

**KARAKTERISASI SENYAWA, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN
ANTI-KOLESTEROL EKSTRAK ETANOL DAN ETIL ASETAT DAUN
RAMBUSA (*Passiflora foetida* L.) SECARA IN VITRO**

(Skripsi)

**Oleh:
Natalia Michelle Simatupang
(2118031044)**



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**KARAKTERISASI SENYAWA, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN
ANTI-KOLESTEROL EKSTRAK ETANOL DAN ETIL ASETAT DAUN
RAMBUSA (*Passiflora foetida* L.) SECARA IN VITRO**

Oleh

**Natalia Michelle Simatupang
(2118031044)**

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA FARMASI**

Pada

**Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung**



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

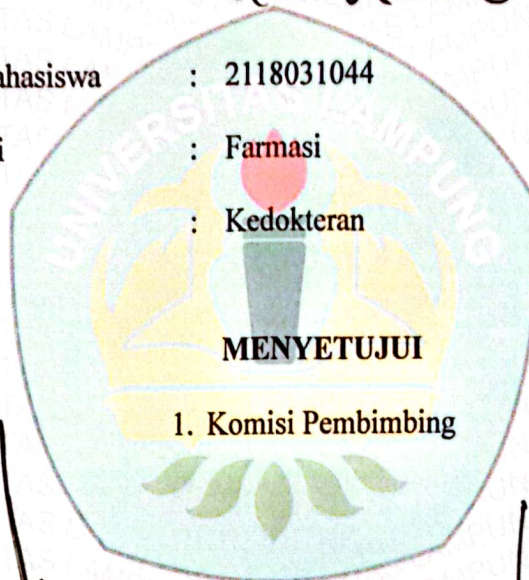
Judul Skripsi : KARAKTERISASI SENYAWA, Uji
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN
ANTI-KOLESTEROL EKSTRAK ETANOL
DAN ETIL ASETAT DAUN RAMBUSA
(*Passiflora foetida* L.) SECARA IN VITRO

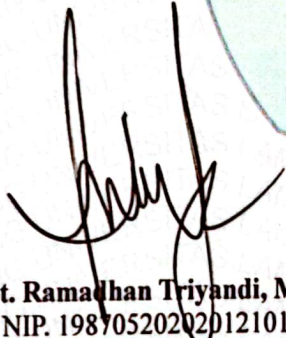
Nama Mahasiswa : Natalia Michelle Simatupang

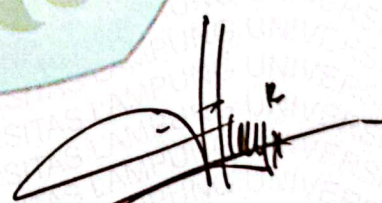
No. Pokok Mahasiswa : 2118031044

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran




apt. Ramadhan Triyandi, M.Si.
NIP. 198705202020121015


apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S.Farm.
NIP. 199405182022032019

2. Dekan Fakultas Kedokteran


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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : apt. Ramadhan Triyandi, M.Si.

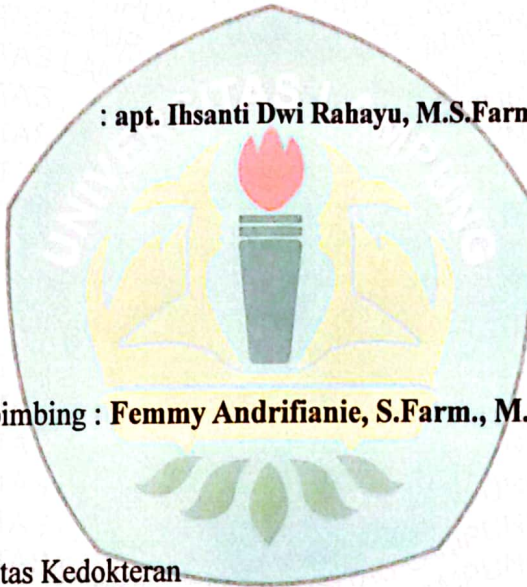


Sekretaris : apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S.Farm.



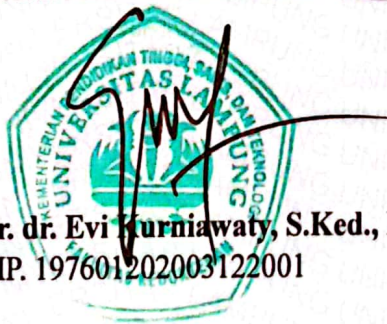
Penguji

Bukan Pembimbing : Femmy Andrifanie, S.Farm., M.Farm.



2. Dekan Fakultas Kedokteran

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



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 5 Juni 2025

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Natalia Michelle Simatupang
Nomor Pokok Mahasiswa : 2118031044
Tempat Tanggal Lahir : Bandar Lampung, 24 Desember 2002
Alamat : Jalan Mayjend Sutyoso, Rawa Laut, Tanjung
Karang Timur, Bandar Lampung.

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **"KARAKTERISASI SENYAWA, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN ANTIKOLESTEROL EKSTRAK ETANOL DAN ETIL ASETAT DAUN RAMBUSA (*Passiflora foetida* L.) 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.
2. 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, 5 Juni 2025

Pembuat Pernyataan



Natalia Michelle Simatupang

NPM. 2118031044

RIWAYAT HIDUP

Natalia Michelle Simatupang lahir di Bandar Lampung pada tanggal 24 Desember 2002 dari pasangan Bapak Eban Salvador dan Ibu Ida Yosephine Sitompul serta merupakan anak kedua dari dua bersaudara. Penulis memulai pendidikan formalnya di TK Fransiskus 2 Bandar Lampung pada tahun 2007 dan melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SD Fransiskus 2 Bandar Lampung pada tahun 2009 hingga 2015. Penulis melanjutkan pendidikan tingkat menengah pertama di SMP Xaverius 2 Bandar Lampung pada tahun 2015 hingga 2018. Pada tahun 2018, penulis kemudian melanjutkan pendidikan tingkat menengah atas di SMAN 2 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2021.

Penulis diterima menjadi mahasiswa Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada tahun 2021. 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 anggota Departemen Entrepreneurship and Partnership dan bergabung dalam PMPATD PAKIS Rescue Team sebagai anggota divisi Pendidikan dan Latihan.

Penulis merasa bersyukur telah diberikan kesempatan untuk menempuh pendidikan yang baik selama ini dan melalui proses yang panjang dan penuh tantangan hingga akhirnya penulis berhasil menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakterisasi Senyawa, Uji Aktivitas Antioksidan, dan Antikolesterol Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Rambusa (*Passiflora Foetida* L.) secara *In Vitro*”.

Yesaya 41:10

“Janganlah takut, sebab Aku menyertai engkau, janganlah bimbang, sebab Aku ini Allahmu; Aku akan meneguhkan, bahkan akan menolong engkau; Aku akan memegang engkau dengan tangan kanan-Ku yang membawa kemenangan.”

Kolose 3:23

“Apa pun juga yang kamu perbuat, perbuatlah dengan segenap hatimu seperti untuk Tuhan dan bukan untuk manusia.”

SANWACANA

Puji syukur penulis sampaikan kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah memberikan berkat dan karunia sehingga penulis diberikan kekuatan dan kelancaran untuk menjalankan perkuliahan, penelitian, dan penyusunan naskah skripsi dengan judul **“Karakterisasi Senyawa, Uji Aktivitas Antioksidan, dan Antikolesterol Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Rambusa (*Passiflora Foetida* L.) secara *In Vitro*”**.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bimbingan, masukan, bantuan, saran, kritik, dukungan, dan dorongan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked, M.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. dr. Rani Himayani, Sp.M., selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si., selaku pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan ilmu, bimbingan, arahan, motivasi, masukan, kritik, serta saran kepada penulis sejak penulisan proposal hingga penulisan skripsi ini selesai;
5. apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S.Farm., selaku pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan ilmu, bimbingan, arahan, motivasi, masukan, kritik, serta saran kepada penulis sejak penulisan proposal hingga penulisan skripsi ini selesai;

6. Femmy Andrifianie, S.Farm., M.Farm., selaku pembahas skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan masukan, saran, serta kritik mengenai skripsi ini;
7. apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc., selaku Pembimbing Akademik yang selalu memberikan ilmu, bimbingan, arahan, motivasi, masukan, kritik, serta saran kepada penulis selama masa pendidikan di Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
8. Purna Firdaus, S.Si., M.Si., selaku laboran Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian;
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. Bapak, Mama, dan Kakak penulis yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan, semangat, dan nasihat yang sangat berarti bagi penulis. Terima kasih selalu menyertai dan menyediakan apa yang dibutuhkan oleh penulis hingga saat ini;
12. Sahabat-sahabat Misi Kelulusan yaitu Pipit, Nova, Anna, Agaphe, Ratih, Alifia, Bela, Chintia, Agnes dan Dea yang telah memberikan motivasi, dukungan, dan bantuan kepada penulis dan telah menjadi sahabat terbaik selama perkuliahan;
13. Teman-teman penelitian di laboratorium, Pipit, Agaphe, Nova, Umniyah, Michelle, Reti, Ranesya, Oktiva, Meysha, Risma, Tsania, Ilyas, dan Fatiyah yang selalu memberikan bantuan dan dukungannya kepada penulis selama proses penelitian di laboratorium;
14. Teman-teman SMA, Shela, Miranti, Cinta, Nafila, Isna, dan Felisha yang senantiasa mendukung, membantu, menguatkan, dan memberikan semangat kepada penulis selama ini, terutama selama proses penelitian dan penulisan skripsi ini;
15. Teman-teman Farmasi Angkatan 2021 Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas semangat dan kebersamaannya selama perkuliahan.

16. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah mendukung serta membantu penulis baik secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan studi di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

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, 5 Juni 2025

Penulis

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'mclup' with a stylized flourish at the end.

Natalia Michelle Simatupang

ABSTRAK

KARAKTERISASI SENYAWA, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN ANTIKOLESTEROL EKSTRAK ETANOL DAN ETIL ASETAT DAUN RAMBUSA (*Passiflora foetida* L.) SECARA IN VITRO

Oleh

Natalia Michelle Simatupang

Latar Belakang: Hiperkolesterolemia merupakan faktor risiko utama penyakit kardiovaskular. Penanganan hiperkolesterolemia perlu dilakukan. Namun, obat hiperkolesterolemia seperti simvastatin dapat menimbulkan efek samping, sehingga diperlukan alternatif pengobatan, salah satunya daun rambusa (*Passiflora foetida* L.).

Tujuan: Mengetahui karakteristik senyawa metabolit sekunder, aktivitas antioksidan, dan aktivitas antikolesterol dari ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) secara *in vitro*.

Metode: Daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) diekstraksi dengan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* menggunakan pelarut etanol 96% dan etil asetat. Kemudian, dilakukan penapisan fitokimia, analisis GC-MS, uji fenolik total *Folin-Ciocalteu*, uji flavonoid total kolorimetri aluminium klorida, uji aktivitas antioksidan DPPH, dan uji antikolesterol *Zak*.

Hasil: Ekstrak etanol 96% dan etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) mengandung alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, dan terpenoid. Berdasarkan analisis GC-MS, senyawa yang paling dominan pada ekstrak etanol 96% antara lain patchouli alcohol, seychellene, azulene, alpha-guaiene, dan alpha-patchoulene, sedangkan ekstrak etil asetat antara lain patchouli alcohol, phytol, seychellene, octadecanal, dan cis-11-Hexadecenal. Ekstrak etil asetat memiliki kandungan fenolik dan flavonoid lebih tinggi. Namun, aktivitas antioksidan dan antikolesterol lebih baik ditunjukkan oleh ekstrak etanol ($IC_{50} = 257,53$ ppm; $EC_{50} = 288,18$ ppm) dibandingkan ekstrak etil asetat ($IC_{50} = 1306,68$ ppm; $EC_{50} = 553,23$ ppm).

Simpulan: Terdapat perbedaan aktivitas antikolesterol pada ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.).

Kata Kunci: antikolesterol, antioksidan, ekstrak, karakterisasi senyawa, *Passiflora foetida*.

ABSTRACT

KARAKTERISASI SENYAWA, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN ANTIKOLESTEROL EKSTRAK ETANOL DAN ETIL ASETAT DAUN RAMBUSA (*Passiflora foetida* L.) SECARA IN VITRO

By

Natalia Michelle Simatupang

Background: Hypercholesterolemia is a major risk factor for cardiovascular diseases. Management of hypercholesterolemia is essential; however, cholesterol-lowering drugs such as simvastatin may cause side effects. Therefore, alternative treatments derived from natural sources are needed, one of which is rambusa leaves (*Passiflora foetida* L.).

Objective: To determine the characteristics of secondary metabolites and to evaluate the anticholesterol and antioxidant activities of 96% ethanol and ethyl acetate extracts of rambusa leaves (*Passiflora foetida* L.) in vitro.

Methods: Rambusa leaves were extracted using the Ultrasound-Assisted Extraction method with 96% ethanol and ethyl acetate as solvents. Subsequently, phytochemical screening, GC-MS analysis, Folin-Ciocalteu total phenolic content assay, aluminum chloride colorimetric total flavonoid content assay, DPPH antioxidant activity assay, and Zak anti-cholesterol activity assay were conducted.

Results: Both extracts contained alkaloids, saponins, tannins, phenolics, flavonoids, and terpenoids. GC-MS analysis revealed that the predominant compounds in the ethanol extract were patchouli alcohol, seychellene, azulene, alpha-guaiene, and alpha-patchoulene. In the ethyl acetate extract, dominant compounds included patchouli alcohol, phytol, seychellene, octadecanal, and cis-11-hexadecenal. The ethyl acetate extract exhibited higher total phenolic and flavonoid content. However, the ethanol extract demonstrated superior antioxidant and anti-cholesterol activities ($IC_{50} = 257.53$ ppm; $EC_{50} = 288.18$ ppm) compared to the ethyl acetate extract ($IC_{50} = 1306.68$ ppm; $EC_{50} = 553.23$ ppm).

Conclusion: There is a difference in anticholesterol activity between the 96% ethanol and ethyl acetate extracts of rambusa leaves (*Passiflora foetida* L.).

Keywords: anticholesterol, antioxidant, extract, compounds characterization, *Passiflora foetida*.

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.3.1. Tujuan Umum	3
1.3.2. Tujuan Khusus	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
1.5. Batasan Penelitian.....	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 6
2.1. Rambusa (<i>Passiflora foetida</i> L.)	6
2.1.1. Taksonomi.....	6
2.1.2. Morfologi	7
2.1.3. Kandungan Senyawa.....	8
2.1.4. Aktivitas Biologis.....	8
2.2. Ekstraksi.....	9
2.2.1. Definisi.....	9
2.2.2. Metode <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>	10
2.2.3. Pemilihan Pelarut	11

2.3.	Senyawa Metabolit Sekunder	12
2.3.1.	Definisi.....	12
2.3.2.	Senyawa Fenolik	12
2.3.3.	Senyawa Flavonoid	15
2.4.	Metode Penetapan Kadar Fenolik Total Metode <i>Folin-Ciocalteu</i>	17
2.5.	Metode Penetapan Kadar Flavonoid Total Metode Klorimetri Aluminium Klorida	18
2.6.	Antioksidan	19
2.6.1.	Definisi.....	19
2.6.2.	Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH	20
2.7.	Kolesterol.....	21
2.8.	Lipoprotein.....	22
2.8.1.	Definisi.....	22
2.8.2.	Jenis-jenis Lipoprotein	23
2.9.	Hiperkolesterolemia	25
2.10.	Uji Aktivitas Antikolesterol Metode Zak	26
2.11.	Spektrofotometri UV-Vis.....	27
2.12.	GC-MS (<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>)	29
2.13.	Kerangka Teori	32
2.14.	Kerangka Konsep.....	33
BAB III	METODE PENELITIAN	34
3.1.	Desain Penelitian	34
3.2.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	34
3.2.1.	Tempat Penelitian.....	34
3.2.2.	Waktu Penelitian	35
3.3.	Identitas Variabel Penelitian	35
3.3.1.	Variabel Bebas	35
3.3.2.	Variabel Terikat	35
3.4.	Definisi Operasional	35
3.5.	Alat dan Bahan Penelitian.....	37
3.5.1.	Alat Penelitian.....	37
3.5.2.	Bahan Penelitian.....	37
3.6.	Prosedur Penelitian	38
3.6.1.	Uji Determinasi Tumbuhan Rambusa	38

3.6.2.	Preparasi Sampel Daun Rambusa	38
3.6.3.	Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Rambusa.....	39
3.6.4.	Pembuatan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa	39
3.6.5.	Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa	39
3.6.6.	Karakterisasi Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa dengan GC-MS.....	40
3.6.7.	Uji Fitokimia Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa.....	41
3.6.8.	Pengukuran Fenolik Total Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa	42
3.6.9.	Pengukuran Flavonoid Total Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa	45
3.6.10.	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa	47
3.6.11.	Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa.....	49
3.7.	Alur Penelitian	51
3.8.	Pengolahan dan Analisis Data	51
3.8.1.	Analisis Data Kadar Fenolik Total.....	51
3.8.2.	Analisis Data Kadar Flavonoid Total.....	52
3.8.3.	Analisis Data Aktivitas Antioksidan.....	53
3.8.4.	Analisis Data Aktivitas Antikolesterol.....	53
3.8.5.	Uji Statistik.....	54
3.9.	Etik Penelitian.....	55
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	56
4.1.	Hasil Penelitian	56
4.1.1.	Determinasi Tanaman	56
4.1.2.	Ekstraksi Daun Rambusa	56
4.1.3.	Uji Fitokimia Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa.....	57
4.1.4.	Karakterisasi Senyawa	57
4.1.5.	Kadar Fenolik Total	61
4.1.6.	Kadar Flavonoid Total	63
4.1.7.	Uji Aktivitas Antioksidan	64
4.1.8.	Uji Aktivitas Antikolesterol	68

4.1.1. Uji Statistik.....	72
4.2. Pembahasan.....	75
4.2.1. Ekstraksi Daun Rambusa	75
4.2.2. Uji Fitokimia Ekstrak Etanol 96% dan Etil Asetat Daun Rambusa	76
4.2.3. Karakterisasi Senyawa Ekstrak Etanol 96% dan Etil Asetat Daun Rambusa dengan GC-MS.....	81
4.2.4. Kadar Fenolik Total Estrak Etanol 96% dan Etil Asetat Daun Rambusa.....	83
4.2.5. Kadar Flavonoid Total Estrak Etanol 96% dan Etil Asetat Daun Rambusa.....	85
4.2.6. Aktivitas Antioksidan Estrak Etanol 96% dan Etil Asetat Daun Rambusa.....	87
4.2.7. Aktivitas Antikolesterol Estrak Etanol 96% dan Etil Asetat Daun Rambusa.....	90
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	94
5.1. Kesimpulan	94
5.2. Saran	95
DAFTAR PUSTAKA	96
LAMPIRAN.....	106

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Klasifikasi Aktivitas Antioksidan terhadap inhibitory concentration (IC_{50}).	21
Tabel 2. Klasifikasi Kolesterol	23
Tabel 3. Klasifikasi Kadar Kolesterol (mg/dL).	26
Tabel 4. Definisi Operasional	35
Tabel 5. Hasil Ekstraksi Daun Rambusa	56
Tabel 6. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol 96% dan Etil Asetat Daun Rambusa	57
Tabel 7. Hasil Karakterisasi Senyawa Ekstrak Etanol 96% Daun Rambusa dengan GC-MS	58
Tabel 8. Hasil Karakterisasi Senyawa Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa dengan GC-MS	59
Tabel 9. Hasil Pengukuran Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol 96% dan Etil Asetat Daun Rambusa	62
Tabel 10. Hasil Pengukuran Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 96% dan Etil Asetat Daun Rambusa.....	64
Tabel 11. Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat	65
Tabel 12. Nilai IC_{50} Ekstrak Etanol 96% Daun Rambusa	67
Tabel 13. Nilai IC_{50} Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa	68
Tabel 14. Aktivitas Antikolesterol Kontrol Positif Atorvastatin	69
Tabel 15. Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol 96% Daun Rambusa	71
Tabel 16. Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa	72
Tabel 17. Uji Normalitas Aktivitas Antikolesterol (EC_{50})	73
Tabel 18. Uji Homogenitas Aktivitas Antikolesterol (EC_{50}).....	74
Tabel 19. Uji one-Way Anova dengan transformasi Welch's	74
Tabel 20. Uji <i>Post Hoc Games-Howell</i>	75

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun Tumbuhan Rambusa (<i>Passiflora foetida</i> L.).....	6
Gambar 2. Representasi grafis dari kavitas gelembung yang runtuh dan melepaskan bahan tumbuhan.	10
Gambar 3. Alat Ultrasound Water Bath.	11
Gambar 4. Contoh Senyawa Fenolik.....	14
Gambar 5. Contoh Senyawa Flavonoid.....	15
Gambar 6. Mekanisme antioksidan flavonoid dengan mendonorkan atom hidrogen.....	16
Gambar 7. Mekanisme antioksidan flavonoid dengan mengkelat logam.....	16
Gambar 8. Ikatan kimia antara kolesterol dengan kuersetin.	16
Gambar 9. Reaksi redoks umum pada metode Folin-Ciocalteu.	17
Gambar 10. Diagram kemungkinan titik fokus pengikatan antara molekul quercetin dan $AlCl_3$	18
Gambar 11. Reaksi antara DPPH dan Antioksidan	20
Gambar 12. Struktur Lipoprotein	22
Gambar 13. . Reaksi Kolesterol dengan Reagen Metode Zak	27
Gambar 14. Spektrofotometer UV-Vis Double Beam.....	28
Gambar 15. Gas Chromatography Mass Spectrometry	29
Gambar 16. Kerangka Teori	32
Gambar 17. Kerangka Konsep.....	33
Gambar 18. Alur Penelitian.....	51
Gambar 19. Kurva Persamaan Regresi Linier Asam Galat	62
Gambar 20. Kurva Persamaan Regresi Linier Kuersetin	63
Gambar 21. Kurva Persamaan Regresi Linier Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat	65
Gambar 22. Kurva Persamaan Regresi Linier Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Rambusa.....	66
Gambar 23. Kurva Persamaan Regresi Linier Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa	68
Gambar 24. Aktivitas Antikolesterol Kontrol Positif Atorvastatin	69
Gambar 25. Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol 96% Daun Rambusa	70
Gambar 26. Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa	72
Gambar 27. Reaksi Alkaloid dengan Pereaksi Wagner.....	77
Gambar 28. Reaksi Hidrolisis Saponin dalam Air.	77
Gambar 29. Reaksi Pembentukan Warna Lieberman-Burchard	79
Gambar 30. Reaksi Pembentukan Kompleks Tanin dengan Ion Logam.....	79
Gambar 31. Reaksi Pembentukan Kompleks Fenolik dengan $FeCl_3$	80

Gambar 32. Reaksi Pembentukan Garam Flavilium	81
Gambar 33. Reaksi redoks umum pada metode Folin-Ciocalteu.	83
Gambar 34. Diagram kemungkinan titik fokus pengikatan antara molekul quercetin dan AlCl_3	85
Gambar 35. Reaksi antara DPPH dan Antioksidan	87
Gambar 36. Reaksi Kolesterol dengan Reagen Metode Zak.....	91

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kolesterol merupakan zat alamiah dengan sifat fisik serupa lemak tetapi mempunyai gugus steroid. Kolesterol berperan penting dan dibutuhkan oleh tubuh untuk membentuk membran sel, hormon steroid, dan garam empedu untuk mencerna makanan. Namun, kadar kolesterol yang berlebihan, terutama *low-density lipoprotein* (LDL) atau yang sering disebut sebagai kolesterol jahat, dapat memberikan dampak yang buruk bagi tubuh (Nurman dan Afifah, 2019).

Keadaan dimana kadar kolesterol dalam darah tinggi atau melebihi batas normal (>200 mg/dL) disebut dengan hiperkolesterolemia. Kondisi ini secara global memiliki prevalensi yang tinggi. Berdasarkan data World Health Organization (WHO) pada tahun 2018, terjadi peningkatan kolesterol total di kalangan orang dewasa sekitar 39%. Sementara itu, penderita hiperkolesterolemia di Indonesia terbilang cukup tinggi, yaitu mencapai 28% (Kemenkes RI, 2022). Hiperkolesterolemia dapat menjadi faktor risiko penyebab timbulnya berbagai macam penyakit seperti hipertensi, obesitas, *stroke*, dan penyakit jantung koroner. Oleh karena itu, penanganan hiperkolesterolemia menjadi sangat penting untuk mencegah terjadinya penyakit-penyakit tersebut (Prehanawan *et al.*, 2022).

Namun, obat-obatan yang digunakan dalam penanganan hiperkolesterolemia, seperti golongan statin, seringkali menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan, antara lain mual, kram abdomen, konstipasi, sakit kepala, nyeri

otot, hingga gangguan hati. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan agen terapi alternatif baru, misalnya pengobatan dari bahan alam, yang dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah dan berefek komplementer, tetapi memiliki efek samping yang kecil (Mahmudah *et al.*, 2024).

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai agen antikolesterol adalah tumbuhan rambusa (*Passiflora foetida* L.) yang dikenal masyarakat sebagai tumbuhan liar yang tumbuh di semak-semak dan dataran tinggi. Secara empiris, tumbuhan ini kerap kali digunakan untuk mengobati beberapa penyakit seperti radang sendi (rematik), sakit perut, diare, dan menurunkan gula darah. Tumbuhan liar ini juga dipercaya berkhasiat untuk pengobatan diabetes dengan menggunakan semua bagian tumbuhan yang dicuci bersih kemudian direbus untuk diminum airnya. Selain itu, daun dari tumbuhan rambusa juga digunakan sebagai terapi pasca bersalin dan menurunkan kolesterol dengan cara direbus (Wardhani dan Pardede, 2022).

Tumbuhan rambusa memiliki kandungan senyawa fitokimia utama meliputi alkaloid, fenol, glikosida, flavonoid, dan senyawa sianogenik yang dapat berfungsi sebagai antioksidan (Wardhani dan Pardede, 2022). Banyaknya metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antioksidan dalam daun rambusa, terutama polifenol dan flavonoid, menunjukkan potensi sebagai penurun kadar kolesterol karena senyawa-senyawa tersebut secara signifikan dapat meningkatkan *superoxide dismutase* (SOD) dan katalase serta menurunkan kadar lipid peroksidase sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol (Muqowwiyah dan Dewi, 2021; Tjong *et al.*, 2021).

Berdasarkan penelitian Mulyani (2019), ekstrak etanol 96% daun Rambusa (*Passiflora Foetida* L.) yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dapat menurunkan kadar kolesterol yang dibuktikan melalui uji *cholesterol enzymatic endpoint* dengan persentase penurunan kadar kolesterol pada ekstrak 0,5mg/ml sebesar $28\% \pm 29\%$, ekstrak 1mg/ml sebesar $46\% \pm 50\%$, dan ekstrak 1,5mg/ml sebesar $48,5\% \pm 50,4\%$ sehingga ekstrak daun rambusa

berpotensi sebagai antikolesterol. Namun, belum ada penelitian lebih lanjut mengenai karakterisasi senyawa dan uji antikolesterol ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) secara *in vitro*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi senyawa serta uji aktivitas antioksidan dan antikolesterol dari ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) secara *in vitro*.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

- a. Bagaimana profil kandungan dalam ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.)?
- b. Bagaimana kadar fenolik total dan flavonoid total dalam ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.)?
- c. Bagaimana aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.)?
- d. Bagaimana aktivitas antikolesterol dari ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.)?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Adapun tujuan umum dari penelitian ini yaitu untuk karakterisasi senyawa serta uji aktivitas antioksidan dan antikolesterol dari ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) secara *in vitro*.

1.3.2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui profil kandungan dalam ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.)
- b. Mengetahui kadar fenolik total flavonoid total dalam ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.)
- c. Mengetahui kadar aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.)

- d. Mengetahui aktivitas antikolesterol dari ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.)

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan wawasan peneliti mengenai karakterisasi senyawa dan uji antikolesterol ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) secara *in vitro*.

1.4.2. Bagi Peneliti Lain

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi untuk penelitian lanjutan dan dasar untuk mengembangkan pengobatan antikolesterol alami serta pengembangan antioksidan berbasis daun rambusa (*Passiflora foetida* L.).

1.4.3. Bagi Institut Terkait

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai referensi untuk studi lanjutan di Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

1.4.4. Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pemahaman masyarakat mengenai pemanfaatan daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) sebagai agen antioksidan serta antikolesterol penunjang alami yang lebih terjangkau.

1.5. Batasan Penelitian

Batasan penelitian ini bertujuan untuk mencegah pelebaran fokus penelitian sehingga lebih terarah dan tujuannya dapat tercapai. Adapun batasan penelitian ini antara lain:

- a. Karakterisasi senyawa dalam ekstrak etanol 96% dan etil asetat daun rambusa dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan instrumen GC-MS
- b. Metode pengujian kadar fenolik total ekstrak etanol 96% dan etil asetat daun dalam penelitian ini hanya menggunakan metode *folin-ciocalteu*
- c. Metode pengujian kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% dan etil asetat daun rambusa dalam penelitian ini hanya menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida
- d. Metode pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% dan etil asetat daun rambusa dalam penelitian ini hanya menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)
- e. Metode pengujian aktivitas antikolesterol ekstrak etanol 96% dan etil asetat daun rambusa dalam penelitian ini hanya menggunakan metode uji *in vitro* Zak

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Rambusa (*Passiflora foetida* L.)

2.1.1. Taksonomi

Tumbuhan rambusa (*Passiflora foetida* L.) memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Violales
Famili : Passifloraceae
Genus : Passiflora
Spesies : *Passiflora foetida* L.

(Patil *et al.*, 2015)



Gambar 1. Daun Tumbuhan Rambusa (*Passiflora foetida* L.) (Pandith *et al.*, 2022)

2.1.2. Morfologi

Tumbuhan rambusa (*Passiflora foetida* L.) merupakan salah satu spesies bunga markisa. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan liar yang merambat, tumbuh dengan cepat, serta menyebar dan umumnya tumbuh di area semak belukar, seperti di sawah yang mengering, kebun, tegalan, sekitar permukiman, tepi jalan, tepi hutan, serta area hutan yang terbuka dan terkena sinar matahari langsung (Karmila dan Nuryanti, 2021).

Tumbuhan ini memiliki daun berbentuk oval hingga obovat dengan tiga lobus dangkal, panjang 6-9 cm, pangkal daun berbentuk hati, ujung runcing, tepi bergelombang, dan berambut halus. Batangnya tipis dan dilapisi rambut kuning lengket. Batangnya memiliki panjang 1-6 meter, bercabang, tipis, lentur, serta dilapisi rambut kuning lengket dengan sulur. Bunga rambusa terdiri dari lima kelopak bunga berwarna putih dan lima kelopak daun pelindung berwarna putih (Patil *et al.*, 2015)

Terdapat tiga daun pelindung berbentuk menyirip yang memiliki struktur mirip rambut dengan ujung kelenjar di bagian bawah kelopak daun pelindung. Selain itu, terdapat empat lapisan korona yang terbagi menjadi lapisan korona luar dan lapisan korona dalam. Lapisan korona dalam yang berwarna merah muda lebih pendek dibandingkan dengan lapisan korona luar yang berwarna putih-merah muda. Buahnya berbentuk bulat berdiameter 2-3 cm, berwarna hijau saat mentah dan kuning-oranye hingga merah saat matang, serta terbungkus oleh selaput atau jaring-jaring. Biji tumbuhan ini berwarna hitam dan tertanam dalam daging buahnya (Asadujjaman *et al.*, 2014; Rubashiny dan Haron, 2015).

2.1.3. Kandungan Senyawa

Berbagai senyawa fitokimia terkandung dalam tumbuhan rambusa (*Passiflora foetida* L.), seperti fenol, karbohidrat, protein, fitosterol, senyawa fenolik, steroid, glikosida, gum, tanin, flavonoid (*pachypodol*, ermanin), senyawa sianogenik, dan alkaloid seperti alkaloid Harman dan β -karbolin. Buah mentah tumbuhan rambusa mengandung asam amino esensial, asam lemak tak jenuh, mineral, dan senyawa fenolik (Ning *et al.*, 2023). Sedangkan, biji rambusa mengandung asam dodekanoat, asam tetradekanoat, asam n-heksadekanoat, asam 9,12-oktadekanoat (Z, Z), asam oleat, asam stearat, asam palmitat, dan asam linolenat (Paulraj *et al.*, 2014).

2.1.4. Aktivitas Biologis

Tumbuhan rambusa (*Passiflora foetida* L.) merupakan spesies yang terkenal dalam genus *Passiflora* yang banyak diaplikasikan dalam etnobotani. Sebagai contoh, rebusan daun dan buah rambusa digunakan untuk mengobati asma, penyakit hati, serta digunakan dalam bentuk tapal atau *lotion* untuk *erysipelas* dan penyakit kulit dengan peradangan. Selain itu, penelitian yang dilakukan pada tumbuhan rambusa telah mengungkapkan bahwa ekstrak tumbuhan ini memiliki berbagai bioaktivitas yang menjanjikan, seperti antidiare, antiulkus, analgesik, antidepresan, antiinflamasi, antihipertensi, hepatoprotektif, antikanker, dan antibakteri. Demikian pula, beberapa senyawa bioaktif yang diisolasi dari tumbuhan rambusa, terutama flavonoid, menunjukkan aktivitas farmakologis penting, seperti luteolin dan *chrysoeriol* yang terbukti memiliki sifat antiinflamasi yang kuat (Chiavaroli *et al.*, 2020).

Berdasarkan penelitian Paulraj *et al.* (2014), daun rambusa memiliki efek menurunkan gula darah. Senyawa bioaktif yang teridentifikasi dalam ekstrak etanol biji rambusa (*Passiflora foetida* L) dilaporkan dapat menurunkan kadar glukosa darah ketika dikonsumsi. Penurunan

hiperglikemia postprandial dibuktikan melalui studi inhibisi α -glucoside dan α -amilase secara *in vitro* yang mendukung penggunaannya dalam pengelolaan diabetes tipe 2.

Secara *in vitro*, daun rambusa (*Passiflora foetida* L) yang diekstraksi dengan etanol 95% menunjukkan aktivitas antikolesterol. Berdasarkan penelitian Mulyani (2019), penurunan kadar kolesterol meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak etanol daun rambusa. Adapun persentase penurunan kadar kolesterol yang diperoleh yaitu kontrol positif (simvastatin) $22,5\% \pm 18,6\%$, ekstrak 0,5mg/ml sebesar $28\% \pm 29\%$, ekstrak 1mg/ml sebesar $46\% \pm 50\%$, Ekstrak 1,5mg/ml sebesar $48,5\% \pm 50,4\%$.

2.2. Ekstraksi

2.2.1. Definisi

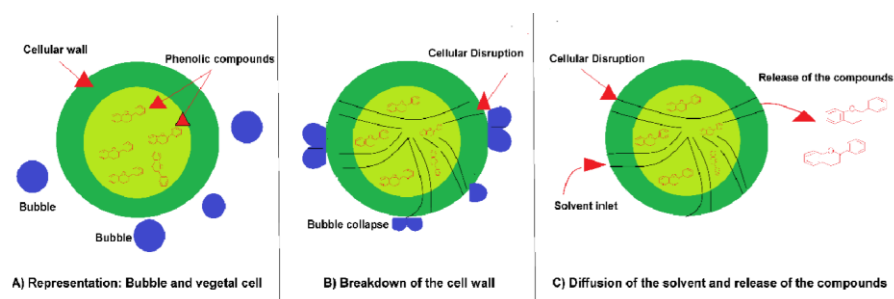
Ekstraksi tumbuhan adalah proses pemisahan bahan aktif tumbuhan atau metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, terpen, saponin, steroid, dan glikosida dari bahan yang tidak aktif atau tidak reaktif dengan menggunakan pelarut yang sesuai dan prosedur ekstraksi standar. Metode konvensional yang paling umum digunakan antara lain maserasi, perkolasi, infusi, dekoksi, dan ekstraksi panas kontinu (ekstraksi soxhlet). Selain itu, teknik ramah lingkungan terbaru seperti ekstraksi dengan *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE), *Microwave-Assisted Extraction* (MAE), *Supercritical Fluid Extractions* (SFE) dan *Accelerated Solvent Extraction* (ASE) juga telah sering digunakan (Abubakar dan Haque, 2020).

Proses ekstraksi dilakukan dengan berbagai jenis pelarut seperti air, etanol, metanol, aseton, eter, benzena, kloroform, dan lain-lain. Ekstraksi fitokimia dari bahan tumbuhan dipengaruhi oleh faktor pra-ekstraksi (bagian tumbuhan yang digunakan, asalnya, ukuran partikel,

kadar air, metode pengeringan, dan derajat pemrosesan) dan faktor terkait ekstraksi (metode ekstraksi yang digunakan, pelarut yang dipilih, rasio pelarut terhadap sampel, pH dan suhu pelarut, serta durasi ekstraksi) (Shaikh dan Patil, 2020).

2.2.2. Metode *Ultrasound-Assisted Extraction*

Metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) merupakan proses ekstraksi yang melibatkan penerapan energi suara pada frekuensi yang sangat tinggi (lebih dari 20 kHz) untuk merusak dinding sel tumbuhan dan meningkatkan luas permukaan bahan untuk penetrasi pelarut sehingga metabolit sekunder dapat keluar dari sel tumbuhan (Abubakar dan Haque, 2020).



Gambar 2. Representasi grafis dari kavitasi gelembung yang runtuh dan melepaskan bahan tumbuhan (Medina-Torres *et al.*, 2017).

Sebelum melakukan ekstraksi dengan UAE, bahan tumbuhan harus dikeringkan terlebih dahulu, digiling menjadi bubuk halus, dan disaring dengan baik. Sampel yang telah dipersiapkan kemudian dicampur dengan pelarut ekstraksi yang sesuai dan dimasukkan ke dalam ekstraktor ultrasonik. Energi suara yang tinggi mempercepat proses ekstraksi dengan mengurangi kebutuhan panas (Abubakar dan Haque, 2020).



Gambar 3. Alat Ultrasound Water Bath (Dzah *et al.*, 2020).

Metode ekstraksi dengan UAE merupakan metode yang efektif karena fenomena kavitasi yang terjadi saat gelombang ultrasonik melewati pelarut organik menghasilkan energi untuk meningkatkan pencampuran dan penetrasi pelarut ke dalam matriks sampel. Ekstraksi dengan metode UAE memberikan banyak keuntungan, seperti pengurangan penggunaan pelarut, suhu, dan waktu ekstraksi, yang sangat penting untuk ekstraksi senyawa yang termolabil dan tidak stabil. Selain itu, metode UAE dapat diterapkan pada sampel kecil serta memaksimalkan hasil (Lu *et al.*, 2017).

2.2.3. Pemilihan Pelarut

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi tumbuhan dikenal sebagai menstruum. Pilihan pelarut bergantung pada jenis tumbuhan, bagian tumbuhan yang akan diekstraksi, sifat senyawa bioaktif, dan ketersediaan pelarut. Secara umum, pelarut polar seperti air, metanol, dan etanol digunakan dalam ekstraksi senyawa polar, pelarut semipolar seperti etil asetat digunakan dalam ekstraksi senyawa semipolar, dan pelarut nonpolar seperti heksana dan diklorometana digunakan dalam ekstraksi senyawa nonpolar. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi diklasifikasikan menurut polaritasnya, dari n-heksana yang paling tidak polar hingga air yang paling polar (Abubakar dan Haque, 2020).

Terdapat beberapa hal yang harus diperhatikan dalam memilih pelarut, antara lain selektivitas (kemampuan pelarut yang dipilih

untuk mengekstraksi komponen aktif dan meninggalkan bahan yang tidak aktif), keamanan (pelarut ekstraksi yang ideal harus tidak beracun dan tidak mudah terbakar.), biaya (pelarut harus semurah mungkin), reaktivitas (pelarut ekstraksi yang sesuai tidak boleh bereaksi dengan ekstrak), *recovery* atau pemulihan (pelarut ekstraksi harus cepat dipulihkan dan dipisahkan dari ekstrak), viskositas (harus memiliki viskositas rendah untuk memungkinkan penetrasi yang mudah), dan suhu didih (suhu didih pelarut harus serendah mungkin untuk mencegah degradasi oleh panas) (Abubakar dan Haque, 2020; Pandey dan Tripathi, 2014).

2.3. Senyawa Metabolit Sekunder

2.3.1. Definisi

Metabolit sekunder adalah senyawa yang dihasilkan dari proses metabolisme sekunder pada tumbuhan yang umumnya penting untuk fungsi perlindungan dan pertahanan diri sel tumbuhan yang disebabkan oleh ketidakseimbangan ekologi atau infeksi berbahaya. Metabolit sekunder ini sangat spesifik dan ditemukan dalam jumlah besar di berbagai kelompok tumbuhan. Kombinasi beragam metabolit sekunder tumbuhan menghasilkan ciri kimia unik di antara kelas spesies tumbuhan yang memainkan peran penting bagi peneliti taksonomi untuk mengklasifikasikan taksonomi spesies tumbuhan. Fitokimia atau metabolit sekunder yang berasal dari tumbuhan dapat diklasifikasikan lebih lanjut menjadi berbagai jenis senyawa alami berdasarkan struktur kimia spesifiknya di alam. Klasifikasi metabolit sekunder yang paling penting mencakup alkaloid, glikosida, flavonoid, terpenoid, fenolik, dan saponin (Velu *et al.*, 2018).

2.3.2. Senyawa Fenolik

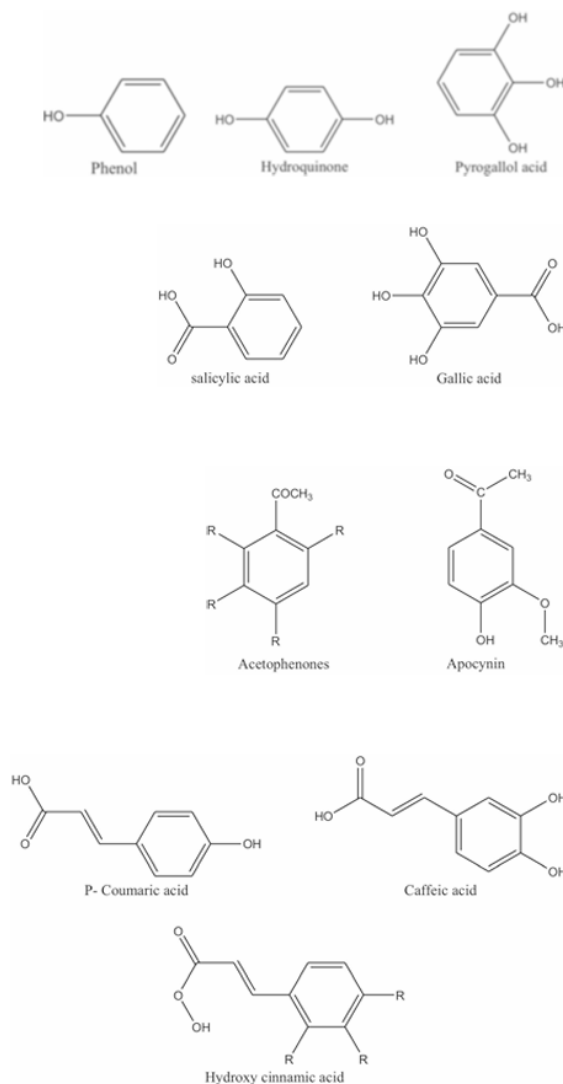
Senyawa fenolik adalah metabolit sekunder yang mengandung gugus fenol yaitu gugus fungsional hidroksil pada cincin aromatik. Senyawa

fenolik tumbuhan merupakan senyawa kimia yang heterogen; sebagian larut dalam pelarut organik, sebagian lainnya larut dalam air, dan ada juga yang berbentuk polimer yang tidak larut. Senyawa fenolik tersebar luas di tumbuhan berpembuluh dan memiliki fungsi yang berbeda-beda. Turunan senyawa fenolik meliputi fenil propanoid sederhana, turunan asam benzoat, antosianin, isoflavon, tanin, lignin, dan senyawa flavonoid yang dimulai dari fenilalanin. Lignin umumnya terbentuk dari tiga alkohol fenil propanoid yang berbeda, yaitu koniferil, kumaril, dan sinapil (Anulika *et al.*, 2016).

Senyawa fenolik dapat diklasifikasikan berdasarkan beberapa hal antara lain (Velu *et al.*, 2018)

- a. Berdasarkan jumlah gugus fungsional hidroksil, senyawa fenolik diklasifikasikan sebagai fenol 1-, 2-, 3-, dan poliatomik. Polifenol adalah senyawa fenolik yang mengandung lebih dari satu gugus hidroksil dalam senyawa aromatik.
- b. Berdasarkan konfigurasi kimia, senyawa fenolik diklasifikasikan sebagai mono-, di-, tri-, oligo, dan polifenol.
- c. Berdasarkan substitusi pada kerangka karbon, jumlah atom karbon yang tersedia, dan cincin aromatik dalam rantai samping, senyawa fenolik dibagi menjadi empat kelas utama yaitu senyawa fenolik dengan satu cincin aromatik, senyawa fenolik dengan dua cincin aromatik, polimer, dan kuinon.

Senyawa fenolik disintesis dalam sel tumbuhan melalui jalur asam shikimat atau jalur malonat/asetat (atau keduanya, seperti pada flavonoid). Jalur asam shikimat menghasilkan sintesis fenilalanin dan asam sinamat serta turunannya (fenol sederhana, asam fenolik, kumarin, lignan, dan turunan fenil propana). Jalur poliasetat menghasilkan kuinon dan *xanthone*. Jalur campuran menggabungkan prekursor dari jalur asam shikimat dan jalur poliasetat, seperti yang terjadi pada flavonoid (Mera *et al.*, 2019)

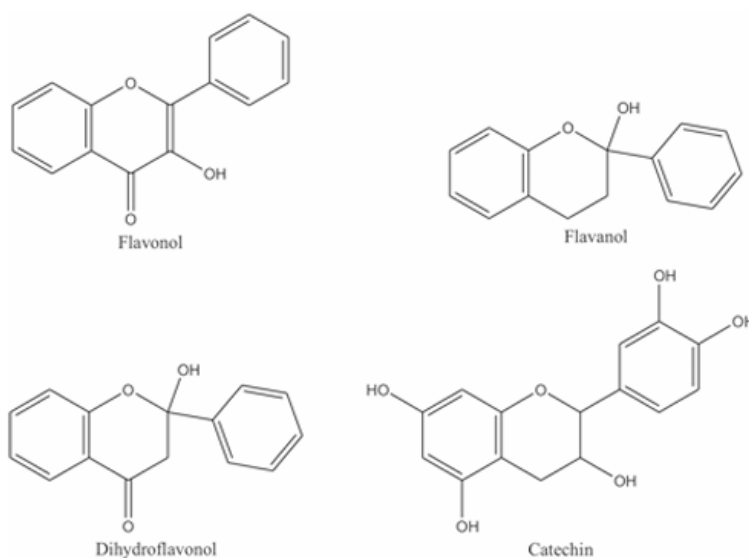


Gambar 4. Contoh Senyawa Fenolik (Velu *et al.*, 2014)

Senyawa fenolik merupakan salah satu metabolit sekunder yang memiliki sifat antioksidan yang berkaitan erat dengan kemampuannya untuk mendonorkan elektron atau atom hidrogen kepada radikal bebas. Senyawa fenolik juga dapat mengkelat ion logam transisi yang berperan dalam pembentukan radikal bebas (Irsal *et al.*, 2023). Golongan senyawa fenolik seperti α -tokoferol, *hydroxytyrosol*, *caffeic acid*, dan asam galat berperan sebagai pendonor H sedangkan kaempferol dan resveratrol merupakan contoh dari pendonor elektron (Sedjati *et al.*, 2018).

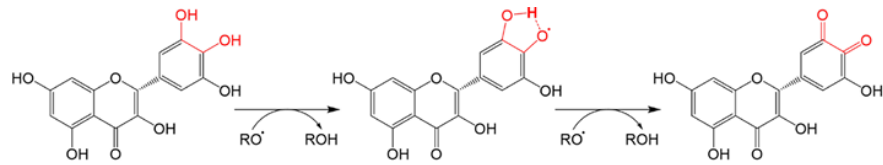
2.3.3. Senyawa Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenolik tumbuhan yang terbesar. Struktur dasarnya mengandung 15 karbon yang tersusun dalam dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh jembatan tiga karbon (Anulika *et al.*, 2016). Flavonoid biasanya merupakan senyawa yang larut dalam air dan diklasifikasikan menjadi flavon, flavonol, dan antosianin. Sebagian besar flavonoid memiliki sifat antioksidan yang sangat baik, serta aplikasi terapeutik penting lainnya termasuk antikanker, antialergi, dan antivirus (Irsal *et al.*, 2023).

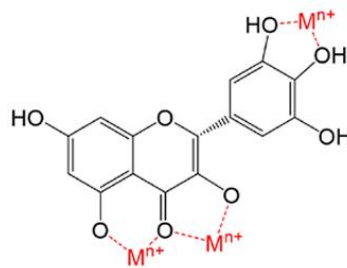


Gambar 5. Contoh Senyawa Flavonoid (Velu *et al.*, 2014).

Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Kadar flavonoid total berkorelasi positif dengan tingkat aktivitas antioksidan yang mengindikasikan semakin tinggi kandungan flavonoid, semakin besar pula kemampuan antioksidannya. Aktivitas antioksidan flavonoid terjadi melalui mekanisme mendonorkan atom hidrogen dan mengkelat logam (Irsal *et al.*, 2023).

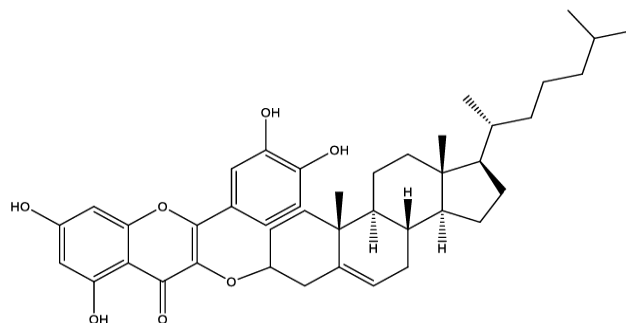


Gambar 6. Mekanisme antioksidan flavonoid dengan mendonorkan atom hidrogen (Grijalva-Guiza *et al.*, 2023).



Gambar 7. Mekanisme antioksidan flavonoid dengan mengkelat logam (Grijalva-Guiza *et al.*, 2023).

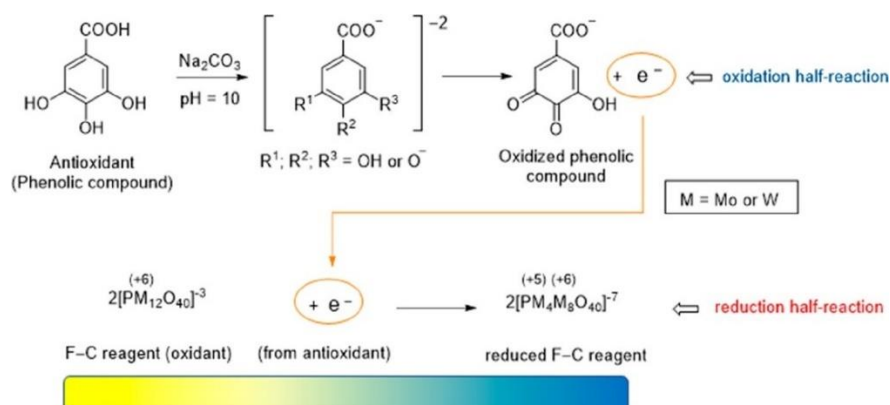
Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang efektif dalam menurunkan kadar kolesterol. Berdasarkan uji aktivitas antikolesterol secara *in vitro* dengan metode *Lieberman-Burchard*, flavonoid dapat menurunkan kadar kolesterol bebas karena gugus hidroksil pada kolesterol bereaksi dengan gugus karbonil pada flavonoid membentuk ikatan hidrogen (Lailatusholihah *et al.*, 2023).



Gambar 8. Ikatan kimia antara kolesterol dengan kuersetin (andriani dan Anggraini, 2023).

2.4. Metode Penetapan Kadar Fenolik Total Metode *Folin-Ciocalteu*

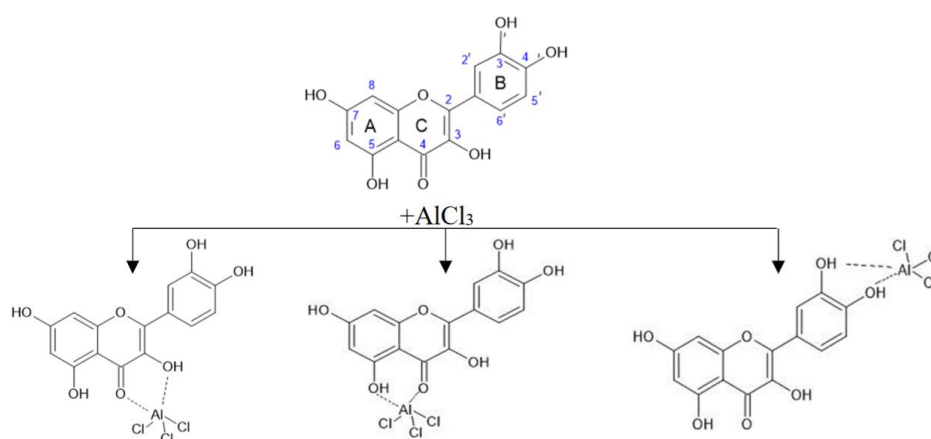
Metode *Folin-Ciocalteu* merupakan metode kuantifikasi fenolik total yang didasarkan pada reaksi transfer elektron dengan senyawa antioksidan fenolik bertindak sebagai donor elektron dan reagen *Folin-Ciocalteu* bertindak sebagai oksidan. Reagen *Folin-Ciocalteu* adalah campuran asam fosfotungstat dan asam fosfomolibdat. Reduksi turunan anionik dari asam fosfotungstat dan fosfomolibdat oleh antioksidan menyebabkan perubahan warna dari kuning menjadi biru, dan besarnya perubahan warna ketika reaksi selesai secara langsung sebanding dengan aktivitas reduksi senyawa fenolik. Kapasitas reduksi antioksidan sering diukur sebagai ekuivalen asam galat (GAE). Secara lebih rinci, transfer elektron dari senyawa fenolik ke kompleks asam fosfomolibdat/fosfotungstat dalam larutan basa menghasilkan kompleks biru yang terdeteksi secara spektroskopi pada panjang gelombang sekitar 760 nm. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen *Folin-Ciocalteu* hanya dalam kondisi basa (pH 10 yang disesuaikan dengan larutan natrium karbonat) (Pérez *et al.*, 2023).



Gambar 9. Reaksi redoks umum pada metode *Folin-Ciocalteu* (Pérez *et al.*, 2023).

2.5. Metode Penetapan Kadar Flavonoid Total Metode Klorimetri Aluminium Klorida

Kandungan flavonoid total dalam tanaman biasanya ditentukan secara kolorimetri setelah diekstraksi dengan pelarut. Metode yang banyak digunakan untuk menentukan flavonoid total dalam ekstrak tanaman adalah uji kolorimetri aluminium klorida, di mana Al(III) digunakan sebagai agen pengompleks. Metode ini didasarkan pada pembentukan khelat antara Al(III) dan flavonoid. Karena memiliki banyak gugus okso dan hidroksil, flavonoid memiliki afinitas yang tinggi untuk berikatan dengan ion logam seperti Al(III), umumnya dalam rasio 1:1, tergantung pada kondisi percobaan termasuk nilai pH (Shraim *et al.*, 2021).



Gambar 10. Diagram kemungkinan titik fokus pengikatan antara molekul quercetin dan AlCl₃ (Kukhtenko *et al.*, 2024).

Reaksi kompleksasi flavonoid dengan AlCl₃ dapat memiliki beberapa pusat reaksi yang lokasinya ditentukan oleh keberadaan gugus hidroksil dan karbonil di posisi C-4 pada cincin C. Gugus 3-OH dan C=O (lokasi 3-4) atau gugus 5-OH dan C=O (lokasi 5-4) atau pasangan gugus 3'-OH dan 4'-OH pada cincin B (lokasi 3'-4') dapat berperan dalam pengikatan ion logam. Kemungkinan substitusi simultan sepanjang cincin A dan B menyebabkan pergeseran batokromik pita dan peningkatan intensitas penyerapan. Selain

itu, terjadi efek hiperkromik atau peningkatan intensitas larutan standar rutin menghasilkan warna yang lebih kuning (Kukhtenko *et al.*, 2024).

2.6. Antioksidan

2.6.1. Definisi

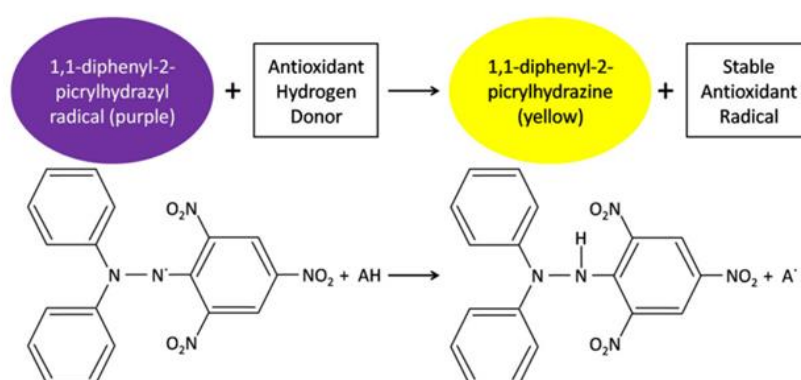
Antioksidan adalah molekul yang mampu menghambat oksidasi molekul lain. Antioksidan memutus rantai reaksi radikal bebas dengan mendonorkan elektronnya sendiri untuk menstabilkan radikal bebas, tanpa berubah menjadi radikal bebas itu sendiri. Berdasarkan aktivitasnya, antioksidan dapat dikategorikan menjadi antioksidan enzimatik dan non-enzimatik (Gupta, 2015)

Antioksidan enzimatik adalah mekanisme alami tubuh untuk melindungi sel-sel dari serangan *reactive oxygen species* (ROS). Antioksidan enzimatik bekerja dengan memecah dan menghilangkan radikal bebas. Enzim antioksidan mengubah produk oksidatif yang berbahaya menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) kemudian menjadi air melalui proses bertahap dengan bantuan kofaktor seperti tembaga, seng, mangan, dan besi. Enzim antioksidan penting dalam pencegahan peroksidasi lipid serta menjaga struktur dan fungsi membran sel. Contoh antioksidan enzimatik yaitu CAT, GSHPx, SOD, dan peroxiredoxin I–IV (Nimse dan Pal, 2015).

Antioksidan non-enzimatik bekerja dengan menghentikan rantai reaksi radikal bebas. Berdasarkan asalnya, antioksidan nonenzimatik dibagi menjadi antioksidan natural atau alami dan antioksidan sintesis. Beberapa senyawa antioksidan alami yang terdapat dalam buah-buahan dan sayur-sayuran meliputi asam askorbat, α -tokoferol, asam fenolik, kumarin, lignan, flavonoid, isoflavonoid, dan polimer fenolik (tanin) (Gupta, 2015).

2.6.2. Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) adalah radikal yang stabil karena stabilisasi melalui delokalisasi pada cincin aromatik. DPPH dapat menangkap radikal lain dengan mudah tetapi tidak berpasangan menjadi dimer. Pita serapan yang kuat DPPH berada di sekitar 515 nm sehingga larutan radikal DPPH berbentuk ungu tua dan berubah menjadi tidak berwarna hingga kuning pucat ketika direduksi setelah bereaksi dengan donor hidrogen (Gupta, 2015).



Gambar 11. Reaksi antara DPPH dan Antioksidan (Hastak *et al.*, 2018).

Uji antioksidan DPPH dapat diterapkan untuk memperkirakan aktivitas antiradikal dari makanan fungsional seperti ekstrak herbal serta senyawa murni alami atau sintetis karena stabilitasnya tinggi, prosesnya mudah, dan biayanya yang rendah. Metode DPPH melibatkan penambahan antioksidan potensial ke dalam larutan DPPH. Dalam reaksi ini, elektron valensi tidak berpasangan dari atom nitrogen pada radikal DPPH direduksi oleh atom hidrogen dari molekul antioksidan. Akibatnya, terbentuklah hidrazin DPPH-H. Persentase radikal DPPH yang dinetralkan dapat dianalisis menggunakan pengukuran spektrofotometri, yaitu melalui penurunan absorbansi pada panjang gelombang sekitar 515–520 nm. Aktivitas antioksidan suatu senyawa dinyatakan sebagai jumlah antioksidan

dalam larutan yang diperlukan untuk mengurangi konsentrasi awal radikal bebas DPPH sebesar 50% (Parcheta *et al.*, 2021).

Tabel 1. Klasifikasi Aktivitas Antioksidan terhadap inhibitory concentration (IC₅₀) (Rahman *et al.*, 2023).

<i>Inhibitory concentration (IC₅₀) (ppm)</i>	Klasifikasi aktivitas antioksidan
<50	sangat kuat
50-100	kuat
100-150	sedang
150-200	lemah
>200	sangat lemah

2.7. Kolesterol

Kolesterol merupakan zat alamiah derivat lipid dengan sifat fisik serupa lemak tetapi mempunyai gugus steroida. Sebagian besar kolesterol dalam tubuh diproduksi oleh tubuh itu sendiri. Kolesterol disintesis oleh hati, kelenjar adrenal, organ reproduksi, dan usus. Kolesterol memainkan peran penting dalam banyak proses biokimia di tubuh manusia. Kolesterol merupakan komponen struktural esensial dari membran sel hewan, asam empedu, hormon steroid adrenal dan gonad, serta vitamin D (Helvaci *et al.*, 2021). Kolesterol juga dapat diperoleh dari luar tubuh yaitu melalui makanan hewani seperti daging, unggas, ikan, susu, dan margarin (Muqowwiyah dan Dewi, 2021). Kolesterol dibutuhkan oleh tubuh untuk membentuk dinding sel, membentuk hormon steroid, dan membentuk garam empedu untuk mencerna makanan (Nurman dan Afifah, 2019).

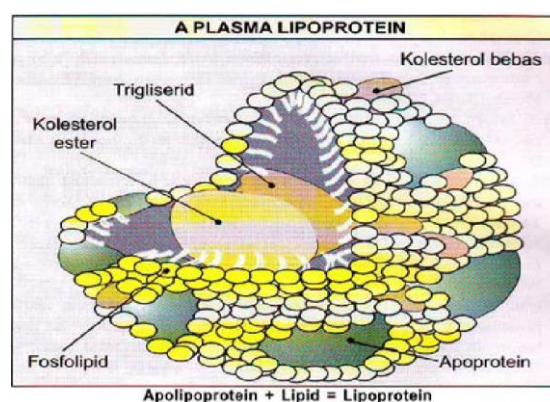
Kolesterol bersifat lipofilik. Kolesterol dalam darah diangkut dengan lipoprotein. Kolesterol dijaga keseimbangannya oleh mekanisme homeostasis dalam tubuh manusia dan biosintesisnya diatur secara langsung oleh kadar kolesterol yang ada. Asupan kolesterol dari makanan yang lebih tinggi menyebabkan penurunan sintesis kolesterol dalam tubuh, begitu pula

sebaliknya. Selain itu, sebagian besar kolesterol dalam makanan mengalami esterifikasi. Namun, kolesterol yang teresterifikasi ini sulit diserap oleh usus. Oleh karena itu, kolesterol dari makanan memiliki sedikit pengaruh terhadap kadar kolesterol plasma. Di sisi lain, ketika sel memiliki kolesterol yang melimpah, sintesis reseptor LDL akan terhambat sehingga kolesterol baru dalam bentuk molekul LDL tidak dapat diserap dan sebaliknya (Helvaci *et al.*, 2021).

2.8. Lipoprotein

2.8.1. Definisi

Lipid terikat pada molekul protein yang disebut dengan apolipoprotein atau apo yang memudahkan lipid untuk larut dalam darah. Lipid yang berikatan dengan apolipoprotein inilah yang dikenal sebagai lipoprotein (PERKENI, 2021). Setiap lipoprotein terdiri atas kolesterol (bebas atau ester), trigliserida, fosfolipid, dan apoprotein. Lipoprotein memiliki bentuk sferik dengan inti trigliserida dan kolesterol ester dengan fosfolipid dan sedikit kolesterol bebas di sekelilingnya serta apoprotein pada permukaan luarnya (Adam, 2014)



Gambar 12. Struktur Lipoprotein (Adam, 2014)

2.8.2. Jenis-jenis Lipoprotein

Lipoprotein diklasifikasikan berdasarkan densitas protein. Semakin rendah kadar protein, semakin rendah densitasnya, dan semakin tinggi kolesterolnya. Kolesterol dalam berbagai lipoprotein tersebut identik. Dengan kata lain, sebenarnya hanya ada satu jenis kolesterol di dalam tubuh (Helvaci *et al.*, 2021).

Tabel 2. Klasifikasi Kolesterol (Adam, 2014)

Jenis Lipoprotein	Densitas	Lipid Utama
HDL	1,21—1,603	Kolesterol ester
LDL	1,063—1,019	Kolesterol ester
IDL	1,019—1,006	Kolesterol ester, trigliserid
VLDL	< 1,006	Trigliserid
Kilomikron	< 1,006	Trigliserid

Terdapat lima kelas utama lipoprotein berdasarkan densitas proteinnya, yaitu:

a. Kilomikron

Kilomikron adalah jenis molekul pengangkut kolesterol yang paling rendah densitasnya. Chylomicrons terdiri dari trigliserida (TG), kolesterol, dan protein di usus, dan dilepaskan ke dalam aliran darah setelah makan. Chylomicrons terutama mengangkut trigliserida eksogen dari usus ke hati melalui duktus toraks (Helvaci *et al.*, 2021).

b. *Very low-density lipoproteins* (VLDL)

VLDL mengandung trigliserida (TG), kolesterol, dan protein. VLDL diproduksi di hati dan terutama mengangkut trigliserida endogen dari hati ke organ perifer. Di kapiler jaringan adiposa dan otot, 90% trigliserida dihilangkan oleh sekelompok lipase khusus. Oleh karena itu, VLDL diubah menjadi IDL dengan pengurangan TG (Helvaci *et al.*, 2021).

c. *Intermediate-density lipoproteins (IDL)*

Intermediate-density lipoprotein terbentuk dari penguraian trigliserida dari VLDL oleh lipoprotein lipase (LPL) di jaringan otot dan adiposa, yang menghasilkan pembentukan partikel IDL, yang kaya akan kolesterol dan bersifat pro-aterogenik (Feingold, 2022)

d. *Low density lipoproteins (LDL)*

LDL merupakan hasil pemecahan IDL dengan pengurangan lebih banyak trigliserida. LDL adalah pembawa utama kolesterol dalam darah. LDL mengantarkan kolesterol dari hati ke bagian tubuh lainnya. Meskipun hati mengeliminasi sebagian besar LDL dari sirkulasi, sejumlah kecil LDL diserap oleh makrofag yang dapat bermigrasi ke lapisan intima bagian dalam dinding arteri dan menjadi sel busa dari plak aterosklerotik. Sel busa ini dipenuhi dengan lemak dan kolesterol, dan membentuk sebagian besar plak. Plak terutama mengandung kolesterol, kalsium, fibrin, dan sisa-sisa sel. Proses ini dapat dipercepat ketika LDL teroksidasi oleh radikal oksigen bebas yang dihasilkan sebagai produk sampingan saat sel-sel kita menggunakan oksigen untuk membakar lemak. (Helvaci *et al.*, 2021).

e. *High density lipoproteins (HDL)*

HDL sering disebut sebagai kolesterol baik yang memiliki lebih banyak molekul protein dibandingkan lemak. HDL mengeliminasi lemak dan kolesterol dari sel-sel, termasuk dari ateroma di dinding arteri, dan membawa kolesterol kembali ke hati, adrenal, ovarium, dan testis untuk diekskresikan, digunakan kembali, atau dibuang. HDL dapat menunjukkan berbagai sifat anti-aterogenik, termasuk transportasi balik kolesterol, serta sifat antioksidan dan anti-inflamasi (Feingold, 2022).

2.9. Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia merupakan suatu kondisi dimana kolesterol dalam darah meningkat melebihi ambang batas normal yang ditandai dengan meningkatnya kadar LDL-kolesterol dan kolesterol total melebihi ambang batas normal (>240 mg/dl). Hiperkolesterolemia dapat terjadi karena faktor keturunan, makanan sehari-hari (biasanya dihubungkan dengan diet lemak yang tinggi dari bahan pangan hewani), penyakit sekunder (diabetes, hipotiroid, infeksi ginjal menahun), dan tidak jarang terjadi sejak lahir. Kenaikan kolesterol terutama LDL dan trigliserida akan meningkatkan resiko penderitanya untuk terkena penyakit jantung koroner (Saragih, 2011).

Perbandingan LDL dengan HDL yang meningkat juga akan meningkatkan risiko terkena penyakit jantung koroner. Secara khusus, partikel LDL dianggap sebagai pengangkut utama kolesterol; setidaknya dua pertiga dari kolesterol yang beredar berada dalam LDL menuju jaringan perifer. Molekul HDL melakukan hal sebaliknya. HDL mengambil kelebihan kolesterol dan mengembalikannya ke hati untuk dikeluarkan. Dengan demikian, secara klinis, kedua lipoprotein ini penting karena tingginya LDL dan rendahnya HDL meningkatkan risiko pasien terhadap penyakit vaskular aterosklerotik (Huff *et al.*, 2023).

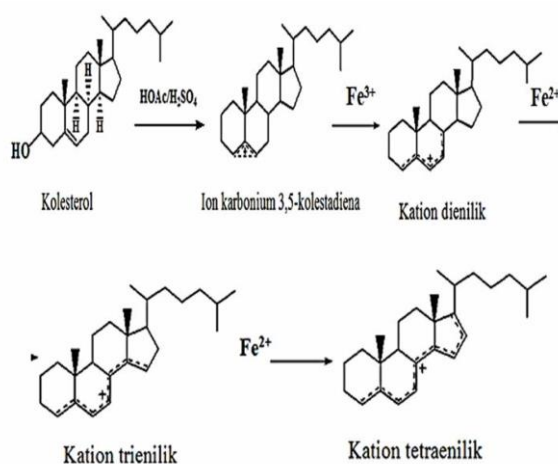
Peningkatan kolesterol dalam darah disebabkan oleh faktor keturunan dan asupan lemak tinggi. Pengaruh lemak makanan pada penyakit jantung berhubungan dengan pengaruh komponen asam lemak dan kolesterol terhadap kolesterol darah, terutama kolesterol LDL. Peningkatan konsumsi lemak jenuh dan kolesterol dapat meningkatkan konsentrasi kolesterol low density lipoprotein (LDL). Lemak jahat seperti lemak jenuh dapat diubah menjadi kolesterol sehingga meningkatkan kadar kolesterol darah terutama LDL dengan cara menurunkan perombakan atau katabolismenya (Yani *et al.*, 2023).

Tabel 3. Klasifikasi Kadar Kolesterol (mg/dL) (Saragih, 2011).

Jenis Lipoprotein	Baik	Batas Maksimal	Buruk
Total kolesterol	<200	200-240	>240
HDL kolesterol	>45	35-45	<35
Trigliserida	<200	200-400	>400
LDL Kolesterol	<130	130-160	>160
LDL/HDL	<3	3-5	-

2.10. Uji Aktivitas Antikolesterol Metode Zak

Metode Zak merupakan metode uji aktivitas antikolesterol secara *in vitro*. Aktivitas ekstrak terhadap penurunan kadar kolesterol diketahui dengan cara membandingkan absorbansi senyawa berwarna hasil reaksi antara kolesterol dengan reagen yang digunakan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis kemudian dihitung persen penurunan kolesterolnya. Prinsip metode zak sendiri didasarkan pada kemampuan mengikat kolesterol bebas dengan FeCl_3 dan digunakan H_2SO_4 sebagai katalisator sehingga terbentuk senyawa berwarna. Mekanisme reaksi antara kolesterol dengan pereaksi pada metode Zak diawali dengan proses protonasi pada gugus $-\text{OH}$ kolesterol. Tahap ini kemudian dilanjutkan dengan reaksi dehidrasi yang menghasilkan senyawa ion karbonium 3,5-kolestadiena. Setelah itu, penambahan ion Fe^{3+} berperan dalam membentuk senyawa kompleks berwarna. Reaksi ini menghasilkan larutan kation tetraenilik yang ditandai dengan warna jingga kemerahan. Pada proses ini, H_2SO_4 pekat digunakan sebagai katalisator, sedangkan FeCl_3 dalam asam asetat glasial berfungsi sebagai pereaksi pewarna yang mendukung terbentuknya senyawa berwarna merah (Burke *et al.*, 1974; Maidin *et al.*, 2017; N. I. Rizki *et al.*, 2022)



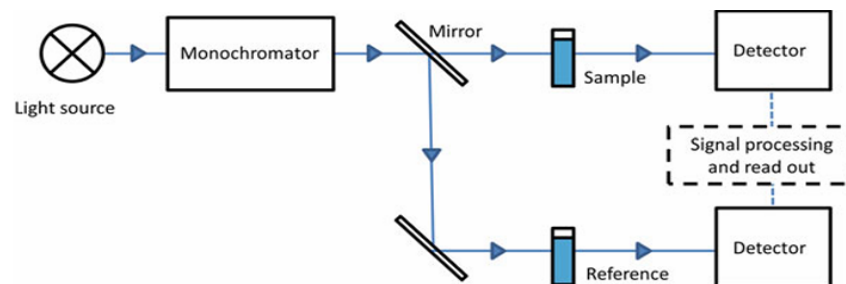
Gambar 13. . Reaksi Kolesterol dengan Reagen Metode Zak (N. I. Rizki *et al.*, 2022)

2.11. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-VIS adalah metode untuk mengukur panjang gelombang dan intensitas cahaya ultraviolet dan cahaya tampak yang diserap oleh sampel. Prinsip dasar metode spektrofotometri UV-VIS didasarkan pada pengukuran panjang gelombang dan intensitas cahaya ultraviolet (UV) dan cahaya tampak (*visual/VIS*) yang diserap oleh sampel sebagai fungsi panjang gelombang (Gupta, 2015)

Sampel diberi radiasi UV (ultraviolet) pada panjang gelombang 180-380 nm atau cahaya tampak (*visible light*) pada panjang gelombang 380-780 nm. Penyerapan radiasi ini menyebabkan promosi elektron dari keadaan dasar ke keadaan tereksitasi pada gugus fungsional yang disebut kromofor. Data penyerapan ini akan dihasilkan oleh spektrofotometri UV-VIS dalam bentuk transmitansi atau absorbansi yang dapat dibaca oleh spektrofotometer sebagai spektrum UV-VIS (Pratiwi dan Nandiyanto, 2022). Karena setiap zat menyerap cahaya dengan cara yang berbeda, terdapat hubungan unik dan spesifik antara zat dan spektrum UV-VIS-nya. Spektrum ini kemudian dapat digunakan untuk mengidentifikasi atau mengkuantifikasi suatu zat (De Caro dan Claudia, 2015).

Penyerapan cahaya UV dan cahaya tampak dijelaskan secara kuantitatif oleh hukum *Lambert* dan *Beer*. Menurut hukum *Lambert*, setiap lapisan medium yang dilalui cahaya menyerap fraksi cahaya yang sama sehingga terjadi penurunan secara eksponensial pada intensitas cahaya yang diteruskan dengan bertambahnya ketebalan medium yang mengabsorpsi. Hukum *Beer* menyatakan bahwa jumlah cahaya yang diserap sebanding dengan jumlah kromofor yang ada dalam medium yang dilalui cahaya. Dengan kata lain, jumlah cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi zat penyerap (kromofor). Kedua hukum ini sering dikombinasikan menjadi apa yang sering disebut sebagai *Lambert-Beer* (Müllertz dan Perrie, 2016).

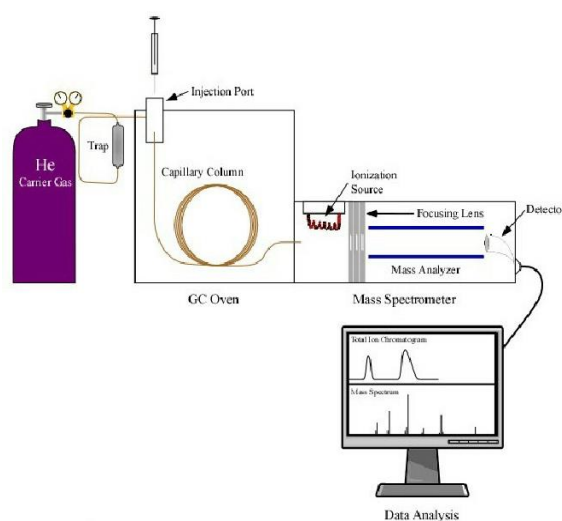


Gambar 14. Spektrofotometer UV-Vis Double Beam (Müllertz dan Perrie, 2016).

Spektrofotometri UV-Vis memiliki beberapa komponen utama, yaitu sumber cahaya, pemilih panjang gelombang, kompartemen sampel (biasanya berupa kuvet atau *flow cell*), dan detektor. Terdapat dua cara pengaturan optik yang digunakan pada spektrofotometri UV-Vis, yaitu pengaturan optik normal (pemilihan panjang gelombang terjadi sebelum cahaya melewati sampel) dan konfigurasi optik terbalik (dispersi cahaya terjadi setelah melewati sampel). Untuk mendeteksi cahaya, digunakan dua jenis detektor utama, yaitu tabung fotomultiplier atau semikonduktor seperti fotodioda dan *charge-coupled device* (CCD). Beberapa jenis spektrofotometer yang umum meliputi *single beam spectrophotometer*, *double beam spectrophotometer*, dan *array detector spectrophotometer* (Müllertz dan Perrie, 2016).

2.12. GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*)

Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) merupakan teknik kromatografi gas yang digunakan bersama dengan 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).



Gambar 15. *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS) (Ahmed *et al.*, 2020)

Prinsip pemisahan dalam kromatografi gas didasarkan pada penyebaran sampel di fase diam, sementara gas bertindak sebagai fase gerak yang mengelusi fase diam (Darmapatni *et al.*, 2016). Dalam sistem kromatografi gas, sampel yang akan dianalisis bisa berupa larutan cair atau kumpulan molekul yang teradsorpsi pada suatu permukaan, misalnya pada *solid-phase microextraction* (SPME). Selama transfer ke dalam kromatografi gas (GC), sampel diuapkan melalui paparan cepat ke zona yang dijaga pada suhu relatif tinggi (200-300°C) dan dicampur dengan aliran gas pembawa (Ar, He, N₂, atau H₂). Campuran gas yang dihasilkan kemudian masuk ke bagian pemisahan, yaitu kolom kromatografi, yang berbentuk kapiler tubular silika yang dilapisi dengan lapisan tipis polimer di bagian dalamnya. Selama

perpindahan melalui kolom, molekul analit terpartisi antara aliran gas pembawa (fase bergerak) dan lapisan polimer (fase diam), tergantung pada struktur kimianya (Stashenko dan Martínez, 2014).

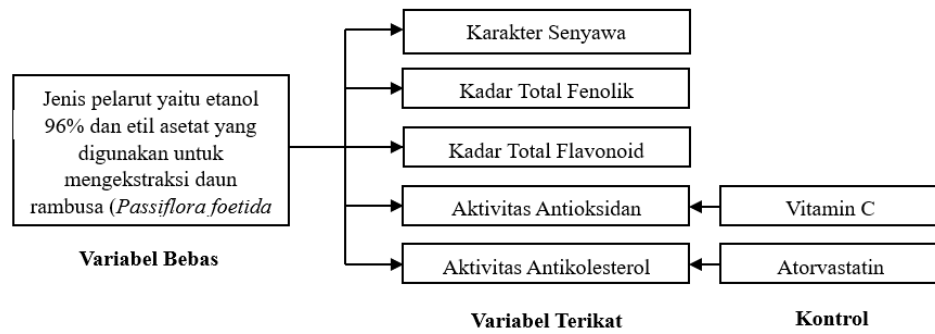
Pada akhir bagian pemisahan, molekul-molekul mencapai sistem deteksi pada properti fisik tertentu (konduktivitas termal) atau proses fisiko-kimia (ionisasi dalam nyala, penangkapan elektron) mana yang menghasilkan sinyal listrik yang sebanding dengan jumlah molekul dengan identitas yang sama. Sistem data memungkinkan pemrosesan data ini untuk menghasilkan grafik variasi sinyal detektor ini terhadap waktu (kromatogram). Dengan demikian, empat bagian utama dapat dibedakan dalam kromatograf, yaitu pengenalan (injektor), pemisahan (kolom kromatografi), deteksi, dan unit pengolahan data (Stashenko dan Martínez, 2014).

Prinsip dari spektrometer massa adalah pengionan senyawa-senyawa kimia untuk menghasilkan molekul bermuatan atau fragmen molekul dan mengukur rasio massa/muatan. Molekul yang telah terionisasi akibat penembakan elektron berenergi tinggi tersebut akan menghasilkan ion dengan muatan positif, kemudian ion tersebut diarahkan menuju medan magnet dengan kecepatan tinggi. Medan magnet atau medan listrik akan membelokkan ion tersebut agar dapat menentukan bobot molekulnya dan bobot molekul semua fragmen yang dihasilkan. Kemudian detektor akan menghitung muatan yang terinduksi atau arus yang dihasilkan ketika ion dilewatkan atau mengenai permukaan, scanning massa dan menghitung ion sebagai *mass to charge ratio* (m/z). Terdapat 4 (empat) proses dalam spektrometri massa yakni ionisasi, percepatan, pembelokkan dan pendeteksian (Darmapatni *et al.*, 2016).

Derivatisasi merupakan proses kimiawi untuk mengubah suatu senyawa menjadi senyawa lain yang mempunyai sifat-sifat yang sesuai untuk dilakukan analisis menggunakan kromatografi gas atau menjadi lebih mudah menguap. Hal ini dilakukan jika suatu senyawa diketahui sulit menguap maka dilakukan derivatisasi terlebih dahulu sebelum dianalisis menggunakan GC.

Selain itu beberapa senyawa volatil mengalami dekomposisi parsial karena panas sehingga diperlukan derivatisasi untuk meningkatkan stabilitasnya (Darmapatni *et al.*, 2016).

2.14. Kerangka Konsep



Gambar 17. Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat eksperimental skala laboratorium. Ekstraksi daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dilakukan dengan dua perlakuan, yaitu masing-masing dengan menggunakan pelarut etanol dan etil asetat menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*. Pada penelitian ini, pengukuran fenolik total pada masing-masing ekstrak etanol dan etil daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dilakukan dengan metode *Folin-Ciocalteu* dengan standar pembanding asam galat, pengukuran flavonoid total dilakukan dengan metode AlCl_3 , pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode uji DPPH, dan pengujian aktivitas antikolesterol ekstrak etanol dan etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dilakukan dengan metode Zak.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Botani, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung untuk mendeterminasi tumbuhan, Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada untuk karakterisasi senyawa dengan GC-MS, dan Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung untuk melakukan ekstraksi serta melakukan beberapa pengujian meliputi uji fitokimia, uji flavonoid total, uji aktivitas antioksidan, dan uji aktivitas antikolesterol sampel.

3.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2024—Mei 2025

3.3. Identitas Variabel Penelitian

3.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis pelarut yaitu etanol 96% dan etil asetat yang digunakan untuk mengekstraksi daun rambusa (*Passiflora foetida* L.)

3.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah karakterisasi senyawa, kadar kadar fenolik total (mg/GAE/g), flavonoid total(mgQE/g), aktivitas antioksidan ($\mu\text{g/mL}$), dan aktivitas antikolesterol ($\mu\text{g/mL}$) ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.).

3.4. Definisi Operasional

Tabel 4. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Kadar fenolik total	Kadar fenolik total yang terkandung dalam ekstrak etanol dan etil asetat daun rambusa (<i>Passiflora foetida</i> L.)	Menghitung kadar fenolik total yang terkandung dalam ekstrak etanol dan etil asetat daun rambusa (<i>Passiflora foetida</i> L.) menggunakan metode Folin Ciaocalteu dengan larutan asam galat sebagai pembanding	Kadar fenolik total (mg/GAE/g)	Rasio

2.	Kadar flavonoid total	Kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol dan etil asetat daun rambusa (<i>Passiflora foetida</i> L.)	Menghitung kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol dan etil asetat daun rambusa (<i>Passiflora foetida</i> L.) menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan larutan kuersetin sebagai pembanding	Kadar flavonoid total (mgQE/g)	Rasio
3.	Aktivitas antioksidan	Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol dan etil asetat daun rambusa (<i>Passiflora foetida</i> L.)	Menghitung konsentrasi efektif (IC_{50}) ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (<i>Passiflora foetida</i> L.) untuk menghambat radikal bebas menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan metode uji DPPH dan menggunakan asam askorbat sebagai kontrol positif	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) Keterangan: $IC_{50} < 50$ $\mu\text{g/mL}$ = sangat kuat $IC_{50} 50-100$ $\mu\text{g/mL}$ = kuat $IC_{50} 100-150$ $\mu\text{g/mL}$ = sedang $IC_{50} 150-200$ $\mu\text{g/mL}$ = lemah $IC_{50} > 200$ $\mu\text{g/mL}$ = sangat lemah (Rahman <i>et al.</i> , 2023)	Rasio
4.	Aktivitas antikolesterol	Aktivitas antikolesterol dari ekstrak etanol dan etil asetat daun rambusa (<i>Passiflora foetida</i> L.)	Menghitung kadar kolesterol dalam berbagai konsentrasi ekstrak etanol dan etil asetat daun rambusa (<i>Passiflora foetida</i> L.) menggunakan	Nilai EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Rasio

3.5. Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya masker, *handscoon*, jas laboratorium, *plastic wrap*, *aluminium foil*, kertas saring, labu erlenmeyer (Pyrex[®]), labu ukur (Pyrex[®]), gelas ukur (Pyrex[®]), gelas *beaker* (Pyrex[®]), tabung reaksi (IWAKI[®]), pipet tetes, pipet volume (IWAKI[®]), *bulb filler*, mikropipet (DLAB[®]), tip mikropipet, corong (IWAKI[®]), neraca analitik (BEL Engineering[®]), kertas perkamen, *hot plate*, cawan penguap, *ultrasonic bath* (OVAN[®]), seperangkat alat *rotary evaporator* (Rotavapor R-100 BUCHI[®]), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu[®] UV-1900i), kuvet (Shimadzu[®]), dan kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS Perkin-Elmer Clarus 500).

3.5.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya daun rambusa (*Passiflora foetida* L.), pelarut etanol 96%, etil asetat, akuades, reagen Mayer, serbuk zink, asam klorida (HCl) pekat (SMART-LAB[®]), kloroform (Supelco[®]), asam sulfat (H₂SO₄) pekat (SMART-LAB[®]), feri klorida (FeCl₃) 5% (Supelco[®]), kuersetin (Sigma-aldrich[®]), AlCl₃ 10% (Supelco[®]), asam asetat (CH₃COOH) 5% (Supelco[®]), metanol *pro analysis* (Supelco[®]), natrium karbonat (Na₂CO₃) 7,5%, reagen *Folin-Ciocalteu* (Supelco[®]), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-aldrich[®]), asam askorbat (MERCK[®]), serbuk kolesterol murni (Nippon Fine Chemical), atorvastatin 20 mg.

3.6. Prosedur Penelitian

3.6.1. Uji Determinasi Tumbuhan Rambusa

Uji determinasi yang bertujuan untuk memastikan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan daun rambusa (*Passiflora foetida* L.). Uji determinasi tanaman ini akan dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.6.2. Preparasi Sampel Daun Rambusa

Preparasi awal sampel daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) akan diawali dengan sortasi basah sampel. Daun rambusa yang dipilih adalah daun yang terdapat pada bagian tengah batang hingga pucuk teratas, berwarna hijau muda, dan permukaannya tidak memiliki bintik-bintik putih atau kuning (bebas dari kontaminasi penyakit, seperti yang disebabkan oleh bakteri, jamur, atau virus). Hal ini perlu diperhatikan karena keberadaan kontaminan tersebut dapat memengaruhi kemurnian bahan, sehingga berpotensi menghasilkan data yang kurang akurat, terutama pada penelitian yang bersifat analisis kuantitatif (Nugroho, 2017).

Daun rambusa kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Selanjutnya, dilakukan penirisan dan pengeringan secara alami serta tidak terpapar sinar matahari langsung di ruangan semi terbuka dengan sirkulasi udara bebas. Setelah kering, daun rambusa disortasi kering dengan kriteria daun rapuh atau mudah hancur ketika diremas dan berwarna hijau pudar dibanding keadaan segar. Daun rambusa yang sudah kering dihaluskan menggunakan *blender* hingga menjadi serbuk dan kemudian diayak agar sampel dapat dipastikan sudah benar-benar halus (Koesnadi *et al.*, 2021; Rahmah *et al.*, 2023).

3.6.3. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Rambusa

Serbuk daun rambusa ditimbang sebanyak 20 gram dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer. Serbuk direndam dengan etanol 96% sebanyak 200 mL (1:10 b/v). Campuran serbuk daun rambusa dan pelarut etanol kemudian diekstraksi dengan metode *Ultrasonic-Assisted Extraction* menggunakan *ultrasound bath* pada frekuensi 40 kHz dengan suhu 45°C selama 20 menit. Selanjutnya, sampel didinginkan dan disaring dengan kertas saring. Pelarut dihilangkan dengan suhu 40°C dan putaran 100 rpm menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Suhu ini dipilih untuk memaksimalkan penguapan tanpa merusak komponen bioaktif dalam ekstrak (Guna *et al.*, 2020; Nugroho, 2017).

3.6.4. Pembuatan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa

Serbuk daun rambusa ditimbang sebanyak 20 gram dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer. Serbuk direndam dengan etil asetat sebanyak 200 mL (1:10 b/v). Campuran serbuk daun rambusa dan pelarut etil asetat kemudian diekstraksi dengan metode *Ultrasonic-Assisted Extraction* menggunakan *ultrasound bath* pada frekuensi 40 kHz dengan suhu 45°C selama 20 menit. Selanjutnya, sampel didinginkan dan disaring dengan kertas saring. Ekstrak kental diperoleh dengan menghilangkan pelarut menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C dan putaran 100 rpm (Guna *et al.*, 2020).

3.6.5. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa

Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan dihitung % rendemen ekstrak. Rendemen ekstrak dapat menggambarkan senyawa metabolit sekunder yang tersari dalam suatu sampel. Oleh karena itu, makin banyak rendemen ekstrak yang diperoleh, makin banyak pula senyawa metabolit sekunder yang tersari dari sampel tersebut (Rahmah *et al.*,

2023). Syarat rendemen ekstrak kental yaitu nilainya tidak kurang dari 10% (Kemenkes RI, 2017). Perhitungan rendemen dilakukan dengan menghitung bobot ekstrak kental yang didapat terhadap jumlah serbuk kering sebelum dilakukan ekstraksi kemudian dikalikan 100% seperti persamaan berikut:

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

(Wardani dan Rachmania, 2017)

3.6.6. Karakterisasi Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa dengan GC-MS

Identifikasi metabolit sekunder ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) akan dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Identifikasi dengan GC-MS dilakukan untuk menganalisis senyawa antioksidan seperti *dodecanoic acid*, *tetradecanoic acid*, *n-hexadecanoic acid*, *octadecanoic acid*, *oleic acid*, *stearic acid*, *palmitic acid*, dan *linolenic acid* yang terdapat dalam ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa dengan GC-MS Perkin-Elmer Clarus 500. Identifikasi senyawa didasarkan pada luas puncak, berat molekul, dan rumus molekul. Spektrum GC-MS menunjukkan adanya lebih banyak hidrokarbon rantai panjang (Paulraj *et al.*, 2014).

Proses identifikasi dilakukan dengan tahapan di mana sampel diinjeksikan ke dalam kolom kapiler Elite-5MS (Perkin-Elmer) dengan panjang 30 mm dan diameter 0.25 mm dengan film tipis 0,25 µm. Injektor dioperasikan dengan suhu 250°C dan suhu oven diatur pada suhu awal 110°C selama 2 menit, kemudian dinaikkan hingga 200°C dengan laju kenaikan 10°C/menit, dan suhu dinaikkan lagi hingga mencapai 280°C dengan laju kenaikan 5°C/menit selama 9 menit. Gas pembawa yang digunakan adalah helium dengan kecepatan alir 1 mL per menit.

3.6.7. Uji Fitokimia Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa

3.6.7.1. Uji Alkaloid

Uji alkaloid akan dilakukan dengan uji *Wagner*. Sebanyak 1 mL ekstrak daun rambusa dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL reagen *Wagner*, dan kemudian dikocok. Adanya alkaloid diindikasikan dengan terbentuknya endapan berwarna merah (Abubakar dan Haque, 2020).

3.6.7.2. Uji Flavonoid

Uji flavonoid akan dilakukan dengan uji reduksi zink-hidroklorida. Sebanyak 1 mL ekstrak daun rambusa dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan serbuk zink secukupnya, dan kemudian ditambahkan beberapa tetes asam hidroklorida (HCl) pekat dari sisi tabung reaksi. Adanya flavonoid diindikasikan dengan terbentuknya warna magenta atau merah (Shaikh dan Patil, 2020).

3.6.7.3. Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan uji *forth*. Sebanyak 1 mL ekstrak daun rambusa dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan 2 mL akuades, dan dikocok dengan baik hingga homogen. Adanya saponin diindikasikan dengan terbentuknya lapisan buih (busa) yang stabil (Sharma dan Chaudhary, 2016).

3.6.7.4. Uji Steroid/Triterpenoid

Uji steroid/triterpenoid dilakukan dengan uji *Liebermann Burchard*. Sebanyak 2 mL ekstrak daun rambusa diuapkan menggunakan cawan penguap di atas *waterbath*. Hasil residu kemudian dilarutkan dengan kloroform 0,5 mL, ditambahkan

asam asetat anhidrat 0,5 mL, dan ditambahkan asam sulfat pekat 2 mL melalui dinding tabung secara perlahan. Adanya steroid diindikasikan dengan terbentuknya cincin berwarna biru kehijauan dan adanya triterpenoid diindikasikan dengan terbentuknya warna merah tua atau kecoklatan (La *et al.*, 2020).

3.6.7.5. Uji Tanin

Uji tanin dilakukan dengan uji *Wohler*. Sebanyak 1,6 mL ekstrak ditambahkan beberapa tetes larutan timbal. Adanya tanin diindikasikan dengan terbentuknya endapan berwarna putih (Shaikh dan Patil, 2020).

3.6.7.6. Uji Fenolik

Uji fenolik dilakukan dengan uji *ferric chloride*. Sebanyak 1 mL ekstrak daun rambusa dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 5%. Adanya fenolik diindikasikan dengan terbentuknya larutan berwarna hijau tua atau hitam kebiruan (Shaikh dan Patil, 2020).

3.6.8. Pengukuran Fenolik Total Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa

Fenolik total ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa diukur dengan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dengan menggunakan asam galat sebagai standar.

3.6.8.1. Pembuatan Larutan Induk Asam Galat 1000 mg/L

Sebanyak 100 mg serbuk asam galat dilarutkan dengan 5 mL metanol *pro analysis* di dalam labu ukur 100 mL dan dicukupkan hingga tanda batas dengan akuades (Ayuchecaria *et al.*, 2020).

3.6.8.2. Pembuatan Larutan Na_2CO_3 7,5%

Serbuk Na_2CO_3 sebanyak 7,5g ram ditambahkan dengan 80 mL akuades dan dipanaskan di atas *waterbath* hingga serbuk Na_2CO_3 larut dengan sempurna. Kemudian, larutan didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, larutan disaring dengan menggunakan kertas saring, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, dan dicukupkan dengan akuades hingga tanda batas (Ayuchecaria *et al.*, 2020).

3.6.8.3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan induk asam galat 100 ppm diencerkan menjadi 30 ppm kemudian dipipet sebanyak 300 μL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 1,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* ke dalam larutan, digojog, dan didiamkan selama 3 menit. Selanjutnya, ditambahkan 1,2 mL larutan Na_2CO_3 7,5%, digojog homogen, dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu kamar. Larutan tersebut diukur absorbansinya dalam rentang waktu 0-10 menit pada panjang gelombang 600—800 nm dengan interval 0,5 nm. Berdasarkan penelitian sebelumnya, panjang gelombang maksimum untuk kompleks berwarna biru yang dihasilkan adalah 765 nm (Ayuchecaria *et al.*, 2020).

3.6.8.4. Penentuan Kurva Baku Asam Galat

Penetapan kurva baku asam galat dilakukan dengan pengukuran beberapa konsentrasi larutan asam galat. Dibuat larutan seri standar asam galat dengan memipet larutan induk 1000 ppm sebanyak 0,1 mL, 0,2 mL, 0,3 mL, 0,4 mL, dan 0,5 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan dengan akuades *pro analysis* sehingga diperoleh konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Masing-masing larutan seri dipipet sebanyak

300 μ L ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dan didiamkan selama 4 menit. Selanjutnya, ditambahkan 1,2 mL larutan Na_2CO_3 7,5% dan digojog hingga homogen. Larutan diinkubasi selama 60 menit pada suhu kamar. Kelima konsentrasi larutan baku asam galat tersebut dibaca konsentrasinya pada panjang gelombang maksimum dan dibuat kurva baku dengan persamaan regresi linier $y = bx + a$ (Ayuchecaria *et al.*, 2020).

3.6.8.5. Pengukuran Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa

Sebanyak 5 mg ekstrak etanol 96% dan 1 mg ekstrak etil asetat masing-masing dilarutkan dengan 10 mL metanol *pro analysis* dalam labu ukur 10 mL sehingga diperoleh larutan sampel ekstrak etanol 96% dengan konsentrasi 500 ppm dan ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 100 ppm. Sebanyak 300 μ L larutan tersebut dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu*, digojok, dan didiamkan selama 3 menit. Setelah itu, ditambahkan larutan Na_2CO_3 7,5% sebanyak 1,2 mL dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu kamar. Larutan sampel ekstrak tersebut akan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang maksimum asam galat yang telah diketahui dengan 3 kali pengulangan untuk masing-masing sampel (Ayuchecaria *et al.*, 2020).

3.6.9. Pengukuran Flavonoid Total Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa

3.6.9.1. Pembuatan Larutan Baku Induk Kuersetin 1000 ppm

Baku standar kuersetin ditimbang sebanyak 100 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian dicukupkan dengan etanol pro analisis hingga tanda batas (Yani *et al.*, 2023).

3.6.9.2. Pembuatan Larutan Blanko

Sebanyak 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5% dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian dicukupkan volumenya hingga tanda batas (Yani *et al.*, 2023).

3.6.9.3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan baku induk 1000 ppm dipipet sebanyak 1 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian dicukupkan hingga tanda batas dengan etanol pro analisis sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Sebanyak 1 mL larutan baku kuersetin 100 ppm dipipet ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Larutan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan penelitian sebelumnya, spektrum kompleks aluminium-*quercetin* tanpa adanya (air) dan kehadiran kedua garam asetat menunjukkan puncak serapan yang kuat pada 425–430 nm (Yani *et al.*, 2023).

3.6.9.4. Penentuan *Operating Time*

Sebanyak 1 mL larutan baku kuersetin 100 ppm dipipet ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL AlCl_3 10% dan 8

mL asam asetat 5%. Larutan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dengan interval waktu 2 menit menggunakan spektrofotometer UV-Vis hingga diperoleh absorbansi yang stabil (Yani *et al.*, 2023).

3.6.9.5. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Penetapan kurva baku kuersetin dilakukan dengan pengukuran beberapa konsentrasi larutan kuersetin. Larutan seri konsentrasi standar kuersetin dibuat dengan memipet larutan induk 1000 ppm sebanyak 0,1 mL, 1,5 mL, 2 mL, 2,5 mL, dan 3 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan dengan etanol pro analisis sehingga diperoleh konsentrasi 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, dan 30 ppm. Masing-masing dari larutan seri konsentrasi tersebut dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Larutan diinkubasi selama *operating time*. Setelah itu, kelima konsentrasi larutan baku kuersetin tersebut dibaca konsentrasinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. dan dibuat kurva baku dengan persamaan regresi linier $y = bx + a$ (Yani *et al.*, 2023).

3.6.9.6. Pengukuran Kadar flavonoid total Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa

Sebanyak 5 mg ekstrak etanol 96% dan 1 mg ekstrak etil asetat masing-masing dilarutkan dengan 10 mL etanol pro analisis dalam labu ukur 10 mL sehingga diperoleh larutan sampel ekstrak etanol 96% dengan konsentrasi 500 ppm dan ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan ekstrak tersebut dipipet masing-masing 1 mL dan ditambahkan 1 mL larutan AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat

5%. Larutan diinkubasi selama *operating time*. Setelah itu, masing-masing larutan sampel dibaca konsentrasinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan replikasi 3 kali setiap sampel (Yani *et al.*, 2023).

3.6.10. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa

3.6.10.1. Pembuatan Larutan Induk Baku DPPH

untuk membuat larutan induk baku DPPH 50 ppm, sebanyak 5 mg serbuk DPPH ditimbang dan dimasukkan dalam labu ukur 100 mL kemudian ditambahkan metanol *pro analysis* hingga tanda batas (Irawan *et al.*, 2021).

3.6.10.2. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengamati absorbansi larutan baku DPPH 50 ppm pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan metanol *pro analysis* sebagai blangko. Berdasarkan penelitian sebelumnya, aktivitas antioksidan terhadap DPPH dapat dievaluasi dengan memantau penurunan serapannya pada 515–528nm (Irawan *et al.*, 2021).

3.6.10.3. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Blanko DPPH

Sebanyak 2 mL larutan DPPH dipipet dan ditambahkan 2 mL methanol *pro analysis* kemudian diinkubasi pada ruangan gelap selama 30 menit. Absorbansi larutan blanko DPPH tersebut diukur pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan dengan spektrofotometer UV-Vis (Irawan *et al.*, 2021).

3.6.10.4. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Pembanding Asam Askorbat

Larutan pembanding asam askorbat dengan konsentrasi 1000 ppm dibuat dengan menimbang 100 mg serbuk asam askorbat dan dilarutkan dengan metanol *pro analysis* dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya larutan asam askorbat 1000 ppm tersebut diencerkan menjadi seri konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm dengan memipet sebanyak 0,1 mL, 0,2 mL, 0,3 mL, 0,4 mL, dan 0,5 mL ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 4 mL larutan DPPH, dan dicukupkan dengan metanol *pro analysis*. Larutan seri konsentrasi dibuat replikasinya sebanyak 3 kali. Setelah itu, larutan asam askorbat diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang (25°C) dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan (Irawan *et al.*, 2021).

3.6.10.5. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa

Larutan sampel ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa dengan konsentrasi 1000 ppm dibuat dengan menimbang 100 mg masing-masing ekstrak dan dilarutkan dengan metanol *pro analysis* dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya larutan sampel 1000 ppm tersebut diencerkan menjadi seri konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm dengan memipet sebanyak 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, dan 5 mL ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 4 mL larutan DPPH, dan dicukupkan dengan metanol *pro analysis*. Larutan seri konsentrasi dibuat replikasinya sebanyak 3 kali. Setelah itu, larutan sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang (25°C) dan

diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan (Irawan *et al.*, 2021).

3.6.11. Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa

3.6.11.1. Pembuatan Larutan Baku Kolesterol

Serbuk kolesterol murni ditimbang sebanyak 100 mg dilarutkan kedalam kloroform di labu ukur 100 mL sampai menjadi larutan 1000 ppm (N. I. Rizki *et al.*, 2022).

3.6.11.2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Pada penentuan panjang gelombang maksimum dalam spektrofotometri UV-Vis dengan melakukan scanning panjang gelombang dari larutan standar kolesterol menggunakan konsentrasi 500 ppm. Larutan baku induk 1000 ppm dipipet sebanyak 5 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian dicukupkan hingga tanda batas dengan kloroform sehingga diperoleh konsentrasi 500 ppm. Larutan standar kolesterol 500 ppm dipipet sebanyak 2 mL ke dalam tabung yang dilapisi aluminium foil, ditambahkan 3 mL FeCl_3 dan 2 mL H_2SO_4 , dikocok, kemudian diinkubasi selama 15 menit. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm. Berdasarkan penelitian sebelumnya, warna hijau yang terbentuk dapat terbaca pada panjang gelombang 430 nm (N. I. Rizki *et al.*, 2022).

3.6.11.3. Pengukuran Aktivitas Antikolesterol Atorvastatin

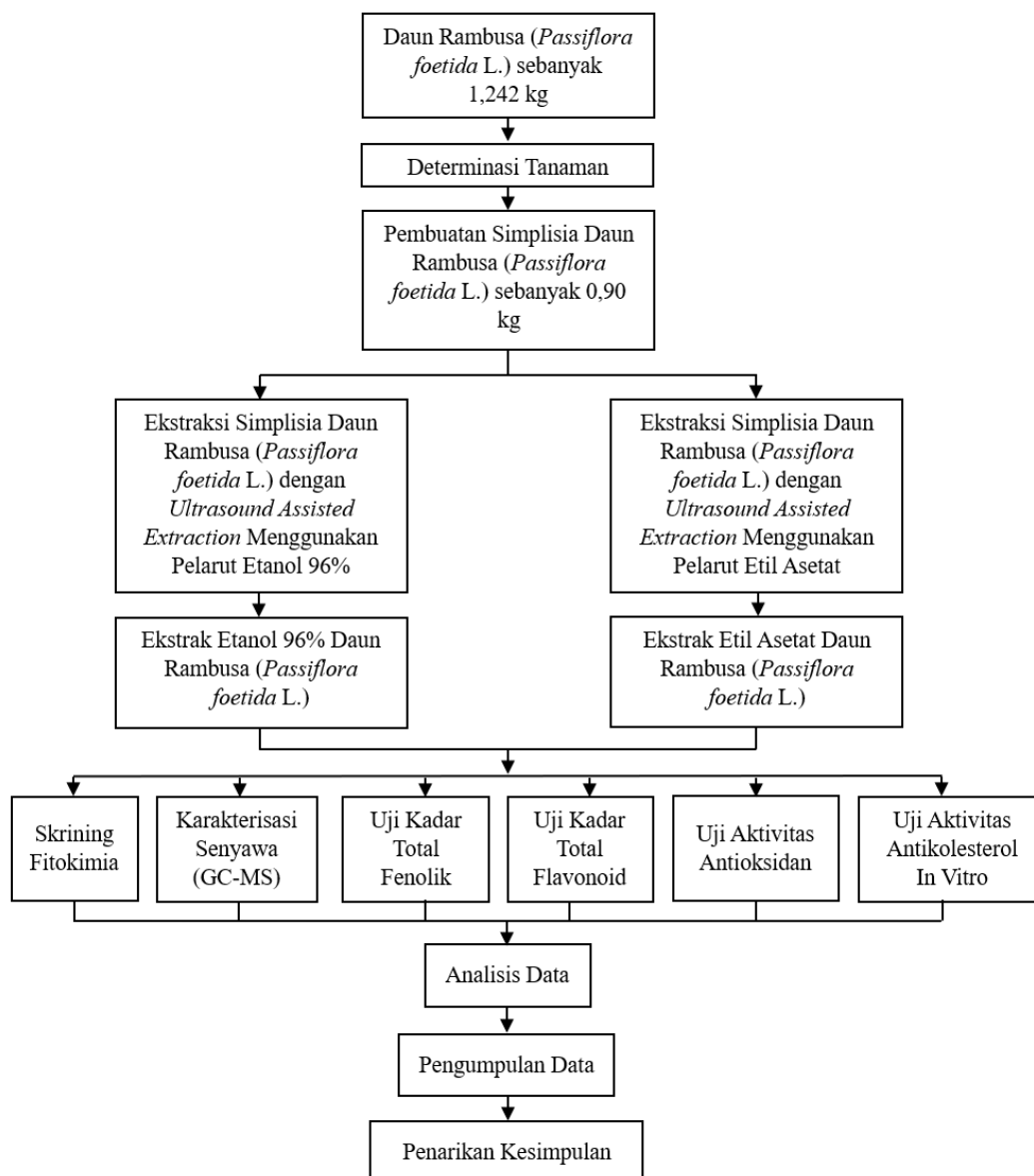
Larutan induk atorvastatin dibuat dengan menimbang 847,67 mg serbuk dari tablet atorvastatin yang digerus dan dilarutkan dalam asam asetat glasial 50 mL. Larutan induk

atorvastatin 1000 ppm kemudian diencerkan menjadi seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Larutan atorvastatin masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 2 mL ke dalam tabung yang dilapisi aluminium foil kemudian ditambahkan 2 mL larutan kolesterol 500 ppm, 3 mL FeCl_3 , dan 2 mL H_2SO_4 , dikocok, kemudian diinkubasi selama 15 menit. Larutan dibaca pada panjang gelombang maksimumnya dengan spektrofotometer UV-Vis. Nilai EC_{50} dihitung dari kurva regresi linier antara konsentrasi larutan uji dari atorvastatin dengan persentase kadar penurunan kolesterol (N. I. Rizki *et al.*, 2022).

3.6.11.4. Pengukuran Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Rambusa

Larutan induk ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dibuat dengan menimbang 100 mg masing-masing ekstrak dan dilarutkan dalam asam asetat glasial 100 mL. Larutan induk ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) 1000 ppm kemudian diencerkan menjadi seri konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. Larutan uji ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun rambusa masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 2 mL, kolesterol 500 ppm, 3 mL FeCl_3 , dan 2 mL H_2SO_4 , dikocok, kemudian diinkubasi selama 15 menit. Larutan dibaca pada panjang gelombang maksimumnya dengan spektrofotometer UV-Vis. Nilai EC_{50} dihitung dari kurva regresi linier antara konsentrasi larutan uji dari ekstrak etanol dan etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dengan persentase kadar penurunan kolesterol (N. I. Rizki *et al.*, 2022).

3.7. Alur Penelitian



Gambar 18. Alur Penelitian

3.8. Pengolahan dan Analisis Data

3.8.1. Analisis Data Kadar Fenolik Total

Kadar fenolik total ekstrak daun rambusa (*Passiflora foetida* L) dihitung dengan menggunakan substitusi nilai-nilai absorbansi rata-rata sampel ke dalam persamaan regresi linear yang didapat dari kurva kalibrasi untuk mendapatkan konsentrasinya. Nilai konsentrasi

sampel yang didapat kemudian disubstitusikan lagi kedalam rumus perhitungan kadar fenolik total berikut:

$$\text{Kadar fenolik total} = \frac{x \times V \times FP}{BS}$$

Keterangan :

x = Konsentrasi (ppm)

V = Volume larutan sampel (ekstrak) (ml)

FP = Faktor pengenceran larutan sampel

BS = Berat sampel (g)

3.8.2. Analisis Data Kadar Flavonoid Total

Kadar flavonoid total ekstrak daun rambusa (*Passiflora foetida* L) dihitung dengan menggunakan substitusi nilai-nilai absorbansi rata-rata sampel ke dalam persamaan regresi linear yang didapat dari kurva kalibrasi untuk mendapatkan konsentrasinya.

Nilai konsentrasi sampel yang didapat kemudian disubstitusikan lagi kedalam rumus perhitungan kadar flavonoid total berikut:

$$\text{Kadar fenolik total} = \frac{x \times V \times FP}{BS}$$

Keterangan :

x = Konsentrasi (ppm)

V = Volume larutan sampel (ekstrak) (ml)

FP = Faktor pengenceran larutan sampel

BS = Berat sampel (g)

3.8.3. Analisis Data Aktivitas Antioksidan

Masing-masing absorbansi larutan sampel ekstrak daun rambusa dan larutan pembanding yang diperoleh digunakan untuk menghitung persen inhibisi dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Selanjutnya, dibuat kurva regresi nilai persen inhibisi terhadap masing-masing konsentrasi sehingga diperoleh persamaan regresi linier. Nilai IC₅₀ ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi linier tersebut, yaitu

$$y = bx + a.$$

Keterangan :

y = % inhibisi

x = konsentrasi sampel

a = intercept

b = slope (harga kemiringan kurva)

Makin rendah nilai IC₅₀ yang diperoleh, maka makin tinggi aktivitas antioksidan dari larutan uji (Irawan *et al.*, 2021)

3.8.4. Analisis Data Aktivitas Antikolesterol

Perhitungan persentase penurunan kadar kolesterol dengan menggunakan persamaan berikut:

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

Keterangan :

A = Persentase penurunan kolesterol

B = Absorbansi kolesterol akhir

C = Absorbansi kolesterol awal

Nilai EC_{50} (*Effective Concentration*) diperoleh dari perhitungan kurva regresi linier antara konsentrasi larutan uji dengan persentase kadar penurunan kolesterol, berikut persamaannya :

$$y = bx + a$$

Keterangan :

y = % penurunan kolesterol

x = konsentrasi sampel

a = *intercept*

b = *slope* (harga kemiringan kurva)

(Lutfiyati *et al.*, 2021).

3.8.5. Uji Statistik

Data hasil pengukuran kadar fenolik total, flavonoid total, aktivitas antioksidan, dan aktivitas antikolesterol akan dilakukan uji statistik menggunakan *tools Statistical Packages for Social Science* (SPSS). Hasil pengukuran yang diperoleh diuji normalitas datanya dengan uji statistik *Shapiro-Wilk* dan diuji homogenitasnya dengan uji statistik *Levene*. Perbedaan rata-rata aktivitas antikolesterol antara atorvastatin (kontrol positif), ekstrak etanol, dan ekstrak etil asetat daun rambusa, dilakukan dengan menggunakan uji statistik *one-Way ANOVA* (*Analysis Of Variance*) jika data terdistribusi normal atau uji statistik *Kruskal Wallis* jika data tidak terdistribusi normal. Hasil uji statistik selanjutnya dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk mengetahui kelompok perlakuan yang berbeda signifikan. Analisis data penelitian ini menggunakan tingkat kepercayaan 95%.

3.9. Etik Penelitian

Penelitian ini telah diajukan dan disetujui oleh bagian Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor persetujuan etik 1647/UN26.18/PP.05.02.00/2025 yang dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

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 rambusa (*Passiflora foetida* L.) memiliki senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, serta senyawa terpenoid seperti *patchouli alcohol*, *seychellene*, *azulene*, *alpha-guaiene*, dan *alpha-patchoulene*.
2. Ekstrak etanol 96% daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) memiliki kadar fenolik total sebesar $105,91 \pm 14,44$ mgGAE/g dan flavonoid total sebesar $39,71 \pm 0,66$ mgQE/g, sementara ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) memiliki kadar fenolik total sebesar $169,66 \pm 29,55$ mgGAE/g dan flavonoid total sebesar $153,98 \pm 4,47$ mgQE/g.
3. Ekstrak etanol 96% daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} sebesar 257,5327 ppm yang termasuk ke dalam kekuatan sangat lemah, sementara ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dengan IC_{50} sebesar 1306,681 ppm yang termasuk ke dalam kekuatan sangat lemah.
4. Ekstrak etanol 96% daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) memiliki potensi antikolesterol dengan nilai EC_{50} pada konsentrasi 288,1755 ppm, sementara ekstrak etil asetat daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) memiliki potensi antikolesterol dengan nilai EC_{50} pada konsentrasi 553,225 ppm.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, penulis menyarankan;

1. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut terkait aktivitas antikolesterol daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dengan metode uji yang berbeda, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.
2. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut terkait daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dengan metode ekstraksi yang berbeda.
3. Perlu dilakukannya fraksinasi dan isolasi senyawa metabolit sekunder daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) untuk mendapatkan aktivitas antikolesterol yang lebih optimal.
4. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut terkait aktivitas biologis yang dimiliki daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dengan metode uji yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, J. M. F. (2014). Dislipidemia. Dalam: Setiati S, Alwi I, Sudoyo Aw, Simadibrata M, Setiyohadi B, Syam Af. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid Ii. Ed Vi. Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam Interna Publishing
- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 12(1), 1–10. <https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS>
- andriani, S., & Anggraini, D. I. (2023). Uji Aktivitas Antikolesterol Variasi Ekstrak Etanol Sawi Pakcoy (*Brassica chinensis*) Secara In Vitro. *Jurnal Farmasi Sains dan Terapan*, 10(1), 44–50. <https://doi.org/10.33508/jfst.v10i1.4574>
- Anulika, N. P., Ignatius, E. O., Raymond, E. S., Osasere, O.-I., & Hilda Abiola, A. (2016). The Chemistry of Natural Product: Plant Secondary Metabolites. *International Journal of Technology Enhancements and Emerging Engineering Research*, 4(8), 1–9. <https://www.researchgate.net/publication/320345446>
- Arif, Z., Zalukhu, A., Karomah, A. H., & Rafi, M. (2022). Antioxidant Capacity, Total Phenolic, and Flavonoid Content from Java Tea (*Orthosiphon aristatus*) Extracts. *Jurnal Jamu Indonesia*, 7(3), 93–101. <https://doi.org/10.29244/jji.v7i3.268>
- Asadujjaman, M., Mishuk, A. U. Ila., Hossain, M. A. sla., & Karmakar, U. K. uma. (2014). Medicinal potential of *Passiflora foetida* L. Plant Extracts: Biological and Pharmacological Activities. *Journal of Integrative Medicine*, 12(2), 121–126. [https://doi.org/10.1016/S2095-4964\(14\)60017-0](https://doi.org/10.1016/S2095-4964(14)60017-0)
- Ayuchecaria, N., Saputera, M. M. A., & Niah, R. (2020). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus Littoralis* Hassk.) Menggunakan Spektrofotometri UV-Visible. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 3(1), 132–141. <https://doi.org/10.36387/jifi.v3i1.478>
- 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. <https://doi.org/10.1093/clinchem/20.7.794>

- Chiavaroli, A., *et al.* (2020). Pharmacological Properties and Chemical Profiles of *Passiflora foetida* L. Extracts: Novel Insights for Pharmaceuticals and Nutraceuticals. *Processes*, 8(9), 1034. <https://doi.org/10.3390/pr8091034>
- Darmapatni, K. A. G., Basori, A., & Suaniti, N. M. (2016). Pengembangan Metode GC-MS untuk Penetapan Kadar Acetaminophen pada Spesimen Rambut Manusia. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 18(3), 255.
- De Caro, C. A., & Claudia, H. (2015). *UV/VIS Spectrophotometry - Fundamentals and Application*. Mettler-Toledo International. <https://www.mt.com/es/es/home/library/guides/laboratory-division/1/uvvis-spectrophotometry-guide-applications-fundamentals.html>
- Dzah, C. S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C., Zhang, J., Chen, G., & Ma, H. (2020). The Effects of Ultrasound Assisted Extraction on Yield, Antioxidant, Anticancer and Antimicrobial Activity of Polyphenol Extracts: A review. *Food Bioscience*, 35, 100547. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100547>
- Feingold, K. R. (2022). Lipid and Lipoprotein Metabolism. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 51(3), 437–458. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2022.02.008>
- Furi, M., Basit, N. Al, Ikhtiarudin, I., & Utami, R. (2020). Penentuan Total Fenolik , Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Kedabu (*Sonneratia ovata* Backer). *Jurnal Farmasi Indonesia*, 12(1), 48–59.
- Grijalva-Guiza, R. E., Grijalva-Montano, T. L., Cuautle, M., Quiroga-González, E., Hernández, L. R., Ortega Aguilar, A., & Jiménez-Garduño, A. M. (2023). Analysis of Beneficial Effects of Flavonoids in Patients with Atherosclerosis Risk on Blood Pressure or Cholesterol during Random Controlled Trials: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Scientia Pharmaceutica*, 91(4), 55. <https://doi.org/10.3390/scipharm91040055>
- Guna, I. M. A. D., Putra, I. N. K., & Wiadnyani, A. A. I. S. (2020). The Effect of Ethanol Concentration of Antioxidant Activity Rambusa Leaves Extract (*Passiflora foetida* L.) with Ultrasonic Assisted Extraction (UAE). *Jurnal Itepa*, 9(3), 291–300.
- Gupta, D. (2015). Methods for Determination of Antioxidant Capacity: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(2), 546–566. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6\(2\).546-66](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6(2).546-66)

- Hariyanti, Hanani, E., & Dayatri, D. Y. (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>
- Hastak, V., Bandi, S., Kashyap, S., & Singh, S. (2018). Antioxidant Efficacy of Chitosan/Graphene Functionalized Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 29(10), 154.
- Helvacı, R. M., Salaz, S., Yalcin, A., Muftuoglu, O. E., Abyad, A., & Pocock, L. (2021). Cholesterol May be a Negative Whereas Triglycerides Positive Acute Phase Reactants in the Plasma. *Asclepius Medical Research and Reviews*, 4(1), 1–8.
- Hotmian, E., Suoth, E., Fatimawali, F., & Tallei, T. (2021). Analisis GC-MS (Gas Chromatography - Mass Spectrometry) Ekstrak Metanol dari Umbi Rumpuk Teki (*Cyperus rotundus* L.). *Pharmacon*, 10(2), 849. <https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.34034>
- Irawan, C., Utami, A., Styani, E., Putri, I. D., Putri, R. K., Dewanta, A., & Ramadhanti, A. (2021). Potential of Ethanolic Extract from Ripe *Musa Balbisiana* Colla Fruit using Ultrasound-Assisted Extraction as an Antioxidant and Anti-Gout. *Pharmacognosy Journal*, 13(6), 1332–1340. <https://doi.org/10.5530/PJ.2021.13.168>
- Irsal, R. A. P., Rosyidah, R. A., Kurnia, M. R. A., Aisyah, S. I., & Nurcholis, W. (2023). Potensi Senyawa Antioksidan dari Tanaman Krokot (*Portulaca Grandiflora*): Narrative Review. *Jurnal Farmamedika (Pharmamedica Journal)*, 8(1), 25–35. <https://doi.org/10.47219/ath.v8i1.192>
- Karmila, & Nuryanti, S. (2021). Analisis Vitamin C pada Buah Rambusa (*Passiflora foetida* L.). *Media Eksakta. Media Eksakta*, 17(1), 46–51. <https://doi.org/https://doi.org/10.22487/me.v17i1.819>
- Kata, F. S., Athbi, A. M., Manwar, E. Q., Al-Ashoor, A., Abdel-Daim, M. M., & Aleya, L. (2018). Therapeutic Effect of the Alkaloid Extract of the Cyanobacterium *Spirulina Platensis* on the Lipid Profile of Hypercholesterolemic Male Rabbits. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(20), 19635–19642. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2170-4>
- Kementrian Kesehatan RI. (2017). Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. In

Departemen Kesehatan RI. <https://doi.org/10.2307/jj.2430657.12>

- Koesnadi, E. A., Putra, I. N. K., & Wiadnyani, A. S. (2021). Pengaruh Waktu Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Rambusa (*Passiflora foetida* L.) Menggunakan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE). *Itepa: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 10(3), 357–366.
- Kukhtenko, H., Bevz, N., Konechnyi, Y., Kukhtenko, O., & Jasicka-Misiak, I. (2024). Spectrophotometric and Chromatographic Assessment of Total Polyphenol and Flavonoid Content in *Rhododendron tomentosum* Extracts and Their Antioxidant and Antimicrobial Activity. *Molecules*, 29(5), 1095. <https://doi.org/10.3390/molecules29051095>
- La, E. O. J., Sawiji, R. T., & Yuliawati, A. N. (2020). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 3(1), 45–58. <https://doi.org/10.52434/jfb.v1i12.859>
- 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>
- Laka, K., Makgoo, L., & Mbita, Z. (2022). Cholesterol-Lowering Phytochemicals: Targeting the Mevalonate Pathway for Anticancer Interventions. *Frontiers in Genetics*, 13, 1–22. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.841639>
- Larasati, I., & Mahbub, K. (2024). Pengaruh Pelarut terhadap Kadar Saponin Ekstrak Daun Teratai (*Nymphaea Nouchali* Burm. F.). 03(02), 1–9.
- Lee, H., Lee, J., Smolensky, D., & Lee, S. (2020). Potential Benefits of Patchouli Alcohol in Prevention of Human Diseases: A Mechanistic Review. *International Immunopharmacology*, 89(August), 107056. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.107056>
- Li, L., Dutkiewicz, E. P., Huang, Y., Zhou, H., & Hsu, C. (2018). 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>
- Lu, M., Ho, C. T., & Huang, Q. (2017). Extraction, Bioavailability, and Bioefficacy of Capsaicinoids. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.10.023>

- Lutfiyati, I., Waznah, U., Slamet, S., & Wirasti, W. (2021). Uji Aktivitas Antikolesterol Partisi N-Heksana, Metanol dan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantiifolia*) Secara In Vitro Iesyi. *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan*, 403–412.
- Maheshwari, V. (2020). Phytochemicals Effective in Lowering Low-Density Lipoproteins. *Journal of Biological Engineering Research and Review*, 7(1), 16–23.
- Mahmudah, R., Himaniarwati, & Imran, S. A. A. (2024). Standarisasi dan Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol Daun Labu Kuning (*Cucurbita moschata* Duch.). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia (JMPI)*, 10(1), 111–121. <https://doi.org/10.35311/jmpi>
- Maidin, A. N., Natsir, H., & Dali, S. (2017). Enzymatic Production of Chitosan From Waste of Rajungan Crab Shell and It's Aplication in Cholesterol Reduction by In Vitro Test. *Indonesia Chimica Acta*, 10(1), 25–34.
- Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound Assisted Extraction for The Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. *Agronomy*, 7(3). <https://doi.org/10.3390/agronomy7030047>
- Mera, I. F. G., Falconí, D. E. G., & Córdova, V. M. (2019). Secondary Metabolites In Plants: Main Classes, Phytochemical Analysis and Pharmacological Activities. *Bionatura*, 4(4), 1000–1009. <https://doi.org/10.21931/RB/2019.04.04.11>
- Michel, J., Rani, N. Z. A., & Husain, K. (2020). A Review on the Potential Use of Medicinal Plants From Asteraceae and Lamiaceae Plant Family in Cardiovascular Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 1–26. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00852>
- Müllertz, A., & Perrie, Y. (2016). *Analytical Techniques in the Pharmaceutical Sciences*. Controlled Release Society.
- Mulyani, E. (2019). Studi In Vitro: Efek Anti Kolesterol Ekstrak Daun Rambusa (*Passiflora Foetida* L). *Jurnal Surya Medika*, 4(2), 60–65. <https://doi.org/10.33084/jsm.v4i2.606>
- Munadi, R., & Arifin, L. (2022). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jahe Putih (*Zingiber officinale* Rosc. var.

- officinarum). *SPIN Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*, 4(2), 163–174. <https://doi.org/10.20414/spin.v4i2.5420>
- Muqowwiyah, L. Z., & Dewi, R. K. (2021). Potensi Ekstrak Daun Alpukat Sebagai Anti Kolesterol. *Jurnal Tadris IPA Indonesia*, 1(3), 403–412.
- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free Radicals, Natural Antioxidants, And Their Reaction Mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986–28006. <https://doi.org/10.1039/c4ra13315c>
- Ning, L. Y., Azmi, A. A. A. R., Syamsumir, D. F., Ismail, W. I. W., & Maulidiani, M. (2023). Phytochemical Screening, TLC Profile and ¹H NMR Analysis of *Passiflora Foetida* Extracts. *Universiti Malaysia Terengganu Journal of Undergraduate Research*, 5(2), 65–74. <https://doi.org/10.46754/umtjur.v5i2.404>
- Ningsih, D. S., Henri, Roanisca, O., & Mahardika, R. G. (2020). Skrining Fitokimia dan Penetapan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Tumbuhan Sapu-Sapu (*Baeckea frutescens* L.). *BIOTROPIKA Journal of Tropical Biology*, 8(3), 178–185. <https://doi.org/10.21776/ub.biotropika.2020.008.03.06>
- Nurman, M., & Afifah, A. (2019). Studi Perbandingan Jus Apel dan Jus Alpukat terhadap Penurunan Kadar Kolesterol pada Orang Yang Mengalam Hiperkolesterolemia Di Wilayah Kerja Puskesmas Bangkinang Kota. *Jurnal Ners*, 3(2), 112–120. <https://doi.org/10.31004/jn.v3i2.840>
- Oktavia, F. D., & Sutoyo, S. (2021). Skrining Fitokimia, Kandungan Flavonoid Total, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan *Selaginella doederleinii*. *Jurnal Kimia Riset*, 6(2), 141–153.
- Olszowy-Tomczyk, M. (2021). How To Express The Antioxidant Properties of Substances Properly? *Chemical Papers*, 75(12), 6157–6167. <https://doi.org/10.1007/s11696-021-01799-1>
- Pandey, A., & Tripathi, S. (2014). Concept of standardization, Extraction and Pre Phytochemical Screening Strategies for Herbal Drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry JPP*, 2(5), 115–119.
- Pandith, S., Bhat, S., & Kumar, K. S. (2022). Morpho-Anatomical, Preliminary Phytochemical and HPTLC Profile of Extra-Pharmacopoeial Herb *Passiflora foetida* Linn. Leaf. *Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine*, 8(3), 173–177. <https://doi.org/10.31254/jahm.2022.8307>

- Parcheta, M., Świsłocka, R., Orzechowska, S., Akimowicz, M., Choińska, R., & Lewandowski, W. (2021). Recent Developments in Effective Antioxidants: The Structure and Antioxidant Properties. *Materials*, 14(8), 1–24. <https://doi.org/10.3390/ma14081984>
- Patil, A., Lade, B., & Paikrao, H. (2015). A Scientific Update on *Passiflora foetida*. *European Journal of Medicinal Plants*, 5(2), 145–155. <https://doi.org/10.9734/ejmp/2015/12015>
- Paulraj, J. A., Subharamanian, H., Suriyamoorthy, P., & Kanakasabapathi, D. (2014). Phytochemical Screening, GC-MS Analysis and Enzyme Inhibitory Activity of *Passiflora foetida* L. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 4(8), 3526–3534.
- 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>
- Pratiwi, D., & Ramadhani, P. (2024). Penerapan dan Identifikasi Kandungan Alkaloid pada Daun Katuk (L .) Merr) Sebagai Pelancar Asi Di Desa Simpang Pulo Rambung. *JKM: Jurnal Kesehatan Mahardika*, 11(2), 102–108. <https://doi.org/10.54867/jkm.v11i2.226>
- Prehanawan, R. P., Rayidah, T., Mulyani, A. S., Ariyanti, R., Safitri, A. N., Maharani, S., Renatasari, D. A., Sarif, N. N., Sulistyani, S., & fortuna, T. A. (2022). Waspada Kolesterol Tinggi : Sebuah Artikel Pengabdian Kepada Masyarakat. *Jurnal Pengabdian Masyarakat Medika*, 2(1), 12–17. <https://doi.org/10.23917/jpmmmedika.v2i1.457>
- Rahiman, S., Tantry, B. A., & Kumar, A. (2013). Variation of Antioxidant Activity and Phenolic Content of Some Common Home Remedies with Storage Time. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines : AJTCAM / African Networks on Ethnomedicines*, 10(1), 124–127. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v10i1.16>
- Rahmah, N., Rohama, & Melviani. (2023). Penetapan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Daun Rambusa (*Passiflora Foetida* L.) dengan Tingkatan Fraksi. *Sains Medisina*, 1(4), 185–190.
- Rahman, S., Putri, A. A., Toepak, E. P., Angga, S. C., & Ysrafil, Y. (2023).

- Aktivitas Antioksidan dan Uji Sitotoksik Infusa Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas*). *Sasambo Journal of Pharmacy*, 4(2), 77–84. <https://doi.org/10.29303/sjp.v4i2.232>
- Ramadhani, M. A., Sunnah, I., & Mardiyanti, D. (2024). Analisis Flavonoid Total Fraksi N-Heksan Ekstrak Biji Labu Kuning (*Cucurbita moschata*) Secara Spektrofotometri UV-VIS. *Journal of Holistics and Health Sciences*, 6(2), 307–317.
- Ramawat, K. G., & Mérillon, J.-M. (2013). *Natural Products Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes*. Springer Verlag. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-051242-6.50006-9>
- Ratnapandian, S., Islam, S., Wang, L., Fergusson, S. M., & Padhye, R. (2013). Colouration of Cotton by Combining Natural Colourants and Bio-Polysaccharide. *The Journal of The Textile Institute*, 104(12), 1269–1276. <https://doi.org/10.1080/00405000.2013.797143>
- Riwanti, P., Izazih, F., & Amaliyah. (2020). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika Artikel*, 2(2), 82–95.
- Rizaldi, G., & Noorwina, S. (2024). Rendemen dan Skrining Fitokimia Simplisia Daun Bayam (*Amaranthus viridis*). *Borneo Journal of Pharmascientech*, 08(01), 62–68.
- Rizki, M. I., Sari, A. K., Kartika, D., Khairunnisa, A., & Normaidah. (2022). Penetapan Kadar Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi dari Ekstrak Etanol Daun Cempedak (*Artocarpus integer*) dengan Metode DPPH. *MPI (Media Pharmaceutica Indonesiana)*, 4(2), 168–178.
- Rizki, N. 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>
- Rubashiny, V., & Haron, N. W. (2015). Macromorphological and Micromorphological Studies of Four Selected Passiflora Species in Peninsular Malaysia. *Pakistan Journal of Botany*, 47(2), 485–492.
- Rudiana, T., Fitriyanti, & Adawiah. (2018). Aktivitas Antioksidan dari Batang

- Gandaria (*Bouea macrophylla* Griff). *EduChemia (Jurnal Kimia dan Pendidikan)*, 3(2), 195–205. <https://doi.org/10.30870/educhemia.v3i2.3328>
- Sedjati, S., Supriyantini, E., Ridlo, A., Soenardjo, N., & Santi, V. Y. (2018). Kandungan Pigmen, Total Fenolik dan Aktivitas Antioksidan *Sargassum sp.* *Jurnal Kelautan Tropis*, 21(2), 137–144. <https://doi.org/10.14710/jkt.v21i2.3329>
- Setyawaty, R., B, R. A., & Dewanto. (2020). Preliminary Studies on the Content of Phytochemical Compounds on Skin of Salak Fruit (*Salacazalacca*) Rety. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 6(1), 1–6.
- Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020). Qualitative Tests for Preliminary Phytochemical Screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 603–608. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
- Sharma, V., & Chaudhary, U. (2016). Pharmacognostic and Phytochemical Screening of *Helicteres isora* roots. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(2), 96–101. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2016.v9s2.12178>
- 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*, 150, 111932. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>
- Slabbert, N. (1992). Complexation of Condensed Tannins with Metal Ions. In R. W. Hemingway & P. E. Laks (Eds.), *Plant Polyphenols: Synthesis, Properties, Significance* (pp. 421–436). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3476-1_23
- Stashenko, E., & Martínez, J. R. (2014). Gas Chromatography-Mass Spectrometry. In *Advances in Gas Chromatography*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/57492>
- Surani, Pujiasmoro, C., & Kadarohman, A. (2023). Determination of Optimum Programmed Temperature for Fatty Acid Analysis of Chlorella Microalgae Extract Using GCMS Instrument. *Unesa Journal of Chemistry*, 12(1), 20–25. <https://doi.org/10.26740/ujc.v12n1.p20-25>
- Sylviningrum, T., Rianto, B. D., Agamonanza, F., & Prima, S. (2024). Potensi Pelarut Etil Asetat pada Ekstraksi Flavanoid dari Tanaman Ciplukan (*Physalis*

angulata L.). *Medical and Health Journal*, 3(2), 232–239.
<https://doi.org/10.20884/1.mhj.2024.3.2.11407>

Tjong, A., Assa, Y. A., & Purwanto, D. S. (2021). Kandungan Antioksidan pada Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) dan Potensi Sebagai Penurun Kadar Kolesterol Darah. *Jurnal E-Biomedik*, 9(2), 248–254.
<https://doi.org/10.35790/ebm.v9i2.33452>

Wardani, E., & Rachmania, R. A. (2017). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol dan Ekstrak Etil Asetat Daun Sirih Merah (*Piper cf. fragile*. Benth) terhadap Penyembuhan Luka Terbuka pada Tikus. *Media Farmasi*, 14(1), 43–60.

Wardhani, R. R. A. A. K., & Pardede, A. (2022). Analisa Fitokimia dan Aktifitas Antioksidan Ekstrak Metanol Batang, Daun, Kulit Buah dan Buah Tanaman Kelubut (*Passiflora foetida*). *Dalton: Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia*, 5(2), 62–74.

Wong, J. P. C., Wijaya, S., Ting, K. N., Wiat, C., Mustafa, K., Shipton, F., & Khoo, T. J. (2014). Crude Ethanol Extract of *Pithecellobium Ellipticum* as a Potential Lipid-lowering Treatment for Hypercholesterolaemia. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014(1), 492703.
<https://doi.org/10.1155/2014/492703>

Yani, N. K. L. P., Nastiti, K., & Noval. (2023). Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Surya Medika*, 9(1), 34–44. <https://doi.org/10.33084/jsm.v9i1.5131>