

**KARAKTERISASI SENYAWA DAN UJI AKTIVITAS
ANTIKOLESTEROL EKSTRAK ETANOL 96%
DAN EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN
SEMBUNG RAMBAT (*Mikania*
micrantha Kunth) SECARA
*IN VITRO***

Oleh
Diah Puspita Rini
2118031029

Skripsi
**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA FARMASI**

Pada
Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi

: KARAKTERISASI SENYAWA DAN UJI
AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL EKSTRAK
ETANOL 96% DAN EKSTRAK ETIL ASETAT
DAUN SEMBUNG RAMBAT (*Mikania micrantha*
Kunth) SECARA IN VITRO

Nama Mahasiswa : *Diah Puspita Rini*

No. Pokok Mahasiswa : 2118031029

Program Studi : Sarjana Farmasi

Fakultas : Kedokteran

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

apt. Ramadhan Triyandi, M. Si.
NIP. 198705202020121025

Afriyani, S. Farm., M. Farm
NIP. 199504172022032022

MENGETAHUI

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, S. Ked., M. Sc.
NIP. 197601202003122001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : apt. Ramadhan Triyandi, S. Farm., M. Si

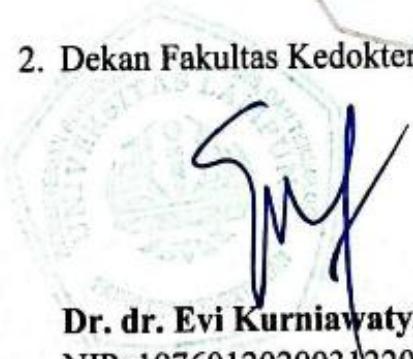
Sekretaris

: Afriyani, S. Farm., M. Farm

Penguji

Bukan Pembimbing : Atri Sri Ulandari, S. Si., M. Farm

2. Dekan Fakultas Kedokteran


Dr. dr. Evi Kurniawaty, S. Ked., M.Sc.
NIP. 197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **21 April 2025**

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

Skripsi dengan judul "**KARAKTERISASI SENYAWA DAN UJI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL EKSTRAK ETANOL 96% DAN EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN SEMBUNG RAMBAT (*Mikania micrantha* Kunth) SECARA IN VITRO**" adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 21 April 2025

Pembuat Pernyataan



Diah Puspita Rini

NPM. 2118031029

RIWAYAT HIDUP

Penulis Diah Puspita Rini lahir di Lampung Tengah, 19 September 2003 dari pasangan Bapak Ngadimanto dan Ibu Rodiyah serta merupakan anak kedua dari empat bersaudara. Penulis memulai pendidikan formalnya di TK Gula Putih Mataram tahun 2007. Lalu, pada tahun 2009 penulis melanjutkan sekolah dasar di SDS 01 Gula Putih Mataram. Kemudian Penulis melanjutkan pendidikan menengah pertama pada tahun 2015 di SMP Gula Putih Mataram. Pada tahun 2018 penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMAS Sugar Group. Pada tahun 2021, penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN (Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri).

Selama menjadi mahasiswa, penulis menjalani perkuliahan dengan aktif dan ikut serta dalam beberapa organisasi kemahasiswaan. Penulis diberi kesempatan untuk bergabung dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Farmasi (Himafarsi) Universitas Lampung sebagai Kepala Bidang Kerjasama dalam Departemen Bisnis dan Kerjasama (Bisma) dan Staff Departemen *Enterpreneurship and Partnership* (EP). Penulis juga mendapatkan kesempatan untuk bergabung dalam organisasi PMPATD Pakis Rescue Team sebagai anggota divisi Satuan Tugas dan Logistik (Satgaslog).

Akhir kata, penulis mengucapkan rasa syukur yang sebesar-besarnya atas terselesaikannya skripsi yang berjudul “Karakterisasi Senyawa dan Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol 96% dan Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth) Secara *In Vitro*”.

"Apa yang menjadi takdirmu tidak akan melewatkankmu"

(Umar bin Khattab)

"Apa yang ditakdirkan untukmu, pasti akan menjadi milikmu"

(Imam Al-Ghazali)

**"Apapun yang menjadi takdirmu akan mencari jalan untuk
menemukanmu"**

(Ali bin Abi Thalib)

SANWACANA

Puji syukur penulis haturkan kepada Allah SWT karena atas berkat, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Karakterisasi Senyawa dan Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol 96% dan Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth) Secara *In Vitro*”**. Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bimbingan, masukan, saran, kritik, dukungan dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati dari lubuk hati yang paling dalam, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT, Yang Maha Membolak-balikkan hati, Yang Maha Mengetahui, Yang Maha Adil, Yang Maha Pengasih dan Penyayang;
2. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M selaku Rektor Universitas Lampung;
3. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S. Ked, M. Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. dr. Rani Himayani, S. Ked., Sp. M selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
5. apt. Ramadhan Triyandi, S. Farm., M. Si selaku pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan arahan, motivasi, masukan, kritik, dan saran membangun kepada penulis selama penyusunan skripsi ini;
6. Afriyani, S. Farm., M. Farm selaku pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan arahan, arahan, motivasi, masukan, kritik, dan saran membangun kepada penulis selama penyusunan skripsi ini;
7. Atri Sri Uldari, S. Si., M. Farm selaku penguji skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan kritik, saran dan masukan mengenai skripsi ini;

8. Dosen Pembimbing Akademik semester satu sampai delapan, apt. Citra Yulyanda Pardilawati, S. Farm., M. Farm yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama proses studi di Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung,
9. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas bimbingan dan ilmu yang telah disampaikan selama proses perkuliahan;
10. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu dalam proses penyiapan penyusunan skripsi ini;
11. Pak Purna selaku staf Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian;
12. Bapak dan Ibuk serta kakak dan adik-adik tersayang yang telah memberikan doa yang senantiasa mengiringi langkah penulis. Terima kasih juga atas dukungan, semangat, motivasi, nasihat, waktu, dan tenaga sehingga penulis ada di titik ini;
13. Sahabat-sahabat misi kelulusan yaitu Nova, Anna, Agaphe, Michelle, Ratih, Alifia, Bela, Chintia, Agnes dan Dea yang telah memberikan motivasi, dukungan, dan bantuan kepada penulis dan telah menjadi sahabat terbaik selama perkuliahan. Semoga kita semua selalu dalam lindungan Allah SWT dan kelak di masa depan dapat menjadi orang-orang sukses;
14. Teman-teman penelitian lab analisis Michelle, Nova, Agaphe, Umniyah, Michelle Jo, Ade, Umi, Niki, Dila, Reti, Ranesya, Oktiva, Meysha, Risma, Tsania, Ilyas dan Fatiyah yang telah memberikan dukungan dan bantuan dalam proses penelitian yang dilakukan penulis. Semoga kita semua selalu dalam lindungan Allah SWT dan kelak di masa depan dapat menjadi orang-orang sukses;
15. Sahabat SMA Fenti Andriani, Irma Nur Humaida dan Salsabila Noor yang telah memberikan semangat penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga kita semua selalu dalam lindungan Allah SWT dan kelak di masa depan dapat menjadi orang-orang sukses;

16. Teman-teman farmasi angkatan 2021 yang telah memberikan semangat penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga kita semua selalu dalam lindungan Allah SWT dan kelak di masa depan dapat menjadi orang-orang sukses;
17. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan studi di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini memiliki banyak kekurangan. Penulis berharap agar skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi masyarakat dan menambah pengetahuan serta informasi bagi pembaca.

Bandar Lampung, 21 April 2025

Penulis



Diah Puspita Rini

ABSTRAK

KARAKTERISASI SENYAWA DAN UJI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL EKSTRAK ETANOL 96% DAN EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN SEMBUNG RAMBAT (*Mikania micrantha* Kunth) SECARA *IN VITRO*

Oleh

Diah Puspita Rini

Latar Belakang: Tingginya angka kejadian hiperkolesterolemia di Indonesia memunculkan kebutuhan akan obat yang efektif bagi penyakit ini. Namun, penggunaan obat sintetis menyebabkan beberapa efek samping dalam penggunaanya, sehingga dibutuhkan alternatif berupa obat yang berasal dari bahan alam. Salah satu tanaman herbal yang belum diteliti secara ilmiah dan dieksplorasi adalah tanaman sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth). Meskipun demikian, secara etnofarmasi tumbuhan sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) banyak digunakan dalam pengobatan salah satunya adalah penurun lipid.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter dari senyawa yang dimiliki serta kadar total fenolik, flavonoid, aktivitas antioksidan dan antikolesterol dari ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth).

Metode: Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode *Ultrasonic-Assisted Extraction* dengan dua pelarut yaitu etanol 96% dan etil asetat. Selanjutnya masing-masing ekstrak dilakukan skrining fitokimia, karakterisasi senyawa dengan GC-MS, penentuan kadar total fenolik dan flavonoid serta pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan pengujian aktivitas antikolesterol menggunakan metode Zak.

Hasil: Kadar total fenolik, flavonoid dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etil asetat. Namun, aktivitas antikolesterol pada ekstrak etil asetat lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol 96%.

Simpulan: Terdapat perbedaan aktivitas antikolesterol pada ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) dengan aktivitas antikolesterol lebih efektif pada ekstrak etil asetat, namun tidak terdapat korelasi antara kadar fenolik, flavonoid dan aktivitas antioksidan terhadap aktivitas antikolesterol pada ekstrak daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth)

Kata Kunci: Antikolesterol, Daun Sembung Rambat, *Ultrasound-Assisted Extraction*, Zak

ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF COMPOUNDS AND IN-VITRO ANTICHOLESTEROL ACTIVITY TEST OF 96% ETHANOL EXTRACT AND ETHYL ACETATE EXTRACT OF SEMBUNG RAMBAT LEAVES (*Mikania micrantha* Kunth)

Oleh

Diah Puspita Rini

Background: The high incidence of hypercholesterolemia in Indonesia raises the need for effective drugs for this disease. However, the use of synthetic drugs causes several side effects in its use, so alternatives are needed in the form of drugs derived from natural ingredients. One of the herbal plants that has not been scientifically studied and explored is the sembung rambat plant (*Mikania micrantha* Kunth). However, ethnopharmaceutically the sembung rambat plant (*Mikania micrantha* Kunth) is widely used in medicine, one of which is to lower lipids.

Objective: This study aims to determine the character of the compounds contained and the total phenolic content, flavonoids, antioxidant and anticholesterol activity of 96% ethanol extract and ethyl acetate extract of sembung rambat leaves (*Mikania micrantha* Kunth).

Method: Extraction was carried out using *Ultrasonic-Assisted Extraction* method with two solvents, namely 96% ethanol and ethyl acetate. Furthermore, each extract was subjected to phytochemical screening, compound characterization with GC-MS, determination of total phenolic and flavonoid levels and testing of antioxidant activity with the DPPH method and testing of anticholesterol activity using the Zak method.

Results: The total phenolic, flavonoid and antioxidant activity levels of the ethanol extract were greater than those of the ethyl acetate extract. However, the anticholesterol activity of the ethyl acetate extract was greater than that of the 96% ethanol extract.

Conclusion: There is a difference in anticholesterol activity in the 96% ethanol extract and the ethyl acetate extract of sembung rambat leaves (*Mikania micrantha* Kunth) with more effective anti-cholesterol activity in ethyl acetate extract, but there is no correlation between the phenolic, flavonoid and antioxidant activity levels against the anticholesterol activity of sembung rambat leaf extract (*Mikania micrantha* Kunth)

Keyword: Anticholesterol, Sembung Rambat Leaves, Ultrasound-Assisted Extraction, Zak

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xx
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Bagi Peneliti	4
1.4.2 Bagi Peneliti Lain.....	4
1.4.3 Bagi Institut Terkait	4
1.4.4 Bagi Masyarakat.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Kolesterol	5
2.1.1 Definisi.....	5
2.1.2 Jenis Kolesterol	5
2.1.3 Sintesis Kolesterol.....	7
2.1.4 Hiperlipidemia.....	9
2.1.5 Metode Uji Zak ($\text{FeCl}_3\text{-H}_2\text{SO}_4$)	9
2.2 Antioksidan	10
2.2.1 Definisi.....	10
2.2.2 Metode Analisis DPPH (<i>(2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)</i>).....	12

2.3 Sembung Rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth).....	13
2.3.1 Taksonomi.....	13
2.3.2 Morfologi	13
2.3.3 Kandungan Senyawa	15
2.3.4 Aktivitas Biologis.....	15
2.4 Ekstraksi.....	16
2.4.1 Definisi.....	16
2.4.2 Metode <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>	17
2.4.3 Pemilihan Pelarut	18
2.5 Senyawa Metabolit Sekunder	19
2.5.1 Definisi.....	19
2.5.2 Senyawa Fenolik	19
2.5.3 Senyawa Flavonoid	21
2.6 Spektrofotometri UV-Vis	22
2.7 GC-MS (<i>Gass Chromatography-Mass Spectrometry</i>).....	23
2.8 Kerangka Teori	25
2.9 Kerangka Konsep	26
BAB III METODE	27
3.1 Desain Penelitian.....	27
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	27
3.2.1 Tempat Penelitian.....	27
3.2.2 Waktu Penelitian	28
3.3 Identitas Variabel Penelitian	28
3.3.1 Variabel Bebas	28
3.3.2 Variabel Terikat	28
3.4 Definisi Operasional.....	28
3.5 Alat dan Bahan Penelitian	30
3.5.1 Alat Penelitian	30
3.5.2 Bahan Penelitian.....	30
3.6 Prosedur Penelitian.....	31
3.6.1 Determinasi Tanaman.....	31
3.6.2 Preparasi Sampel Daun Sembung Rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth).....	31
3.6.3 Pembuatan Ekstrak Etanol 96% dan Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth)	31

3.6.4 Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol 96% dan Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth).....	32
3.6.5 Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% dan Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth).....	32
3.6.6 Karakterisasi Senyawa dalam Ekstrak Etanol 96% dan Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth)	33
3.6.7 Pengukuran Total Fenolik Ekstrak Etanol 96% dan Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth).....	34
3.6.8 Pengukuran Total Flavonoid Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Sembung Rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth)	37
3.6.9 Pengujian Antioksidan Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Sembung Rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth).....	39
3.6.10 Pengujian Antikolesterol Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Sembung Rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth)	41
3.7 Alur Penelitian	44
3.8 Pengolahan dan Analisis Data	45
3.9 Etika Penelitian	45
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	46
4.1 Hasil Penelitian	46
4.1.1 Determinasi Tanaman Sembung Rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth)	46
4.1.2 Ekstraksi Daun Sembung Rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth).....	46
4.1.3 Uji Skrining Fitokimia.....	47
4.1.4 Karakterisasi Senyawa dengan GC-MS.....	48
4.1.5 Uji Kadar Total Fenolik	52
4.1.6 Uji Kadar Total Flavonoid.....	54
4.1.7 Uji Aktivitas Antioksidan.....	56
4.1.8 Uji Aktivitas Antikolesterol	60
4.1.9 Analisis Data	64
4.2 Pembahasan	68
4.2.1 Ekstraksi Daun Sembung Rambat	68
4.2.2 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Sembung Rambat	69
4.2.3 Karakterisasi Senyawa dengan GC-MS.....	76
4.2.4 Kadar Total Fenolik Ekstrak Daun Sembung Rambat	77
4.2.5 Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Sembung Rambat	79

4.2.6 Uji Antioksidan Ekstrak Daun Sembung Rambat.....	81
4.2.7 Uji Antikolesterol Ekstrak Daun Sembung Rambat	85
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	90
5.1 Kesimpulan	90
5.2 Saran	91
DAFTAR PUSTAKA	92
LAMPIRAN.....	105

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Klasifikasi Kolesterol LDL.....	6
Tabel 2. Klasifikasi Kolesterol HDL	6
Tabel 3. Klasifikasi Trigliserida	7
Tabel 4. Spesifitas Daya Antioksidan.....	13
Tabel 5. Definisi Operasional	28
Tabel 6. Rendemen Ekstrak Daun Sembung Rambat	47
Tabel 7. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Sembung Rambat	47
Tabel 8. Pembacaan GC-MS Ekstrak Etanol 96% Daun Sembung Rambat	49
Tabel 9. Pembacaan GC-MS Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat	51
Tabel 10. Hasil Pengukuran Total Fenolik Ekstrak Etanol 96% dan Etil Asetat.....	54
Tabel 11. Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Sembung Rambat	55
Tabel 12. Nilai IC ₅₀ Asam Askorbat.....	57
Tabel 13. Nilai IC ₅₀ Ekstrak Etanol 96% Daun Sembung Rambat	58
Tabel 14. Nilai IC ₅₀ Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat	59
Tabel 15. Nilai EC ₅₀ Atorvastatin.....	61
Tabel 16. Nilai EC ₅₀ Ekstrak Etanol 96% Daun Sembung Rambat	63
Tabel 17. Nilai EC ₅₀ Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat	64
Tabel 18. Hasil Uji Normalitas Aktivitas Antikolesterol Daun Sembung Rambat	65
Tabel 19. Hasil Uji Homogenitas Aktivitas Antikolesterol Daun Sembung Rambat	65
Tabel 20. Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Aktivitas Antikolesterol Daun Sembung Rambat ..	66
Tabel 21. Hasil Uji Normalitas Variabel Korelasi Total Fenolik, Total Flavonoid dan Antioksidan Terhadap Antikolesterol	67
Tabel 22. Hasil Uji Korelasi Regresi Berganda.....	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Sintesis Kolesterol	8
Gambar 2. Interaksi DPPH dengan Agen Antioksidan	12
Gambar 3. Tanaman Sembung Rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth)	14
Gambar 4. Skema Proses Ekstraksi <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>	17
Gambar 5. Senyawa Fenoliik Umum dalam Tanaman.....	20
Gambar 6. Struktur Umum Flavonoid.....	21
Gambar 7. Diagram Spektrofotometer UV-Vis <i>Single Beam</i> dan <i>Double Beam</i>	22
Gambar 8. Skema GC-MS (<i>Gass Cromatography-Mass Spectrometry</i>)	24
Gambar 9. Kerangka Teori	25
Gambar 10. Kerangka Konsep.....	26
Gambar 11. Alur Penelitian.....	44
Gambar 12. Kurva Baku Asam Galat.....	53
Gambar 13. Kurva Baku Kuersetin	55
Gambar 14. Kurva Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat	57
Gambar 15. Kurva Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sembung Rambat	58
Gambar 16. Kurva Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat.....	59
Gambar 17. Kurva Aktivitas Antikolesterol Atorvastatin	61
Gambar 18. Kurva Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol 96% Daun Sembung Rambat.....	62
Gambar 19. Kurva Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat.....	63

Gambar 20. Reaksi Uji Fenolik dengan FeCl ₃	70
Gambar 21. Reaksi Flavonoid dengan Zink dan HCl.....	71
Gambar 22. Reaksi Alkaloid dengan Pereaksi Wagner.....	73
Gambar 23. Reaksi Hidrolisis Saponin pada Uji Forth.....	74
Gambar 24. Reaksi Lieberman-Burchard	75
Gambar 25. Reaksi Reduksi pada Uji Follin-Ciaocalteu.....	78
Gambar 26. Reaksi Pembentukan Kompleks Flavonoid-AlCl ₃	80
Gambar 27. Reaksi DPPH dengan Antioksidan	82
Gambar 28. Reaksi Kolesterol dengan Metode Zak	86

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kolesterol merupakan suatu zat seperti lilin berwarna putih yang secara alami terdapat dalam tubuh manusia. Kolesterol merupakan senyawa lemak kompleks, 80% dihasilkan dari dalam tubuh terutama organ hati dan 20% sisanya berasal dari luar tubuh yang diperoleh dari asupan makanan. Bagi tubuh manusia, kolesterol adalah salah satu zat yang dibutuhkan sebagai salah satu sumber energi yang memberikan kalori paling tinggi serta memiliki fungsi sebagai komponen penting dalam pembentukan dinding sel dan hormon-hormon tertentu (Utama & Indasah, 2021).

Kebiasaan mengonsumsi makanan tinggi lemak secara berlebihan dapat mengakibatkan hiperkolesterolemia atau kondisi dimana jumlah kolesterol dalam darah melebihi batas normal yang seharusnya. Kondisi tersebut dapat mengakibatkan penimbunan lemak/kolesterol pada bagian dalam pembuluh darah sehingga menimbulkan penyempitan atau pengerasan pembuluh darah (aterosklerosis), yang merupakan awal mula dari penyakit kardiovaskuler. Secara global, sepertiga penyakit jantung iskemik disebabkan oleh hiperkolesterolemia (WHO, 2024). Selaras dengan hal tersebut, angka kejadian hiperkolesterolemia di Indonesia terbilang cukup tinggi, yaitu mencapai 28% (Kemenkes, 2022).

Dengan angka kejadian hiperkolesterolemia yang cukup tinggi, tentunya diperlukan penanganan yang efektif untuk mengatasi masalah tersebut. Saat ini, salah satu upaya untuk menangani masalah hiperkolesterolemia yaitu menggunakan obat-obatan kimia seperti golongan statin. Namun, penggunaan obat-obatan kimia seperti golongan statin menimbulkan efek samping akibat penggunaan jangka panjang yang menyebabkan ketidaknyamanan bagi penggunanya seperti gangguan musculoskeletal seperti myalgia, myositis dan rhabdomyolysis (Ramkumar, et al., 2016). Hal tersebut mengakibatkan pasien harus menghentikan pengobatan statin di tengah terapi. Untuk itu diperlukan obat yang aman, efektif serta minim efek samping bagi penggunanya.

Obat herbal menjadi salah satu alternatif, diantara berbagai upaya dalam menciptakan obat baru. Penggunaan obat herbal ini didasari oleh khasiat yang dapat menyembuhkan penyakit, harga yang lebih terjangkau, serta efek samping yang lebih kecil bahkan hampir tidak ada jika dibandingkan dengan obat-obatan konvensional/kimia (Kumontoy et al., 2023). Beberapa herbal yang memiliki potensi dan berkhasiat sebagai agen antikolesterol antara lain biji anggur (*Vitis vinifera* L.), umbi bawang merah (*Allium cepa* L.), daun binahong (*Anredera cordifolia*), buah ciplukan (*Physalis angulata* L.), dan rimpang jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) (Azzahra & Zuhrotun, 2022).

Salah satu tanaman herbal yang belum diteliti secara ilmiah dan dieksplorasi adalah tanaman sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth). Secara etnofarmasi, tumbuhan sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) banyak digunakan dalam pengobatan, seperti pengobatan ruam dan gatal pada kulit, cacar air, penyembuhan luka, pilek, demam, mual, rematik, dan penyakit pernapasan. Selain itu, tumbuhan sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, antidiabetes, spasmolitik, trombolitik, dan penurun lipid (Khan, et al., 2023). Akan tetapi, penelitian mengenai aktivitas farmakologis yang dimiliki oleh tumbuhan sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) masih jarang, bahkan beberapa aktivitas farmakologisnya belum pernah diteliti terutama aktivitas

antikolesterolnya. Untuk itu peneliti, tertarik untuk mengkaji dan melakukan penelitian terkait karakter senyawa dan aktivitas antikolesterol ekstrak daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

- a. Apa saja kandungan kimia dari ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth)?
- b. Berapa kadar total fenolik dari ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth)?
- c. Berapa kadar total flavonoid dari ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth)?
- d. Bagaimana aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) secara *in vitro*?
- e. Bagaimana aktivitas antikolesterol dari ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan umum penelitian ini yaitu

- a. Mengetahui kandungan kimia dari ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth).
- b. Mengetahui kadar total fenolik dari ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth).
- c. Mengetahui kadar total flavonoid dari ekstrak etanol 96 % dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth).
- d. Mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) secara *in vitro*.
- e. Mengetahui aktivitas antikolesterol dari ekstrak etanol dan etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Diharapkan hasil penelitian ini dapat meningkatkan wawasan, menambah pengetahuan serta ketertarikan penulis terhadap bidang farmasi bahan alam.

1.4.2 Bagi Peneliti Lain

Diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi referensi dalam melakukan penelitian lanjutan serta sebagai dasar dalam mengembangkan obat-obatan antikolesterol berbahan dasar herbal terutama daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth).

1.4.3 Bagi Institut Terkait

Diharapkan hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai referensi pada studi lanjutan khususnya pada Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

1.4.4 Bagi Masyarakat

Diharapkan hasil penelitian ini dapat meningkatkan wawasan dan pemahaman masyarakat terkait manfaat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) sebagai agen antikolesterol alami yang lebih terjangkau dan minim efek samping.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kolesterol

2.1.1 Definisi

Kolesterol merupakan senyawa lemak kompleks yang memiliki substansi seperti lilin berwarna putih dan secara alami terdapat di dalam tubuh manusia. Kolesterol sendiri 80% dihasilkan dari dalam tubuh yaitu organ hati dan 20% sisanya berasal dari makanan yang dikonsumsi, yang mana kolesterol memiliki fungsi membangun dinding sel serta komponen dalam pembuatan hormon-hormon tertentu (Tandra, 2021). Tubuh biasanya memproduksi kolesterol dalam jumlah tertentu untuk mencukupi kebutuhannya, namun makanan seperti lemak hewani, telur, dan makanan sampah (*junkfood*) dapat meningkatkan kadar kolesterol dalam tubuh. Peningkatan kadar kolesterol dalam tubuh secara berlebih dapat mengakibatkan aterosklerosis, yaitu kondisi dimana terlalu banyak kolesterol yang menumpuk pada dinding pembuluh darah sehingga mengakibatkan saluran pembuluh darah mengalami penyempitan dan pengerasan (Utama & Indasah, 2021).

2.1.2 Jenis Kolesterol

Kolesterol sendiri memiliki beberapa jenis yaitu:

- LDL (*Low Density Lipoprotein*)

LDL (*Low Density Lipoprotein*) adalah jenis kolesterol yang paling berbahaya dan disebut sebagai kolesterol jahat karena cenderung menempel di dinding pembuluh darah, mengganggu pembuluh darah dan mengurangi aliran darah. Selain itu, LDL membawa

kolesterol paling banyak dalam darah dan menjadi faktor resiko utama dari penyakit jantung koroner (Utama & Indasah, 2021).

Tabel 1. Klasifikasi Kolesterol LDL

Batas (mg/dL)	Keterangan
Kurang dari 100	Optimal
100-129	Mendekati normal
130-159	Batas normal tinggi
160-189	Tinggi
Lebih dari 190	Sangat tinggi

(Sumber: Utama & Indasah, 2021)

- **HDL (*High Density Lipoprotein*)**

HDL (*High Density Lipoprotein*) membawa kolesterol lebih sedikit dibandingkan dengan LDL sehingga dianggap sebagai kolesterol baik atau kolesterol yang tidak berbahaya. HDL mencegah kolesterol menumpuk dan melindungi pembuluh darah dari aterosklerosis yaitu terbentuknya plak pada pembuluh darah. Apo-A atau alipoprotein adalah protein utama pembentuk HDL. HDL memiliki kepadatan yang tinggi dan lebih berat karena memiliki kandungan lemak yang lebih sedikit (Utama & Indasah, 2021).

Tabel 2. Klasifikasi Kolesterol HDL

Batas (mg/dL)	Keterangan
Kurang dari 40	Rendah
Lebih dari 60	Tinggi

(Sumber: Utama & Indasah, 2021)

- Trigliserida

Salah satu jenis lemak tubuh adalah trigliserida, yaitu suatu jenis lemak yang dibentuk menjadi partikel lipoprotein. Kadar trigliserida dalam darah dapat menunjukkan adanya penyakit tertentu karena dapat meningkatkan kadar kolesterol. Obesitas, konsumsi alkohol, makanan tinggi gula dan lemak adalah beberapa faktor yang dapat meningkatkan kadar trigliserida dalam darah. (Utama & Indasah, 2021).

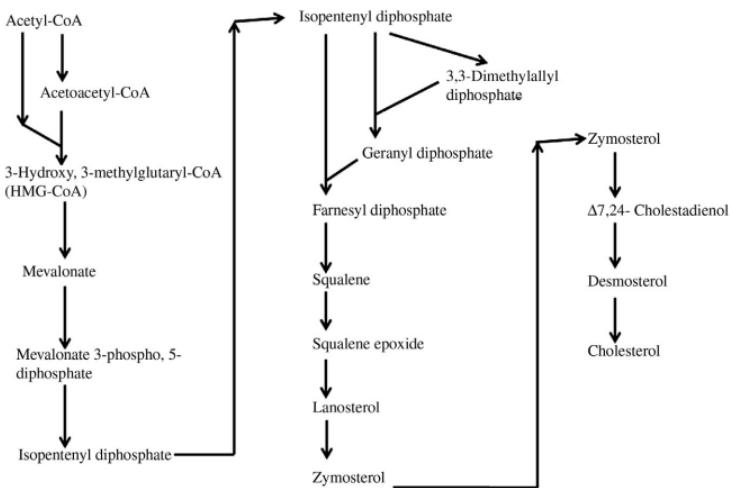
Tabel 3. Klasifikasi Trigliserida

Batas (mg/dL)	Keterangan
Kurang dari 150	Normal
150-199	Batas normal tinggi
200-499	Tinggi
Lebih dari 500	Sangat tinggi

(Sumber: Utama & Indasah, 2021)

2.1.3 Sintesis Kolesterol

Sintesis kolesterol merupakan proses yang cukup rumit dimana jalur sintesis kolesterol ini terjadi di sitoplasma. Unit asetil-KoA pada tubuh akan digabungkan untuk membentuk senyawa 30 karbon dan kemudian tiga karbon dihilangkan untuk menghasilkan kolesterol yang memiliki 27 atom karbon. Proses sintesis kolesterol diawali dengan pembentukan asam mevalonat, dilanjutkan dengan sintesis isopentenyl fosfat, pembentukan squalene, sintesis lanosterol hingga terjadi pembentukan kolesterol (Kumari, 2018).



Gambar 1. Sintesis Kolesterol (Kumari, 2018)

Dua asetil-KoA bergabung untuk membentuk asetoasetil-KoA, melepaskan CoA-SH dengan adanya tiolase. Acetyl-CoA juga mengembun untuk membentuk 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) yang dikatalisis oleh HMG-CoA synthase. Enzim ini berbeda dari enzim yang digunakan untuk sintesis tubuh keton dalam mitokondria. HMG-CoA direduksi oleh HMG-CoA reduktase menggunakan NADPH untuk mevalonate. Enzim ini adalah enzim pengatur jalur, dan dihambat oleh statin — obat penurun lipid terbaik. Mevalonat difosforilasi oleh tiga kinase secara berurutan menggunakan tiga ATP dan kemudian didekarboksilasi untuk membentuk isopentenil difosfat. Isopentenil difosfat (5C) isomerisasi menjadi 3,3-dimethylallyl diphosphate (5C) dengan menggeser ikatan rangkap dan kemudian kondensasi dengan isopentenyl diphosphate membentuk geranyl diphosphate (10C). Molekul isopentenil difosfat lain bergabung untuk membentuk senyawa 15C, farnesyl diphosphate. Dua molekul 15C tersebut menyatu untuk membentuk squalene 30C. Squalene dioksidasi menjadi squalene 2,3-epoksida oleh squalene epoxidase. Selama siklusasi ke lanosterol, gugus metil bergeser dari C14 ke C13 dan dari C8 ke C14. Gugus metil pada C14 dan C4 dihilangkan untuk membentuk 14-desmetil lanosterol dan kemudian zimosterol. Ikatan rangkap pada C8C9

kemudian digeser ke C5C6 dalam dua langkah, membentuk desmosterol. Langkah terakhir adalah pengurangan ikatan rangkap rantai samping yang menghasilkan molekul kolesterol (Kumari, 2018).

2.1.4 Hiperlipidemia

Hiperlipidemia adalah kondisi tingginya kadar lemak (kolesterol, trigliserida, maupun keduanya) dalam darah (Utama & Indasah, 2021). Kadar lemak yang abnormal dalam sirkulasi darah (terutama kolesterol) dapat menyebabkan masalah jangka panjang seperti resiko terjadinya aterosklerosis dan penyakit arteri koroner. Kadar kolesterol total yang ideal adalah 140-200 mg/dL atau kurang. Jika kadar kolesterol total mendekati 300 mg/dL, resiko terjadinya penyakit jantung lebih dari 2 kali lipat. Idealnya, kadar kolesterol LDL tidak boleh lebih dari 130 mg/dL dan kadar kolesterol HDL tidak boleh kurang dari 40 mg/dL. Kadar HDL harus meliputi lebih dari 25 % dari kadar kolesterol total (Tandra, 2021).

Kondisi hiperlipidemia dipengaruhi oleh kebiasaan dan jenis makanan yang dikonsumsi sehari-hari. Kolesterol atau kadar lemak dalam darah umumnya berasal dari jenis makanan yang dikonsumsi. Semakin banyak konsumsi makanan berlemak, maka semakin besar peluang untuk meningkatkan kadar kolesterol. Selain faktor makanan, kolesterol yang tinggi juga dapat disebabkan oleh faktor keturunan, obesitas, kurang olahraga, konsumsi alkohol, kebiasaan merokok, diabetes tidak terkontrol serta gangguan kelenjar tiroid (Utama & Indasah, 2021).

2.1.5 Metode Uji Zak ($\text{FeCl}_3\text{-H}_2\text{SO}_4$)

Prinsip metode zak didasarkan pada kemampuan mengikat kolesterol setelah penambahan sampel. Pada metode ini diperlukan bantuan FeCl_3 dalam asam asetat glasial sebagai katalisator dan H_2SO_4 sehingga terbentuk senyawa berwarna (Madin et al., 2017). Senyawa berwarna yang terbentuk kemudian diukur absorbansinya menggunakan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang tertentu pada rentang 400-700 nm.

Reaksi antara kolesterol dengan pereaksi zat diawali dengan protonasi kolesterol oleh gugus -OH. Selanjutnya terjadi reaksi dehidrasi yang menghasilkan ion karbonium 3,5-kolestadiena selanjutnya dengan penambahan Fe³⁺ terbentuklah senyawa kation tetraenilik yang memiliki warna merah (Rizki et al., 2022). Senyawa berwarna merah tersebut memiliki panjang gelombang maksimum 563 nm (Burke et al., 1974).

Pada penelitian yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antikolesterol biasanya ditambahkan senyawa yang dianggap berpotensi menjadi agen antikolesterol. Biasanya nilai aktivitas antikolesterol Nilai EC50 (*Effective Concentration*) menunjukkan kemampuan ekstrak yang ditunjukkan dalam satuan ppm untuk menurunkan kolesterol sebesar 50%. Nilai EC50 didapatkan dengan cara mencari persamaan regresi linear dengan adanya hubungan antara konsentrasi ekstrak sebagai sumbu X dengan % penurunan kolesterol sebagai sumbu Y (Putri & Anggraini, 2022).

2.2 Antioksidan

2.2.1 Definisi

Antioksidan adalah suatu senyawa yang cukup stabil untuk memberikan elektron atau atom hidrogennya kepada senyawa radikal bebas dan membuat radikal bebas tersebut menjadi netral, sehingga kemampuan untuk melakukan reaksi berantai radikal bebas dapat dikurangi (Ibroham et al., 2020). Radikal bebas sangat reaktif dan dapat membuat makromolekul pembentuk sel seperti karbohidrat, protein, asam nukleat dan lemak mengalami kerusakan. Akibatnya, radikal bebas dapat menyebabkan aterosklerosis, hipertensi, iskemik, Alzheimer, Parkinson, kanker hingga peradangan (Sayuti & Yenrina, 2015). Secara alami,

antioksidan dibutuhkan oleh tubuh untuk melindungi diri dari radikal bebas.

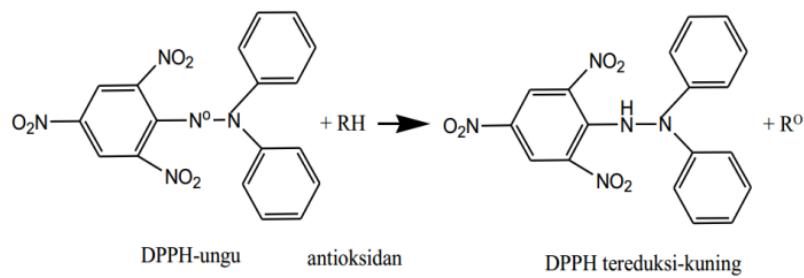
Menurut (Kamoda et al., 2021) antioksidan terdiri atas antioksidan alami dan sintetis. Antioksidan sintetis merupakan senyawa antioksidan yang disintesis secara kimia, seperti *Butyl Hidroksil Anitol* (BHA), *Butyl Hidroksi Toluene* (BHT), *Tert-Butil Hidroksi Buinon* (TBHQ) dan Propil galat. Disisi lain, antioksidan alami adalah senyawa yang secara alami ada dalam tubuh manusia dan digunakan untuk melindungi tubuh seperti, *superoxide dismutase*, *glutathione peroxidase*, dan *catalase*. *tokoferol* (vitamin E), asam askorbat (vitamin C), *glutation*, dan *ubiquinon*.

Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga apabila terbentuk banyak radikal maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan peradangan (Sayuti & Yenrina, 2015). Saat ini sumber dari antioksidan alami yang banyak digunakan berasal dari buah, sayuran, rempah, dan herbal dimana mengandung banyak vitamin, senyawa fenolik, karotenoid dan senyawa mikro lainnya (Flieger et al., 2021).

Senyawa fenolik merupakan salah satu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Flavonoid adalah salah satu dari kelompok senyawa fenolik yang ditemukan dalam tumbuhan. Aktivitas antioksidan flavonoid bekerja dengan memadamkan unsur radikal bebas, mengelat logam, menekan enzim yang terkait dengan pembangkitan radikal bebas, dan stimulasi enzim antioksidan internal. Flavonoid mampu mengelasi radikal bebas dengan segera dengan menyumbangkan atom hidrogen atau dengan transfer elektron tunggal (Banjarnahor & Artanti, 2014; Sayuti & Yenrina, 2015).

2.2.2 Metode Analisis DPPH (*2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

Merupakan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH (*2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) yang merupakan radikal bebas bersifat stabil. Pada uji ini, DPPH akan berwarna ungu karena adanya delokalisasi, yang kemudian akan berubah warna menjadi kuning hydrazine ketika bereaksi dengan antioksidan dan mengalami proses reduksi. Proses reduksi terjadi karena adanya donor hidrogen dari substrat yang mengakibatkan warna ungu pada DPPH berkurang (Mu'nisa, 2023).



Gambar 2. Interaksi DPPH dengan Agen Antioksidan
(Molyneux P, 2004)

Metode DPPH digunakan untuk mengukur kemampuan antioksidan untuk menghambat radikal bebas. Dalam proses uji antioksidan metode DPPH dilakukan menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 515 nm. Selain itu, karena radikal bebas yang bersifat tidak stabil, metode uji antioksidan dengan DPPH dipengaruhi oleh beberapa faktor meliputi cahaya, pH, jenis pelarut, lama proses, ion organik, garam, dan suhu. Parameter IC₅₀, yang berasal dari konsentrasi penghambatan atau konsentrasi efisiensi EC₅₀, menunjukkan konsentrasi aktivitas antioksidan yang diuji dengan uji DPPH. Nilai IC₅₀ menunjukkan bahwa konsentrasi antioksidan yang digunakan untuk

mengurangi konsentrasi DPPH sebanyak 50%. Nilai yang lebih rendah menunjukkan bahwa aktivitas antioksidannya lebih tinggi, yang kemudian dapat dihitung dengan menggunakan *curve inhibitory* (Shahidi & Zhong, 2015).

Tabel 4. Spesifitas Daya Antioksidan Blois (1958)	
Sangat Kuat	IC50 < 50 ppm
Kuat	50 ppm > IC50 < 100 ppm
Sedang	100 ppm > IC50 < 150 ppm
Lemah	150 ppm > IC50 < 200 ppm
Sangat Lemah	IC50 > 200 ppm

2.3 Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth)

2.3.1 Taksonomi

Berdasarkan taksonominya, klasifikasi *Mikania micrantha* Kunth dapat diuraikan sebagai berikut (Murtilaksono, et al., 2021):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Asterales
Famili	: Asteraceae
Genus	: <i>Mikania</i>
Spesies	: <i>Mikania micrantha</i> Kunth

2.3.2 Morfologi

Mikania micrantha atau dalam bahasa Indonesia disebut sembung rambat merupakan tanaman yang berasal dari Amerika tengah dan Selatan. Namun saat ini *Mikania micrantha* sudah banyak tersebar di berbagai wilayah seperti Asia-Pasifik, Afrika dan Australia (Priwiratama, 2011). Di Asia, *Mikania micrantha* pertama kali

dilaporkan pada 1884, sementara di Indonesia sendiri tercatat pada tahun 1949. Tumbuhan ini diperkenalkan ke banyak negara sebagai agen untuk konservasi tanah, penutup tanah, serta digunakan sebagai pengobatan herbal untuk luka hingga bahan pengepakan (Day, 2022).

Mikania micrantha adalah tanaman merambat tropis yang dapat tumbuh di berbagai habitat, kuat, cepat, merayap atau melilit, yang menghasilkan banyak biji. Keberadaan tanaman sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) yang cukup melimpah dan pertumbuhannya yang cepat menjadikannya tanaman gulma yang dianggap mengganggu dan dinilai kurang bermanfaat. Biasanya ditemukan di tempat terbuka dataran rendah yang lembab atau terbuka, di mana ada kelembaban, cahaya dan curah hujan atau kelembaban tanah yang memadai. Selain itu, juga ditemukan di sepanjang sungai dan pinggir jalan, di sepanjang tepi hutan dan perkebunan hutan, sepanjang garis pagar, padang rumput dan gurun. Tanaman ini dapat memanjang dan mencekik vegetasi lain seperti pohon perkebunan misalnya kelapa, atau pohon karet setinggi 25 m (Day, 2022).



Gambar 3. Tanaman Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth)
(Day, 2022)

Mikania micrantha Kunth tumbuh dengan perakaran serabut berwarna coklat yang banyak bercabang, berambut, bertangkai ramping; batang herba hingga semi-kayu, bercabang, bergaris, jarang puber atau glabrous (Day, 2022). Batangnya tumbuh menjalar dengan warna hijau

muda dan bercabang serta ditumbuhi rambut-rambut halus. Daun *Mikania micrantha* berbentuk menyerupai hati, berwarna hijau dengan tepi daun bergerigi dangkal atau kasar, segitiga atau bulat telur, ujung tajam, panjang bilah 4-13 cm, lebar 2-9 cm. Memiliki bunga berwarna putih disertai kelopak berwarna hijau (Murtilaksono, et al., 2021).

2.3.3 Kandungan Senyawa

Dalam beberapa penelitian, tanaman *Mikania micrantha* telah diuji kandungan kimianya seperti terpen (minyak esensial) yang menjadi konstituen utama yang diisolasi yakni *linalool* dan *alpha-pinene*. Selain itu, tanaman sembung rambat *Mikania micrantha* memiliki banyak senyawa fitokimia yang terkandung di seluruh bagian tanamannya antara lain flavonoid, *suquisterpens dilactone*, *sesquiterpene lactones*, fenolik, saponin, steroid, alkaloid, tannin, karotenoid, glikosida jantung dan glikosida (Ishak et al., 2016).

2.3.4 Aktivitas Biologis

Studi tentang aktivitas biologis *Mikania micrantha* telah meningkat baru-baru ini. Beberapa penelitian menggunakan ekstrak pelarut dan berbagai bagian *Mikania micrantha* yang berbeda telah dilakukan untuk menentukan aktivitas antioksidan, antihelmintik, antidermatofit, anti-stres, anti-diabetes, antispasmodik, antimikroba, antiprotozoa, antitumor, anti-proliferatif, anti-inflamasi, dan anti-virus (Ishak et al., 2016). Selain itu, dalam etnofarmasi tumbuhan *Mikania micrantha* banyak digunakan sebagai terapi untuk mengobati berbagai penyakit manusia termasuk gigitan serangga, ruam dan gatal pada kulit, cacar air, penyembuhan luka dan bisul, pilek dan demam, mual, penyakit kuning, rematik, dan penyakit pernapasan serta memiliki aktivitas sitotoksik, ansiolitik, spasmolitik, peningkatan memori, penyembuhan luka, anti penuaan, dan trombolitik (Khan, et al., 2023).

2.4 Ekstraksi

2.4.1 Definisi

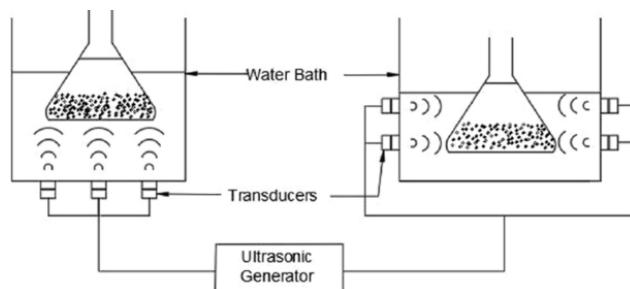
Pada dasarnya ekstraksi merupakan metode penarikan atau pemisahan satu atau lebih komponen aktif senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan maupun hewan dengan pelarut yang sesuai serta prosedur yang ditetapkan. Mekanisme dari ekstraksi sendiri dengan cara berdifusinya pelarut ke material padat tumbuhan atau hewan yang kan menyebabkan dinding sel mengalami pembengkakan dan melonggarkan kerangka selulosa sehingga pori-pori dinding sel mengalami pembesaran dan mengakibatkan pelarut dapat masuk ke dalam sel. Selanjutnya terjadi lisis sel dan komponen dalam sel yang pecah akan larut dalam pelarut sesuai dengan tingkat kelarutannya (Wahyuni, et al., 2024).

Ekstraksi menggunakan pelarut dibedakan menjadi dua jenis yakni ekstraksi padatan-cairan (*solid-liquid extraction*) dan juga ekstraksi cairan-cairan (*liquid-liquid extraction*). Dimana ekstraksi padatan-cairan merupakan pengambilan atau pemisahan senyawa metabolit dari matriks padat seperti bagian tanaman dengan bantuan pelarut tertentu. Sedangkan ekstraksi cairan-cairan merupakan pemisahan senyawa metabolit yang sudah terlarut sebelumnya pada suatu pelarut dengan mencampurnya dengan pelarut lain yang bersifat tidak dapat bercampur baik dengan pelarut awal (*immiscible*) (Nugroho, 2017).

Terdapat beberapa macam metode/teknik ekstraksi bahan alam mulai dari metode konvensional/sederhana hingga modern. Pemilihan metode biasanya didasarkan pada beberapa alasan seperti sifat bahan, kestabilan metabolit sekunder, rendemen, kualitas yang diinginkan serta pertimbangan biaya dan waktu/efisiensi. Beberapa metode ekstraksi yang umum digunakan antara lain metode maserasi, perkolası, ekstraksi dengan refluks, soxhlet, ultrasonikasi dan dengan pelarut bertekanan (*pressurized solvent extraction*) (Malau et al., 2023; Nugroho, 2017).

2.4.2 Metode *Ultrasound-Assisted Extraction*

Ultrasound-Assisted Extraction adalah teknik ekstraksi non-konvensional yang dilakukan dengan bantuan gelombang ultrasonik dengan frekuensi 20-2000 kHz. Gelombang ultrasonik tersebut berfungsi untuk membantu meningkatkan permeabilitas sel tanaman dan kavitas. Fenomena kavitas sendiri merupakan pembentukan, pertumbuhan, dan pemecahan gelembung yang terjadi selama proses ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik. Dengan adanya energi ultrasonik ekstraksi senyawa metabolit menjadi mudah. Mekanismenya dengan cara difusi melalui dinding sel dan pengeluaran isi sel oleh pelarut setelah dinding sel pecah (Endarini, 2016).



Gambar 4. Skema Proses Ekstraksi *Ultrasound-Assisted Extraction*
(Sanjaya et al., 2022)

Ekstraksi ultrasonik melibatkan penempatan sampel tumbuhan dalam pelarut di dalam sebuah labu, kemudian ditempatkan dalam alat ultrasonik. Gelombang ultrasonik yang dihasilkan akan menciptakan getaran kuat yang memecah dinding sel tumbuhan. Tekanan mekanis ini menyebabkan senyawa metabolit dalam tumbuhan terlarut dalam pelarut. Selain itu, pemanasan hingga 60°C yang dapat diatur pada alat ultrasonik meningkatkan efisiensi proses ekstraksi. (Nugroho, 2017).

Kelebihan metode ekstraksi ini adalah durasi ekstraksi yang cukup singkat, rendahnya energi dan pelarut yang digunakan. Selain itu, metode ultrasonik mampu meningkatkan kelarutan metabolit sekunder

sehingga rendemen dari ekstrak yang dihasilkan juga ikut meningkat. Walaupun peralatan cukup mahal, tetapi metode ini merupakan metode yang sangat praktis dan dapat diaplikasikan pada ekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat termolabil atau tidak stabil pada suhu tinggi (Endarini, 2016; Nugroho, 2017). Sifat yang dimiliki oleh gelombang ultrasonik yang *non-destructive* dan *non-invasive* menjadikan metode ekstraksi ini sesuai dan aplikatif untuk memperoleh kandungan antioksidan dengan waktu yang relatif singkat (Wiranata et al., 2022).

2.4.3 Pemilihan Pelarut

Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang dapat menyerap sebagian besar metabolit sekunder yang diinginkan dalam simplisia. Ekstraksi dengan pelarut didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi (Agustien & Susanti, 2021). Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol, butanol dan air. Senyawa nonpolar juga hanya akan larut pada pelarut nonpolar, seperti eter, kloroform dan n-heksana. Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino dan glikosida. Pelarut semipolar mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida, contoh pelarut semi polar yaitu etil asetat (Agusman et al., 2022). Pelarut nonpolar dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap. Jenis dan mutu pelarut yang digunakan menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan zat yang diinginkan, mempunyai titik didih yang rendah, murah, tidak toksik dan mudah diuapkan (Yunita & Khodijah, 2020).

Pemilihan etanol sebagai pelarut didasarkan pada keamanan saat digunakan sebagai pelarut makanan, ekonomis efisien, aman untuk lingkungan, memiliki tingkat ekstraksi yang tinggi dan mudah

didapatkan. Mengacu pada (Yunita & Khodijah, 2020) pelarut etanol dengan konsentrasi 60%, 70%, 80% dan 96% dapat mempengaruhi kadar flavonoid total yang dihasilkan pada masing-masing ekstrak. Pelarut konsentrasi rendah menghasilkan kadar yang lebih tinggi dibandingkan pelarut dengan konsentrasi tinggi. Konsentrasi dari etanol sangat menentukan kekuatan hidrofobik pada proses pelarutan serta kekuatan ikatan-ikatan hidrogen atau gaya *van der Waals* dari komponen target dalam proses pelarutan dan penyarian dari komponen target. Meningkatnya konsentrasi etanol dapat meningkatkan laju disolusi dan ekstraksi (Hakim & Saputri, 2020).

Sementara itu etil asetat sendiri merupakan jenis pelarut yang bersifat semi polar. Pelarut ini memiliki titik didih yang relatif rendah yaitu 77° C sehingga memudahkan pemisahan minyak dari pelarutnya dalam proses ekstraksi. Selain itu etil asetat bersifat semi polar, artinya dapat menarik campuran polar dan non-polar, memiliki tingkat bahaya yang rendah dan bersifat volatil sehingga lebih berpeluang untuk digunakan dalam ekstraksi (Warni et al., 2022).

2.5 Senyawa Metabolit Sekunder

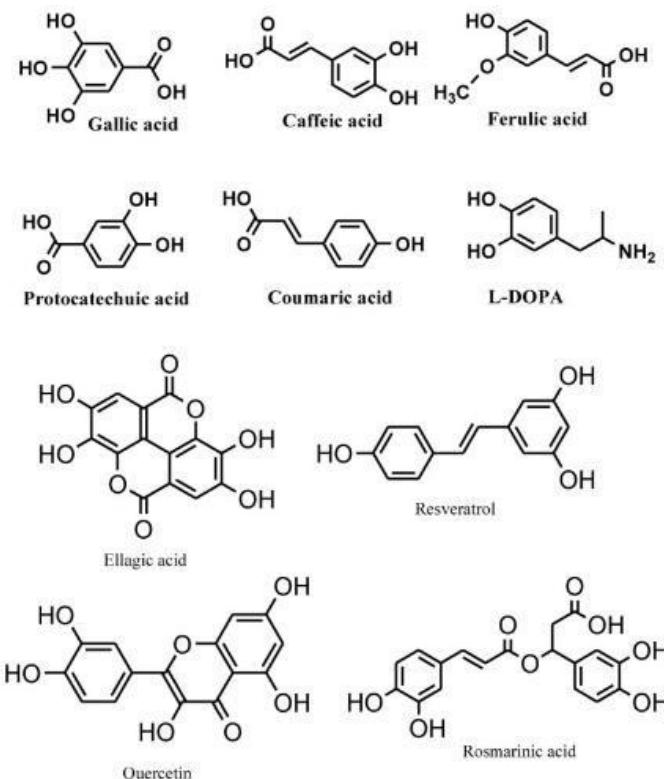
2.5.1 Definisi

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang ditemukan dalam jumlah kecil pada organisme seperti tumbuhan, senyawa ini memiliki berat molekul yang rendah. Mereka tidak berfungsi sebagai bagian penting dari kelangsungan hidup organisme, tetapi berfungsi sebagai pendukung seperti agen untuk mempertahankan diri, melawan patogen maupun keadaan kritis, atau berperan sebagai hormon (Nugroho, 2017).

2.5.2 Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik merupakan senyawa metabolit sekunder yang mengandung cincin benzena dengan 1 maupun lebih substituent hidroksil, yang berasal dari molekul fenolik sederhana hingga senyawa

fenolik yang sangat terpolimerisasi, dibuat dari asam shikimat tanaman dan pentosa fosfat melalui metabolisme fenilpropanoid. Metabolit sekunder yang paling menonjol yang ditemukan pada tanaman adalah fenolik, yang berperan sepanjang proses metabolisme (Lin et al., 2016).

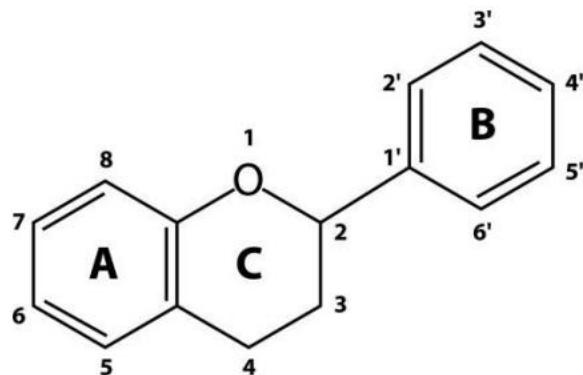


Gambar 5. Senyawa Fenolik Umum dalam Tanaman (Lin, et al., 2016)

Zat fenolik, atau polifenol, mengandung berbagai macam senyawa seperti flavonoid, asam fenolik, flavonoid kompleks, dan antosianin berwarna (Nugroho, 2017). Senyawa fenolik ini biasanya terkait dengan respons pertahanan pada tanaman. Namun, metabolit fenolik memainkan peran yang cukup krusial, seperti mempercepat penyerbukan, pewarnaan yang bertujuan sebagai kamuflase dan mempertahankan diri dari herbivora, serta aktivitas antibakteri dan antijamur (Lin, et al., 2016).

2.5.3 Senyawa Flavonoid

Flavonoid adalah kelompok senyawa fenolik yang dijumpai hampir seluruh tumbuhan. Flavonoid umumnya ditemukan pada epidermis daun dan kulit buah. Flavonoid adalah polifenol dengan lima belas atom karbon dengan cincin aromatik (cincin A dan cincin B) memiliki jembatan dengan tiga atom karbon (cincin C). Banyak gula yang memiliki gugus hidroksil pada nomor atom 4, 5, dan 7 yang biasanya terikat dengan flavonoid untuk membentuk senyawa glikosida. Adanya gugus hidroksil dan gula pada senyawa flavonoid dapat meningkatkan polaritas dan kelarutan dalam air (Nugroho, 2017).



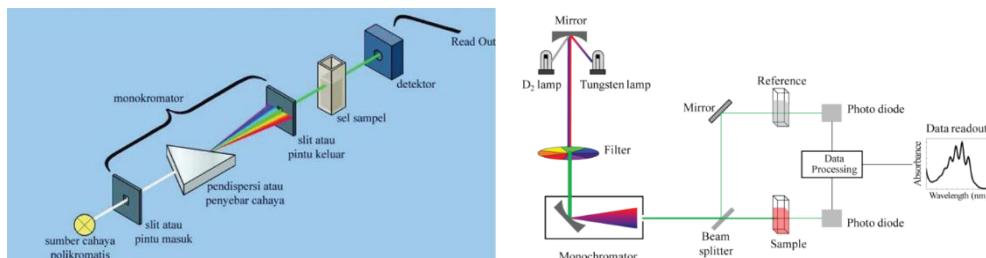
Gambar 6. Struktur Umum Flavonoid (Nugroho, 2017)

Secara alami, flavonoid memiliki peran untuk melindungi dari sinar UV, sebagai zat pewarna, serta pelindung dari pathogen maupun penyakit bagi tumbuhan. Beberapa penelitian membuktikan berbagai manfaat dari flavonoid untuk kesehatan manusia, seperti agen antiinflamasi, antioksidan, antikanker, antivirus, dan anti alergi. Pada salah satu studi disebutkan bahwa flavonoid dapat mencegah oksidasi dari LDL (*low-density lipoprotein*) sehingga mengurangi resiko terjadinya penyakit pembuluh darah seperti *atherosclerosis* (Nugroho, 2017).

2.6 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan suatu metode analisis menggunakan panjang gelombang UV dan *Visible* sebagai area serapan untuk mendeteksi senyawa. Umumnya yang dapat diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis adalah senyawa yang memiliki gugus gugus kromofor dan gugus auksokrom. Dibandingkan dengan metode lain analisis dengan Spektrofotometri UV-Vis tergolong dan cepat (Sahumena et al., 2020).

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis (*Ultra Violet-Visible*) didasarkan pada serapan cahaya yang dihasilkan dimana atom dan molekul pada analit berinteraksi dengan cahaya. Sumber cahaya untuk sinar UV dan visible adalah dua sumber berbeda yang digunakan pada instrumen ini. Spektrofotometri UV-Vis berdasar pada hukum *Lambert-Beer* yaitu apabila terdapat sinar monokromatik melewati suatu senyawa maka sebagian sinar diserap atau diabsorbsi, sebagian dipantulkan dan sebagian lagi akan diteruskan. Panjang gelombang pada daerah ultraviolet adalah 180 nm–380 nm, sedangkan pada daerah *visible* adalah 380 nm–780 nm (Ahriani et al., 2021).



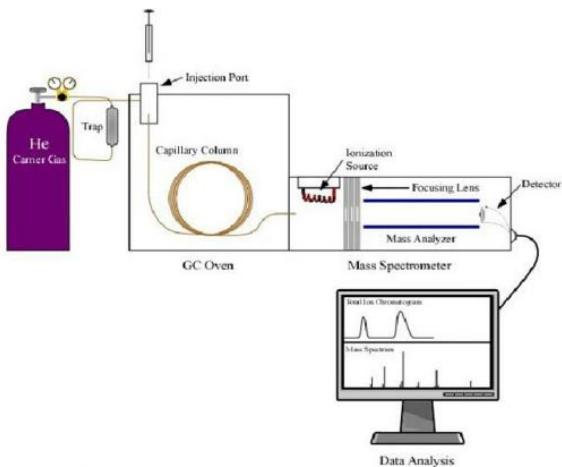
Gambar 7. Diagram Spektrofotometer UV-Vis *Single Beam* dan *Double Beam* (Suhartati, 2017)

Suhartati (2017) menjelaskan bahwa spektrofotometer terbagi menjadi dua jenis utama yaitu *single-beam* dan *double-beam*. *Single-beam* cocok untuk analisis kuantitatif dengan mengukur serapan cahaya pada panjang gelombang spesifik antara 190-210 nm hingga 800-1000 nm. Sementara itu, *double-beam* beroperasi pada rentang 190-750 nm dan menggunakan dua sinar cahaya yang dipisahkan oleh pemecah sinar untuk perbandingan simultan antara larutan

blanko dan sampel. Pada spektrometer UV-Vis, monokromator digunakan dengan lensa prisma dan filter optik. Sel sampel adalah kuvet yang terbuat dari gelas atau kuarsa. Sumber cahaya yang umum digunakan adalah lampu deuterium untuk UV dan lampu wolfram untuk sinar tampak. Cahaya yang melewati sampel kemudian dideteksi oleh detektor foto atau detektor panas untuk diubah menjadi sinyal listrik.

2.7 GC-MS (*Gass Chromatography-Mass Spectrometry*)

GC-MS (*gass chromatography-mass spectrometry*) adalah alat pengidentifikasi senyawa – senyawa yang berbeda pada sampel yang diujikan dengan menggunakan metode kromatografi gas cair dan spektrometri massa. Penggunaan Kromatografi gas dilakukan untuk mencari senyawa yang mudah menguap pada kondisi vakum tinggi dan tekanan rendah jika dipanaskan. Sedangkan spektrometri massa untuk menentukan bobot molekul, rumus molekul, dan menghasilkan molekul bermuatan (Hotmian et al., 2021). Spektrometri massa, khususnya yang dipadukan dengan kromatografi gas (GC-MS), adalah alat yang sangat berguna untuk mengidentifikasi molekul dalam suatu sampel. Analisis GC-MS merupakan metode yang andal untuk menentukan massa molekul, rumus molekul, dan struktur senyawa organik. Prinsip kerjanya melibatkan ionisasi molekul sampel, kemudian pemisahan ion-ion tersebut berdasarkan perbandingan massa terhadap muatannya. Alat ini dapat menentukan berat molekul senyawa, mengungkap struktur molekul, dan bahkan memisahkan molekul-molekul yang berbeda. GC-MS sangat sensitif terhadap senyawa yang mudah menguap, sehingga cocok untuk menganalisis sampel kompleks seperti ekstrak tanaman. Hasil analisis GC-MS akan memberikan informasi detail tentang komponen-komponen ringan, stabil, dan tidak bermuatan dalam sampel. GC-MS sangat unggul dalam menganalisis senyawa volatil dan non-polar. Dibandingkan dengan HPLC, GC-MS menawarkan sensitivitas yang lebih tinggi dan kemampuan untuk menangani sampel yang lebih kompleks (Indriani et al., 2023)



Gambar 8. Skema GC-MS (*Gass Cromatography-Mass Spectrometry*)
(Margareta & Wonorahardjo, 2023)

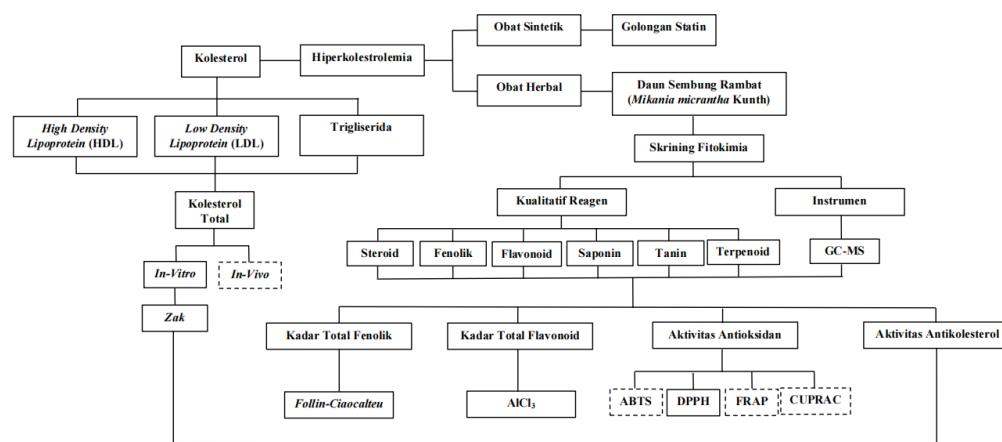
Mengutip dari (Margareta & Wonorahardjo, 2023) GC-MS adalah metode analisis yang menggabungkan kromatografi gas dan spektrometri massa. Kromatografi gas berfungsi sebagai pemisah komponen-komponen dalam sampel berdasarkan volatilitas/ titik didihnya di dalam kolom kapiler. Setelah dipisahkan, komponen-komponen tersebut kemudian diionisasi atau diukur dan dipisahkan berdasarkan berat molekul setiap zatnya oleh spektrometri massa, menghasilkan spektrum massa yang unik untuk setiap senyawa. Spektrum massa ini selanjutnya digunakan untuk identifikasi dan kuantifikasi senyawa.

GC-MS bisa digunakan untuk mengidentifikasi jenis zat dalam suatu sampel (analisis kualitatif) dengan membandingkannya dengan data yang sudah ada. Selain itu, GC-MS juga bisa mengukur jumlah suatu zat dalam sampel (analisis kuantitatif) dengan membandingkan tinggi atau luas puncak pada grafik hasil analisis. Suhu merupakan parameter kritis dalam analisis GC-MS. Suhu injeksi, kolom, dan sumber ion secara signifikan mempengaruhi volatilitas sampel dan tingkat degradasi termal. Jika suhu terlalu rendah, zat yang akan dianalisis bisa hilang. Sebaliknya, jika suhu terlalu tinggi, zat tersebut bisa rusak karena panas. Suhu injeksi yang optimal harus cukup tinggi untuk menguapkan sampel secara efisien, namun tidak terlalu tinggi sehingga

menyebabkan degradasi. Suhu kolom juga harus diatur dengan tepat untuk memisahkan komponen-komponen dalam sampel. Suhu sumber ion mempengaruhi efisiensi ionisasi dan fragmentasi molekul. Umumnya, temperature injeksi diatur 50°C diatas suhu senyawa (Margareta & Wonorahardjo, 2023).

2.8 Kerangka Teori

Kerangka teori pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



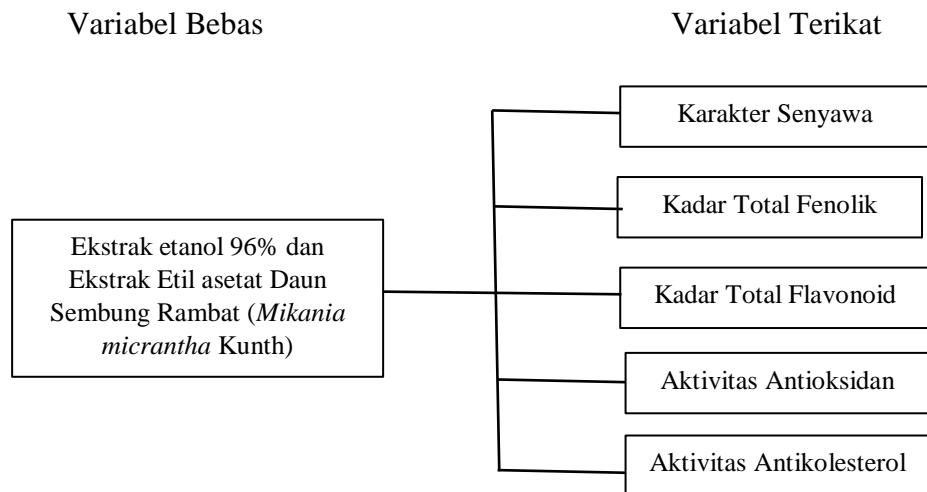
— : Diamati

- - - - - : Tidak diamati

Gambar 9. Kerangka Teori

2.9 Kerangka Konsep

Kerangka konsep pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 10. Kerangka Konsep

BAB III

METODE

3.1 Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental skala laboratorium. Ekstraksi daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) dilakukan dengan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* menggunakan dua pelarut berbeda etanol dan etil asetat. Karakterisasi senyawa pada ekstrak etanol dan etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) dilakukan dengan menggunakan GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*). Uji aktivitas antikolesterol dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis menggunakan metode Zak.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di beberapa tempat yaitu Laboratorium Kimia Farmasi Analisa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk ekstraksi sampel, serta pengujian meliputi uji fitokimia, total fenolik, total flavonoid, aktivitas antioksidan dan antikolesterol, Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung untuk melakukan determinasi tanaman, serta Laboratorium Invilab Bio Indonesia untuk karakterisasi senyawa ekstrak etanol dan etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) dengan GC-MS.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2024-Maret 2025.

3.3 Identitas Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol dan etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar total fenolik, kadar total flavonoid, aktivitas antioksidan dan aktivitas antikolesterol ekstrak etanol dan etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth).

3.4 Definisi Operasional

Tabel 5. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Karakter senyawa	Karakter senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth)	-	-	-
2.	Kadar total fenolik	Kadar total fenolik yang terkandung pada ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat	Menghitung kadar total fenolik yang terkandung pada ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung	Kadar total fenolik (mg/GAE/g)	Rasio

		(Mikania micrantha Kunth)	rambat (Mikania micrantha Kunth) menggunakan metode <i>Folin Ciocalteu</i> dengan larutan asam galat sebagai pembanding		
3.	Kadar total flavonoid	Kadar total flavonoid yang terkandung pada ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (Mikania micrantha Kunth)	Menghitung kadar total flavonoid yang terkandung pada ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (Mikania micrantha Kunth) menggunakan pereaksi AlCl_3 dengan larutan kuersetin sebagai pembanding	Kadar total flavonoid (mg/QE/g)	Rasio
4.	Aktivitas antioksidan	Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (Mikania micrantha Kunth)	Menghitung konsentrasi efektif (IC_{50}) menghambat radikal bebas dari ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (Mikania micrantha Kunth) menggunakan metode uji DPPH dengan menggunakan asam askorbat	Nilai IC_{50} (mg/L)	Rasio

			sebagai kontrol positif		
5.	Aktivitas antikolesterol	Aktivitas antikolesterol yang dimiliki oleh ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth)	Menghitung konsentrasi efektif (EC ₅₀) antikolesterol dari ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun sembung rambat (<i>Mikania micrantha</i> Kunth) menggunakan metode uji Lieberman-Burchard	Nilai EC ₅₀ (mg/L)	Rasio

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *handscoen*, masker, jas laboratorium, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, plastik wrap, gunting, kertas saring, rak dan tabung reaksi, labu ukur, batang pengaduk, corong kaca, neraca analitik (Optika), kertas perkamen, kertas aluminium, pipet volume, *bulb filler*, pipet tetes, tip, mikropipet, *Ultrasound bath* (BAKU BK-2000), *rotary evaporator* (BUCHI R-100), labu alas bulat, *laminar air flow*, GC-MS (Perkin Elmer Clarus), spektrofotometer UV-Vis (SHIMADZU UV-2600) dan kuvet.

3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth), pelarut etanol 96%, pelarut metanol pro analisis, akuades, etil asetat, HCl pekat, H₂SO₄ pekat, pereaksi *Mayer*, pereaksi *Wagner*, FeCl₃, asam asetat glasial 5%, serbuk DPPH, asam

galat, Na_2CO_3 , reagen *Folin-Ciocalteu*, reagen *lieberman-burchard*, AlCl_3 , kuersetin, dan baku kolesterol.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman merupakan proses membandingkan tumbuhan yang belum diketahui dengan tumbuhan lain yang sebelumnya sudah diketahui (dicocokkan atau disamakan) yang bertujuan untuk mengidentifikasi tumbuhan yang sedang diteliti (Widiastuti et al., 2021). Determinasi atau identifikasi tanaman sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.6.2 Preparasi Sampel Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth)

Preparasi sampel bahan tanaman untuk tujuan analisis melibatkan beberapa langkah yaitu pencucian awal untuk menghilangkan pengotor. Berikutnya dilakukan pengeringan untuk menghambat proses metabolisme tanaman secara alami dengan dianginkan di udara terbuka atau ruangan semi terbuka yang memiliki sirkulasi udara baik namun tidak terpapar matahari secara langsung. Kemudian dilakukan penggilingan sampel menjadi serbuk untuk memperkecil partikel dan memperluas permukaan simplisia dan dilanjutkan dengan pengayakan.

3.6.3 Pembuatan Ekstrak Etanol 96% dan Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth)

Ekstraksi dilakukan dengan melakukan perendaman campuran serbuk simplisia daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) dengan pelarut etanol 96% dan etil asetat. Perbandingan serbuk simplisia dan pelarut 1:10 g/mL (20 gram ekstrak dalam 200 L pelarut) dengan lama waktu ekstraksi 30 menit pada suhu 40°C dan frekuensi 40 kHz menggunakan ultrasound bath. Kemudian dilanjutkan dengan

penyaringan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat. Filtrat yang didapat dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga mendapatkan ekstrak kental (Buanasari et al., 2019).

3.6.4 Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol 96% dan Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth)

Rendemen didapatkan dengan membandingkan berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat simplisia sebagai bahan baku (Nahor et al., 2020). Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan bahwa ekstrak yang dihasilkan semakin besar. Perhitungan persentase rendemen didapatkan dengan rumus:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Jumlah ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Jumlah simplisia yang digunakan}} \times 100$$

3.6.5 Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% dan Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth)

Skrining fitokimia secara kualitatif dilakukan untuk mengidentifikasi kelas utama senyawa metabolit sekunder meliputi tanin, saponin, flavonoid, alkaloid, fenol, glikosida, steroid, dan terpenoid menggunakan protokol standar.

1. Uji fenolik

Ekstrak tanaman dilarutkan dalam 100 mL air dan disaring. Kemudian 2 mL filtrat ditambahkan 2 tetes FeCl_3 5%. Munculnya perubahan warna menjadi hijau tua, biru kehitaman atau hitam menunjukkan adanya fenolik (Nugraha et al., 2022).

2. Uji flavonoid

Sekitar 2-3 ml ekstrak ditambahkan serbuk Zn dilanjutkan dengan penambahan HCl pekat, kemudian diamati adanya warna merah atau merah keunguan yang menunjukkan adanya flavonoid (Basumatary, 2016).

3. Uji triterpenoid

Ekstrak sebanyak 1-2 mg dilarutkan dalam kloroform dan ditambahkan 1 mL asam sulfat pekat. Terbentuknya lapisan kuning mengindikasikan adanya senyawa triterpenoid (M & R, 2018).

4. Uji alkaloid

Sebanyak 4 mL ekstrak tanaman ditambahkan dengan pereaksi wagner. Terbentuknya endapan coklat menunjukkan adanya alkaloid (Sangkal et al., 2020).

5. Uji tannin

Sebanyak 1 mL ekstrak dilarutkan dalam 9 mL air suling dan ditambahkan dengan timbal asetat 1%. Adanya senyawa tanin diindikasikan dengan terbentuknya endapan putih (Safeena & Kalinga, 2020).

6. Uji saponin

Sekitar 0,5 g dilarutkan dengan 10 ml aquades kemudian dikocok kuat. Terbentuknya busa stabil selama 30 detik menunjukkan adanya saponin (Rizkita et al., 2021).

7. Uji Fitosterol

Sebanyak 1 mL ekstrak direaksikan dengan *pereaksi Lieberman-burchard* (asam asetat anhidrat dan asam sulfat). Adanya senyawa fitosterol diindikasikan dengan perubahan warna menjadi hijau atau hijau kebiruan (Novrianto et al., 2016).

3.6.6 Karakterisasi Senyawa dalam Ekstrak Etanol 96% dan Ekstrak Etil

Asetat Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth)

Karakterisasi senyawa dalam ekstrak etanol dan etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) dilakukan menggunakan analisis

GC-MS dengan derivatisasi. Pada penelitian ini metode yang digunakan mengacu pada (Hanwar et al., 2015) dengan tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi Sampel

Ditimbang 10 mg ekstrak lalu dilarutkan dalam DMSO p.a dan dilakukan replikasi sebanyak tiga kali.

2. Optimasi Suhu Kolom

Diprogram injektor dengan suhu 250° C, kolom dengan suhu 110°C selama 2 menit dan dinaikkan hingga suhu 280° C selama 9 menit.

3. Analisis Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth) menggunakan GC-MS

Analisis dilakukan menggunakan GC-MS Perkin Elmer Clarus dengan kolom kapiler Elite-5ms Capillary Column-30 m x 0,25 mm I.D. x 0.25 μ m. Gas helium digunakan sebagai fase gerak dengan laju alir 1 mL/menit. Sampel diinjeksikan pada suhu 250°C dengan split ratio 10:1. Suhu kolom diprogram secara bertahap dari 110°C hingga 280°C. Kondisi ionisasi diatur pada suhu 250°C untuk sumber ion dan 300°C untuk antarmuka. Spektrum massa yang dihasilkan kemudian dibandingkan dengan pustaka spektrum Willey untuk identifikasi senyawa.

3.6.7 Pengukuran Total Fenolik Ekstrak Etanol 96% dan Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth)

Kadar total fenolik ditentukan menggunakan metode *follin-Ciocalteu* secara spektrofotometri UV-Vis. Pada penelitian ini dilakukan metode yang dirujuk dari (D. Andriani & Murtisiwi, 2018) dengan tahap sebagai berikut:

1. Pembuatan Reagen

- Pembuatan Larutan Induk Asam Galat 0,05%

Dilakukan dengan melarutkan 50 mg asam galat dalam 100 mL air suling. Diawali dengan menimbang 50 mg asam galat dan dilarutkan dengan beberapa methanol pa hingga larut lalu dicukupkan dengan air suling hingga 100 mL.

- Pembuatan Larutan Na_2CO_3 7,5%

Ditimbang 7,5 g Na_2CO_3 kemudian ditambahkan dengan 80 mL air suling dan dipanaskan menggunakan *waterbath* hingga serbuk Na_2CO_3 larut sempurna. Diamkan larutan selama 24 jam, saring dan cukupkan volumenya dengan air suling hingga 100 mL.

2. Analisis Kadar Total Fenolik Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

- Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 300 μL larutan asam galat dengan konsentrasi 30 ppm diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan reagen *follin ciaocalteu* dan digojog lalu didiamkan selama 3 menit. Kemudian ditambahkan 1,2 mL larutan Na_2CO_3 7,5% dan homogenkan kemudian diamkan pada suhu kamar pada *range operating time*. Diukur absorbansinya pada rentang Panjang gelombang 600-850 nm.

- Pembuatan Kurva Baku Asam Galat

Kurva baku asam galat dibuat dengan diambil 300 μL larutan asam galat dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm ke dalam tabung reaksi. Kemudian setiap tabung reaksi ditambahkan 1,5 reagen *follin ciaocalteu* dan digojog lalu didiamkan selama 3 menit. Kemudian ditambahkan 1,2

mL larutan Na_2CO_3 7,5 % dan homogenkan kemudian diamkan pada suhu kamar pada *range operating time*. Diukur absorbansi semua larutan pada Panjang gelmnag maksimum lalu kurva kalibrasi dibuat dengan menghubungkan konsentrasi asam galat dengan absorbansinya.

- **Penetapan Kadar Total Fenolik**

Dibuat larutan sampel ekstrak dengan konsentrasi 1000 ppm dengan menimbang 10 mg ekstrak etanol dan etil asetat daun sembung rambat dan dilarutkan dengan campuran etanol:air suling (1:1) hingga volume 10 mL. larutan sampel yang didapat ditambahkan 1,5 reagen *follin-ciocalteu* dan digojog lalu didiamkan selama 3 menit. Kemudian ditambahkan 1,2 mL larutan Na_2CO_3 7,5 % dan homogenkan kemudian diamkan pada suhu kamar pada *range operating time*. Diukur absorbansi larutan sampel pada Panjang gelombang maksimum dan dilakukan pengulangan pengukuran sebanyak 3 kali.

3. Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan metode kurva standar. Dibuat persamaan garis lurus $y=bx+a$ berdasarkan data absorbansi (kekeruhan larutan) dan konsentrasi larutan standar asam galat. Selanjutnya dimasukkan nilai absorbansi ekstrak daun sembung rambat ke dalam persamaan garis lurus tersebut. Nilai x yang didapatkan dari persamaan ini menunjukkan jumlah asam galat yang setara dengan ekstrak daun sembung rambat, yang kita sebut sebagai kadar fenolik total.

3.6.8 Pengukuran Total Flavonoid Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth)

Kadar total flavonoid ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan reaksi AlCl_3 . Pada metode ini digunakan metode yang dirujuk dari (Suharyanto & Prima, 2020) dengan tahapan sebagai berikut:

1. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin 1000 ppm

Pembuatan larutan induk kuersetin dilakukan dengan menimbang sebanyak 10 mg baku standar kuersetin dan larutkan dengan sebagian metanol pa lalu cukupkan hingga tanda batas dengan metanol pa dalam labu ukur 10 mL.

2. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Mencampur 1,0 ml larutan kuersetin dengan etanol sampai pada volume 5 ml dalam labu tentukur kemudian dikocok dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya (Purnamasari et al., 2022).

3. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Pembuatan kurva baku kuersetin dilakukan dengan membuat seri konsentrasi 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm, 8 ppm, 9 ppm, 10 ppm, kemudian larutan baku induk dipipet 0,04 ml, 0,05 ml, 0,06 ml, 0,07 ml, 0,08 ml, 0,09 ml, 0,10 ml, masukkan ke dalam labu ukur lalu ditambahkan 3 mL etanol p.a, 0,2 AlCl_3 10 %, 0,2 mL kalium asetat p.a dan ditambahkan aquadest sampai 10 mL setelah itu diinkubasi selama 30 menit. sebelum pengukuran dilakukan terlebih dahulu optimasi Panjang gelombang pada rentang panjang gelombang 400-500 nm, setelah itu diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 428 nm. Selanjutnya membuat kurva larutan standar untuk mendapatkan persamaan regresi linier.

4. Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol dan Etil Asetat daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth)

Sebanyak 1 ml sampel ditambahkan dengan 1,5 ml etanol kemudian 2,8 ml aquades, 0,1 ml aluminium (III) klorida (AlCl_3) dan 0,1 ml kalium asetat. Melakukan inkubasi selama 30 menit dan mengukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang maksimum yang telah dioptimasi. Dilakukan 3 kali pengulangan pada pengukuran kadar total flavonoid sampel ekstrak.

5. Analisis Data

Pada penentuan kadar flavonoid maka menggunakan persamaan regresi dari kurva standar antara absorbansi dan konsentrasi larutan standar. Secara sistematis dapat dituliskan:

$$y = ax \pm b$$

Keterangan:

y = Nilai absorbansi

a = Perpotongan kurva garis lurus

b = Perpotongan kurva dengan kordinat

x = Konsentrasi ekstrak (mg/L)

Selanjutnya nilai absorbansi disubtitusikan ke dalam persamaan regresi sebagai (y) sehingga untuk menentukan kadar flavonoid pada sampel herbal dapat digunakan persamaan:

$$\text{Kadar Flavonoid} = \frac{C \times V \times Fp}{M}$$

Keterangan:

C = Konsentrasi (mg/L)

V = Volume larutan sampel (L)

F_p = Faktor pengenceran

M = Massa ekstrak (g)

3.6.9 Pengujian Antioksidan Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth)

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan metode DPPH. Pada penelitian ini dilakukan dengan metode yang dirujuk dari (Handayani et al., 2014) yang sedikit dimodifikasi dengan tahapan sebagai berikut:

1. Pembuatan Larutan DPPH 50 ppm

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 5 mg dilarutkan dengan etanol dan dicukupkan pada labu ukur 100 ml. Larutan yang dihasilkan disimpan di ruang gelap dan dilindungi dengan *aluminium foil*.

2. Pembuatan Larutan Kontrol Positif Asam Askorbat 1000 ppm

Larutan induk asam askorbat 1000 ppm dibuat dengan menimbang 10 mg serbuk asam askorbat dan dilarutkan serta dicukupkan dengan metanol pro analisis pada labu 10 mL dan homogenkan. Kemudian dilakukan pengenceran menjadi beberapa seri konsentrasi yaitu 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm. Tiap konsentrasi dipipet 1 mL ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan larutan DPPH 50 ppm dan methanol 3 mL. Lapis tabung reaksi dengan *aluminium foil* dan simpan dalam ruangan gelap selama 30 menit untuk inkubasi.

3. Pembuatan Larutan Sampel

Dibuat larutan stok 500 ppm dengan cara menimbang ekstrak etanol dan etil asetat daun sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth) sebanyak 5 mg dan dilarutkan dengan metanol absolut

sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm.

4. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Pengujian dilakukan dengan memipet 4 ml DPPH. Divortex dan diinkubasi pada suhu 37° C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 400-600 nm.

5. Pengukuran Daya Antioksidan Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth)

Pengujian dilakukan dengan memipet 0,5 ml larutan sampel dari berbagai konsentrasi (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm). Kemudian masing-masing ditambahkan 3,5 ml DPPH. Kemudian Divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruangan gelap selama 30 menit. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah dioptimasi.

6. Analisis Data

Daya hambat dinotasikan dengan % inhibisi (Maesaroh et al., 2018) dan dihitung dengan persamaan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \left(1 - \frac{As}{Ak} \right) \times 100$$

Keterangan:

Ak= Serapan kontrol

As= Serapan sampel

IC_{50} sediaan sampel terhadap larutan DPPH ditentukan dari persamaan regresi linier yang dihasilkan dari pengukuran variasi konsentrasi sampel terhadap larutan DPPH.

3.6.10 Pengujian Antikolesterol Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth)

Uji aktivitas antikolesterol dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan metode Zak. Pada penelitian ini dilakukan dengan metode yang dirujuk dari Rizki et al. (2021) yang sedikit dimodifikasi dengan tahapan sebagai berikut:

- 1. Pembuatan Larutan Induk kolesterol**

Larutan induk kolesterol dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm dengan cara menimbang 100 mg serbuk kolesterol yang dilarutkan dan dicukupkan menggunakan asam asetat glasial dalam labu ukur 100 mL.

- 2. Pembuatan Kontrol Negatif**

Kontrol negatif yang digunakan berupa 2 mL larutan kolesterol 500 ppm dalam asetat glasial ditambah dengan 3 mL FeCl₃ dan 2 mL H₂SO₄ pekat.

- 3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum**

Panjang gelombang maksimum dapat ditentukan dengan melakukan *scanning* Panjang gelombang larutan kolesterol dengan konsentrasi 500 ppm. Selanjutnya larutan direaksikan dengan FeCl₃ 3 mL dan 2 mL H₂SO₄ pekat. Selama waktu *operating time*, tabung ditutup dengan aluminium foil pada bagian luar karena sifat dari kolesterol yang tidak stabil terhadap cahaya. Larutan tersebut kemudian diukur pada Panjang gelombang 400-700 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

- 4. Uji Aktivitas Antikolesterol dari Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth)**

Pengujian antikolesterol dilakukan dengan membuat variasi pada konsentrasi ekstrak etanol dan etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) 20, 40, 60, 80, 100 ppm dari larutan sampel ekstrak konsentrasi 1000 ppm. Sampel disiapkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan kontrol positif berupa larutan standar kolesterol 500 ppm. Campuran ditambahkan asam sulfat pekat sebanyak 2 mL dan FeCl_3 3 mL. Larutan diinkubasi selama 15 menit di ruang kedap cahaya atau hingga terjadi perubahan warna menjadi merah. Larutan dibaca pada panjang gelombang maksimumnya dengan spektrofotometer UV-Vis.

Persentase kadar penurunan kolesterol dihitung menggunakan rumus berikut:

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

Keterangan:

A= % penurunan kolesterol

B= Absorbansi baku+sampel

C= Absorbansi kontrol (baku)

Nilai EC₅₀ dihitung dari kurva regresi linier antara konsentrasi larutan uji dari ekstrak etanol dan etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) dengan persentase kadar penurunan kolesterol (Lindawati & Ningsih, 2020). Rumus yang digunakan sebagai berikut:

$$y = bx + a$$

Keterangan:

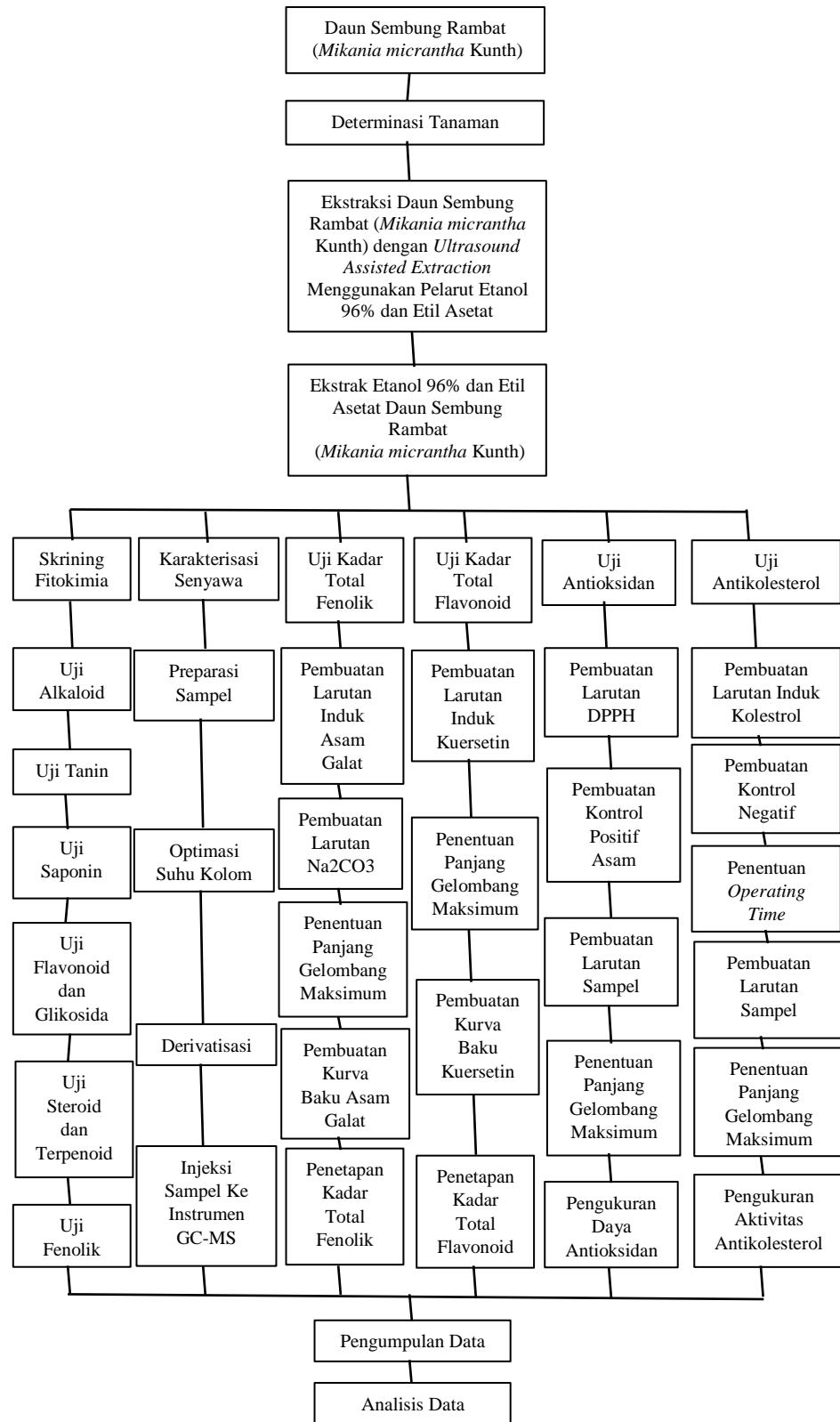
y= % penurunan kolesterol

x= konsentrasi sampel

a= intercept

b= slope/ harga kemiringan kurva

3.7 Alur Penelitian



Gambar 11. Alur Penelitian

3.8 Pengolahan dan Analisis Data

Analisis data secara deskriptif yang diperoleh dari pengamatan langsung berupa nilai absorbansi dari masing-masing konsentrasi selanjutnya diolah dalam bentuk tabel dan grafik menggunakan bantuan *tools* berupa *Microsoft excel* dan *SPSS (Statistical Packages for Social Science)*. Data konsentrasi kolesterol dari uji aktivitas antikolesterol kemudian dilakukan uji normalitas untuk melihat distribusi data dan dilakukan uji homogenitas data yang dilanjutkan dengan uji statistic analisis bivariat. Uji statistik *One Way ANOVA* digunakan jika data antikolesterol memiliki distribusi normal, dan uji statistik *Kruskal-Wallis* digunakan jika data tidak terdistribusi normal.

3.9 Etika Penelitian

Penelitian ini telah diajukan dan disetujui oleh bagian Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor persetujuan etik 5290/UN26.18/PP.05.02.00/2024.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol 96% dan etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) memiliki senyawa metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, fitosterol serta beberapa senyawa terpenoid seperti patchouli alkohol, caryophyllene, seychellene,dan alpha.-guaiene.
2. Kadar total fenolik dari ekstrak etanol 96% daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) sebanyak 127,07 mg GAE/g, sementara kadar total fenolik dari ekstrak etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) sebanyak 28,88 mg GAE/g.
3. Kadar total flavonoid dari ekstrak etanol 96% daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) sebanyak 48,69 mg QE/g, sementara kadar total flavonoid dari ekstrak etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) sebanyak 45,54 mg QE/g.
4. Aktivitas antioksidan yang dimiliki ekstrak etanol 96% daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) termasuk ke dalam kekuatan sedang dengan IC₅₀ sebesar 110,960 ppm, sementara untuk ekstrak etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sangat lemah dengan IC₅₀ sebesar 439,976 ppm.
5. Ekstrak etanol 96% daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) memiliki potensi antikolesterol dengan nilai EC₅₀ pada konsentrasi 311,228 ppm, sementara ekstrak etil asetat daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) memiliki potensi antikolesterol dengan nilai EC₅₀ pada konsentrasi 179,58 ppm.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, penulis menyarankan;

1. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut terkait aktivitas antikolesterol daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) dengan metode uji yang berbeda.
2. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut terkait daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) dengan metode ekstraksi yang berbeda.
3. Perlu dilakukannya fraksinasi dan isolasi senyawa metabolit sekunder untuk mendapatkan aktivitas antikolesterol yang lebih optimal.
4. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut terkait aktivitas biologis yang dimiliki daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) dengan metode uji yang berbeda

DAFTAR PUSTAKA

- A. Makuasa, D. A., & Ningsih, P. (2020). *The Analysis of Total Flavonoid Levels In Young Leaves and Old Soursop Leaves (Annona muricata L.) Using UV-Vis Sepctrofotometry Methods*. *Journal of Applied Science, Engineering, Technology, and Education*, 2(1), 11–17.
- Adhitama, S., Kuswanti, N., & Khaleyla, F. (2023). Pengaruh Ekstrak Daun Kedondong terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total dan Berat Badan Mencit Diabetes Melitus Tipe II. *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi*, 12(3), 354–362. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v12n3.p354-362>
- Agusman, I., Diharmi, A., & Sari, N. I. (2022). Identifikasi Senyawa Bioaktif pada Fraksi Ekstrak Rumput Laut Merah (*Euchema cottoni*). *Acta Aquatica*, 9(2), 60–64. <https://doi.org/10.29103/aa.v9i2.6164>
- Agustien, G. S., & Susanti. (2021). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Hasil Estraksi Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata*). *Prosiding Seminar Nasional Farmasi UAD 2021*, 41–47.
- Ahriani, Zelviani, S., Hernawati, & Fitriyanti. (2021). Analisis Nilai Absorbansi untuk menentukan Kadar Flavonoid Dau Jarak Merah (*Jatropha Gossypifolia L.*) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Jurnal Fisika Dan Terapannya*, 8(2), 56–64. <https://doi.org/10.24252/jft.v8i2.23379>
- Al-Rubaye, A. F., Hameed, I. H., & Kadhim, M. J. (2017). *A Review: Uses of Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Technique for Analysis of Bioactive Natural Compounds of Some Plants*. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, 9(01).
- Andriani, D., & Murtisiwi, L. (2018). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak

- Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea L.*) Dengan Spektrofotometri Uv Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 2(1), 32–38.
- Andriani, L., Perawati, S., Putri, N., & Hartesi, B. (2020). Aktivitas Koagulan dari Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth) Secara In Vitro. *Media Farmasi*, 17(1), 37–48.
- Araújo, L. B. D. C., Silva, S. L., Galvão, M. A. M., Ferreira, M. R. A., Araújo, E. L., Randau, K. P., & Soares, L. A. L. (2013). *Total Phytosterol Content in Drug Materials and Extracts from Roots of Acanthospermum hispidum by UV-VIS Spectrophotometry*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(5), 736–742. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013000500004>
- Awwaliah, M., Mukhriani, Asma, N., & Ikhlas Arsul, M. (2023). Korelasi Kadar Fenol dan Flavonoid terhadap Indeks Aktivitas Antioksidan Ekstrak Batang Vernonia amygdalina. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 5(5), 652–658.
- Azzahra, R. W., & Zuhrotun, A. (2022). *Review Article: Potential Anti-Cholesterol Plants Based on In-Vitro Studies*. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 2(2), 67–75. <https://jurnal.unpad.ac.id/ijbp>
- Bachtiar, A. R., HAndayani, S., & Ahmad, A. R. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Dengen (*Dillenia serrata*) Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Makassar Natural Product Journal*, 1(2), 2023–2086. <https://journal.farmasi.umi.ac.id/index.php/mnpj>
- Bahr, T., Butler, G., Rock, C., Welburn, K., Allred, K., & Rodriguez, D. (2021). *Cholesterol-lowering activity of natural mono- and sesquiterpenoid compounds in essential oils: A review and investigation of mechanisms using in silico protein–ligand docking*. *Phytotherapy Research*, 35(8), 1–31. <https://doi.org/10.1002/ptr.7083>
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., & Chang, C. M. (2022). *Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4). <https://doi.org/10.3390/molecules27041326>

- Banjarnahor, S. D. S., & Artanti, N. (2014). *Antioxidant Properties of Flavonoids. Medical Journal of Indonesia*, 23(4), 239–244.
- Basumatary, A. R. (2016). *Preliminary Phytochemical Screening of Some Compounds from Plant Stem Bark Extracts of Tabernaemontana divaricata Linn. Used by Bodo Community at Kokrajhar District, Assam, India. Scholars Research Library Archives of Applied Science Research*, 8(8), 47–52. <http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>
- Bras, A., Yakubu, I., Mohammed, H., Idowu, I., Jones, R., Gagnon, A. S., Owusu-Nimo, F., Huang, Y., Beckett, C. T. S., & Addo, I. A. (2024). *Bio-stabilising Earthen Houses With Tannins from Locally Available Resources. Case Studies in Construction Materials*, 20, e03182.
- Buanasari, Febrianto, Y., Cholifah, & Chakim, A. (2019). Potensi Metode *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) dalam Mengestrak Senyawa Aktif Dari Bahan Alam. *Jurnal Farmasi Dan Sains Indonesia*, 2(1), 106–111.
- Burke, R. W., Diamondstone, B. I., Velapoldi, R. A., & Menis, O. (1974). *Mechanisms of the Liebermann Burchard and Zak Color Reactions for Cholesterol*. *Clinical Chemistry*, 20(7), 794–801.
- Dabrovolski, S. A., Sukhorukov, V. N., Melnichenko, A. A., Khotina, V. A., & Orekhov, A. N. (2023). *Potential Application of the Plant-Derived Essential Oils for Atherosclerosis Treatment: Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential*. *Molecules*, 28(15). <https://doi.org/10.3390/molecules28155673>
- Dahham, S. S., Tabana, Y. M., Iqbal, M. A., Ahamed, M. B. K., Ezzat, M. O., Majid, A. S. A., & Majid, A. M. S. A. (2015). *The Anticancer, Antioxidant and Antimicrobial Properties of the Sesquiterpene β-Caryophyllene from the Essential Oil of Aquilaria crassna*. *Molecules*, 20(7), 11808–11829.
- Day, M. (2022). *Mikania micrantha (bitter vine)*. In *CABI Compendium: Vol. Species Pa* (Issue July). <https://doi.org/10.1079/pwkb.species.34095>
- de Lima, R. P., Nunes, P. I. G., Viana, A. F. S. C., de Oliveira, F. T. B., Silva, R. A. C., Alves, A. P. N. N., Viana, D. A., Fonseca, S. G. C., Carvalho, A. A.,

- Chaves, M. H., Rao, V. S., & Santos, F. A. (2021). *A,b-amyrin Prevents Steatosis and Insulin Resistance in a High-fat Diet-induced Mouse Model of NAFLD Via the AMPK-mTORC1-SREBP1 signaling mechanism*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 54(10), 1–9.
- de Melo, K. M., de Oliveira, F. T. B., Costa Silva, R. A., Gomes Quinderé, A. L., Marinho Filho, J. D. B., Araújo, A. J., Barros Pereira, E. D., Carvalho, A. A., Chaves, M. H., Rao, V. S., & Santos, F. A. (2019). *α , β -Amyrin, a Pentacyclic Triterpenoid from Protium heptaphyllum Suppresses Adipocyte Differentiation Accompanied by Down Regulation of PPAR γ and C/EBP α in 3T3-L1 Cells*. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 109(June 2018), 1860–1866. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.11.027>
- Endarini, L. H. (2016). Farmakognosi dan Fitokimia (Pertama). Pusdik SDM Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Ferreira, O. O., Franco, C. de J. P., Varela, E. L. P., Silva, S. G., Cascaes, M. M., Percário, S., de Oliveira, M. S., & Andrade, E. H. de A. (2021). *Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from Leaves of Two Specimens of Eugenia florida DC*. *Molecules*, 26(19), 1–12.
- Firsty, G. R., Sugihartini, N., & Mulyaningsih, S. (2023). *Effect of Ethanol Solvent Concentrations in Pepino Melon Fruit (*Solanum muricatum* Aiton) Extraction on Total Flavonoid, Phenolic, and Beta-carotene Content*. *Pharmaciana*, 13(2), 257. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v13i2.25226>
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). *Antioxidants : Classification , Natural Sources , Activity / Capacity*. *Materials*, 14(4135), 1–54. <https://doi.org/10.3390/ma14154135>
- Ginting, B., Sufriadi, E., Harnelly, E., Isnaini, N., Mulana, F., Suparto, I. H., Ilmiawati, A., Ernawati, E., Muhammad, S., Syakira, M., & Riski, C. D. (2023). *Identification of Volatile Compounds Contained in the Therapeutic Essential Oils from Pogostemon cablin, Melaleuca leucadendra, and Mentha piperita and Their Purified Fractions*. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 14(3), 208–212.

- Gulcin, I., & Alwasel, S. H. (2023). *DPPH Radical Scavenging Assay. Processes*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika*, 6(1), 177–180. <https://doi.org/10.33084/jsm.v6i1.1641>
- Handayani, V., Ahmad, A. R., & Sudir, M. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R . M . Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Pharm Sci Res*, 1(2), 86–93.
- Hanwar, D., Suhendi, A., Trisharyanti, I., Santoso, B., Safitri, M., & Haryoto. (2015). Analisis Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Lempuyang Emprit dengan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa. *University Resarch Colloquium*, 158–166.
- Harb, A. A., Bustanji, Y. K., & Abdalla, S. S. (2018). *Hypocholesterolemic Effect of β-caryophyllene in Rats Fed Cholesterol ang Fat Enriched Diet. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 62(3), 230–273.
- Hariyanti, Hanani, E., & Yoga Dayatri, D. (2019). *Phytochemical Identification and Antioxidant Activity of Essential oil of Pogostemon cablin Benth. cultivated in Java Island Indonesia. International Journal of Phytopharmacy*, 9(6), 1–7. <https://doi.org/10.7439/ijpp.v9i6.5297>
- Hotmian, E., Suoth, E., Fatimawali, & Tallei, T. (2021). Analisis GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) Ekstrak Metanol dari Umbi Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.). *Pharmacon*, 10(2), 849–856.
- Ibroham, M. H., Jamilatun, S., & Kumalasari, I. D. (2020). A Review: Potensi Tumbuhan-Tumbuhan di Indonesia Sebagai Antiosidan Alami. *Seminar Nasional Penelitian LPPM UMJ*. <http://jurnal.umj.ac.id/index.php/semnaslit>
- Inawati. (2014). Pengujian Antioksidan Ekstrak Daun Sambung Rambat (*Mikania cordata*) dengan Metode DPPH. *Ekologia*, 14(1), 21–26.
- Indriani, S., Isdaryanti, Agustia, M., Poleuleng, A. B., Syahra, N. J., & Prastiyo, Y. B. (2023). Analisis GC-MS (Gass Cromatography-Mass Spectrometr)

- Terhadap Batang Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jaq.). *Agroplantae*, 12(2), 147–155. [https://doi.org/https://doi.org/10.51978/agro.v12i2.527](https://doi.org/10.51978/agro.v12i2.527)
- Ishak, A. H., Shafie, N. H., Esa, N. M., & Bahari, H. (2016). Nutritional , *Phytochemical and Pharmacological Properties of Mikania Nutritional , Phytochemical and Pharmacological Properties of Mikania micrantha Kunth.* *Pertanika Journal of Scholarly Research Review*, 2(3), 123–132.
- Ishak, A. H., Shafie, N. H., Esa, N. M., Bahari, H., & Ismail, A. (2018). *From Weed to Medicinal plant: Antioxidant Capacities and Phytochemicals of Various Extracts of Mikania micrantha. International Journal of Agriculture and Biology*, 20(3), 561–568. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0522>
- Isnaini, N., Khairan, K., Faradhilla, M., Sufriadi, E., Prajaputra, V., Ginting, B., Muhammad, S., & Lufika, R. D. (2022). *A Study of Essential Oils from Patchouli (Pogostemon cablin Benth.) and Its Potential as an Antivirus Agent to Relieve Symptoms of COVID-19. Journal of Patchouli and Essential Oil Products*, 1(2), 27–35. <https://doi.org/10.24815/jpeop.v1i2.23763>
- Kamoda, A. P. M. D., Nindatu, M., Kusadhiani, I., Astuty, E., Rahawarin, H., & Asmin, E. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Alga Cokelat *saragassum* sp. dengan Metode 1,1- difenil-2-pikrihidrasil (dpph). *Patimura Medical Review*, 3(April), 60–72. <https://ojs3.unpatti.ac.id/index.php/pameri/index>
- Karisoh, M. R., Suryanto, E., & Koleangan, H. S. J. (2023). Aktivitas Antioksidan Dan Antikolesterol Dari Oleoresin Cangkang Biji Pala. *Chemistry Progress*, 16(1), 30–40. <https://doi.org/10.35799/cp.16.1.2023.46067>
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). *Genesis and Development of DPPH Method of Antioxidant Assay. Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412–422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
- Kumari, A. (2018). *Cholesterol Synthesis. In Sweet Biochemistry: Remembering Structures, Cycle, and Pathways by Mnemonics* (pp. 27–31). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814453-4.00007-8>
- Kumontoy, G. D., Deeng, D., & Mulianti, T. (2023). Pemanfaatan Tanaman Herbal

- Sebagai Obat Tradisional Untuk Kesehatan Masyarakat di Desa Guaan Kecamatan Mooat Kabupaten Bolaang Mongondow Timur. *Jurnal Holistik*, 16(3), 1–20.
- Lailatusholihah, I., Musa, W. J., Setyoko, L. P., Widiyanto, H., Bialangi, N., & Situmeang, B. (2023). *Cholesterol Lowering Activity from Methanol Extract of Bidara Leaves (Ziziphus mauritiana)*. *Stannum : Jurnal Sains Dan Terapan Kimia*, 5(1), 8–14. <https://doi.org/10.33019/jstk.v5i1.3847>
- Li, L. H., Dutkiewicz, E. P., Huang, Y. C., Zhou, H. B., & Hsu, C. C. (2019). *Analytical Methods for Cholesterol Quantification*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27(2), 375–386. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.09.001>
- Li, Y. P., Yuan, S. F., Cai, G. H., Wang, H., Wang, L., Yu, L., Ling, R., & Yun, J. (2014). *Patchouli Alcohol Dampens Lipopolysaccharide Induced Mastitis in Mice*. *Inflammation*, 37(5), 1757–1762. <https://doi.org/10.1007/s10753-014-9905-2>
- Lindawati, N. Y., & Ningsih, D. W. (2020). Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol Buah Kiwi Hijau (*Actinida deliciosa*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(2), 183–191. <https://doi.org/10.51352/jim.v6i2.344>
- M, S., & R, S. (2018). *Analytical Detection of Triterpenoids Present in the Hydroalcoholic Extract of Ipomoea Aquatica Forssk. in South India*. *International Journal of ChemTech Research*, 11(8), 274–282.
- Maesaroh, K., Kurnia, D., & Al Anshori, J. (2018). Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimica et Natura Acta*, 6(2), 93.
- Mardin, A. N., Natsir, H., & Dali, S. (2017). *Enzymatic Production of Chitosan from Waste of Rajungan Crab Shell and Its Application in Cholesterol Reduction by In Vitro Test*. *Indonesia Chimica Acta*, 10(1), 25–34.
- Majeed, A., Guleria, S., Sharma, N., Salaria, K. H., Aimani, F., Singh, B., & Gupta, V. K. (2023). *Antioxidant Capacity and Combinatorial Antimicrobial Effects of Nardostachys jatamansi Essential Oil with Conventional Antibiotics*

- Against Some Drug Resistant Bacteria. Current Research in Biotechnology*, 5, 100118. <https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2022.100118>
- Malau, J., Utami, Y. P., Idrus, I., Pakaya, M. S., Afriani, T., Sammulia, S. F., Septiani, D., Slamet, N. S., Khairuddin, S., Mierza, V., Ratnasari, D., Hardianti, B., Rachmayanti, A. S., & Hilmi, I. L. (2023). Farmasi Bahan Alam., *CV. Eureka Media Aksara* (Pertama). CV. Eureka Media Aksara. <http://www.nber.org/papers/w16019>
- Maramis, R. N., Mataheru, P. J., Wullur, A. C., & Rintjap, D. S. (2024). Kajian Penggunaan Cairan Penyari Terhadap Rendemen Hasil Ekstraksi Tanaman Pala (*Myristica fragrans* Houtt.). *Jurnal Poltekkes Manado*, 16(1), 1–7.
- Margareta, M. A. H., & Wonorahardjo, S. (2023). Optimasi Metode Penetapan Senyawa Eugenol dalam Minyak Cengkeh Menggunakan Gas Chromatography – Mass Spectrum dengan Variasi Suhu Injeksi. *Jurnal Sains Dan Edukasi Sains*, 6(2), 95–103. <https://doi.org/10.24246/juses.v6i2p95-103>
- Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono. (2005). *The phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of chemical compounds in ethanol extract of labu siam fruit (Sechium edule Jacq. Swartz.)*. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 3(1), 26–31.
- Molyneux P. (2004). *The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211–219.
- Mu'nisa. (2023). Antioksidan Pada Tanaman dan Peranannya terhadap Penyakit Degeneratif. In *Brilian Internasional Surabaya* (Pertama). Brilian Internasional Surabaya. website: www.brilianinternasional.com
- Mubarokah, A., Kurniawan, & Kusumaningtyas, N. M. (2023). Penetapan Kadar Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol 96%, Metanol 96%, Etil Asetat 96% Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K.Schum) Dengan Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Global Farmasi*, 1(1), 1–8.
- Nahata, A. (2013). *How do you remove taninns from aqueous extract?*

- https://www.researchgate.net/post/How_do_you_remove_tannins_from_aqueous_extracts2/5211cdebd11b8bd52758fadf/citation/download.
- Nahor, E. M., Rumagit, B. I., & Tou, H. Y. (2020). Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline futicosa* L.) Menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokhletasi. *Seminar Nasional Tahun 2020*, 40–44.
- Novrianto, M. A., Wibowo, M. A., & Ardiningsih, P. (2016). Karakterisasi Senyawa Fitosterol dari Ekstrak Daun Soma (*Ploiarium alternifolium* Melch) dengan Metode $^1\text{H-NMR}$. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 6(4), 69–74.
- Nugraha, A. T., Sumarlin, L. O., Muawanah, A., Amilia, N., & Wulandari, M. (2022). *The Total Phenolic, Total Flavonoid, and Brown Pigment in Honey Before and After Heating*. *Elkawnie: Journal of Islamic Science and Technology*, 8(1), 190. <https://doi.org/10.22373/ekw.v8i1.12757>
- Nugroho, A. (2017). Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam. In *Lambung Mangkurat University Press* (Pertama). Lambung Mangkurat University Press.
- Nur, S., Sami, F. J., Awaluddin, A., & Afsari, M. I. A. (2019). Korelasi Antara Kadar Total Flavonoid dan Fenolik dari Ekstrak dan Fraksi Daun Jati Putih (*Gmelina Arborea* Roxb.) Terhadap Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(1), 33–42. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i1.12034>
- Ocampo-Gutiérrez, A. Y., Hernández-Velázquez, V. M., Zamilpa, A., López-Arellano, M. E., Olmedo-Juárez, A., Higuera-Piedrahita, R. I., Delgado-Núñez, E. J., González-Cortázar, M., & Mendoza-de Gives, P. (2022). *Oxalis tetraphylla* (Class: Magnoliopsidae) Possess Flavonoid Phytoconstituents with Nematocidal Activity against *Haemonchus contortus*. *Pathogens*, 11(9), 1–15. <https://doi.org/10.3390/pathogens11091024>
- Perawati, S., Anggresani, L., Swinche, U. D., & Hartesi, B. (2020). Isolasi Senyawa Antibakteri dari Batang Sembung Rambat (*Mikania cordata* (Burm.fil.)). *Riset Informasi Kesehatan*, 9(1), 78. <https://doi.org/10.30644/rik.v9i1.388>
- Pérez, M., Dominguez-López, I., & Lamuela-Raventós, R. M. (2023). *The Chemistry Behind the Folin-Ciocalteu Method for the Estimation of*

- (*Poly)phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern.* *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(46), 17543–17553. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04022>
- Priwiratama, H. (2011). Informasi Organisme Pengganggu Tanaman. In *Informasi Organisme Pengganggu Tanaman: Vol. G* (Issue 0002, pp. 3–6). Pusat Peleitian Kelapa Sawit.
- Purnamasari, A., Zelviani, S., Sahara, & Fuadi, N. (2022). Analisis Nilai Absorbansi Kadar Flavonoid Tanaman Herbal Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Teknosains: Media Informasi Sains Dan Teknologi*, 16(1), 57–64. <https://doi.org/10.24252/teknosains.v16i1.24185>
- Putri, R., & Anggraini, D. I. (2022). *The Potency of Cucumber (Cucumis Sativus L.) Peel Extract As Anticholesterol.* *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, 8(1), 90–100. <https://doi.org/10.31603/pharmacy.v8i1.3493>
- Ramadhan, H., Rezky, D. P., & Susiani, E. F. (2021). Penetapan Kandungan Total Fenolik-Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterman). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8(1), 58–67. <https://doi.org/10.20473/jfiki.v8i12021.58-67>
- Rao, T. R., Harshita, S., & Lahari, K. L. (2024). *Gass Chroatography-Mass Spectroscopy: An Overview.* *European Journal Of Biomedical and Pharmaceutical Science*, 10(5), 83–89.
- Rizki, Na. I., Anggoro, A. B., & Sulistyowati, E. (2022). Uji Aktivitas Penurunan Kadar Kolesterol Fraksi Etil Asetat Dan Senyawa Kuersetin Hasil Kltp Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) In Vitro. *Media Farmasi Indonesia*, 17(2), 69–74. <https://doi.org/10.53359/mfi.v17i2.204>
- Rizkita, A. D., Dewi, S. A., Wibowo, E. A., & Maulana, I. (2021). Isolasi dan Identifikasi Saponin dari Ekstrak Leunca (*Solanum ningrum* L) Secara Spektrofotometri Infra Merah. *Jurnal Ilmiah Sains*, 21(2), 166–169.
- Safeena, M., & Kalinga, J. (2020). *Qualitative and quantitative screening of secondary metabolites in selected medicinal plants of Sri Lanka.* *Journal of*

- Medicinal Plants Studies*, 8(5), 94–100. www.plantsjournal.com
- Sahumena, M. H., Ruslin, Asriyanti, & Djuwarno, E. N. (2020). Identifikasi Jamu yang Beredar Di Kota Kendari Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 2(September), 65–72. <http://ejurnal.ung.ac.id/index.php/jsscr>
- Salim, S. A., Levita, J., Saptarini, N. M., & Saputri, F. A. (2020). Review Artikel: Kelebihan dan Keterbatasan Pereaksi Folinciocalteu dalam Penentuan Kadar Fenol Total Pada Tanaman. *Farmaka*, 18(1), 46–57.
- Sangkal, A., Ismail, R., & Marasabessy, N. S. (2020). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Bintaro (*Cerbera manghas* L.) Dengan Pelarut Etanol 70%, Aseton dan n-Hexan. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 4(1), 71–81. <https://doi.org/10.57214/jusika.v4i1.179>
- Sanjaya, Y. A., Tola, P. S., & Rahmawati, R. (2022). *Ultrasound-assisted Extraction as a Potential Method to Enhanced Extraction of Bioactive Compound*. 3rd International Conference Eco-Innovation in Science, Engineering, and Technology, 191–198.
- Santos, F. A., Frota, J. T., Arruda, B. R., De Melo, T. S., Da Silva, A. A. D. C. A., Brito, G. A. D. C., Chaves, M. H., & Rao, V. S. (2012). *Antihyperglycemic and Hypolipidemic Effects of α,β -amyrin, a Triterpenoid Mixture from *Protium heptaphyllum* in Mice. Lipids in Health and Disease*, 11, 1–8. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-98>
- Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). Antioksidan Alami dan Sintetik (Pertama). Andalas University Press.
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). *Measurement of Antioxidant Activity*. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). *Determination of Total Flavonoid Content by Aluminum Chloride Assay: A Critical Evaluation*. *LWT Food Science and Technology*, 150.
- Silva, F., Veiga, F., Cardoso, C., Dias, F., Cerqueira, F., Medeiros, R., & Cláudia

- Paiva-Santos, A. (2024). *A rapid and simplified DPPH assay for analysis of antioxidant interactions in binary combinations*. *Microchemical Journal*, 202(January). <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110801>
- Singh, S., & Agrawal, N. (2024). *Exploring the Pharmacological Potential and Bioactive Components of Pogostemon cablin* (Blanco) Benth, Traditional Chinese Medicine. *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*, 10(February). <https://doi.org/10.1016/j prmcm.2024.100382>
- Styawan, A. A., & Rohmanti, G. (2020). *Determination Of Flavonoid Levels Of Alcl3 Methode In The Extract Of Metanol Flowers* (*Clitoria ternatea L.*). *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, 6(2), 134–141.
- Suhartati, T. (2017). Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik. Aura CV. Anugrah Utama Raharja.
- Suharyanto, S., & Prima, D. A. N. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas L.*) yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 110–119. <https://doi.org/10.31596/cjp.v4i2.89>
- Summer, K., Browne, J., Hollanders, M., & Benkendorff, K. (2022). *Out of control: The need for Standardised Solvent Approaches and Data Reporting in Antibiofilm Assays Incorporating Dimethyl-sulfoxide (DMSO)*. *Biofilm*, 4(August), 100081. <https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2022.100081>
- Utama, R. D., & Indasah. (2021). Kolesterol Dan Penanganannya. In T. S. PRESS (Ed.), *Strada Press* (Pertama). STRADA PRESS.
- Victoria, F. N., Lenardão, E. J., Savegnago, L., Perin, G., Jacob, R. G., Alves, D., Silva, W. P. da, Motta, A. de S. da, & Nascente, P. da S. (2012). *Essential Oil of the Leaves of Eugenia uniflora L.: Antioxidant and Antimicrobial Properties*. *Food and Chemical Toxicology*, 50(8), 2668–2674.
- Warni, J., Marliah, A., & Erida, G. (2022). Uji Aktivitas Bioherbisida Ekstrak Etil Asetat Teki (*Cyperus rotundus L.*) Terhadap Pertumbuhan Gulma Bayam Duri

- (*Amaranthus spinosus* L.). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 7(2), 47–54.
- Widiastuti, W., Hendrayana, Y., & Karyaningsih, I. (2021). Keanekaragaman Jenis Tumbuhan Bawah Di Kawasan Bernilai Konservasi Tinggi Makam Eyang Dalem Cageur Kecamatan Darma Kabupaten Kuningan. *Seminar Nasional Konservasi Untuk Kesejahteraan Masyarakat II*, 2(2), 69–80.
- Wiranata, I. G., Malida, M., & Sasadara, V. (2022). Pengaruh Pelarut dan Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Metabolit SEkunder dan Nilai IC50 Ekstrak Umbi Bit (*Beta vulgaris* L.). *USADHA: Jurnal Integrasi Obat Tradisional*, 2(1), 7–13.
- Wuriana, Z. F., Lukiaty, B., & Sulasmi, E. S. (2019). Karakterisasi Fitokimia Ekstrak Metanol Ental dan Rhizoma *Pteris linearis* Poir. *Jurnal Ilmu Hayat*, 3(2), 64–71.
- Yunita, E., & Khodijah, Z. (2020). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Etanol Saat Maserasi Terhadap Kadar Kuersetin Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L .) Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(02), 273–280.