

## Test of Anticholesterol Activity of Fraction of N-Hexane, Ethyl Acetate, Methanol and Bark Extract of Pulai (*Alstonia Scholaris* (L.) R.Br) In Vitro

Cut Chiwe Widya Pramesty<sup>1</sup>, Slamet<sup>1</sup>, Wirasti<sup>1</sup>, Urmatul Waznah<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacy, University of Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan Indonesia

 [slamet93ffua@gamial.com](mailto:slamet93ffua@gamial.com)

### **Abstract**

Cholesterol is a complex fat compound that produces by the liver. Cholesterol can be obtained from meat, poultry, fish, milk, and dairy product. Cholesterol is important for humans, but if the cholesterol level in the blood is too high, it causes blockage of blood flow which results in atherosclerosis. Several studies declare that compounds that can lower cholesterol are flavonoid compounds, alkaloids, saponins, tannins and triterpenoids. One of the plants containing flavonoid compounds, alkaloids, saponins, tannins and triterpenoids is the bark of pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br). The purpose of this study was to determine the activity of reducing cholesterol levels in the fractions of n-hexane, ethyl acetate, methanol, and ethanol extract of the bark of pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br) and the order of fractions from smallest to largest which have potential as anticholesterol. Cholesterol activity was analysed by measuring cholesterol levels in vitro using Lieberman Burchard reagent. The analysis method used UV-Vis spectrophotometry at a wavelength of 625.0 nm with a series of test sample concentrations of 200; 400; 600; 800 and 1000 ppm. The results showed a concentration of 1000 ppm decreased cholesterol ethanol extract by 45.23%, methanol fraction by 51.49%, n-hexane fraction by 91.00% and ethyl acetate fraction by 85.01%. ANOVA was used to analyze anticholesterol activity and the result was significant ( $p < 0.05$ ). The difference in treatment was analyzed using the Tukey test. The results showed Simvastatin 200 ppm and ethyl acetate fraction concentration of 400 ppm were not significantly different ( $p = 0.909$ ). The N-Hexane fraction has the greatest potential as an anticholesterol.

**Keywords:** *Anticholesterol; Bark of Pulai; Fraction; In Vitro*

## Uji Aktivitas Antikolesterol Fraksi N-Heksana, Etil Asetat, Metanol dan Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia Scholaris* (L.) R.Br) Secara In Vitro

### **Abstrak**

Kolesterol merupakan senyawa lemak kompleks, sebagian besar kolesterol dalam tubuh diproduksi oleh hati. Kolesterol bisa diperoleh dari luar tubuh yaitu dari makanan hewani seperti daging, unggas, ikan, susu, dan margarin. Kolesterol penting bagi manusia, namun jika kadar kolesterol dalam darah terlalu tinggi diantaranya bisa menyebabkan penyumbatan aliran darah yang mengakibatkan penyakit *Aterosklerosis*. Beberapa penelitian menjelaskan bahwa senyawa yang dapat menurunkan kolesterol adalah senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan triterpenoid. Salah satu tanaman yang mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan triterpenoid adalah kulit batang pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br). Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui aktivitas penurunan kadar kolesterol fraksi n-heksana, etil asetat, metanol, dan ekstrak etanol kulit batang pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br) dan urutan fraksi dari terkecil ke terbesar yang memiliki potensi sebagai Antikolesterol. Analisis aktivitas kolesterol bisa diuji dengan mengukur kadar kolesterol secara in vitro menggunakan pereaksi Lieberman Burchard. Metode analisis menggunakan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang 625,0 nm dengan seri konsentrasi sampel uji 200; 400; 600; 800 dan 1000 ppm. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi 1000 ppm terjadi penurunan kolesterol ekstrak etanol sebesar 45,23%, fraksi metanol sebesar 51,49%, fraksi n-heksana sebesar 91,00% dan fraksi etil asetat sebesar 85,01%. Hasil uji penurunan aktivitas antikolesterol diuji statistika ANOVA dan didapatkan hasil nilai signifikan  $< 0,05$  dan untuk melihat perbedaan perlakuan dilakukan dengan uji Tukey,

hasil uji Tukey menyatakan Simvastatin 200 ppm dan fraksi etil asetat konsentrasi 400 ppm tidak berbeda dengan nilai signifikan  $0,909 > 0,05$ . Fraksi N-Heksan memiliki potensi terbesar sebagai Antikolesterol.

**Kata Kunci** : Antikolesterol; kulit batang pulai; fraksi; in vitro

## 1. Pendahuluan

Pola hidup masyarakat saat ini telah banyak berubah, diantaranya pada pola makan. Masyarakat sekarang lebih memilih makanan yang praktis. Makanan praktis berupa makanan cepat saji (fast food) yang cenderung mengandung lemak jenuh yang tinggi. Hal ini berakibat masyarakat beresiko terserang penyakit kolesterol yang dapat memicu penyakit jantung.

Kolesterol merupakan bagian dari lemak atau lipid, tetapi keduanya adalah zat yang berbeda. Kolesterol ialah senyawa lemak kompleks, sebagian besar kolesterol pada tubuh diproduksi oleh tubuh itu sendiri, dan hati adalah penyokong kolesterol terbesar dalam tubuh [1]

Menurut (Kemenkes RI, 2017; balibangkes, 2013; WHO, 2019) Prevalensi hiperkolesterolemia di dunia sekitar 45%, di Asia Tenggara sekitar 30% dan di Indonesia 35% [2]

Selama ini pengobatan yang digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol yaitu dengan mengkonsumsi obat-obatan sintetik. Obat sintetik lebih mahal dan dapat menimbulkan efek samping ketika dikonsumsi. Hal ini mendorong berbagai usaha untuk mencari alternatif pemakaian obat tradisional yang berasal dari tanaman obat [3]

Pemanfaatan tanaman secara empiris untuk mengobati berbagai jenis penyakit masih menjadi pilihan sebagian penduduk di Indonesia. Penelitian mengenai tanaman obat telah banyak dilakukan, seperti penelitian yang dilakukan oleh [4] tentang tanaman obat yang digunakan oleh masyarakat kampung Puper Distrik Waigeo Timur Kabupaten Raja Ampat yaitu tanaman pulai (kulit batang pulai) sebagai pengobatan kolesterol.

Tanaman pulai memiliki banyak manfaat karena mengandung metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman pulai. Kulit batang, daun dan bunga tanaman Pulai mengandung bahan kimia seperti alkaloid, saponin, terpen, flavonoid, fenol, tanin dan glikosida. [5] menjelaskan bahwa pemberian ekstrak yang mengandung senyawa flavonoid bisa menurunkan kadar kolesterol total. [3], [6] senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin berperan dalam menurunkan kadar kolesterol dengan cara berikatan langsung dengan kolesterol bebas. Menurut penelitian [7], menunjukkan bahwa senyawa triterpenoid (*Methyl-3 $\beta$ -hydroxylanosta 9,24-dien-21-oate*) yang diisolasi dari kulit batang *Protorhus longifolia* (Benrh) Engl memiliki aktivitas antidiislipidemia yang diuji secara *in-vivo*.

Fraksinasi merupakan suatu proses pemisahan senyawa berdasarkan dengan polaritasnya menggunakan pelarut n-heksan sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar dan metanol sebagai pelarut polar [8]

## 2. Metode

### 2.1 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu kulit batang Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br), etanol 96 %, kolesterol murni, Simvastatin, n-heksana, etil asetat, metanol, kloroform, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, serbuk Mg, CH<sub>3</sub>COOH anhidrat, HCl pekat, FeCl<sub>3</sub>, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendrof dan aquadest.

### 2.2 Peralatan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *rotary evaporator* (Heidolph), vortex (SciLOGEX), penangas air (Faithful), cawan penguap, kertas saring (Whatman 42), mikropipet (Dragon Lab), ayakan 40 mesh, batang pengaduk, aluminium Foil, oven (Memmert), neraca analitik (Ohaus), alat-alat gelas (pyrex), tabung reaksi (pyrex) dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1280).

### 2.3 Prosedur

1. **Determinasi Tumbuhan**  
Determinasi Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br) dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas SAINS dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan.
2. **Penyiapan Bahan**  
Sampel yang digunakan adalah kulit batang Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br) sebanyak 5 kg. Kulit batang Pulai yang sudah diambil kemudian disortasi basah untuk memisahkan kulit batang pulai dari kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya, setelah itu dilakukan pencucian, dipotong kecil-kecil lalu dijemur dibawah sinar matahari dengan ditutup kain warna hitam untuk menghindari rusaknya senyawa dalam kulit batang pulai. Kemudian disortasi kering lalu dihaluskan dan disaring dengan menggunakan ayakan mesh 40.
3. **Pembuatan Ekstrak**  
Sebanyak 1500 gram sampel kulit batang pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br) diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 9 liter selama 5 hari. Kemudian maserat disaring dengan kain flanel sehingga menghasilkan filtrat yang akan dievaporator. Selanjutnya ampas diremaserasi dengan menggunakan etanol 96% selama 2 hari, dan disaring kembali menggunakan kain flanel yang kemudian filtrat dievaporator untuk mendapatkan ekstrak kental [9].
4. **Pembuatan Fraksi**  
Ekstrak kental yang difraksi masing-masing sebanyak 10 g dengan ditambahkan pelarut metanol 100 ml, n-heksan 100 ml dan etil asetat 100 ml yang dimasukkan ke dalam corong pisah ditutup dan diamkan selama 24 jam proses ekstraksi fraksi. Proses fraksinasi dilakukan sendiri-sendiri menggunakan corong pisah, kemudian diletakkan pada statip untuk mendiamkan larutan selama 24 jam proses ekstraksi fraksi.
5. **Skrining Fitokimia**
  - a. **Alkaloid**  
Sebanyak 0,5 gram ekstrak dilarutkan dalam HCL 1% lalu disaring filtrat kemudian dibagi menjadi 2 bagian. Bagian 1 ditambah pereaksi dragendrof dan bagian lainnya ditambahkan pereaksi mayer. Hasil positif menunjukkan adanya endapan merah untuk pereaksi dragendrof dan endapan putih untuk pereaksi mayer [10]
  - b. **Flavonoid**  
Ekstrak sebanyak 200 mg ditambah 5 ml etanol, dipanaskan selama 5 menit lalu disaring. Ditambahkan HCL pekat dan serbuk Mg. Hasil positif menunjukkan warna merah tua (magenta) [11].
  - c. **Steroid dan Triterpenoid**  
Ekstrak sebanyak 40 mg ditambahkan 10 tetes  $\text{CH}_3\text{COOH}$  anhidrat dan 2 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (pereaksi Liebermann-Bouchard). Larutan dikocok perlahan, dibiarkan beberapa menit. Hasil positif menunjukkan warna biru atau hijau untuk steroid dan warna merah atau ungu untuk triterpenoid [12].
  - d. **Tanin**  
Ekstrak sebanyak 50 mg ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  5 % sebanyak 5 tetes. Hasil positif menunjukkan apabila larutan menjadi hijau tua [13].
  - e. **Saponin**  
Ekstrak sebanyak 40 mg ditambahkan 10 ml air panas, dikocok selama 1 menit. Ditambahkan 2 tetes HCl 1N. Jika busa yang terbentuk tetap stabil kurang lebih 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin [12].

f. Fenolik

Ekstrak sebanyak 40 mg ditambahkan 10 tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif menunjukkan apabila berwarna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat [12].

g. Uji Aktivitas Antikolesterol

a. Larutan Induk Standar

Dibuat larutan induk kolesterol dengan konsentrasi 1000 ppm yaitu dengan cara melarutkan 25 mg kolesterol dalam kloroform pada labu ukur 25 mL.

b. Larutan Induk Baku Simvastatin

Larutan baku dibuat dengan melarutkan sebanyak 50 mg simvastatin dalam labu ukur 50 mL, kemudian dilarutkan dalam kloroform sampai tanda batas.

c. Larutan Induk Sampel

Larutan uji dibuat dengan melarutkan sebanyak 50 mg ekstrak sampel kulit batang pulai dalam labu ukur 50 ml, kemudian dilarutkan dalam kloroform sampai tanda batas.

d. Pembuatan Kurva Standar

Dari larutan induk kolesterol dengan konsentrasi 1000 ppm, kemudian dibuat 5 seri konsentrasi yaitu 100; 200; 300; 400 dan 500 ppm. Kemudian diambil 2,0 mL pada setiap konsentrasinya, dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 2,0 mL  $\text{CH}_3\text{COOH}$  anhidrat dan 0,1 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat (pereaksi Liebermann-Bouchard) pada masing-masing tabung yang ditutup aluminium foil. Tabung divortex dan dibiarkan pada suhu kamar, terlindung dari cahaya selama 15 menit.

e. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 2,0 ml larutan kolesterol dari seri konsentrasi dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 2,0 ml  $\text{CH}_3\text{COOH}$  anhidrat dan 0,1 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat (pereaksi Liebermann-Bouchard) pada masing-masing tabung yang ditutup aluminium foil. Tabung divortex dan dibiarkan pada suhu kamar, terlindung dari cahaya selama 15 menit. Dilakukan pengukuran dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm [14].

f. Pengukuran Kadar Kolesterol

Larutan uji 1000 ppm dari ekstrak fraksi n-heksan, etil asetat, metanol, kontrol positif (Simvastatin) dan ekstrak kulit batang pulai diambil untuk membuat seri konsentrasi 200; 400; 600; 800 dan 1000 ppm. Dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml dan dilarutkan dengan kloroform sampai tanda batas.

Setiap konsentrasi larutan uji ekstrak daun pulai diambil sebanyak 2 ml, ditambahkan 2 ml larutan baku kolesterol, ditambahkan 2,0 ml  $\text{CH}_3\text{COOH}$  anhidrat dan 0,1 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat (pereaksi Liebermann-Bouchard), dihomogenkan dengan vortex dan diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum. Diukur serapan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 625 nm. Dihitung presentase penurunan kadar kolesterol dengan rumus berikut :

$$A = \frac{C - B}{C} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Presentase Penurunan Kolesterol

B = Absorbansi Kolesterol Akhir

C = Absorbansi Kolesterol Awal

### 3 Hasil dan Pembahasan

#### 3.1 Rendemen Ekstrak

**Tabel 4.1** Berat Serbuk Simplisia, Berat Ekstrak, dan Hasil Rendemen Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br).

| Berat Serbuk Simplisia (gr) | Berat Ekstrak (gr) | Rendemen Ekstrak (%) |
|-----------------------------|--------------------|----------------------|
| 1500                        | 60                 | 4                    |

Hasil ekstraksi kulit batang Pulai didapatkan ekstrak kental, dengan nilai rendemen 4%. Rendemen ekstrak adalah senyawa zat aktif yang bisa diambil dari simplisianya yang merupakan perbandingan antara total ekstrak yang didapatkan dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan untuk ekstraksi. Rendemen ekstrak menyatakan bahwa adanya senyawa kimia yang terkandung dalam serbuk simplisia kulit batang Pulai terekstraksi oleh pelarut. Semakin banyak nilai rendemen ekstrak yang dihasilkan maka semakin banyak pula senyawa kimia yang dihasilkan.

#### 3.2 Rendemen Fraksi

**Tabel 4.2** Hasil Rendemen Fraksi Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br).

| Pelarut Fraksi | Bobot Ekstrak (gr) | Bobot fraksi (gr) | Rendemen Fraksi (%) |
|----------------|--------------------|-------------------|---------------------|
| Metanol        | 10                 | 8                 | 80                  |
| N-Heksan       | 10                 | 1                 | 10                  |
| Etil Asetat    | 10                 | 2                 | 20                  |

Hasil fraksinasi ekstrak kulit batang pulai didapatkan nilai rendemen fraksi metanol sebanyak 80%, nilai rendemen fraksi n-heksan sebanyak 10% dan nilai rendemen fraksi etil asetat sebanyak 20%. Hasil yang diperoleh dari proses pemisahan pelarut yang digunakan ekstraksi fraksi pada ekstrak etanol kulit batang pulai itu lebih banyak pada fraksi metanol dibandingkan dengan n-heksan dan etil asetat, karena banyak senyawa metabolit yang bersifat polar. Pada proses fraksi ada senyawa kimia yang tidak tertarik oleh pelarut metanol, n-heksan dan etil asetat, hal ini memungkinkan terjadi karena adanya penguapan zat aktif bersama pelarut pada saat proses ekstraksi fraksi.

#### 3.3 Kadar Air

**Tabel 4.3** Hasil Pengujian Kadar Air

| Pengujian                        | Hasil  |
|----------------------------------|--------|
| Uji kadar air serbuk simplisia   | 8,25 % |
| Uji kadar air ekstrak etanol     | 0,25 % |
| Uji kadar air fraksi metanol     | 0,46 % |
| Uji kadar air fraksi n-heksan    | 0,90 % |
| Uji kadar air fraksi etil asetat | 0,92 % |

Hasil uji kadar air serbuk simplisia dan ekstrak kulit batang pulai menunjukkan bahwasanya kadar air serbuk simplisia ataupun kadar air ekstrak yang terkandung di dalamnya itu memenuhi syarat. Persyaratan kadar air pada serbuk simplisia nilainya  $\leq$  10% dan persyaratan kadar air pada ekstrak nilainya  $\leq$  10% [15].

### 3.4 Skrining Fitokimia

**Tabel 4.4** Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol, Metanol, N-Heksan, Etil Asetat kulit batang pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br).

| Metabolit Senyawa   | Warna      | Hasil Penelitian |                |                 |                    |
|---------------------|------------|------------------|----------------|-----------------|--------------------|
|                     |            | Ekstrak Etanol   | Fraksi Metanol | Fraksi N-Heksan | Fraksi Etil Asetat |
| Alkaloid Dragendrof | EM         | +++              | +++            | ++              | ++                 |
| Alkaloid Mayer      | EP         | +++              | +++            | -               | +                  |
| Flavonoid           | MT         | ++               | ++             | -               | -                  |
| Steroid             | B/H        | -                | -              | -               | -                  |
| Triterpenoid        | M/U        | +++              | +++            | +++             | +++                |
| Tanin               | HT         | +++              | +++            | +               | +                  |
| Saponin             | B          | +++              | ++             | -               | -                  |
| Fenolik             | H/M/U/B/HP | +++              | +++            | -               | +                  |

Keterangan :

EM : Endapan Merah

EP : Endapan Putih

MT : Merah Tua (Magenta)

B/H : Biru atau Hijau

M/U : Merah atau Ungu

HT : Hijau Tua

B : Berbusa

H/M/U/B/HP : Hitam/Merah/Ungu/Biru /Hitam Pekat

(+++): Warna Pekat

(++): Warna Muda

(+): Warna sedikit terlihat

(-): Warna tidak terbentuk

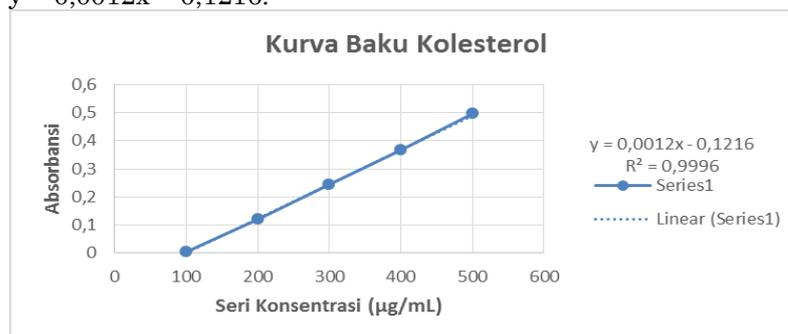
Dari **tabel 4.4** menunjukkan bahwa hasil skrining kulit batang pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br) mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, triterpenoid, tanin, saponin dan fenolik.

### 3.5 Kurva Baku

**Tabel 4.5** Nilai Absorbansi Kurva Baku Kolesterol

| Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ ) | Absorbansi | Persamaan Regresi                        |
|----------------------------------|------------|--|
| 100                              | 0,006      | $y = 0,0012x - 0,1216$<br>$R^2 = 0,9996$ |
| 200                              | 0,119      |  |
| 300                              | 0,244      |  |
| 400                              | 0,367      |  |
| 500                              | 0,495      |  |

Nilai koefisien korelasi ( $R^2$ ) pada kurva baku kolesterol dipenelitian ini yaitu 0,9996 dengan nilai a = 0,0012 dan nilai b = 0,1216 sehingga didapatkan nilai persamaan regresi linier  $y = 0,0012x - 0,1216$ .



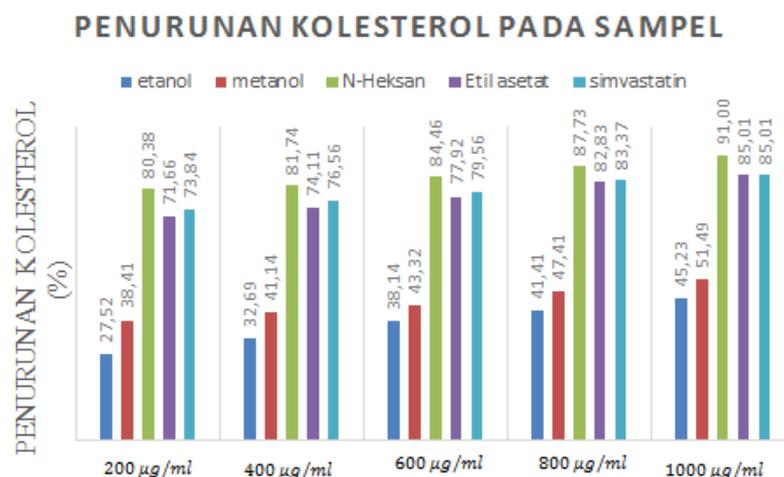
**Gambar 4.1** Kurva Baku Kolesterol

Nilai koefisien korelasi digunakan untuk menentukan linearitas suatu analisis, dimana nilai a yaitu perpotongan kurva pada sumbu y, sedangkan nilai b yaitu kemiringan kurva. Ketika koefisien regresi nilainya mendekati 1, maka akan memperoleh hasil linier yang baik. Koefisien korelasi (R) akan mendapatkan nilai yang ideal jika mendekati -1 atau +1, hal ini menunjukkan bahwa adanya hubungan linier antara konsentrasi dengan absorbansi yang dihasilkan, artinya peningkatan nilai absorbansi analit berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi. Semakin tinggi nilai koefisien korelasi maka semakin tinggi pula linearitasnya yang diperoleh [16].

### 3.6 Penentuan Panjang Gelombang

Panjang gelombang yang didapatkan pada penelitian ini yaitu 625,0 nm dengan konsentrasi 400  $\mu\text{g/ml}$  pada larutan baku kolesterol yang direaksikan dengan asam asetat anhidrat sebanyak 2,0 ml dan asam sulfat pekat sebanyak 0,1 ml. Hal ini disebabkan karena pada puncak tersebut membentuk serapan yang optimal. Menurut penelitian yang dilakukan oleh [17] panjang gelombang yang didapatkan yaitu 626 nm dan pada penelitian yang dilakukan oleh [18] panjang gelombang yang didapatkan yaitu 625,0 nm. Pada penelitian ini didapatkan panjang gelombang 625,0 nm, perbedaan panjang gelombang maksimal pada penelitian ini dengan penelitian yang dilakukan [17] dipengaruhi oleh adanya perbedaan tipe spektrofotometri yang digunakan. Absorbansi pada penelitian ini yang didapatkan konsentrasi 400  $\mu\text{g/ml}$  yaitu 0,367 nm dengan panjang gelombang maksimal.

### 3.7 Penurunan Kadar Kolesterol



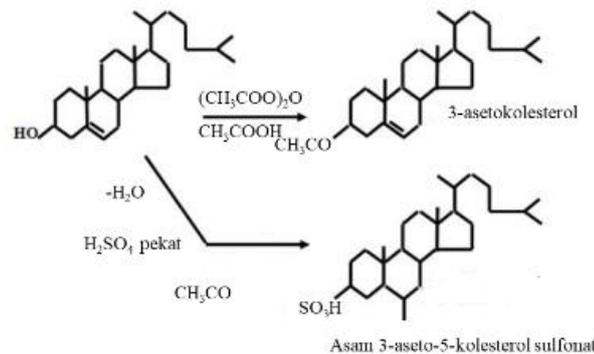
Gambar 4.2 Diagram Nilai Penurunan Kadar Kolesterol pada fraksi metanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, ekstrak etanol kulit batang pulai dan simvastatin.

Berdasarkan hasil penurunan kadar kolesterol pada gambar 4.2 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasinya maka presentase penurunan kadar kolesterolnya juga semakin tinggi. Sedangkan semakin tinggi absorbansinya maka penurunan kadar kolesterol semakin rendah. Pada konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$

merupakan konsentrasi tertinggi dalam sampel ekstrak etanol persentase penurunan kadar kolesterolnya sebanyak 45,23 %, pada sampel fraksi metanol presentase penurunan

kadar kolesterolnya sebanyak 51,49 %, pada sampel fraksi n-heksan presentase penurunan kadar kolesterolnya sebanyak 91,00 %, pada sampel fraksi etil asetat presentase penurunan kadar kolesterolnya sebanyak 85,01 %, dan pada kontrol positif Simvastatin presentase penurunan kadar kolesterolnya sebanyak 85,01 %. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat dilihat presentase penurunan kadar kolesterol yang paling tinggi yaitu pada sampel ekstrak fraksi n-heksan kulit batang pulai sebanyak 91,00%.

### 3.8 Mekanisme Kerja Pereaksi Liberman Burchard



**Gambar 4.4.** Reaksi Pembentukan Warna Hijau antara Kolesterol dengan Pereaksi *Lieberman Burchard* [3].

Mekanisme reaksi kolesterol yang berpotensi untuk berikatan dengan flavonoid yaitu adanya asam asetat mengubah struktur kimia kolesterol menjadi kolestadiene. Selanjutnya asam sulfat terurai menjadi  $\text{HSO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{O}$ , dan  $\text{SO}_3$  masing-masing akan berikatan dengan kolestadiene, maka akan terbentuk adanya senyawa asam sulfonat kolestadin yang akan berikatan dengan flavonoid, sehingga berperan dalam menurunkan kadar kolesterol dengan menggantikan gugus hidroksil pada asam sulfonat kolestadin dan gugus substituen dari flavonoid. Semakin banyak kolesterol yang berikatan dengan flavonoid dalam sampel maka semakin sedikit kolesterol bebas dan warna yang dihasilkan semakin pudar.

### 3.9 Analisis Data

#### a. Uji Normalitas

**Tabel 4.7** Hasil uji normalitas

| Konsentrasi     | Eksrak Etanol | Fraksi Metanol | Fraksi N-Heksan | Fraksi Etil Asetat |
|-----------------|---------------|----------------|-----------------|--------------------|
| 200             | 0,142         | 0,980          | 0,269           | 0,628              |
| 400             | 0,633         | 0,654          | 0,118           | 0,654              |
| 600             | 0,637         | 0,099          | 0,980           | 0,144              |
| 800             | 1,000         | 0,980          | 0,980           | 0,628              |
| 1000            | 0,187         | 0,263          | 0,146           | 0,058              |
| Kontrol Positif |               | 0,058          |                 |                    |

Hasil uji normalitas dapat dilihat pada [tabel 4.7](#) dengan menggunakan uji Saphiro-Wilk menunjukkan bahwa fraksi metanol, fraksi n-heksan, fraksi metanol dan ekstrak etanol terdistribusi normal dengan nilai signifikan lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ).

#### b. Uji Homogenitas

**Tabel 4.8** Hasil uji homogenitas

| Hasil | Nilai Signifikan (p) |
|-------|----------------------|
|-------|----------------------|

|                    |       |
|--------------------|-------|
| Ekstrak Etanol     | 0,050 |
| Fraksi Metanol     | 0,234 |
| Fraksi N-Heksan    | 0,696 |
| Fraksi Etil Asetat | 0,419 |

Uji homogenitas fraksi metanol, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat dapat dilihat pada [tabel 4.8](#) yang menunjukkan bahwa data tersebut homogen dimana nilai signifikan yang didapat lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa data tersebut memenuhi syarat untuk dilanjutkan uji one away ANOVA.

c. Uji One Away ANOVA

[Tabel 4.9](#) Hasil uji One Way ANOVA

| Hasil nilai signifikan |       |
|------------------------|-------|
| Ekstrak Etanol         | 0,000 |
| Fraksi Metanol         | 0,000 |
| Fraksi N-Heksan        | 0,000 |
| Fraksi Etil Asetat     | 0,000 |

Hasil uji One Way ANOVA dapat dilihat pada [tabel 4.9](#) persen penurunan kolesterol menunjukkan pada ekstrak etanol, fraksi metanol, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat bahwa data berbeda secara bermakna dengan nilai signifikan kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ). Dari hasil tersebut maka dapat dilanjutkan dengan uji tukey untuk melihat perbedaan tiap perlakuan.

d. Uji Tukey

[Tabel 4.10](#) Hasil Uji Tukey

| Kelompok Perlakuan | Perbandingan                 | Nilai Signifikan (p) | Keterangan    |
|--------------------|------------------------------|----------------------|---------------|
| Kontrol Positif    | 400 ppm (Fraksi Etil Asetat) | 0,909                | Tidak Berbeda |

Dari [tabel 4.10](#) uji tukey pada fraksi etil asetat pada konsentrasi 400 tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif dengan nilai signifikan lebih dari 0,05. Hal ini dapat diartikan fraksi etil asetat pada konsentrasi 400 memiliki efek antikolesterol yang serupa dengan kontrol positif.

## 4 Kesimpulan

- Pada konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$  ekstrak etanol menghasilkan presentase penurunan kolesterol sebesar 45,23%, fraksi metanol sebesar 51,49%, fraksi n-heksan sebesar 91,00% dan etil asetat sebesar 85,01%.
- Sampel yang memiliki potensi sebagai antikolesterol dari terbesar sampai yang terkecil yaitu yang pertama Fraksi N-Heksan, kedua Fraksi Etil Asetat, ketiga Fraksi Metanol dan yang terakhir Ekstrak Etanol.

## Referensi

- [1] N. Setianingsih, N. Nahdiyah, and R. Purnamasari, "Pengaruh Ekstrak Buah Pisang dan Ekstrak Buah Alpukat Terhadap Kadar Kolesterol Mencit Betina," *J. Biota*, vol. 3, no. 2, pp. 48–53, 2017.
- [2] Subandrate, Susilawati, and Safyudin, "Mentorship of Prevention and Treatment Effort of Hypercholesterolemia in Students," *J. Arsip Pengabd. Masy.*, vol. 1, no. 1, pp. 1–7, 2020.
- [3] D. I. Anggraini and L. F. Nabillah, "Activity Test of Suji Leaf Extract (*Dracaena angustifolia* Roxb.) on in vitro cholesterol lowering," *J. Kim. Sains dan Apl.*, vol. 21, no. 2, pp. 54–58, 2018.
- [4] J. M. K. Mayor and L. Wattimena, "Pemanfaatan Pohon Pulai (*Alstonia Scholaris*) Oleh Masyarakat Kampung Puper Distrik Waigeo Timur Kabupaten Raja Ampat," *J. J-MACE*, vol. 2, no. 1, pp. 68–81, 2022.
- [5] N. Witosari and N. Widyastuti, "Pengaruh Pemberian Jus Daun Ubi Jalar (*Ipomea batatas* (L.) Lam) Terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Pakan Tinggi Lemak," *J. Nutr. Coll.*, vol. 3, no. 4, pp. 638–646, 2014.
- [6] A. F. Puspasari, S. M. Agustini, and A. P. Illahika, "Pengaruh Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia Calabra* L.) Terhadap Profil Lipid Mencit Putih (*Mus Musculus*) Jantan Yang Diinduksi Minyak Jelantah," *Saintika Med.*, vol. 12, no. 1, pp. 49–55, 2016.
- [7] K. E. Machaba, S. Z. Z. Cobongela, R. A. Mosa, L. A. Oladipupo, T. G. Djarova, and A. R. Opoku, "In vivo anti-hyperlipidemic activity of the triterpene from the stem bark of *Protorhus longifolia* (Benrh) Engl," *Lipids Health Dis.*, vol. 13, no. 1, pp. 1–7, 2014.
- [8] L. Sugiarti, D. M. Adriyani, M. P. Pratitis, and R. Setyani, "Aktivitas Antibakteri Fraksi N-heksan, Etil asetat dan Air Ekstrak Etanol Daun Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*," *Cendekia J. Pharm.*, vol. 4, no. 2, pp. 120–130, 2020.
- [9] M. A. U. Leba, *Bahan Ajar Ekstraksi dan Real Kromatografi*. Yogyakarta: CV Budi Utama, 2017.
- [10] K. Ahmad *et al.*, "New Indole Alkaloids from *Kopsia Singaporensis* (RIDL)," in *The Open Conference Proceedings Journal*, 2013, vol. 4, no. 1, pp. 75–82.
- [11] I. N. Sastrawan, M. Sangi, and V. Kamu, "Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas D(*Foeniculum vulgare*) Menggunakan Metode DPPH," *J. Ilm. Sains*, vol. 13, no. 2, pp. 110–115, 2013.
- [12] D. P. Wijaya, J. E. Paendong, and J. Abidjulu, "Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Nasi (*Phrynium capitatum*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)," *J. MIPA*, vol. 3, no. 1, pp. 11–15, 2014.
- [13] T. M. B. Bandiola, "Extraction and Qualitative Phytochemical Screening of Medicinal Plants: A Brief Summary," *Int j Pharm*, vol. 8, no. 1, pp. 137–143.
- [14] H. Karyati, "Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol dan Isolat Flavonoid Daun Murbei (*Morus alba* L.) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Secara In Vitro," Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi "Yayasan Pharmasi" Semarang, 2013.
- [15] D. RI, *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 1995.
- [16] N. Y. Lindawati and S. H. Ma'ruf, "Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Dengan Metode Kompleks Kolorimetri Secara Spektrofotometri Visibel," *J. Ilm. Manuntung*, vol. 6, no. 1, pp. 83–91, 2020.
- [17] A. Faizar, "Penurunan Kadar Kolesterol dari Ekstrak Etanol Buah Kemloko (*Phyllanthus emblica* L.) Secara Spektrofotometri UV-Vis," Universitas Sumatera Utara, 2019.
- [18] Sahriawati, Sumarlin, and S. Wahyuni, "Validasi Metode dan Penetapan Kadar Kolesterol Ayam Broiler dengan Metode Liebermann-Burchard," *Lutjanus*, vol. 24, no. 2, pp. 31–40, 2019.



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)