ranting karena mempunyai flavonoid yang terkandung lebih tinggi daripada daun yang paling ujung ranting. Sebelum dilakukan proses maserasi dilakukan penghalusan daun agar menjadi serbuk. Dipakai pelarut metanol dikarenakan memiliki polaritas yang lebih tinggi daripada pelarut lain yang memiliki sifat polar. Pelarut metanol mampu menarik senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, tanin dan minyak atsiri. Selain itu metanol juga bersifat universal yang artinya mampu menarik sebagian senyawa polar serta non polar untuk diekstraksi. Filtrat yang diperoleh ekstrak cair dan dilakukan pengentalan dengan *rotary evaporator* maupun *waterbath* pada suhu 40<sup>0</sup>C sampai dihasilkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh dilakukan uji *moituraizer test* untuk mengetahui kadar air. Uji ini dilakukan untuk mengetahui batas kadar air ekstrak yang dianggap baik yaitu  $\leq 10\%$ . Kadar air menentukan kestabilan ekstrak, kadar air yang tinggi ( $>10\%$ ) menyebabkan pertumbuhan mikroba dan akan menurunkan kestabilan ekstrak (Utami, 2020). Hasil kadar air dari

ekstrak daun beluntas didapatkan 8,16%, hasil tersebut sudah memenuhi parameter untuk rentang kadar air <10%.

Hasil dari ekstrak kental daun beluntas dihitung nilai rendemen yakni didapatkan hasil sebesar 9,1% sedangkan pada penelitian sebelumnya didapatkan hasil rendemen 8,4%(Nor et al.,2022). Dimana faktor yang mempengaruhi perbedaan hasil rendemen yaitu suhu serta waktu, apabila suhu serta lama perendaman maserasi tinggi maka hasil rendemen semakin tinggi. Damanik et al (2014) menjelaskan bahwa suhu yang semakin tinggi dapat menyebabkan gerakan partikel ke pelarut semakin cepat karena suhu mempengaruhi nilai koefisien transfer masa dari suatu komponen. Peningkatan suhu membuat permeabilitas sel semakin rendah, sehingga memudahkan pelarut untuk mengekstrak zat aktif di sampel sehingga rendemen yang diperoleh semakin tinggi(Ramadhan & Phaza, 2013).

#### **4.2.3. Fraksinasi Daun Beluntas**

Metode yang digunakan dalam fraksinasi adalah fraksinasi cair-cair yaitu metode pemisahan senyawa yang dilakukan dengan dasar cara pengocokan pada tingkat kepolaran serta bobot jenis antara dua pelarut yang tidak saling bercampur(M & Pratiwi, 2020). Fraksinasi merupakan tertariknya suatu senyawa menggunakan dua pelarut dan dua pelarut tersebut terdapat perbedaan tingkatan kepolaran. Penggunaan pelarut dalam penelitian ini adalah n-heksan

bertujuan untuk mengekstrak lemak senyawa non polar dan metanol untuk senyawanya polar (Firdausi et al, 2015). Dalam proses ini diperoleh senyawa non polar akan terlarut oleh pelarutnya non polar serta sebaliknya.

Ekstrak kental daun beluntas dipartisi memakai pelarutnya polar yaitu metanol serta non polar yaitu n-heksan. Pada bagian atas adalah lapisan n-heksan bersifat non polar sedangkan lapisan bagian bawah yaitu metanol. Hal ini karena pelarut metanol memiliki berat jenis lebih tinggi dibandingkan berat jenis yang dimiliki oleh pelarut n-heksan yaitu  $0,6174 \text{ g.cm}^{-3}$ . Maka dari itu fase non polar berada pada bagian atas dan fase polar dibagian bawah (Anjaswati et al., 2021). Kedua lapisan tersebut dapat dipisahkan dengan cara membuka kran corong pisah secara perlahan untuk mengambil lapisan metanol, setelah selesai ditampung pelarut n-heksan yang dicorong pisah dikeluarkan. Masukkan larutan metanol ke corong pisah dan tambahkan pelarut yang baru dari n-heksan dengan nilai perbandingannya yang sama dengan sebelumnya yaitu 200 mL. Partisi dengan cara yang sama hingga pelarut n-heksan terlihat bening (Wijayanti et al., 2021).

Hasil dari fraksinasi didapatkan fraksi metanol 5,4 gram sedangkan hasil fraksinasi n-heksan didapatkan sebesar 3,6 gram. Selanjutnya dilakukan uji kadar air keduanya dengan hasil sebesar

7,78 % sedangkan uji kadar air n-heksan 5,85%. Hasil uji kadar air fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas memenuhi parameter kadar air yaitu <10%. Nilai rendemen dari fraksi metanol didapatkan 0,54 % sedangkan dari fraksi n-heksan 0,36%. Hasil keduanya tersebut lebih kecil daripada nilai rendemen fraksi metanol 23% dan fraksi n-heksan dari penelitian oleh Safitri et al., (2018), Hal ini dipengaruhi oleh perbedaan jumlah sampel yang digunakan, perbandingan pelarut, dan perbedaan sampel ekstrak daun beluntas.

#### **4.2.4. Uji Skrining Fitokimia**

Uji skrining fitokimia dilakukan uji secara kualitatif dari ekstrak metanol. Hasil skrining daun beluntas mengandung beberapa kandungan senyawa diantaranya flavonoid, steroid, saponin, terpenoid dan tanin. Ekstrak diidentifikasi mengandung senyawa flavonoid dengan bertanda terjadinya perubahan warna jingga setelah direaksikan HCl pekat dengan Magnesium. Senyawa terpenoid teridentifikasi pada ekstrak metanol daun beluntas ditandai dengan perubahan warna menjadi coklat kemerahan setelah direaksikan dengan kloroform dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Hal tersebut dikarenakan senyawa terpenoid memiliki kemampuan membentuk warna dari pereaksi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Habibi et al., 2018). Senyawa tanin teridentifikasi pada ekstrak metanol daun beluntas ditunjukkan oleh adanya warna kuning intens dan memudar setelah direaksikan dengan NaOH. Hal ini dikarenakan



adanya reaksi NaOH dengan tanin yang membentuk senyawa kompleks (Shaikh & Patil, 2020). Senyawa steroid teridentifikasi pada ekstrak metanol daun beluntas ditunjukkan oleh warna hijau kebiruan. Maka dari itu, senyawa steroid dapat berwarna oleh  $H_2SO_4$  di pelarut asam asetat anhidrat dan didasarkan pada gugus di atom C-4 berbeda (Forestryana & Arnida, 2020). Ekstrak diidentifikasi mengandung senyawa saponin dengan bertanda adanya buih yang stabil. Busa yang stabil disebabkan glikosida sehingga terbentuk busa di air serta terhidrolisisnya menjadi glukosa (Forestryana & Arnida, 2020).

#### **4.2.5. Identifikasi Flavonoid Fraksi Metanol dan Fraksi n-heksan Daun beluntas**

Identifikasi flavonoid dengan metode KLT. Metode kromatografi lapis tipis yang dapat memisahkan komponen berdasarkan perbedaan tingkat interaksi dalam dua fase materi yang akan dipisahkan. KLT digunakan identifikasi kualitatif suatu senyawa dengan membandingkan nilai  $R_f$  baku pembanding dengan nilai  $R_f$  sampel (Husa & Mita, 2020).

Pada penelitian ini memakai fase diam serta fase gerak dengan perbedaan perbandingannya. Fase diam menggunakan silica gel memiliki sifat yang relatif polar. Silica gel merupakan plat yang dapat menyebabkan pewarnaan atau fluoresensi pada panjang gelombang 254 nm karena adanya gugus kromofor. Gugus kromofor didefinisikan

gugus yang mampu menimbulkan warna. Pada pengujian KLT fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas menggunakan etil asetat : n-heksan (4:1) sebagai fase gerak. Polaritas fase gerak yang dipilih dapat menentukan kecepatan migrasi solut yang mempengaruhi nilai Rf. 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 yang bersifat lebih polar dan non polar mampu terisolasi secara baik (Dinasti, 2016). Hasil dari uji flavonoid fraksi metanol dan fraksin n-heksan dengan perbandingan etil asetat:n-heksan (4:1) didapatkan bercak noda dengan hasil nilai Rf fraksi metanol 0,69 dan hasil Rf fraksi n-heksan 0,71. Hasil tersebut telah sesuai dengan standar kuersetin yang didapat yaitu 0,69. Hasil Nilai Rf yang berbeda dipengaruhi oleh kejenuhan eluen, jumlah cuplikan yang digunakan, suhu dan struktur senyawa yang dipisahkan(Riskiyani et al., 2020).

#### **4.2.6. Uji Kadar Flavonoid Total**

Kadar flavonoid total diuji dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Pengukuran menggunakan metode ini berdasarkan energi dari sinar visibel yang memiliki panjang gelombang tertentu suatu molekul. Penggunaan standar kuersetin dikarenakan termasuk flavonoid bergolongan flavonol, mempunyai dua gugus yang diantaranya gugus keto dan hidroksil, maupun ikatan

yang terbentuk oleh kuersetin dengan flavonoid mudah bereaksi satu sama lain dan mempermudah proses analisis. Prinsip dari penetapan kadar flavonoid dinyatakan adanya reaksi yang diperoleh dari  $\text{AlCl}_3$  dengan flavonoid menghasilkan warna kuning yang kompleks, lalu diukur absorbansinya menggunakan panjang gelombang 418 nm. Kurva kalibrasi didapatkan  $y = 0,040305 + (-0,190848)$  dengan nilai korelasi  $r = (0,99867)$ . Ditujukkannya kurva kalibrasi yang linier didapatkan dari hasil korelasinya mendekati 1, lalu diperoleh hubungan diantara konsentrasi kuersetin dengan nilai absorbansinya. Kadungan flavonoid total dinyatakan dengan nilai EQ (Equivalent Quersetin) yaitu jika 1 g sampel memiliki kesetaraan milligram dalam kuersetin (Wachidah,2013). Hasil dari masing-masing pengukuran flavonoid total didapatkan hasil yang berbeda dari setiap sampel. Kadar flavonoid fraksi metanol dengan hasil sebesar 1,877 mg/g EQ, sedangkan untuk fraksi n-heksan didapatkan hasil 0,414 mg/g EQ. Pada penelitian sebelumnya Safriani et al., (2021) bahwa hasil EQ  $2.83 \pm 0.02$ . Perbedaan tersebut dapat disebabkan bebarapa faktor yaitu metode ekstraksi yang dipakai, jenis pelarut yang sesuai serta suhu yang digunakan dalam proses ekstraksi. Dilihat dari hasil kadar flavonoid daun beluntas didapatkan paling besar dari fraksi metanol selanjutnya fraksi n-heksan, hal tersebut menunjukkan bahwa kadar

flavonoid lebih mudah tertarik dari pelarut polar ke pelarut non polar (Hudha & Widyaningsih, 2014).

#### **4.2.7. Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol dan Fraksi n-heksan Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol**

Pengujian aktivitas antikolesterol pada ekstrak metanol, fraksi metanol dan fraksi n-heksan menggunakan metode *Lieberman Burchard*. Penggunaan metode *Lieberman burchard* agar diidentifikasi senyawa golongan steroid yaitu kolesterol dan dipilih karena pengerjaannya relatif sederhana. Reaksi yang digunakan yaitu asam asetat anhidrat dengan  $H_2SO_4$  pekat yang didapatkan pada reaksinya *lieberman burchard* yaitu banyaknya kolesterol bebas dari sampel yang digunakan dihasilkan perubahan warna hijau yang akhirnya diukur absorbansi memakai spektrofotometer UV-Vis. Jika hasilnya dari reaksi tersebut menjadi hijau tua, maka hasil tersebut menunjukkan banyaknya kadar kolesterol yang ada pada sampel. Kepekatan warna hijau suatu larutan sampel nanti akan berpengaruh terhadap hasil absorbansi yang didapatkan dari spektrofotometer UV-Vis. Pengerjaan dalam reaksi *Lieberman burchard* harus terbebas dengan air dikarenakan adanya sedikit air mampu terpengaruhi proses serta senyawa yang diperoleh unstabil. Fungsi dari penambahan asam asetat anhidrat agar kolesterol terekstraksi, dengan dipastikan medianya terbebas air serta terbentuk turunan asetilnya dari steroid,

penetasan  $H_2SO_4$  pekat sehingga masuk ke dinding dapat dihasilkan warnanya yaitu hijau (Anggraini & Fathrah, 2018). Kontrol positif yang digunakan adalah golongan statin yaitu simvastatin. Simvastatin merupakan obat yang digunakan secara luas dalam pengobatan hiperkolesterolemia dengan dua mekanismenya yaitu secara kompetitif terhambatnya enzim *3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A* (HMG-CoA) reduktase dan penurunan reseptor kolesterol LDL dan merupakan obat pilihan efektif untuk menurunkan kadar kolesterol (Hariadini et al., 2020)

Untuk mengetahui aktivitas antikolesterol pada sampel dengan cara membandingkan masing-masing absorbansi yang didapat. Sampel yang digunakan harus berwarna hijau setelah diberikan reaksi asam asetat anhidrat dan  $H_2SO_4$  pekat. Dibandingkan juga dengan kontrol negatif (kolesterol 200 ppm + asam asetat anhidrat 2,0 mL dan  $H_2SO_4$  pekat 1 mL) dengan larutan uji dari sampel (Sampel daun beluntas + kolesterol 200 ppm + asam asetat anhidrat 2,0 mL dan  $H_2SO_4$  pekat 1 mL) yang kemudian dihitung untuk mencari persen penurunan kadar kolesterol (Amin, 2015). Konsentrasi kolesterol yang digunakan dari larutan kolesterol 200 ppm yang dilarutkan dengan pelarut kloroform sama dengan halnya sampel. Pemilihan kloroform sebagai pelarut karena satu komponen kolesterol memiliki sifat non polar larut dalam pelarut non polar yaitu 4,5 bagian kloroform sedangkan penambahan

pelarut kloroform untuk sampel agar larutan baku kolesterol dan larutan sampel dapat bereaksi. Pengukuran panjang gelombang dengan spektrofotometri untuk mengetahui panjang gelombang dengan serapan optimum yang didapatkan dari larutan baku kolesterol pada rentang 400-700 nm.

Pengukuran absorbansi dengan panjang gelombang maksimum karena memiliki kestabilan dan kepekaan yang lebih maksimal, memungkinkan untuk meminimalkan kesalahan akibat perubahan nilai absorbansi tiap konsentrasi. Panjang gelombang maksimum yang didapatkan dari kolesterol 200 ppm yaitu 509 nm dan dari kurva terbentuk puncak kurva dengan serapan yang maksimal. Hasil dari panjang gelombang dari reaksi asam asetat anhidrat dan  $H_2SO_4$  pekat pada larutannya baku kolesterol memiliki perbedaan pada penelitian sebelumnya yaitu 546 nm (Purbayanti, 2015). Selain itu pencarian operating time agar mengetahui waktu pengukuran disenyawa dalam larutan yang diperoleh dari absorbansi stabil. Hasil absorbansi menit ke 16 sampai 22 menit menunjukkan penurunan yang stabil dengan jarak yaitu 0,001 nm sehingga waktu yang dibutuhkan untuk pengukuran absorbansi yaitu 20 menit. Langkah selanjutnya membuat kurva untuk standar kolesterol dengan mereaksikan masing-masing konsentrasi yang dibuat dengan asam asetat anhidrat dan  $H_2SO_4$  pekat hasil r nya adalah 0,9991. Hasil yang didapat telah sesuai dengan

parameter linieritas yang baik yaitu apabila nilai koefisien regresi mendekati nilai 1 (Sahara et al., 2021; Amin,2015)

Pengujian aktivitas antikolesterol dilakukan pada sampel ekstrak metanol, fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas dengan masing-masing sampel menggunakan konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250 dan 300 µg/mL. Dalam proses mereaksikan asam asetat anhidrat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dilakukan pada tempat gelap dikarenakan kolesterol sangat tidak stabil terhadap cahaya(Anggraini,2018). Pembacaan dilakukan dengan panjang gelombang maksimum 509 nm menggunakan spektrofotometer Uv-Visibel karena larutan sampel yang digunakan berupa warna hijau. Hasil masing-masing dilakukan perhitungan persen penurunan kadar kolesterol.

Hasil data analisis SPSS menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol negatif dengan ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi n-heksan dan simvastatin. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol, fraksi metanol dan fraksi n-heksan memiliki aktivitas sebagai penurun kadar kolesterol. Kemampuan ekstrak metanol dalam menurunkan kadar kolesterol dikarenakan kandungan terdapat pada daun beluntas berupa flavonoid, saponin, tannin, steroid dan terpenoid. Hasil persen penurunan kadar ekstrak metanol sebesar 33,64 % menunjukkan hasil yang lebih tinggi

dari penelitian yang dilakukan oleh Sukaryana (2017) dalam menurunkan kadar kolesterol 10 % sebesar (156 mL/dL), HDL (44 mg/dL), dan LDL (144 mL/dL). Fraksi metanol memiliki aktivitas menurunkan kadar kolesterol karena adanya senyawa flavonoid, sedangkan aktivitas penurunan kadar kolesterol oleh fraksi n-heksan dikarenakan adanya senyawa terpenoid dan flavonoid.

Flavonoid bekerja sebagai penghambat enzim HMG-CoA reduktase sehingga kolesterol dalam tubuh maupun darah menurun (Artha et al., 2017). Kerja dari HMG-CoA reduktase ini untuk mengubah HMG-CoA menjadi mevalonat, selain itu flavonoid mampu mengikis endapan kolesterol pada dinding pembuluh darah koroner (Anggraini & Fathrah, 2018). Terpenoid bekerja menghambat biosintesis kolesterol dengan mengatur degradasi enzim 3- hidroksi-3- metilglutaril (HMG-CoA) reduktase. Tanin bekerja sebagai penghambat enzim HMG-CoA reduktase sehingga kolesterol dalam tubuh dengan mengikat asam empedu masuk kedalam usus halus (Zubaidah et al., 2014). Saponin bekerja dengan cara pengendapan kolesterol dan ikut dalam sirkulasi asam empedu yang membuat penyerapan di usus terganggu (Zubaidah et al., 2014).

Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna dari kontrol positif dengan seluruh kelompok. Hal ini berarti aktivitas penurunan kadar kolesterol yang dimiliki oleh ekstrak metanol,



fraksi metanol dan fraksi n-heksan sama atau sebanding dengan aktivitas yang dimiliki oleh simvastatin. Simvastatin sebagai penurun kadar kolesterol dengan mekanisme penghambat enzim HMG-CoA reduktase sehingga kolesterol dalam tubuh maupun darah menurun.

Nilai  $EC_{50}$  merupakan satu nilai untuk menggambarkan besar konsentrasi dari suatu sampel yang dapat menurunkan kadar kolesterol sebanyak 50% (Anggraini, 2018). Semakin kecil nilainya maka semakin kuat sebagai antikolesterolnya (Anggraini, 2018). Hasil dari nilai  $EC_{50}$  ekstrak metanol, fraksi metanol dan fraksi n-heksan secara berturut – turut yaitu 284,05 ppm, 279,14 ppm dan 294,13 ppm, sedangkan persen penurunan kadar kolesterol berturut-turut sebesar 33,64 %, 36,17 % dan 32,58 %. Grafik persen penurunan kadar kolesterol menunjukkan bahwa jika konsentrasi yang digunakan semakin tinggi, maka hasil persen penurunan kadar kolesterol juga semakin besar.

Hasil *Post Hoc LSD* masing-masing sampel tersebut tidak memiliki perbedaan yang bermakna, yang berarti bahwa aktivitas penurun kadar kolesterol diantara ketiga sampel tersebut bernilai sama atau sebanding. Namun demikian secara descriptive terlihat bahwa aktivitas penurun kadar kolesterol paling tinggi dimiliki oleh fraksi metanol. Hal ini diperkuat dengan hasil pengukuran kadar flavonoid fraksi metanol dengan fraksi n-heksan. Diduga senyawa flavonoid

yang bertanggung jawab terhadap aktivitas penurunan kadar kolesterol, sehingga fraksi metanol memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi n-heksan. Hasil ini sesuai dengan jurnal Anggraini (2018) bahwa tanaman yang memiliki kandungan flavonoid dapat berkashiat sebagai penurunan kadar kolesterol. Gugus alkanon (keton) pada flavonoid membentuk ikatan hidrogen ketika bereaksi dengan gugus hidroksil pada kolesterol, sehingga kolesterol yang diukur adalah kolesterol bebas bukan dari kolesterol yang berikatan dengan flavonoid.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah belum dilakukan uji aktivitas secara in-vivo menggunakan hewan uji sehingga belum diketahui apakah hasil uji secara in vitro linier dengan hasil uji secara in-vivo. Selain itu juga belum dilakukan isolasi sehingga belum diketahui senyawa aktif yang memiliki aktivitas sebagai penurun kadar kolesterol.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

5.1.1 Ekstrak metanol, fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas (*Pluchea indica* L) mempunyai aktivitas sebagai antikolesterol dan aktivitas paling tinggi pada fraksi metanol dengan rerata persen penurunan kadar 36,75%.

5.1.2 Ekstrak metanol, fraksi methanol, fraksi n-heksan daun beluntas (*Pluchea indica* L), dan simvastatin 10 mg dapat menurunkan kadar kolesterol sebesar 33,64%, 36,75%, 32,58% dan 39,25%.

#### **5.2 Saran**

5.2.1 Perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk aktivitas antikolesterol daun beluntas (*Pluchea indica* L) menggunakan hewan uji.

5.2.2 Perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk aktivitas antikolesterol daun beluntas (*Pluchea indica* L) secara in vitro untuk menemukan senyawa aktif dalam fraksi metanol dan fraksi n-heksan dengan cara proses isolasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amin, M. S. (2015). Studi In-vitro : Efek Antikolesterol Dari Ekstrak Metanol Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Terhadap Kolesterol Total. Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta : fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan
- Anggraini, D., & Fathrah, L. (2018). Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi Activity Test of Suji Leaf Extract ( *Dracaena angustifolia* Roxb .) on in vitro cholesterol lowering. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 21(2), 54–58.
- Anjaswati, D., Pratimasari, D., & Nirwana, A. P. (2021). Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol , Fraksi n- Heksana , Etil Asetat , dan Air Daun Bit ( *Beta vulgaris* L .) Menggunakan Fraksinasi Bertingkat. *Stikes*, 1(1), 1–6.
- Artha, C., Mustika, A., & Sulistyawati, S. W. (2017). Pengaruh Ekstrak Daun Singawalang Terhadap Kadar LDL Tikus Putih Jantan Hiperkolesterolemia. *EJournal Kedokteran Indonesia*, 5(2), 105–109. <https://doi.org/10.23886/ejki.5.7151>.
- Dinasti, A. R. (2016). Isolasi Dengan KLTP Dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Steroid Fraksi Etil Asetat Mikroalga *Chlorella* sp. *Revista Brasileira de Geografia Fisica*, 11(9),141–156.
- Febrianta, H., Yuniyanto, V. D., & Sukamto, B. (2015). Effects of *Pluchea indica* less leaf extract and chlorine to hematological profiles of broiler chickens. In *International Journal of Poultry Science* (Vol. 14, Issue 10, pp. 584–588). <https://doi.org/10.3923/ijps.2015.584.588>
- Firdausi, I., Retnowati, R., & Sutrisno. (2015). Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) Dengan Pelarut n-Butanol. *Kimia Student Journal*, 1(1), 785–790.
- Forestryana, D., & Arnida, A. (2020). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea Spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113. <https://doi.org/10.52434/jfb.v11i2.859>
- 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, A. R., & Setyawati, S. M. (2018). Indonesian Journal of Chemical Science Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(1), 1–4. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>

- Handoyo Sahumena, M., Ruslin, R., Asriyanti, A., & Nurrohinta Djuwarno, E. (2020). Identifikasi Jamu Yang Beredar Di Kota Kendari Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 2(2), 65–72. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v2i2.6977>
- Hariadini, A. L., Sidharta, B., Ebtavanny, T. gusti, & Minanga, E. putri. (2020). Hubungan Tingkat Pengetahuan Dan Ketepatan Penggunaan Obat Simvastatin Pada Pasien Hiperkolesterolemia Di Apotek Kota Malang. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 005(02), 91–96. <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2020.005.02.4>
- Hudha, M., & Widyaningsih, T. D. (2014). Serbuk Effervescent Berbasis Ekstrak Daun Beluntas ( *Pluchea indica* less ) Sebagai Sumber Antioksidan Alami Source. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(4), 1412–1422.
- Husa, F., & Mita, S. R. (2020). Identifikasi Bahan Kimia Obat dalam Obat Tradisional Stamina Pria dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Farmaka*, 18(2), 16–25. <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/25955>
- Kaidun, C., Tombuku, J., Sumalong, F., & Sangande, F. (2022). Skrining Fitokimia Fraksi Methanol, Etil Asetat, N-Heksan Ekstrak Kulit Buah Sirsak *Annona muricata* L. *Biofarmasetikal Tropis*, 5(1), 73–78. <https://doi.org/10.55724/jbiofartrop.v5i1.372>
- 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
- Koban, I. Y. R., Klau, M. E., & Rame, M. M. (2019). Uji Aktivitas Antihiperkolesterolemia Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) Terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Jantan Yang Diinduksi Diet Lemak Tinggi. *CHMK Pharmaceutical Scientific Journal*, 2(2), 73–84.
- Koirewoa, 2012. (2012). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L .) Isolation And Identification Flavonoid Compounds In Beluntas Leaf (*Pluchea Indica* L .). *Jurnal Farmasi*, 47–52.
- M, M. W., & Pratiwi, D. E. (2020). Efektivitas Ekstrak Daun Beluntas ( *Pluchea indica* Less ) sebagai Inhibitor Korosi pada Material Baja Karbon dalam Media NaCl 3 , 5 % Solut. 86–99.
- Mohamad, Irfan Fitriansyah; and Raden, B. I. (2017). Review: Profil Fitokimia Dan Aktivitas Farmakologi Baluntas (*Pluchea indica* L.). *Unsrat Press*, 16(2), 337–346.

- Mukhtarini. (2011). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal of Pharmacy*, VII(2), 361.
- Nor, I., Rahmita, S., & Nashihah, S. (2022). Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 7(4), 725–734. <https://doi.org/10.37874/ms.v7i4.469>
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2016). Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) Dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 2(1). <https://doi.org/10.29303/jppipa.v2i1.38>
- Nurman, Z., Masrul, M., & Sastri, S. (2018). Pengaruh Pektin Buah Apel (*Malus sylvestris* Mill) Terhadap Kadar LDL Kolesterol pada Tikus Putih Jantan (*Rattus Novergicus*) Hiperkolesterolemia. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 6(3), 679. <https://doi.org/10.25077/jka.v6i3.757>
- Prashant Tiwari, B., & Kumar, Mandeep Kaur, GurpreetKaur, H. K. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98–106.
- Purwanto, S. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L) Terhadap *Escherichia Coli*. 2(2355), 84–92.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., & Larasanty, L. P. F. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis ( *Garcinia mangostana* L .). *Journal Pharmacon*, 09(4), 56–59.
- Ramadhan, A. E., & Phaza, H. A. (2013). Pengaruh Konsentrasi Etanol, Suhu dan Jumlah Stage pada Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale* Rosc) Secara Batch. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Riskesdas. (2018). *Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI*.
- Riskiyani, T., Nurcahyo, H., & Febriyanti, R. (2020). Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Beluntas ( *Pluchea indica* L ). 7(1), 1–6.
- Rohmah, S. A. A., Muadifah, A., & Martha, R. D. (2021). Validasi Metode Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Sari Kedelai di Beberapa Kecamatan di Kabupaten Tulungagung Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(2), 120–127. <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i2.265>
- Safitri, I., Nuria, M. C., & Puspitasari, A. D. (2018). Perbandingan Kadar Flavonoid Dan Fenolik Total Ekstrak Metanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) Pada

- Berbagai Metode Ekstraksi. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(1). <https://doi.org/10.31942/inteka.v3i1.2123>
- Safriani, N., Rungkat, F. Z., Yuliana, N. D., & Prangdimurti, E. (2021). Immunomodulatory and Antioxidant Activities of Select Indonesian Vegetables, Herbs, and Spices on Human Lymphocytes. *International Journal of Food Science*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6340476>
- Sahara, F. U., Slamet, S., Waznah, U., & Wirasti, W. (2021). Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Daun Puring (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph. Ex. A.Juss) Secara In Vitro. *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan*, 1, 487–498. <https://doi.org/10.48144/prosiding.v1i.703>
- 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>
- Sayuti. (2017). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian Dan Jenis Pelarut Terhadap Rendemen Dan Aktifitas Antioksidan Bambu Laut (*Isis hippuris*). *Technology Science and Engineering Journal*, Volume 1 No 3
- Simare, E. . (2014). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*, 11(01), undefined.
- Sirichaiwetchakoon, K., Lowe, G. M., & Eumkeb, G. (2020). The Free Radical Scavenging and Anti-Isolated Human LDL Oxidation Activities of *Pluchea indica* (L.) Less. Tea Compared to Green Tea (*Camellia sinensis*). *BioMed Research International*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/4183643>
- Spigno, G., Tramelli, L. dan De Faveri, D. . (2010). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81, 200–208.
- Sukaryana, Y., & Priabudiman, Y. (2017). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* L) terhadap Total Kolesterol Darah Broiler. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 14(3), 152–157. <https://doi.org/10.25181/jppt.v14i3.154>
- Syamsul, E. S., Amanda, N. A., & Lestari, D. (2020). Perbandingan Ekstrak Lamur *Aquilaria malaccensis* Dengan Metode Maserasi Dan Refluks. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(2), 97–104. <https://doi.org/10.33759/jrki.v2i2.85>
- Utami, Y. P. (2020). Pengukuran Parameter Simplisia Dan Ekstrak Etanol Daun

Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M. Sm) Asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 24(1), 6–10. <https://doi.org/10.20956/mff.v24i1.9831>

- 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>
- Yani, M. (2015). Mengendalikan Kadar Kolesterol Pada Hiperkolesterolemia. *Olahraga Prestasi*, 11(2), 3–7. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Yanlinastuti, & Fatimah, S. (2016). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Untuk Menentukan Kadar Zirkonium dalam Panduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal PIN Pengolahan Instansi Nuklir*, 1(17), 22–33.
- Zubaidah, E., Ichromasari, D. Y., & Mandasari, O. K. (2014). Effect of Salacca Vinegar Var. Suwaru on Lipid Profile Diabetic Rats. *Food and Nutrition Sciences*, 05(09), 734–748. <https://doi.org/10.4236/fns.2014.59084>

