

Studi *In-Vitro* Antikolesterol dari Fraksi Etil Asetat Daun Buni *Antidesma buni* L. Spreng

Thoha Irfan Darajat^{1*}, Danang Raharjo², Bagas Ardiyantoro³

¹⁻³Universitas Duta Bangsa Surakarta, Indonesia

*Penulis Korespondensi: toha290116@gmail.com

Abstract. Hypercholesterolemia, defined as elevated levels of cholesterol in the bloodstream, is widely recognized as a major risk factor for cardiovascular diseases, including atherosclerosis and coronary heart disease. Antioxidants play an important role in preventing oxidative damage by neutralizing free radicals through electron donation, thereby helping to reduce lipid peroxidation associated with high cholesterol levels. This study aims to evaluate the cholesterol-lowering activity of the ethyl acetate fraction of buni leaves (*Antidesma buni*) through laboratory experimentation. The leaves were extracted using the maceration method with 96% ethanol, followed by fractionation with ethyl acetate to obtain the targeted fraction. The *in vitro* anticholesterol activity was determined using the Liebermann–Burchard method and measured by UV-Vis spectrophotometry. Data analysis was performed using linear regression to calculate the IC_{50} value. The results demonstrated that the ethyl acetate fraction exhibited very strong cholesterol-lowering activity, with an IC_{50} value of 1,659 ppm/ μ g/mL, indicating promising potential as a natural antihypercholesterolemic agent.

Keywords: Anticholesterol; Antioxidant; Buni Leaf; Hypercholesterolemia; Liebermann–Burchard.

Abstrak Hiperkolesterolemia, yang didefinisikan sebagai peningkatan kadar kolesterol dalam aliran darah, secara luas diakui sebagai faktor risiko utama penyakit kardiovaskular, termasuk aterosklerosis dan penyakit jantung koroner. Antioksidan memainkan peran penting dalam mencegah kerusakan oksidatif dengan menetralkan radikal bebas melalui donasi elektron, sehingga membantu mengurangi peroksidasi lipid yang terkait dengan kadar kolesterol tinggi. Studi ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas penurun kolesterol dari fraksi etil asetat daun buni (*Antidesma buni*) melalui eksperimen laboratorium. Daun diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 96%, diikuti dengan fraksinasi dengan etil asetat untuk mendapatkan fraksi target. Aktivitas antikolesterol *in vitro* ditentukan menggunakan metode Liebermann–Burchard dan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis. Analisis data dilakukan menggunakan regresi linier untuk menghitung nilai IC_{50} . Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas penurun kolesterol yang sangat kuat, dengan nilai IC_{50} sebesar 1.659 ppm/ μ g/mL, yang mengindikasikan potensi menjanjikan sebagai agen antihiperkolesterolemik alami.

Kata kunci: Antioksidan; Antikolesterol; Daun Buni; Hiperkolesterolemia; Liebermann–Burchard.

1. LATAR BELAKANG

Hiperkolesterolemia adalah keadaan dimana kadar kolesterol dalam darah tinggi. Hiperkolesterolemia merupakan suatu bentuk dari hiperlipidemia dan hiperlipoproteinemia. Hiperkolesterolemia disebut juga dengan hiperlipidemia merupakan suatu kondisi medis yang ditandai dengan terjadinya peningkatan Low-Density Lipoprotein (LDL) (<100 mg/dl), trigliserida (< 150 mg/dl), fosfolipid, lipid plasma dan kadar kolesterol dalam darah melebihi batas normal (< 200 mg/dl) atau meningkat secara signifikan (Ayunda & Malita, 2024). Kolesterol memiliki beberapa fungsi dalam tubuh seperti membentuk hormon dan memelihara sel saraf (Layreinshia & Atzmardina, 2024).

Kolesterol merupakan senyawa lemak berwarna kekuningan dengan konsistensi menyerupai lilin yang beredar di dalam aliran darah. Senyawa ini termasuk ke dalam golongan lipid yang tidak mengalami proses hidrolisis serta berperan sebagai sterol utama yang terdapat

dalam jaringan tubuh manusia (Budianto & Akbar, 2022). Kondisi hiperkolesterolemia sering dikaitkan dengan terjadinya stres oksidatif, karena pada penderita hiperkolesterolemia kadar kolesterol yang tinggi dapat bereaksi dengan radikal bebas sehingga membentuk lipid peroksida yang juga bersifat radikal (Ayunda & Malita, 2024). Salah satu tanaman yang berpotensi dimanfaatkan adalah buni (*Antidesma bunius* L. Spreng), yang termasuk dalam famili Phyllanthaceae (Laga *et al.*, 2023).

Daun buni merupakan salah satu bagian tanaman yang berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami. Senyawa antioksidan diketahui mampu menghambat serta menunda proses inisiasi maupun propagasi reaksi oksidasi berantai yang melibatkan molekul radikal bebas (Sari *et al.*, 2023). Tanaman buni tersebar luas di wilayah Indonesia dan secara tradisional telah digunakan oleh masyarakat sebagai bahan pengobatan berbagai penyakit. Selain itu, tanaman ini dilaporkan memiliki beragam potensi farmakologis, antara lain aktivitas sitotoksik untuk menghambat atau membunuh sel kanker, efek hipoglikemik, penangkal radikal bebas, antioksidan, aktivitas terhadap trombosit, antibakteri, serta sebagai pestisida nabati (Laga *et al.*, 2023). Secara empiris, daun buni dimanfaatkan untuk membantu menurunkan kadar glukosa darah, mengobati hipertensi, serta digunakan sebagai tonikum. Sejumlah penelitian terdahulu juga menunjukkan bahwa daun buni mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder, seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, triterpenoid/steroid, dan polifenol yang berkontribusi terhadap aktivitas biologisnya (Kumaradewi *et al.*, 2021).

Senyawa antioksidan merupakan donor elektron yang berperan dalam menetralkan dampak negatif radikal bebas di dalam tubuh. Mekanisme kerja antioksidan berlangsung melalui proses donasi elektron pada senyawa yang memiliki elektron tidak berpasangan, sehingga aktivitas senyawa oksidan yang bersifat menarik elektron dapat dihambat. Secara fisiologis, tubuh manusia sebenarnya telah memproduksi antioksidan endogen untuk menyeimbangkan jumlah oksidan yang masuk. Namun, apabila paparan oksidan melebihi kapasitas sistem pertahanan antioksidan alami, maka diperlukan asupan antioksidan eksogen. Salah satu sumber potensial antioksidan alami yang banyak dimanfaatkan berasal dari tanaman (Manalu *et al.*, 2022).

Senyawa flavonoid dan polifenol diketahui memiliki kemampuan sebagai antioksidan melalui beberapa mekanisme, antara lain penangkapan radikal bebas (*radical scavenging*), pengkelatan ion logam, serta penghambatan enzim penghasil radikal bebas. Mekanisme antioksidan dalam menurunkan kadar kolesterol berkaitan dengan kemampuannya mencegah oksidasi asam lemak yang dipicu oleh radikal bebas. Antioksidan bekerja dengan menstabilkan

radikal bebas melalui pemenuhan kekurangan elektron pada molekul radikal tersebut, sehingga reaksi berantai oksidatif dapat dihentikan (Shafitri *et al.*, 2021).

2. KAJIAN TEORITIS

Tanaman buni (*Antidesma bunius* L. Spreng) merupakan salah satu tanaman tropis yang termasuk dalam famili Phyllanthaceae dan diketahui memiliki potensi sebagai sumber pangan sekaligus bahan obat tradisional (Laga *et al.*, 2023). Dalam praktik pengobatan tradisional, tanaman ini telah lama dimanfaatkan sebagai ramuan untuk menangani berbagai jenis penyakit. Berbagai bagian tanaman, meliputi daun, buah, kulit batang, akar, hingga biji, digunakan dalam beragam bentuk sediaan herbal sesuai dengan kebutuhan pengobatan (Alyah, 2024). Kajian fitokimia terhadap *Antidesma bunius* menunjukkan adanya kandungan beragam senyawa metabolit sekunder yang berkontribusi terhadap aktivitas biologisnya. (Kumaradeiwi *et al.*, 2021) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun buni mengandung senyawa fenolik, tanin, flavonoid, saponin, alkaloid, steroid, dan terpenoid. Selain itu, aktivitas antioksidan yang diukur menggunakan pembanding vitamin C menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 5,22 ppm yang tergolong dalam kategori sangat kuat. Penelitian lain yang dilakukan oleh (Indrawati & Rizki, 2017) juga mengungkapkan bahwa daun serta kulit batang tanaman buni mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid, sedangkan bagian akar dilaporkan mengandung saponin dan tanin. Dengan kandungan metabolit sekunder tersebut, tanaman buni terutama bagian daun dan buah berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami yang memberikan berbagai manfaat bagi kesehatan (Sari *et al.*, 2023).

Senyawa flavonoid dan polifenol diketahui memiliki aktivitas antioksidan melalui beberapa mekanisme, antara lain penangkapan radikal bebas (*radical scavenging*), pengkelatan ion logam, serta penghambatan enzim-enzim penghasil radikal bebas. Peran antioksidan dalam menurunkan kadar kolesterol berkaitan dengan kemampuannya mencegah oksidasi asam lemak yang dipicu oleh radikal bebas. Melalui mekanisme tersebut, antioksidan mampu menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron pada molekul radikal sehingga reaksi oksidatif berantai dapat dihambat (Shafitri *et al.*, 2021). Hasil penelitian terdahulu juga menunjukkan bahwa flavonoid memiliki tiga mekanisme kerja utama dalam mencegah kerusakan akibat radikal bebas, yaitu menghambat pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS), menghancurkan ROS yang telah terbentuk, serta mengatur dan melindungi sistem antioksidan endogen di dalam tubuh (Widiasriani *et al.*, 2024). Secara umum, senyawa antioksidan berperan sebagai donor elektron (*electron donor*) yang mampu menetralkan dampak negatif radikal bebas. Mekanisme kerjanya berlangsung melalui donasi satu elektron

kepada senyawa yang memiliki elektron tidak berpasangan, sehingga aktivitas senyawa oksidan yang bersifat menarik elektron dapat dihambat dan kestabilan molekul kembali tercapai.

Kolesterol merupakan lipid esensial yang terdapat dalam darah maupun sel-sel tubuh dan memiliki berbagai fungsi fisiologis penting. Senyawa ini berperan sebagai komponen utama penyusun membran sel, prekursor pembentukan hormon steroid seperti kortisol dan estrogen, serta sebagai bahan dasar sintesis asam empedu yang berfungsi dalam proses pencernaan lemak. Stres oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dan kapasitas antioksidan di dalam tubuh. Keadaan ini terjadi ketika produksi radikal bebas melebihi kemampuan sistem pertahanan antioksidan untuk menetralsirnya. Radikal bebas dapat merusak berbagai komponen sel, termasuk lipid dan protein, sehingga mengganggu fungsi normal sel. Kadar kolesterol yang tinggi diketahui dapat bereaksi dengan radikal bebas dan membentuk lipid peroksida yang bersifat radikal. Lipid peroksida yang terbentuk selanjutnya menyerang molekul lipid stabil lainnya, sehingga memicu reaksi berantai peroksidasi lipid. Apabila proses ini berlangsung terus-menerus, maka akan meningkatkan tingkat stres oksidatif di dalam tubuh (Ayunda & Malita, 2024).

3. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimental laboratoris di Laboratorium Kimia, Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas Duta Bangsa. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui aktivitas antikolesterol dari fraksi etil asetat menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

Proses determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan kebenaran identitas spesies yang digunakan, yaitu tanaman buni (*Antidesma bunius* L. Spreng). Determinasi tumbuhan dilaksanakan di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Pontianak.

Tanaman yang digunakan berupa daun buni segar yang masih berwarna hijau, tidak kering, dan tidak mengalami pembusukan, dengan jumlah sampel sebanyak 2 kg. Proses penyiapan simplisia meliputi beberapa tahapan, yaitu pengumpulan bahan, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, dan penghalusan. Sampel dikeringkan menggunakan *dry cabinet* pada suhu sekitar 40°C. Setelah proses pengeringan selesai, simplisia dibersihkan kembali dari kotoran yang tersisa, kemudian ditimbang untuk memperoleh berat keringnya (Fadli *et al.*, 2019). Simplisia daun buni selanjutnya dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk, kemudian diayak dengan ayakan mesh No. 40 untuk mendapatkan ukuran

partikel yang seragam. Tahap berikutnya dilakukan proses standarisasi simplisia yang meliputi pengujian susut pengeringan, kadar air, dan kadar abu.

Ekstrak etanol daun buni (*Antidesma bunius* L.) dalam penelitian ini dibuat dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Serbuk daun buni dimasukkan ke dalam bejana maserasi kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 1:10 hingga simplisia direndam sempurna selama 3 x 24 jam. Ekstrak disaring menggunakan kertas saring hingga diperoleh filtrat, kemudian dikentalkan menggunakan *rotary evaporator* dan diuapkan hingga menghasilkan ekstrak kental etanol. Kemudian dilakukan proses standarisasi ekstrak yaitu kadar air ekstrak.

Ekstrak etanol daun buni (*Antidesma bunius* L.) pada penelitian ini dibuat menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Serbuk simplisia daun buni dimasukkan ke dalam wadah maserasi, kemudian ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan bahan terhadap pelarut sebesar 1:10 hingga seluruh simplisia terendam sempurna. Proses maserasi dilakukan selama 3 × 24 jam pada suhu ruang. Setelah proses perendaman selesai, campuran disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari ampas simplisia hingga diperoleh filtrat yang jernih (Alyah, 2024). Seluruh filtrat yang dihasilkan kemudian digabungkan. Filtrat selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarut etanol hingga diperoleh ekstrak etanol kental. Tahap berikutnya dilakukan standarisasi ekstrak, salah satunya melalui penetapan kadar air ekstrak.

Ekstrak daun buni yang telah diperoleh dalam bentuk kental ditimbang sebanyak 10 g, kemudian dilarutkan dengan sedikit etanol dan ditambahkan 100 mL akuades. Larutan ekstrak tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah, selanjutnya ditambahkan pelarut etil asetat sebanyak 100 mL untuk dilakukan proses fraksinasi. Fraksinasi dilakukan dengan cara mengocok corong pisah hingga terbentuk dua lapisan. Proses partisi menggunakan etil asetat diulangi sebanyak tiga kali sampai lapisan etil asetat yang diperoleh tampak jernih.

Pengujian aktivitas penurunan kadar kolesterol dilakukan menggunakan metode Liebermann–Burchard. Metode ini dipilih karena memiliki spesifisitas tinggi dalam mendeteksi senyawa golongan steroid, termasuk kolesterol, melalui pembentukan warna kompleks hasil reaksi kimia. Pembuatan larutan baku kolesterol 200 ppm dilakukan dengan melarutkan 10 mg serbuk kolesterol ke dalam 50 mL kloroform. Selanjutnya dibuat larutan baku 100 ppm melalui pengenceran dengan mengambil 2,5 mL larutan stok 200 ppm.

Pengujian dilakukan terhadap fraksi etil asetat pada variasi konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Kontrol negatif yang digunakan adalah 5 mL kloroform. Pada metode Liebermann–Burchard, pereaksi yang digunakan meliputi asam sulfat pekat dan asam asetat anhidrat yang

berfungsi membentuk kompleks berwarna dengan kolesterol sehingga dapat diukur secara kuantitatif.

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode analisis yang digunakan untuk mengukur panjang gelombang serta intensitas serapan sinar ultraviolet dan cahaya tampak oleh sampel. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer yang menentukan nilai absorbansi sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrofotometer UV-Vis umumnya digunakan untuk menganalisis molekul organik, ion, maupun kompleks dalam larutan, dengan rentang panjang gelombang sinar ultraviolet sekitar 200–400 nm dan sinar tampak 400–800 nm (Suarsa, 2015).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Sampel daun buni diperoleh dari wilayah Desa Selat Remis, Jalan Ali Karim, Kecamatan Teluk Pakedai, Provinsi Kalimantan Barat. Daun yang diambil merupakan daun hijau segar sebagai bahan penelitian. Setelah proses pengambilan sampel, tumbuhan tersebut dibawa ke Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Tanjungpura untuk dilakukan proses identifikasi atau determinasi secara ilmiah. Determinasi dilakukan dengan tujuan memastikan secara akurat jenis dan spesies tumbuhan yang digunakan sebagai objek penelitian (Klau & Heisturini, 2021), sehingga dapat meminimalkan kesalahan dalam pengambilan data maupun analisis. Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan pada bulan November 2024 dengan nomor surat 161/A/LB/FMIPA/UNTAN/2024, dinyatakan bahwa sampel yang digunakan benar merupakan tumbuhan buni (*Antidesma bunius* L. Spreng) yang termasuk dalam famili *Phyllanthaceae*.

Penyiapan Simplisia dan Standarisasi

Daun buni yang digunakan dipilih berdasarkan kriteria masih berwarna hijau segar, tidak kering, dan tidak mengalami pembusukan. Setelah melalui tahapan penyiapan simplisia, sampel kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan mesh No. 40 hingga diperoleh serbuk simplisia. Berat kering simplisia yang dihasilkan adalah sebanyak 570 gram. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya penyusutan simplisia sebesar 28,5%. Penyusutan tersebut terjadi akibat penguapan kadar air selama proses pengeringan. Tujuan pengeringan adalah untuk menurunkan kadar air dalam bahan sehingga dapat mencegah pertumbuhan jamur serta memperpanjang masa simpan simplisia. Proses penyerbukan dilakukan untuk memperkecil ukuran partikel simplisia sehingga luas permukaan menjadi lebih besar. Dengan demikian, kontak antara pelarut dan bahan meningkat saat proses ekstraksi, yang memungkinkan senyawa aktif lebih mudah terlarut oleh pelarut penyari (Salamah et al., 2017).

Standarisasi simplisia dilakukan untuk menjamin kualitas bahan yang digunakan untuk penelitian dan memastikan simplisia memenuhi syarat baku simplisia sesuai depkes RI 2000. Hasil standarisasi simplisia dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Standarisasi Simplisia.

Parameter	R1	R2	R3	Hasil
Susut peingeirangan	6,32	5,87	5,08	5,76%
Kadar air	6,69	6,54	5,97	6,4%
Kadar abu	4,09	6,64	4,74	5,16%

Penetapan susut pengeringan bertujuan untuk memberikan gambaran mengenai batas maksimum senyawa yang dapat hilang selama proses pengeringan, sekaligus menetapkan karakteristik mutu berdasarkan parameter tertentu guna memperoleh derajat kualitas simplisia yang seragam (Devi *et al.*, 2022). Hasil pengujian susut pengeringan pada simplisia daun buni (*Antidesma bunius* L. Spreng) menunjukkan nilai sebesar 5,76%. Nilai tersebut menandakan bahwa simplisia telah memenuhi persyaratan batas maksimum susut pengeringan sesuai ketentuan Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI, 2000), yaitu kurang dari 10%.

Penetapan kadar air dilakukan untuk mengetahui besarnya kandungan air dalam simplisia yang berkaitan dengan tingkat kemurnian serta potensi terjadinya kontaminasi. Selain itu, parameter ini berperan penting dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang dapat mempengaruhi kualitas dan masa simpan simplisia (Jabbar & Iko, 2018). Pada penelitian ini, kadar air serbuk daun buni (*Antidesma bunius* L. Spreng) diperoleh sebesar 6,4%, yang masih memenuhi persyaratan kadar air maksimum menurut Depkes RI (2000), yaitu kurang dari 10%.

Penetapan kadar abu total pada serbuk simplisia daun buni menghasilkan nilai sebesar 5,16%. Nilai tersebut memenuhi persyaratan yang tercantum dalam Materia Medika Indonesia (MMI), karena berada di bawah batas maksimum yang ditetapkan, yaitu kurang dari 10%. Penetapan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran mengenai kandungan mineral anorganik yang terdapat di dalam simplisia (Ningtias & Rani, 2023).

Ekstraksi Dan Standarisasi

Pada penelitian ini, metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, yang merupakan salah satu metode ekstraksi konvensional yang paling sering digunakan. Maserasi merupakan proses perendaman bahan dalam pelarut yang sesuai dengan tujuan penarikan senyawa aktif yang terkandung di dalam simplisia. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% karena memiliki sifat universal, bersifat polar, mudah diperoleh, serta memiliki kemampuan melarutkan senyawa dalam rentang polaritas yang luas. Pemilihan etanol 96% juga didasarkan pada tingkat selektivitasnya yang tinggi, tidak bersifat toksik,

memiliki daya serap yang baik, serta efektif mengekstraksi senyawa polar, semi-polar, maupun non-polar. Pada penelitian ini digunakan pelarut etanol 96% sebanyak 5.700 mL untuk proses maserasi yang dilakukan selama 3×24 jam dengan pengadukan sesekali. Berdasarkan literatur, durasi maserasi tersebut dinilai optimal untuk memperoleh senyawa aktif secara maksimal (Desiani *et al.*, 2022). Proses maserasi dihentikan ketika filtrat yang dihasilkan tampak jernih. Selanjutnya dilakukan proses penyaringan menggunakan kain flanel untuk memisahkan ampas dari filtrat. Filtrat yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup rapat, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada kecepatan 80 rpm dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental daun buni. Ekstrak hasil evaporasi kemudian dipekatkan kembali menggunakan *water bath* pada suhu 60°C. Hasil akhir ekstrak kental yang diperoleh setelah proses pemekatan adalah sebanyak 153,39gram dengan persentase rendemen sebesar 26,91%. Nilai rendemen tersebut melebihi batas minimal umum ($>10\%$), sehingga ekstrak daun buni dinyatakan memenuhi persyaratan rendemen yang baik (Ramdhini, 2023).

Berdasarkan hasil standarisasi ekstrak pada parameter non-spesifik, yaitu uji kadar air, diperoleh nilai sebesar 7,39%. Hasil ini telah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia (2000) yang menetapkan kadar air ekstrak tidak lebih dari 10%. Penetapan kadar air bertujuan untuk memberikan batasan kandungan air dalam ekstrak, karena kadar air yang tinggi dapat memicu pertumbuhan jamur dan kapang sehingga menurunkan stabilitas serta masa simpan ekstrak. Besarnya kadar air juga dipengaruhi oleh proses pengeringan simplisia yang dilakukan sebelumnya (Najib *et al.*, 2018).

Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan komponen senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya dengan hasilnya disebut dengan fraksi. Fraksinasi terdiri dari EICC dan kromatografi. EICC biasanya lebih sering menggunakan corong pisah dibandingkan dengan alat craig (Zakiyah *et al.*, 2021).

Tabel 2. Hasil Fraksinasi.

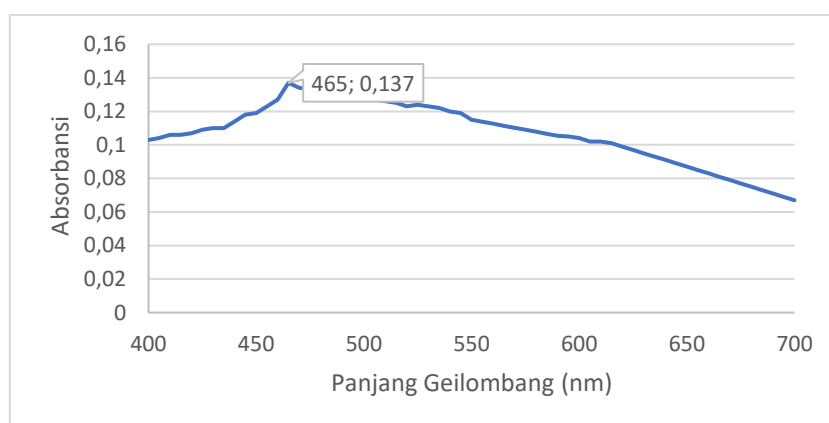
Peilarut	Bobot eikstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Peirseintasei (%)
Etil aseitat	10	2,96	29,48
Air	10	5,11	50,96

Hasil fraksinasi menunjukkan perbedaan rendemen yang signifikan antara pelarut yang digunakan. Fraksi air menghasilkan rendemen tertinggi sebesar 50,96%, dan fraksi etil asetat sebesar 29,48%. Menurut penelitian oleh (Tanaya *et al.*, 2015), pelarut etil asetat dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder yang bersifat semi polar seperti flavonoid dan tanin.

Uji Aktivitas Antikolesterol

Pengujian aktivitas antikolesterol terhadap ekstrak etanol dan fraksi daun buni (*Antideisma bunius* L. Spreng) pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode Lieberman–Burchard. Metode ini dikenal bersifat spesifik dalam identifikasi kolesterol yang termasuk ke dalam golongan senyawa steroid (Lindawati *et al.*, 2020). Prinsip metode Liebermann–Burchard melibatkan penggunaan pereaksi asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Asam asetat anhidrat berperan dalam menciptakan kondisi bebas air serta membentuk turunan asetil dari senyawa steroid, sedangkan asam sulfat pekat berfungsi sebagai agen pengoksidasi yang memicu terbentuknya warna hijau khas pada senyawa steroid, termasuk kolesterol (Ilyas & Widiastuti, 2020).

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum. Penetapan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan melakukan pemindaian pada rentang panjang gelombang 400–700 nm.

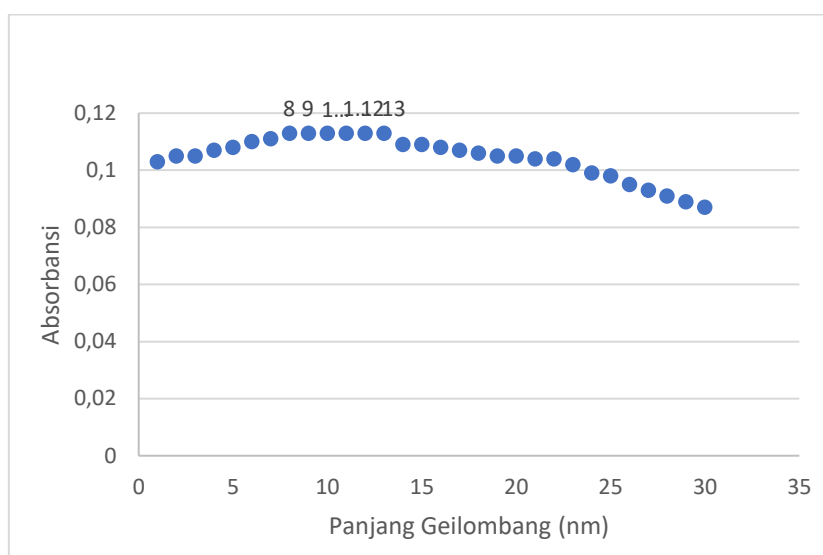


Gambar 1. Panjang Gelombang Maximum.

Berdasarkan hasil penetapan panjang gelombang maksimum baku kolesterol yang dilakukan, diperoleh panjang gelombang maksimum baku kolesterol pada 465 nm dengan absorbansi 0,137. Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang yang mempunyai serapan maksimum yaitu saat senyawa berada pada kondisi optimum sehingga diperoleh kepuasan yang maksimum (Vifta *et al.*, 2020). pada penelitian yang dilakukan oleh (Nafiah, 2025) panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 425 nm. Hasil yang didapatkan tidak jauh berbeda. Adanya perbedaan hasil panjang gelombang yang signifikan dapat disebabkan karena tingkat kemurnian reagen yang dipakai berbeda, jenis spektroskopi yang digunakan juga berbeda (Rahayu *et al.*, 2021).

Setelah penentuan panjang gelombang maksimum baku kolesterirol selanjutnya dilakukan *operating time* untuk mengetahui waktu optimum senyawa bereaksi dengan reagen agar absorbansi yang diukur dapat maksimal. Prinsip *Operating time* yaitu dengan mengamati

kestabilan senyawa sampel, diketahui absorbansi mulai dari saat direaksikan hingga tercapai serapan yang stabil (Vifta *et al.*, 2020).



Gambar 2. Hasil Operating Time.

Operating time dilakukan menggunakan larutan baku kolesterol 100 ppm dengan interval waktu 1 menit selama 30 menit. Berdasarkan hasil penelitian *operating time* yang diperoleh dapat diketahui bahwa nilai absorbansi yang stabil adalah pada menit ke 8-13. Hal tersebut menandakan bahwa pada menit ke 8-13 merupakan waktu yang stabil untuk larutan kolesterol. Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh (Vifta *et al.*, 2020) didapatkan *operating time* pada menit ke-14, sehingga tidak berbeda jauh dengan hasil *operating time* yang telah didapatkan.

Tabel 3. Hasil Aktivitas Antikolesterol.

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Penurunan Kolesterol	IC ₅₀ ± SD
Etil Asetat	5	54,258	1,659 ± 0,702
	10	60,584	
	15	66,667	
	20	73,479	
	25	79,562	

Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antikolesterol yang tinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,659 ppm (µg/mL), yang mengindikasikan efektivitas yang sangat baik dalam menurunkan kadar kolesterol secara *in vitro*. Persentase inhibisi meningkat signifikan seiring kenaikan konsentrasi, hingga mencapai 79,562% pada konsentrasi 25 ppm. Aktivitas yang tinggi ini diduga berkaitan dengan kandungan senyawa semi-polar, seperti flavonoid aglikon dan senyawa fenolik, yang lebih optimal terekstraksi dalam pelarut etil asetat. Senyawa-senyawa tersebut telah diketahui memiliki potensi sebagai agen penurun kolesterol sekaligus antioksidan (Octarizha *et al.*, 2025).

Prinsip dasar pengujian kadar kolesterol dalam penelitian ini menggunakan reaksi Liebermann–Burchard, yaitu reaksi spesifik untuk mendeteksi senyawa golongan steroid, termasuk kolesterol, melalui pembentukan kompleks berwarna (Nafiah, 2021). Intensitas warna yang terbentuk selanjutnya diukur untuk menentukan besarnya kadar kolesterol yang tersisa setelah perlakuan sampel.

Aktivitas antioksidan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan perubahan intensitas warna larutan uji, di mana semakin memudar warna yang dihasilkan menunjukkan semakin tinggi daya hambat antioksidan (Sharma et al., 2020). Pemudaran warna yang semakin jelas menandakan bahwa jumlah radikal bebas yang tersisa dalam larutan semakin sedikit. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa antioksidan dalam sampel memiliki kemampuan yang baik dalam menangkap serta menetralkan radikal bebas. Semakin tinggi konsentrasi atau efektivitas antioksidan, maka semakin banyak radikal seperti ABTS yang dapat direduksi. Fenomena ini sejalan dengan hasil pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis, di mana penurunan nilai absorbansi berbanding lurus dengan peningkatan aktivitas antioksidan (Kedare & Singh, 2021).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan uji aktivitas antikolesterol menggunakan metode Lieberman-Burchard, fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas sangat tinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 1,659 ppm/ μ g/mL. Saran dilakukan uji In Vivo: Penelitian lanjutan perlu dilakukan dengan uji in vivo menggunakan hewan coba untuk memvalidasi aktivitas antioksidan dan antikolesterol dalam sistem biologis yang lebih kompleks serta menentukan dosis efektif dan keamanannya.

DAFTAR REFERENSI

- Alyah, R. (2024). *Efektivitas ekstrak etanol daun buni (Antidesma bunius L.) terhadap kadar gula darah pada tikus putih jantan (Rattus norvegicus) yang diinduksi streptozotocin*.
- Ayunda, R. D., & Malita, S. (2024). Pemanfaatan senyawa flavonoid sebagai antioksidan pada penderita hiperkolesterolemia: Studi literatur. *Jurnal Kedokteran Unram*, 13(3). <https://doi.org/10.29303/jk.v13i3.5388>
- Budianto, Y., & Akbar, M. A. (2022). Ditinjau dari konsumsi gorengan. *Jurnal Kesehatan Abdurahman Palembang*, 11(2), 8–13. <https://doi.org/10.55045/jkab.v11i2.141>
- Fadli, Suhaimi, & Idris, M. (2019). Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Journal Systems STF Muhammadiyah Cirebon*, 4(1), 35–42. <https://doi.org/10.37874/ms.v4i1.121>

- Ilyas, A. N., & Widiastuti, H. (2020). Uji aktivitas antikolesterol ekstrak etanol daun geddi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik.) secara in vitro. *Wahana Obat Herbal*, 3(1), 57–64. <https://doi.org/10.33368/woh.v0i0.216>
- Indrawati, I., & Rizki, A. F. M. (2017). Potensi ekstrak buah buni (*Antidesma bunius* L.) sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhimurium* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Biodjati*, 2(2), 138–148. <https://doi.org/10.15575/biodjati.v2i2.1309>
- Klau, M. H. C., & Heisturini, R. J. (2021). Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau) terhadap daya analgetik dan gambaran makroskopis lambung mencit. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 4(1), 6–12. <https://doi.org/10.52216/jfsi.v4i1.59>
- Kumaradewi, D. A. P., Subaidah, W. A., Andayani, Y., & Al-Mokaram, A. (2021). Phytochemical screening and antioxidant activity test of ethanol extract of buni leaves (*Antidesma bunius* L. Spreng.) using DPPH method. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 7(2). <https://doi.org/10.29303/jppipa.v7i2.675>
- Kumaradewi, D. A., Subaidah, W. A., Andayani, Y., & Al-Mokaram, A. (2021). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun buni (*Antidesma bunius* L. Spreng.) menggunakan metode DPPH. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 7(2), 275–280.
- Laga, G. G. O., Laleil, H. J. D., Abidin, Z., & Rubak, Y. T. (2023). Deskripsi sifat fisikokimia buah buni (*Antidesma bunius* L. Spreng.) asal Pulau Timor. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 13(1), 25–30. <https://doi.org/10.26714/jpg.13.1.2023.25-30>
- Layreinshia, B., & Atzmardina, Z. (2024). Edukasi mengenai makanan sehat untuk menangulangi hiperkolesterolemia pada masyarakat Desa Cikupa. *Syntax Literate: Jurnal Ilmiah Indonesia*, 9(1), 369–373. <https://doi.org/10.36418/syntax-literate.v9i1.14843>
- Lindawati, N. Y., & Ningsih, D. W. (2020). Aktivitas antikolesterol ekstrak etanol buah kiwi hijau (*Actinidia deliciosa*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(2), 183–191. <https://doi.org/10.51352/jim.v6i2.344>
- Manalu, R. T., Herdini, & Danya, F. (2022). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi daun geddi hijau (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik.) dengan metode DPPH. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 8(1), 17–23. <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2022.008.01.3>
- Nafiah, A. (2021). Studi in vitro antikolesterol dan flavonoid total dari ekstrak etanol bawang putih, bawang hitam, dan bawang putih tunggal (*Allium sativum* L.).
- Nafiah, A. (2025). *Studi in vitro antikolesterol dan flavonoid total dari ekstrak etanol bawang putih, bawang hitam dan bawang putih tunggal (Allium sativum L.)* (Skripsi). Duta Bangsa Surakarta. <https://doi.org/10.36805/jbf.v5i3.1504>
- Ningtias, A., & Rani, Z. (2023). Karakteristik simplisia dan skrining fitokimia buah buni (*Antidesma bunius* L. Spreng.). *Indonesian Journal of Science and Pharmacy*, 1(1), 1–7. <https://doi.org/10.63763/ijsp.v1i1.13>
- Octarizha, A., Susanty, D., Oksari, A. A., & Nurleila. (2025). Aktivitas antikolesterol ekstrak daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) menggunakan metode ekstraksi dan pelarut yang berbeda. *Helium: Journal of Science and Applied Chemistry*, 5(2), 77–84. <https://doi.org/10.33751/helium.v5i2.32>

- Rahayu, S., Vifta, R., & Susilo, J. (2021). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dari Kabupaten Lombok Utara dan Wonosobo menggunakan metode FRAP. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 1(2), 1–9. <https://doi.org/10.14710/genres.v1i2.9836>
- Sari, I. P., Hidayati, A. R., & Muliasari, H. (2023). Perbandingan aktivitas antioksidan infusa simplisia segar dan simplisia kering daun buni (*Antidesma bunius* L. Spreng.) dengan metode DPPH. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 5(5), 605–614. <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i5.1792>
- Shafitri, N., Fauziah, A., & Pusporeini, L. D. (2021). Pengaruh penambahan bekatul terhadap kadar serat, aktivitas antioksidan dan sifat organoleptik minuman kedelai. *Ghidza: Jurnal Gizi dan Kesehatan*, 5(1), 107–119. <https://doi.org/10.22487/ghidza.v5i1.233>
- Tanaya, V., Retnowati, R., & Suratmo. (2015). Fraksi semipolar dari daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.). *Kimia Student Journal*, 1(1), 778–784.
- Vifta, R. L., Mafitasari, D., & Rahman, E. (2020). Skrining antioksidan dan aktivitas antidiabetes ekstrak terpurifikasi etil asetat kopi hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) secara spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Zarah*, 8(2), 62–68.
- Widiasriani, I. A. P., Udayani, N. N. W., Triansyah, G. A. P., Dewi, N. P. E. M. K., Wulandari, N. L. W. E., & Prabandari, A. A. S. S. (2024). Artikel review: Peran antioksidan flavonoid dalam menghambat radikal bebas. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*, 6(2), 188–197. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v6i2.27055>
- Zakiah, W., Agustin, A., Fauziah, A., Maharani, D., & Mukti, G. (2021). Metode pemisahan fitokimia tanin pada tanaman herbal Indonesia. *Journal of Pharmacy, Medical and Health Science*, 2(1), 51–59. <https://doi.org/10.35706/pc.v2i1.5582>