

**UJI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL FRAKSI ETIL ASETAT
BUAH JERUK PURUT (*Cytrus hystrix* D.C.)
SECARA *IN-VITRO***



Karya Tulis Ilmiah

**Diajukan Sebagai Syarat Untuk Menyelesaikan
Program Pendidikan DIII Farmasi**

Oleh :

Anisa Hidayati

NIM : 14437FA

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2017**

UJI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL FRAKSI ETIL ASETAT

BUAH JERUK PURUT (*Cytrus hystrix* D.C.)

SECARA *IN-VITRO*

THE EXPERIMENT ANTI-CHOLESTEROL ACTIVITY OF KAFFIR LIME

FRUIT (*Citrus hystrix* D.C.) ETHYL ACETATE FRACTION

IN-VITRO

KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan Sebagai Syarat Untuk Menyelesaikan

Program Pendidikan DIII Farmasi

Oleh :

Anisa Hidayati

NIM : 14437FA

PRODI DIII FARMASI

SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL

SURAKARTA

2017

KARYA TULIS ILMIAH

**UJI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL FRAKSI ETIL ASETAT
BUAH JERUK PURUT (*Cytrus hystrix* D.C.)
SECARA *IN-VITRO***

**Disusun Oleh:
Anisa Hidayati
NIM.14437 FA**

Telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji
dan telah dinyatakan memenuhi syarat/sah

Pada tanggal 13 Februari 2017

Tim Penguji

Novena Yety L. S.Farm., M.Sc.,Apt. (Ketua)

Wimpy, M.Pd. (Anggota)

Devina Ingrid Anggraini, S.Si., M.Si. (Anggota)

**Menyetujui,
Pembimbing Utama**

Devina Ingrid Anggraini, S.Si., M.Si.

**Mengetahui,
Ketua Program Studi
DIII Farmasi**

Iwan Setiawan, M.Sc., Apt.

PERSEMBAHAN

“Jatuh ketika berjuang itu hal yang biasa. Namun, bangkit dan berlari setelah jatuh itulah yang luar biasa”

(Anisa Hidayati)

Kupersembahkan untuk:

Ibu-Bapakku tercinta sebagai ungkapan rasa hormat dan baktiku,

Adik-adikku tersayang dan keluarga besarku

Sebagai ungkapan terimakasih atas doa untukku,

Sahabat-sahabat seperjuanganku

Sebagai rasa sayang dan terimakasih atas dukungan untukku,

Almamaterku yang selalu kubanggakan.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis sampaikan atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga panulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Antikolesterol Fraksi Etil Asetat Buah Jeruk Purut (*Cytrus hystrix* D.C.) Secara In-vitro” sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Ahli Madya Farmasi pada Program Studi D3 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.

Dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini, penulis tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Hartono, M.Si., Apt., selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
2. Iwan Setiawan, S.Farm., M.Sc., Apt., selaku Ketua Program Studi D3 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
3. Devina Ingrid Anggraini, S.Si., M.Si., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan motivasi, bimbingan, nasehat, dan petunjuk yang sangat bermanfaat selama proses penyelesaian Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Wimpy, M.Pd., dan Novena Yety L., S.Farm., M.Sc., Apt., selaku dosen penguji yang telah memberikan nasehat dan saran dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Yohana Tri W., A.Md., selaku asisten dosen yang telah membantu dan memberikan nasehat dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

6. Johan A.Md., Wibowo A.Md., dan Ahmad Fauzi selaku laboran yang telah membantu dan memberikan saran dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
7. Seluruh dosen, staf, karyawan, dan pekarya yang telah membantu dan bekerja sama semasa perkuliahan serta dalam penyelesaian Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Teman-teman yang telah membantu dan memberikan dukungan yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat memberikan inspirasi dan pandangan ke depan dalam penelitian selanjutnya.

Surakarta, Januari 2017

Penulis

**UJI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL FRAKSI ETIL ASETAT
BUAH JERUK PURUT (*Cytrus hystrix* D.C.)
SECARA *IN-VITRO***

**Anisa Hidayati
14437 FA**

INTISARI

Makanan cepat saji banyak mengandung kolesterol. Kolesterol dalam jumlah normal diperlukan sebagai bahan pembentuk dinding sel dan pembentukan hormon. Namun kadar kolesterol yang tinggi di dalam tubuh dapat menyebabkan terjadinya hiperkolesterol dan jika berlangsung lama dapat menyebabkan hipertensi dan penyumbatan pada pembuluh darah otak, jantung, dan pembuluh darah tungkai. Buah jeruk purut (*Cytrus hystrix* D.C.) mempunyai kandungan seperti flavonoid, fenolik dan vitamin C yang diduga dapat menurunkan kadar kolesterol.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas antikolesterol dari fraksi etil asetat buah jeruk purut dan besar nilai EC_{50} -nya secara *in-vitro*. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode refluks dengan pelarut metanol kemudian dipekatkan lalu dipartisi dengan air dan etil asetat (1:1). Uji aktivitas antikolesterol dilakukan dengan metode *Lieberman-Burchard*. Fraksi etil asetat buah jeruk purut dibuat dengan seri konsentrasi 1080 ppm, 1200 ppm, 1320 ppm, 1440 ppm dan 1560 ppm. Hasil penelitian menunjukkan persentase rata-rata penurunan kadar kolesterol setelah pemberian fraksi etil asetat berturut-turut dari konsentrasi besar kekecil yaitu sebesar 28,6857% (0,3169%), 34,7815% (0,2113%), 45,1857% (0,4799%), 49,6273% (0,0634%) dan 56,2383% (0,2426%). Nilai EC_{50} aktivitas antikolesterol fraksi etil asetat buah jeruk purut yaitu 1441,7361 ppm.

Kata kunci: Buah jeruk purut, Antikolesterol, *Lieberman-Burchard*

**THE EXPERIMENT ANTI-CHOLESTEROL ACTIVITY OF KAFFIR
LIME FRUIT (*Citrus hystrix* D.C.) ETHYL ACETATE FRACTION
IN-VITRO**

**Anisa Hidayati
14437 FA**

ABSTRACT

Fast food contains lots of cholesterol. Cholesterol in normal amount is required as a precursor of the cell walls and the formation of hormones. However, high cholesterol levels in the body can lead to hypercholesterol and if it lasts a for long time, it can cause hypertension and blockage in the blood vessels of the brain, heart, and legs. Kaffir lime fruit contains flavonoids, phenolic, and vitamin C which is supposed to decrease cholesterol levels.

This research was conducted in order to determine anti-cholesterol activity of ethyl acetate fraction of kaffir lime fruit in vitro and EC_{50} its great value invitro. Extraction method used in this research is the method of refluks with methanol as the concentrated and then partitioned with water and ethyl acetate (1:1). Anti-cholesterol activity test was conducted by Lieberman-Burchard. Ethyl acetate fraction kaffir lime fruit was made with concentration series 1080 ppm, 1200 ppm, 1320 ppm, 1440 ppm, and 1560 ppm. The result showed a percentage decrease in cholesterol levels after administration of ethyl acetate fraction respectively for 28,6857% (0,3169%), 34,7815% (0,2113%), 45,1857% (0,4799%), 49,6273% (0,0634%) dan 56,2383% (0,2426%). EC_{50} activity of anti-cholesterol ethyl acetate fraction of kaffir lime fruit is 1441,7361 ppm.

Keywords: Kaffir lime fruit, Anti-Cholesterol, Lieberman-Burchard

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PRAKATA	iv
INTISARI	vi
<i>ABSTRACT</i>	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I (PENDAHULUAN)	
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II (TINJAUAN PUSTAKA)	
A. Tanaman Jeruk Purut (<i>Cytrus hystrix</i> D.C.).....	5
B. Kolesterol	8
C. Flavonoid dan Fenolik	12
D. Vitamin C	14

E. Tanin	16
F. Saponin	18
G. Ekstraksi	20
H. Spektrofotometri	21
I. Penelitian Serupa yang Pernah Dilakukan	23
J. Hipotesis	23
 BAB III (METODE PENELITIAN)	
A. Desain Penelitian	24
B. Tempat dan Waktu Penelitian	24
C. Populasi dan Sampel	24
1. Populasi	24
2. Sampel	24
D. Besar Sampel	25
E. Variabel Penelitian	26
F. Kerangka Pikir	27
G. Jalan Penelitian	28
H. Alat dan Bahan	29
I. Cara Kerja	29
1. Determinasi Tanaman <i>Cytrus hystrix</i> D.C.	29
2. Penyiapan Bahan dan Preparasi Sampel	30
3. Pembuatan Larutan Sampel	30
4. Uji Kualitatif	31
5. Pembuatan Larutan Baku Kolesterol	32

6. Penentuan <i>Operating Time</i>	32
7. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan Kolesterol ..	32
8. Pembuatan Kurva Standar	33
9. Penentuan Aktivitas Antikolesterol dari Fraksi Etil Asetat Buah Jeruk Purut	33
J. Analisis Data	34
BAB IV (HASIL DAN PEMBAHASAN)	
A. Determinasi Tanaman	36
B. Penyiapan Bahan dan Preparasi Sampel	36
C. Identifikasi Senyawa	39
1. Uji senyawa fenolik	40
2. Uji senyawa flavonoid	41
3. Uji senyawa vitamin C	41
4. Uji senyawa saponin	42
5. Uji senyawa tanin	42
D. Uji Aktivitas Antikolesterol	44
1. Penentuan <i>Operating Time</i>	45
2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal	46
3. Pembuatan Kurva Standar	47
4. Uji Aktivitas Antikolesterol	48
BAB V (KESIMPULAN DAN SARAN)	
A. Kesimpulan	54
B. Saran	54

DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	59

DAFTAR TABEL

Tabel I.	Ambang Batas Kadar Kolesterol Total.....	10
Tabel II.	Spektrum Cahaya Tampak dan Warna-warna Komplementer.....	22
Tabel III.	Hasil Identifikasi Senyawa Fenolik.....	40
Tabel IV.	Hasil Identifikasi Senyawa Flavonoid.....	41
Tabel V.	Hasil Identifikasi Senyawa Vitamin C.....	41
Tabel VI.	Hasil Identifikasi Senyawa Saponin.....	42
Tabel VII.	Hasil Identifikasi Senyawa Tanin.....	42
Tabel VIII.	Nilai Absorbansi Kurva Standar.....	47
Tabel IX.	Penurunan Kadar Kolesterol.....	49
Tabel X.	Persamaan Regresi linier.....	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Jeruk Purut.....	5
Gambar 2.	Struktur Kolesterol.....	8
Gambar 3.	Struktur Flavonoid.....	12
Gambar 4.	Reaksi Oksidasi Reduksi Vitamin C.....	15
Gambar 5.	Struktur Vitamin C	16
Gambar 6.	Bagan Besar Sampel.....	25
Gambar 7.	Bagan Kerangka Pikiran.....	27
Gambar 8.	Bagan jalan penelitian.....	28
Gambar 9.	Dugaan Reaksi Hidrolisis O-glikosida.....	38
Gambar 10.	Reaksi Pembentukan Kompleks Berwarna Senyawa Fenolik oleh FeCl ₃	40
Gambar 11.	Reaksi Antara Tanin dan Gelatin.....	43
Gambar 12.	Reaksi Pembentukan Warna Hijau antara Kolesterol Dengan Pereaksi <i>Lieberman-Burchard</i>	45
Gambar 13.	Spektrum Panjang Gelombang Maksimum Larutan Kolesterol...	46
Gambar 14.	Kurva Larutan Standar Kolesterol.....	47
Gambar 15.	Kurva Hubungan Antara Konsentrasi Dengan % Penurunan Kolesterol.....	50
Gambar 16.	Ikatan Kimia Antara Kolesterol Dengan Senyawa Flavonoid.....	52
Gambar 17.	Reaksi Antara Kolesterol Dengan Vitamin C.....	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Surat Keterangan Determinasi Tanaman Jeruk Purut.....	59
Lampiran 2.	Buah Jeruk Purut.....	60
Lampiran 3.	Instrumen Penelitian.....	61
Lampiran 4.	Metode Ekstraksi.....	62
Lampiran 5.	Hasil Kompleks Warna.....	63
Lampiran 6.	Uji Kualitatif Ekstrak Buah.....	64
Lampiran 7.	Uji Kualitatif Fraksi Etil Asetat Buah Jeruk Purut.....	65
Lampiran 8.	Pembuatan Larutan Baku Kolesterol.....	66
Lampiran 9.	Data <i>Operating Time</i>	69
Lampiran 10.	Pembuatan Larutan Sampel.....	70
Lampiran 11.	Data Perhitungan Persen Aktivitas Antikolesterol.....	71
Lampiran 12.	Persamaan Regresi Rinier dan EC ₅₀ Fraksi Etil Asetat Buah Jeruk Purut.....	74

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Gaya hidup masyarakat Indonesia saat ini berubah sangat signifikan. Hal itu disebabkan karena semakin rendahnya keseimbangan antara aktivitas dan olah raga terhadap pola makan masyarakat sehingga masalah kesehatan sering timbul. Salah satu perubahan gaya hidup yang terjadi yaitu perubahan pola makan masyarakat yang seharusnya dijaga dengan mengkonsumsi makan-makanan yang sehat, namun saat ini banyak masyarakat yang lebih suka mengkonsumsi makanan cepat saji (*fast food*) yang banyak mengandung lemak jenuh. Faktor penyebab terjadinya hiperkolesterolemia selain pola makan yaitu kurangnya berolahraga dan tingginya tingkat depresi.

Hiperkolesterolemia adalah suatu kondisi dimana meningkatnya konsentrasi kolesterol dalam darah yang melebihi normal. Kolesterol merupakan salah satu unsur lemak yang mempunyai fungsi penting dan diperlukan dalam berbagai proses metabolisme tubuh, seperti untuk bahan pembentuk dinding sel dan pembentukan hormon (Wijayakusuma, 2008). Kolesterol dapat diabsorpsi dengan lambat dari saluran pencernaan ke dalam saluran limfe usus. Sejumlah kecil kolesterol dipakai oleh: (1) kelenjar adrenal untuk membentuk hormon adrenokortikal, (2) ovarium untuk membentuk progesteron dan estrogen, dan (3) testis untuk memproduksi testosteron (Guyton dan Hall, 2008).

Kadar kolesterol total yang tinggi akan membentuk aterosklerosis yang dapat menyebabkan hipertensi dan penyumbatan pada pembuluh darah otak, jantung, dan pembuluh darah tungkai. Aterosklerosis merupakan suatu penyakit terbentuknya plak di dinding pembuluh arteri besar yang mengakibatkan menyempitnya rongga pembuluh darah dan menurunkan elastisitas pembuluh darah tersebut. Penyumbatan pada pembuluh darah otak akan menyebabkan penyakit serebrovaskular seperti stroke. Penyumbatan pada pembuluh darah jantung dapat menyebabkan penyakit kardiovaskular seperti jantung koroner. Sedangkan penyumbatan pembuluh darah tungkai menyebabkan penyakit pembuluh darah tepi yang sering terjadi pada kaki yang dapat menimbulkan keluhan nyeri, kram, dan ganren (Garnadi, 2012).

Usaha-usaha yang dapat dilakukan untuk menurunkan kolesterol dalam darah yaitu menghindari faktor penyebab terjadinya hiperkolesterol dan mengkonsumsi obat-obatan sintetis. Obat-obat sintetis jika dikonsumsi oleh tubuh dalam jangka panjang akan menimbulkan efek samping yang berbahaya. Sebaiknya dalam pengobatan hiperkolesterolemia digunakan bahan-bahan alam seperti buah atau sayuran. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Agustini, dkk. (2007) bahwa labu siam mengandung pektin yang dapat menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida. Sedangkan menurut Amin (2015), buah parijoto yang mengandung flavonoid, saponin dan tanin mampu menurunkan kolesterol dan lipid dalam darah. Penelitian lain tentang aktivitas antikolesterol juga dilakukan oleh Priatna, dkk. (2015) bahwa ekstrak buah strawberry memberikan efek antikolesterol sebesar 69,778% dan 74,541%.

Sementara untuk ekstrak buah pepino memberikan aktivitas kolesterol sebesar 74,78% dan 69,86%.

Salah satu tanaman yang diduga memiliki efek antikolesterol yaitu jeruk purut. Buah ini memiliki banyak manfaat karena kandungan yang terdapat di buah jeruk purut. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Juanda, dkk. (2015) bahwa jeruk purut memiliki kandungan total fenol dengan kadar 141,7 mg GAE/100g jus dan antioksidan dengan EC_{50} sebesar 1.255,07 $\mu\text{g/mL}$. Devy, dkk. (2010) juga meneliti tentang kandungan flavonoid pada tanaman jeruk purut. Hasil penelitian membuktikan bahwa kandungan flavonoid tertinggi pada tanaman jeruk purut yaitu pada bagian buah sebesar 18,8 ppm. Senyawa aktif yang terkandung dalam jeruk purut menurut Ismawan (2012) yaitu flavonoid, glikosida (naringin, hesperidin, neohesperidin), kumarin, bergamottin, oxypeucedain, minyak atsiri terdiri dari citronelal, geranial, dan d-limonene.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dilakukan penelitian terhadap pengaruh pemberian sari jeruk purut dalam menurunkan kadar kolesterol.

B. Perumusan Masalah

Apakah fraksi etil asetat buah jeruk purut (*Cytrus hystrix* D.C.) memiliki aktivitas antikolesterol dan berapakah nilai EC_{50} -nya secara *in-vitro*?

C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui aktivitas antikolesterol dari fraksi etil asetat buah jeruk purut (*Cytrus hystrix* D.C.) dan besar nilai EC_{50} -nya secara *in-vitro*.

D. Manfaat Penelitian

1. Untuk memberikan informasi kepada masyarakat bahwa buah jeruk purut (*Cytrus hystrix* D.C.) dapat digunakan sebagai alternatif untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah.
2. Untuk memberikan informasi kepada masyarakat agar menggunakan bahan alami untuk pengobatan hiperkolesterolemia karena lebih aman dan memiliki efek samping yang lebih ringan dibanding obat-obatan sintetik.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini bersifat deskriptif eksperimental. Bersifat deskriptif karena data yang diperoleh dipaparkan sebagai hasil, dan eksperimental karena sampel yang diuji diberikan manipulasi perlakuan sebelum dianalisis melalui berbagai perbedaan konsentrasi sampel.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi, Stikes Nasional Surakarta pada bulan November 2016 – Januari 2017.

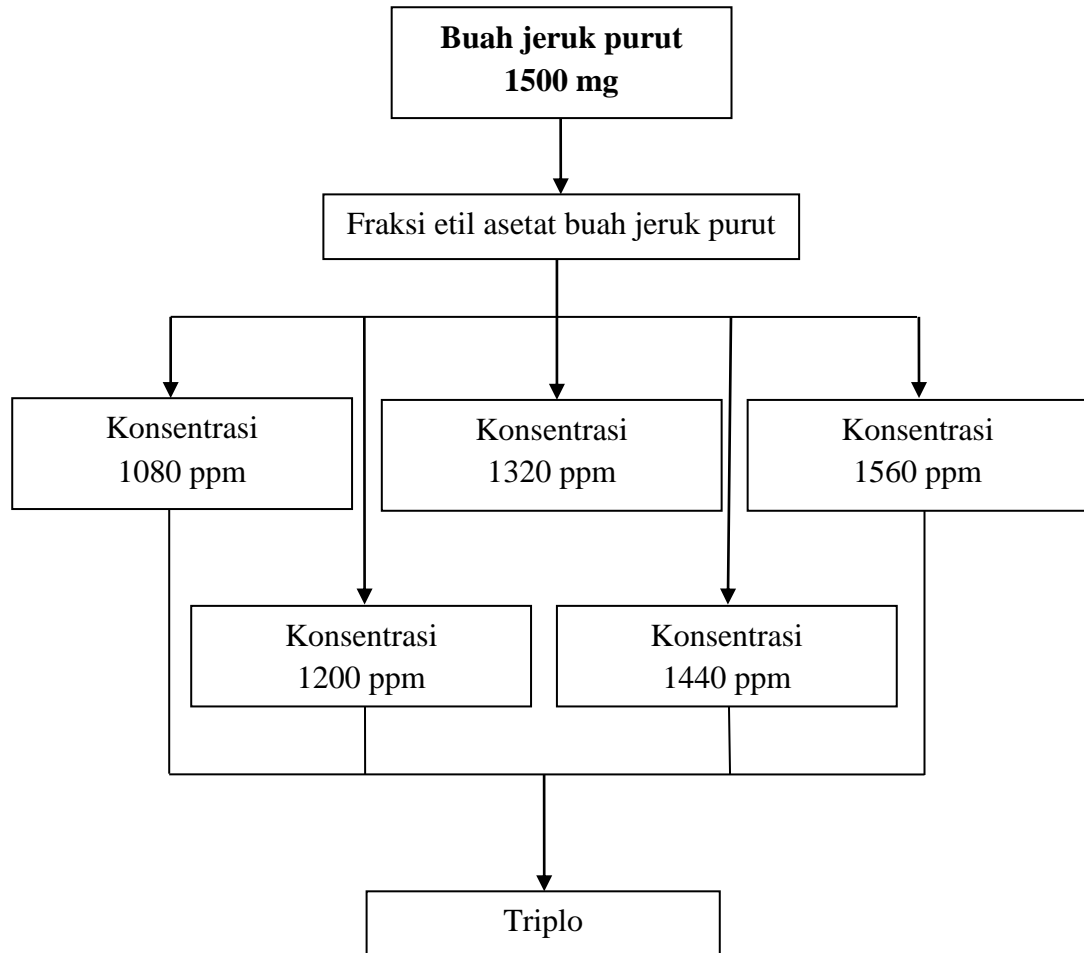
C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah jeruk purut di daerah Karanganyar.

2. Sampel

Sampel yang digunakan yaitu buah jeruk purut dari yang diambil dari daerah Gondangrejo RT 3 RW 2, Jatikuwung, Gondangrejo, Karanganyar.

D. Besar Sampel**Gambar 6. Bagan besar sampel**

E. Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan variabel penelitian:

1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi fraksi etil asetat buah jeruk purut (*Cytrus hystrix* D.C.).

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas penurunan kadar kolesterol fraksi etil asetat buah jeruk purut (*Cytrus hystrix* D.C.).

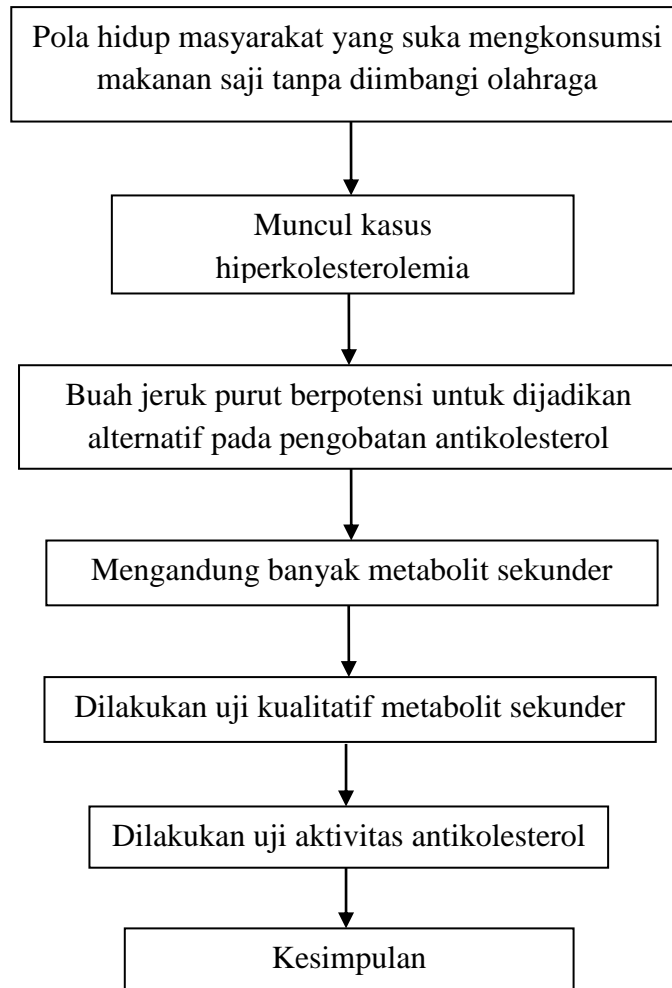
3. Variabel Terkontrol

Dalam penelitian ini yang berperan sebagai variabel terkontrol adalah konsentrasi baku kolesterol 92,5%, metode uji aktivitas antikolesterol.

Batasan yang digunakan peneliti yaitu :

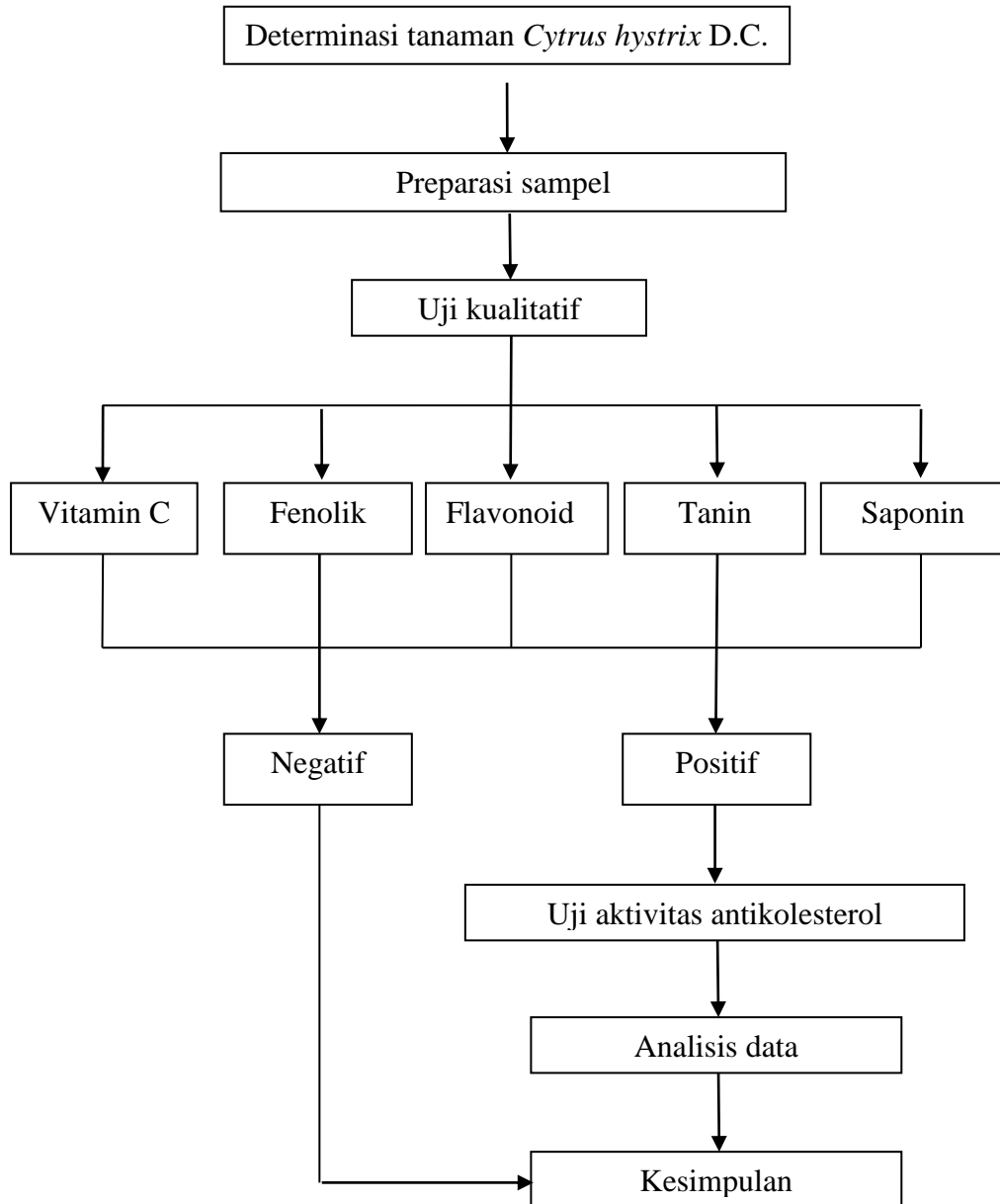
- a Pembuatan larutan baku kolesterol 1000 ppm yaitu baku kolesterol 92,5% sama dengan 925000 ppm. Jadi 100 gram baku kolesterol 92,5% setara dengan 92,5 gram baku kolesterol 100%.
- b Metode uji aktivitas antikolesterol yang digunakan yaitu metode *Lieberman Burchard*.

F. Kerangka Pikir



Gambar 7. Bagan kerangka pikiran

G. Jalan Penelitian



Gambar 8. Bagan jalan penelitian

H. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan analitik (Ohaus Pioneer dengan sensitivitas 0,0001 g dan minimal penimbangan 0,1000 g), kertas saring, aluminium foil, sentrifugasi, dan Spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu UV mini-1240), kuvet Hellma *Analytic type* No 100.600 *QG Light path lotum*, alat-alat gelas seperti gelas beker dan labu ukur (pyrex). Selain itu digunakan pula alat-alat penunjang yang lazim digunakan dalam analisis spektrofotometri.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu buah jeruk purut (*Citrus hystrix D.C.*) sebanyak 1500 mg, NaOH 10%, FeSO₄, larutan Besi (III) Klorida, aseton, serbuk asam borat, serbuk oksalat, eter, asam klorida 2N, asam klorida 1N, larutan gelatin 0,5%, baku kolesterol, H₂SO₄ pekat, asam asetat anhidrat, kloroform pa, etil asetat, dan metanol pa.

I. Cara Kerja

1. Determinasi Tanaman *Cytrus hystrix D.C.*

Determinasi dilakukan terlebih dahulu untuk memperoleh kepastian bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian berasal dari tanaman yang dimaksud, sehingga kemungkinan timbulnya kesalahan dalam pengumpulan bahan penelitian dapat dihindari. Identifikasi dan determinasi tanaman jeruk purut (*Cytrus hystrix D.C.*) dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT).

2. Penyiapan Bahan dan Preparasi Sampel

a Penyiapan bahan

Buah dipilih yang masih utuh atau tidak rusak dan sudah matang (Juanda, 2015). Buah dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir lalu dikupas bagian kulitnya kemudian ditimbang 1500 mg.

b Preparasi sampel

Sampel sebanyak 1500 mg dimasukkan ke dalam gelas beker ditambah dengan 10 ml asam klorida 1N dan 100 ml metanol kemudian di refluks selama 60 menit. Ekstrak yang dihasilkan disaring, lalu dipekatkan. Ekstrak kering dilarutkan dengan 50 ml air dan dipartisi dengan 50 ml etil asetat. Fraksi etil asetat dipisahkan lalu dikeringkan. Fraksi etil asetat dilarutkan dengan 25 ml kloroform (Devy, dkk., 2010).

3. Pembuatan Larutan Sampel

a Pembuatan larutan untuk uji kualitatif

- 1) Ekstrak buah jeruk purut yang didapat dilakukan uji kualitatif.
- 2) Fraksi etil asetat kering dilarutkan dengan etanol 96% lalu dilakukan uji kualitatif.

b Pembuatan larutan untuk uji kuantitatif

Larutan fraksi etil asetat buah jeruk purut akan menjadi larutan dengan kadar 60.000 ppm. Larutan fraksi etil asetat buah jeruk purut 60.000 ppm dibuat seri konsentrasi 1080 ppm, 1200 ppm, 1320 ppm, 1440 ppm dan 1560 ppm dengan menggunakan kloroform.

4. Uji Kualitatif

a Identifikasi Fenolik

Larutan diambil kurang lebih 1 ml ditambah 1 ml larutan besi (III) klorida membentuk warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang berarti positif mengandung senyawa fenolik (Harborne, 1995).

b Identifikasi Flavonoid

Larutan diambil 0,5 ml ditambah dengan 5 ml amonia encer dan 5 ml asam sulfat pekat. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna dari kuning kehijauan menjadi kuning karena penambahan asam sulfat pekat (Markham, 1988).

c Identifikasi Vitamin C

Larutan diambil 2 ml lalu ditambah 2 tetes NaOH 10% dan 2 ml FeSO₄. Campuran akan menghasilkan larutan kuning hingga orange jika mengandung vitamin C (Winarno, 1992).

d Identifikasi Saponin

Larutan diambil sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambah air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama sepuluh detik. Terbentuknya buih yang mantap setinggi 1 sampai 10 cm, tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin (Depkes RI, 1995).

e Identifikasi Tanin

Larutan diambil kurang lebih 1 mL ditambah dengan larutan gelatin 0,5 %. Terbentuknya endapan menunjukkan adanya tanin (Himesh, dkk., 2011).

5. Pembuatan Larutan Baku Kolesterol

Larutan baku induk kolesterol dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm yaitu dengan cara melarutkan 0,0541 gram serbuk baku kolesterol 92,5% dalam 50,0 ml kloroform.

6. Penentuan *Operating Time*

Penentuan *operating time* dapat ditentukan dengan cara diambil 0,350 ml larutan baku induk kolesterol 1000 ppm lalu dicukupkan dengan kloroform sampai volume 5,0 ml kemudian direaksikan dengan asam asetat anhidrat 2,0 ml dan 0,1 ml H₂SO₄ pekat. *Operating time* diukur tiap menit mulai dari menit pertama hingga menit yang menunjukkan absorbansi maksimal atau stabil menggunakan panjang gelombang maksimal untuk deteksi kolesterol. Kemudian dibuat hubungan antara waktu pengukuran dengan absorpsi larutan, untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil.

7. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan Kolesterol

Penentuan panjang gelombang maksimum dapat ditentukan dengan spektrofotometri visibel dengan cara dilakukan *scanning* panjang gelombang dari larutan standar kolesterol dengan konsentrasi 80 ppm dalam labu 5,0 ml yang diambil dari larutan induk 1000 ppm sebanyak 0,350 ml lalu dicukupkan dengan kloroform sampai volume 5,0 ml. Lapisan luar tabung ditutup dengan aluminium foil untuk melindungi dari cahaya, kemudian direaksikan dengan asam asetat anhidrat 2,0 ml dan 0,1 ml H₂SO₄ pekat. Larutan didiamkan selama 7 menit. pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer visibel dengan panjang gelombang 500-700 nm pada menit ke-8 (Karyati, 2013).

8. Pembuatan Kurva Standar

Pembuatan 5 seri konsentrasi dilakukan dengan mengambil dari larutan induk kolesterol 1000 ppm sebanyak 0,35; 0,40; 0,45; 0,50; dan 0,55 ml, kemudian dicukupkan volumenya masing-masing hingga 5,0 ml dengan kloroform sehingga dihasilkan masing-masing larutan dengan konsentrasi 70, 80, 90, 100 dan 110 ppm. Masing-masing larutan tersebut ditambahkan asam asetat anhidrat 2,0 ml dan 0,1 ml H₂SO₄ pekat kemudian dihomogenkan dengan menggunakan sentrifugasi, lapisan luar tabung ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan diukur sesuai dengan panjang gelombang maksimalnya. Tahap selanjutnya dibuat kurva hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi (Karyati, 2013).

9. Penentuan Aktivitas Antikolesterol dari Fraksi Etil Asetat Buah Jeruk Purut

Seri konsentrasi 1080, 1200, 1320, 1440, dan 1560 ppm fraksi etil asetat buah jeruk purut dalam kloroform masing-masing konsentrasi diambil 5,0 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 5,0 ml baku kolesterol dengan konsentrasi 220 ppm dalam kloroform. Diambil 5,0 ml dari campuran tersebut, disentrifugasi selama 2 menit kemudian ditambahkan 2 ml asam asetat anhidrat dan 0,1 ml H₂SO₄ pekat. Larutan didiamkan di tempat gelap selama waktu 8 menit hingga terbentuk perubahan warna menjadi hijau. Penelitian dilakukan triplo. Hasil warna yang diperoleh dibaca dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimalnya (Hardiningsih dan Nonik, 2006).

Larutan blangko yang digunakan pada penelitian ini adalah 5,0 ml kloroform ditambah 2 ml asam asetat anhidrat dan 0,1 ml H₂SO₄ pekat, sedangkan kontrol positif yang digunakan berupa 5,0 ml larutan kolesterol 110 ppm dalam kloroform ditambah asam asetat anhidrat dan 0,1 ml H₂SO₄ pekat.

J. Analisis Data

Absorbansi yang diperoleh dari pengukuran sampel fraksi etil asetat buah jeruk purut dibandingkan dengan larutan baku kolesterol untuk mengetahui persen kadar penurunan kolesterol. Perhitungan persentase kadar penurunan kolesterol menggunakan rumus berikut :

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

Keterangan :

A = % penurunan kolesterol

B = Absorbansi kolesterol

C = Absorbansi kontrol positif

Presisi diperoleh dengan cara menetapkan % inhibisi kadar tiga sampel masing-masing tiga kali pengulangan (n = 3). Persen presisi dilihat dari nilai Koefisien Variasi (% KV). Semakin kecil nilai % KV maka data yang diperoleh semakin baik.

Presisi dinyatakan dengan % KV, dengan persamaan:

$$\% KV = \left(\frac{SD}{\bar{X}} \right) \times 100\%$$

Keterangan :

% KV = Koefisien variasi

SD = Standar deviasi

\bar{X} = Rata-rata

Nilai EC_{50} merupakan suatu nilai untuk menggambarkan besarnya konsentrasi fraksi etil asetat dari buah jeruk purut (*Cytrus hystrix* D.C.) yang dapat menurunkan kadar kolesterol total sebesar 50%. Perhitungan nilai EC_{50} menggunakan persamaan garis regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel uji (X) dengan aktivitas penurunan kadar kolesterol rata-rata (Y) dari seri pengukuran sampel secara triplo. Semakin kecil nilai EC_{50} -nya maka senyawa uji tersebut mempunyai keefektifan sebagai penurun kadar kolesterol yang lebih baik. EC_{50} dihitung dari kurva regresi linier antara konsentrasi sampel uji dari fraksi etil asetat buah jeruk purut versus % aktivitas antikolesterol, yaitu:

$$Y = Bx + A$$

Keterangan:

Y = Persen inhibisi

x = konsentrasi sampel

A = Intercep

B = Slope / harga kemiringan kurva

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Ada aktivitas antikolesterol fraksi etil asetat buah jeruk purut (*Cytrus hystrix* D.C.) dengan nilai EC₅₀ yaitu 1441,7361 ppm secara *in-vitro*.

B. SARAN

Berdasarkan hasil penelitian maka peneliti menyarankan :

1. Agar dilakukan penelitian uji aktivitas antikolesterol dari buah jeruk purut (*Cytrus hystrix* D.C.) secara *in vivo*.
2. Agar dilakukan penelitian uji aktivitas antikolesterol dari buah atau sayuran lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, K., Azizahwati, dan Marlina, S., 2007, Pengaruh Lama Pemberian Formula Ekstrak Buah Labu Siam (*Sechium edule*) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total dan Trigliserda Tikus Putih Jantan, *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, **6**, 2, 60-64
- Akhyar, 2010, Uji Daya Hambat dan Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Akar dan Buah Bakau (*Rhizophora stylosa* Griff.) Terhadap *Vibrio harveyi*, *Skripsi*, Universitas Hasanuddin, Makasar
- Amin, M. S., 2015, Studi In-vitro ; Efek Antikolesterol dari Ekstrak Metanol Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Terhadap Kolesterol Total, *Skripsi*, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta
- Asokawati, 2013, Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol dan Isolat Flavonoid Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* Milers) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Secara In-Vitro, *Skripsi*, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi “Yayasan Pharmasi”, Semarang
- Brotosisworo, S., 1979, *Obat Hayati Golongan Glikosida*, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta
- Bruneton, J., 1999, *Pharmacognosy Phytochemistry Medical Plant*, 2nd edition, translated by Caroline K. Halton, Intercept Ltd., New York
- Burke, R.. W., Diamondstone, B, I., Velapoldi, R, A., dan Menis, O., 1974, Mechanisms of the Lieberman-Burchard and Zak Color Reactions for Cholesterol, *Clinical Chemistry*, **20**, 7, 794-801
- Dalimartha, 2000, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2*, Trubus Agriwidya, Jakarta
- Demam, J. M., 1997, *Kimia Makanan*, ITB, Bandung
- Depkes RI, 1980, *Materia Medika Indonesia. Jilid III*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Depkes RI, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Depkes RI, 1995, *Farmakope Indonesia Edisi IV*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Depkes RI, 1995, *Materia Medika Indonesia Jilid IV*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta

- Depkes RI, 2000, *Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Devy, N. F., Yulianti, F., dan Andrini, 2010, Kandungan Flavonoid dan Limonoid pada Berbagai Fase Pertumbuhan Tanaman Jeruk Kalamondin (*Cytrus mitis* Blanco) dan Purut (*Cytrus hystrix* D.C.), *J. Hort*, **20**, 4, 360-367
- Effendy, 2006, *Teori VSEPR, Kepolaran dan Gaya Antarmolekul*, Bayumedia Publishing, Malang
- Fasya, A. Ghanaim, 2016, Potensi Antikanker dan Antioksidan Serta Identifikasi Isolat Steroid Mikroalga *Chorella sp.*, *Laporan Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang
- Gandjar, I. G., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta
- Garnadi, Yudi, 2012, *Hidup Nyaman Dengan Hiperkolesterol*, Agromedia Pustaka, Jakarta
- Goodman dan Gilman, 2001, *The Pharmacological Basic of Therapeutic Edisi 10*, Mc Graw-Hill, USA
- Guyton, A. C. dan Hall, J. E., 2008, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 11* (Irawati, Dian Ramadhani, Fara Indriyani, Frans Dany, Imam Nuryanto, Srie Sisca Prima Riyanti, Titiek Resmisari & Y. Joko Suyono, Penerjemah), EGC, Jakarta
- Hagerman, A. E., 2002, *Tannin Handbook*, Oxford: Departement of Chemistry and Biochemistry, Miami University, USA
- Handoko, D. S. P., 2006, Kinetika Hidrolisis Maltosa pada Variasi Suhu dan Jenis Asam sebagai Katalis, *SIGMA*, **9**, 1, 9-17
- Harborne, J. B., 1987, *Phytochemical Methods*, Terbitan kedua diterjemahkan oleh Padmawinata. K dan Soediro L., ITB, Bandung
- Harborne, 1995, *The Flavonoids First Edition*, CRC Press, Florida
- Hardiningsih, R., dan Novik, N., 2006, Pengaruh Pemberian Pakan Hiperkolesterolemia Terhadap Bobot Badan Tikus Putih Wistar yang Diberi Bakteri Asam Laktat, *Biodiversitas*, **7**, 127-130

- Harmita, 2004, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, **1**, 3, 117-135
- Himesh, Soni, Sarvesh, S., Sharan, P. S., Misha, K., dan Singhai, A. K., 2011, Preliminary Phytochemical Screening and HPLC Analysis of Flavonoid from Methanolic Extract of Leaves of *Annona squamosa*, *International Research Journal of Pharmacy*, **5**, 242–246
- Ismawan, B., 2012, *Herbal Indonesia Berkhasiat Bukti Ilmiah & Cara Meracik Volume 08*, Trubus, Depok
- Juanda, D., Budiana, W., dan Ridwan., I. M., 2015, Penetapan Kadar Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan dari Jus Buah Lima Spesies Jeruk (*Citrus sp.*), *Jurnal Farmasi Galenika*, **2**, 1, 36-42
- Karyati. H., 2013, Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol dan Isolat Flavonoid Daun Murbei (*Murbei alba* L.) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Secara In Vitro, *Skripsi*, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi “Yayasan Pharmasi”, Semarang
- Kurniawati, L.Y., 2013, Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Buah Kersen (*Muntingia calabura* Linn) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Secara In vitro, *Skripsi*, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi, Semarang
- Kurniawati, N., 2010, *Sehat dan Cantik Alami Berkat Khasiat Bumbu Dapur*, Mizan Pustaka, Bandung
- Leemensand, 1991, *Plant Resources of South East Asia 3 Dye and Tanin Production Plant*, Pudoc Wagengan, Netherland
- Markham, K. R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Diterjemahkan oleh Padmawinata, K., ITB, Bandung
- Marzuki, Asnah, 2012, *Kimia Analisis Farmasi*, Dua Satu Press, Makasar
- Mursyidi, Ahmad, 1989, *Analisis Metabolit Sekunder*, Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Otto, M. W. K., 1982, *Human Biochemistry*, Morty Company London, London
- Perry, R. H. dan Green, D. W., 1984, *Perry Engineering Handbook 6th Ed*, Mc Graw Hill Book Company Inc, New York
- Priatna, H. M., Sartika, A. I., dan Ambaryani, R., 2015, Uji Banding Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol Buah Pepino (*Solanum muricatum. Ait*)

dan Buah Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duchesne) Pada Tikus Putih Jantan, *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, **13**, 1, 165-172

Raymound, C., Paul, J., dan Quin, E., 2009, *Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth Edition*, Pharmaceutical Press and American Pharmacists Assosiation, USA

Robinson, T., 1995, *The Organic Constituent of Higher Plants*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Edisi VI, ITB, Bandung

Rusli, M. S., 2010, *Sukses Memproduksi Minyak Atsiri*, PT Agromedia Pustaka, Jakarta

Sarwono, B., 1986, *Jeruk dan Kerabatnya*, Penebar Swadaya, Jakarta

Sirait, 2007, *Penuntun Fitokimia Dalam Farmasi*, ITB, Bandung

Soeharto, I., 2002, *Kolesterol dan Lemak Jahat, Kolesterol dan Lemak Baik dan proses Terjadinya Serangan Jantung dan Stroke*, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta

Sudjadi, dan Rohman, A., 2004, *Analisa Obat dan Makanan*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta

Tjay, T. H., dan Rahardja, K., 2002, *Obat-Obat Penting Khasiat Penggunaan dan Efek Samping Ed IV*, Gramedia, Jakarta

Tjay, T. H., dan Rahardja, K., 2008, *Obat-Obat Penting Khasiat Penggunaan dan Efek Samping Ed VI*, Gramedia, Jakarta

Tulandi, G. P., Sudewi, dan Sri., Lolo, W, A., 2015, Validasi Metode Analisis Untuk Penetapan Kadar Parasetamol Dalam Sediaan Tablet Secara Spektrofotometri Ultraviolet, *Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT*, **4**, 4, 171-172

Underwood dan Day, Jr., 2002, *Analisa Kimia Kuantitatif Edisi V*, Erlangga, Jakarta

Wijayakusuma, H., 2008, *Rumah Herbal Penurun Kolesterol*, Pustaka Bunda, Jakarta

Winarno, F. G., 1992, *Kimia Pangan dan Gizi*, Gramedia, Jakarta

Wunas, Yeanny dan Susanti, 2011, *Analisa Kimia Farmasi Kuantitatif (revisi kedua)*, Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi UNHAS, Makasar