

## UJI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL EKSTRAK ETANOL DAUN SERAI (*Cymbopogon citratus*) DENGAN CARA SPEKTROFOTOMETER UV-Vis

*Delsya Arfatadiya Khoiroh<sup>1\*</sup>, Titi Agni Hutahaen<sup>2</sup>, Nawafila Februyani<sup>3</sup>*

<sup>1,2,3</sup>Universitas Nahdlatul Ulama Sunan Giri, Bojonegoro, Indonesia

Email: [delsya.a.k@gmail.com](mailto:delsya.a.k@gmail.com)

\*corresponding author

### Abstrak

Kolesterol adalah lemak yang ada dalam aliran darah atau dalam sel tubuh. Lipid atau kolesterol sebenarnya diperlukan untuk membuat dinding sel dan menghasilkan beberapa hormon, tetapi penyakit jantung koroner dan stroke dapat terjadi karena kadar kolesterol yang berlebihan. Pengukuran nilai  $EC_{50}$  berpotensi mengetahui suatu senyawa dalam pemurnian keefektifan konsentrasi maksimal dan pengujian skrining KLT berperan mengidentifikasi pemisahan sampel dalam ekstrak berupa pola kromatografi yang khas berdasarkan kepolaran antara sampel dan pelarut sehingga memunculkan gugus kovalen yang mampu menyerap radiasi dalam UV-Vis. Tujuan penelitian dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol daun serai dan nilai  $EC_{50}$  penurunan kadar kolesterol ekstrak etanol daun serai. Aktivitas antikolesterol ditentukan dengan uji skrining fitokimia menggunakan KLT dan metode Liebermann-Burchard yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 410 nm. Hasil uji fitokimia menggunakan KLT pada ekstrak etanol daun serai mengandung senyawa Flavonoid dengan nilai Rf 0,85 dan 0,89 dan senyawa Terpenoid nilai Rf 0,48 , 0,75 dan 0,92. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun serai memiliki nilai  $EC_{50}$  sebesar 61,70 ppm. Ekstrak etanol daun serai memiliki aktivitas antikolesterol dengan kuat.

**Kata kunci:** Antikolesterol; *Cymbopogon citratus*; Spektrofotometer UV-Vis; Uji KLT

### Abstract

Cholesterol is a fat present in the bloodstream or in the body's cells. Lipids or cholesterol are actually needed to make cell walls and produce some hormones, but coronary heart disease and stroke can occur due to excessive cholesterol levels. Measurement of the  $EC_{50}$  value has the potential to determine a compound in the purification of the effectiveness of the maximum concentration and KLT screening testing plays a role in identifying the separation of samples in the extract in the form of a typical chromatographic pattern based on the polarity between the sample and the solvent so that it gives rise to covalent groups that are able to absorb radiation in UV-Vis. The purpose of the study was to determine the secondary metabolite compounds of lemongrass leaf ethanol extract and the  $EC_{50}$  value of reducing cholesterol levels of lemongrass leaf ethanol extract. Anticholesterol activity was determined by phytochemical screening test using KLT and Liebermann-Burchard method measured by UV-Vis spectrophotometer at 410 nm wavelength. The results of phytochemical tests using KLT on lemongrass leaf ethanol extract contained Flavonoid compounds with Rf values of 0.85 and 0.89 and Terpenoid compounds with Rf values of 0.48, 0.75 and 0.92. The results showed that lemongrass leaf ethanol extract has an  $EC_{50}$  value of 61.70 ppm. Lemongrass leaf ethanol extract has strong anticholesterol activity.

**Keywords:** Anticholesterol, *Cymbopogon citratus*, UV-Vis Spectrophotometer, KLT Test

## PENDAHULUAN

Gaya hidup modern yang dipengaruhi oleh perkembangan teknologi menyebabkan peningkatan masalah kesehatan, khususnya yang terkait dengan pola makan tidak sehat dan konsumsi makanan cepat

saji tinggi lemak jenuh dan kolesterol (Tanjung et al., 2022). Kadar kolesterol naik diperkirakan menyebabkan 29,7 juta kematian per tahun dan 2,6 juta kematian per tahun. Saat ini, hiperkolesterolemia masih dianggap tinggi. Tingkat prevalensi global kira-kira 45%, Asia Tenggara 30%, dan Indonesia 35% (Balitbangkes, 2013; Kemenkes, 2017; WHO, 2019). Aterosklerosis adalah kondisi di mana timbunan lemak atau plak di lapisan pembuluh darah dapat dengan mudah menyumbat pembuluh darah. Akibatnya, tekanan darah meningkat sebagai akibat dari tahanan perifer yang lebih tinggi (Tanjung et al., 2022).

Kolesterol adalah lemak alami dengan rumus steroida. Tubuh menggunakan kolesterol untuk membuat hormon kelamin, hormon anak ginjal, vitamin D, dan asam empedu, serta untuk membuat zat penting seperti membran sel dan bahan isolasi sekitar serat saraf. Konsumsi berlebihan dapat menyebabkan hiperkolesterolemia, peningkatan kolesterol dalam darah yang dapat menyebabkan kematian dalam jangka waktu yang lama (Listiyana et al., 2013). Kadar kolesterol tinggi dalam darah mengancam kesehatan jantung dan pembuluh darah. Variabel genetik dan lingkungan memengaruhi kadar kolesterol (Yoga Adhi Dana & Hanifah Maharani, 2022). Hiperkolesterolemia, yang disebabkan oleh pola hidup yang tidak sehat dan konsumsi makanan yang mengandung kolesterol tinggi, terkait dengan risiko penyakit jantung koroner, stroke, hipertensi, dan obesitas (Subandrate et al., 2020). Terdapat berbagai macam obat untuk mengendalikan hiperkolesterolemia saat ini, tetapi efek samping dari obat-obatan ini seringkali menyebabkan pasien tidak menerimanya dan mengakibatkan pengabaian yang tinggi. Akibatnya, banyak orang mencari pengobatan hiperkolesterolemia yang lebih alami. Salah satu tanaman obat yang diyakini masyarakat adalah serai (Bandi et al., 2021).

Serai (*Cymbopogon citratus*) juga digunakan secara empiris sebagai anti radang, mengurangi rasa sakit, dan memperbaiki sirkulasi darah. Manfaat lain termasuk meredakan sakit kepala, batuk, nyeri lambung, haid tidak teratur, sakit otot, dan bengkak setelah melahirkan (Ramadhan et al., 2022). Kajian etnofarmakologi daun serai menunjukkan daun serai memiliki aktivitas antispasmodik, analgesik, anti-inflamasi, antipiretik, diuretik, ansiolitik, antihipertensi dan obat penenang, namun tidak umum digunakan untuk mengontrol kolesterol serta aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 71,96 ppm (Hutahaen & Februyani, 2023). Tanaman serai juga mengandung saponin, alkaloid, dan flavonoid, dan telah ditunjukkan untuk menurunkan kadar kolesterol total dan LDL serta mencegah enzim  $\beta$ -HMG-CoA reductase (Ekpenyong et al., 2014). Pengukuran nilai EC<sub>50</sub> berpotensi mengetahui suatu senyawa dalam pemurnian keefektifan konsentrasi maksimal dan pengujian skrining KLT berperan mengidentifikasi pemisahan sampel dalam ekstrak berupa pola kromatografi yang khas berdasarkan kepolaran antara sampel dan pelarut sehingga memunculkan gugus kovalen yang mampu menyerap radiasi dalam UV-Vis (Andriani & Anggraini, 2023). Metode ini dipilih karena sangat spesifik untuk mengukur komponen golongan steroid, termasuk kolesterol.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian meliputi glass, gelas ukur, cawan porselen, rotary evaporator, botol gelap, timbangan analitik, tabung reaksi, water bath, oven, pipet, micro pipet, kuvet, silica gel 60 F452, vortex, dan spektrofotometer UV-Vis.

### **Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian antara lain ekstrak etanol daun serai (*Cymbopogon citratus*), aquadest, etanol 70 %, etyl asetat, n-Heksana, klorofom, baku kolesterol, asam sulfat pekat, asam asetat anhidrat.

## **Prosedur Penelitian**

### **Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Serai**

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Serai dilakukan menggunakan metode maserasi. Daun Serai segar diambil, kemudian disortasi basah dengan pencucian menggunakan air mengalir hingga bersih, ditiriskan dan dikeringkan sehingga bebas dari air. Selanjutnya dikeringkan pada suhu 40°C dengan oven. Simplisia daun serai dihaluskan dan diayak dengan pengayak no 60 mesh. Simplisia serbuk daun serai sebanyak 250 gram diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% perbandingan (1:7,5) dan dimasukkan dalam toples kaca. Maserat yang terbentuk selanjutnya diuapkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu kurang lebih 60°C dan filtrate yang dihasilkan diuapkan menggunakan waterbath pada suhu 45°C hingga diperoleh ekstrak kental (Wijayanti et al., 2021).

### **Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Serai**

Serai (*Cymbopogon citratus*) sebanyak 2 g sampel hasil ekstrak ditambahkan 10 mL Etanol P.A, kemudian filtrat disaring dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sampel ditotolkan pada fase diam (silica gel F<sub>254</sub>) dan selanjutnya hasil dielusi menggunakan fase gerak masing-masing sesuai dengan identifikasi senyawa. Hasil KLT berupa noda atau bercak kemudian hasil totolan diangin-anginkan dan kemudian dilakukan pemeriksaan di bawah Scanner KLT sehingga teridentifikasi nilai Rf (Retention factor). Identifikasi Flavonoid menggunakan fase gerak kloroform : metanol : aquadest (80:18:2) dan identifikasi Terpenoid menggunakan fase gerak n-heksana : etyl asetat (4:1) (Munawarah, 2021).

### **Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol Daun Serai Terhadap Penurunan Kolesterol**

#### **Pembuatan Larutan Baku Kolesterol**

Pembuatan larutan baku induk berupa larutan kolesterol dalam kloroform dengan konsentrasi sebesar 1000 ppm diawali dengan ditimbang sebanyak 25 mg serbuk kolesterol yang ditempatkan dalam labu ukur 25 ml. Ke dalam labu ukur tersebut ditambahkan kloroform hingga tanda batas volume 25 ml, labu ukur kemudian dikocok hingga serbuk kolesterol larut sepenuhnya (Amin, 2015).

#### **Penentuan Panjang Gelombang Maksimal**

Pembuatan larutan standar kolesterol dilakukan dengan dipindahkan sebanyak 1 ml larutan baku kolesterol 1000 ppm ke dalam labu ukur 10 ml. Ke dalam labu ukur tersebut, larutan diencerkan dengan kloroform hingga tanda batas volume 10 ml dan dikocok kuat-kuat. Larutan standar kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan direaksikan dengan asam asetat anhidrat sebanyak 2,0 ml dan asam sulfat pekat sebanyak 0,1 ml. Tabung reaksi dilapisi dengan aluminium foil sehingga larutan terhindar dari paparan sinar matahari. Larutan kemudian didiamkan selama 15 menit dan dianalisis panjang gelombang maksimumnya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada rentang 400-700 nm (Widyastuti, 2018).

#### **Penentuan Operating Time**

Pembuatan larutan standar kolesterol dilakukan dengan dipindahkan sebanyak 1 ml larutan baku kolesterol 1000 ppm ke dalam labu ukur 10 ml. Ke dalam labu ukur tersebut, larutan diencerkan dengan kloroform hingga tanda batas volume 10 ml dan dikocok kuat-kuat. Larutan standar kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan direaksikan dengan 2 ml asam asetat anhidrat dan 0,1 ml asam sulfat pekat. Tabung reaksi dilapisi dengan aluminium foil sehingga larutan terhindar dari paparan sinar matahari. Absorbansi larutan standar diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum tiap 2 menit dari menit ke 0 hingga menit ke 30. Hasil pengukuran kemudian diamati hubungan antara waktu pengukuran dan nilai absorbansinya sehingga dapat diketahui waktu pengukuran yang stabil/ operating time (Widyastuti, 2018).

#### **Pembuatan Kurva Baku**

Pembuatan kurva baku diawali dengan pembuatan larutan seri kolesterol dengan konsentrasi 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm. Pembuatan larutan seri kolesterol dilakukan dengan memindahkan masing-masing

sebanyak 0,6;0,7;0,8;0,9 dan 1 mL larutan induk kolesterol 1000 ppm ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan dengan kloroform hingga tanda batas. Masing-masing larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan direaksikan dengan asam asetat anhidrat sebanyak 2,0 ml dan asam sulfat pekat sebanyak 0,1 ml. Tabung reaksi dilapisi dengan alumunium foil sehingga larutan terhindar dari paparan sinar matahari. Larutan didiamkan selama operating time dan absorbansi larutan seri kemudian diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dan dibuat kurva hubungan antara konsentrasi dan absorbansi (Widyastuti, 2018).

### **Penentuan Aktivitas Antikolesterol dari Ekstrak Etanol Daun Serai**

Penentuan aktivitas antikolesterol diawali dengan pembuatan larutan standar kolesterol dengan konsentrasi 100 ppm. Pembuatan larutan standar kolesterol dilakukan dengan dipindahkan sebanyak 2,5 ml larutan baku kolesterol 1000 ppm ke dalam labu ukur 25 ml. Ke dalam labu ukur tersebut, larutan diencerkan dengan kloroform hingga tanda batas volume 25 ml dan dikocok kuat-kuat. Larutan standar kemudian dipindahkan ke dalam lima tabung reaksi berbeda dan ke dalam masing-masing tabung direaksikan dengan 2 ml asam asetat anhidrat dan 0,1 ml asam sulfat pekat. Tabung reaksi dilapisi dengan alumunium foil sehingga larutan terhindar dari paparan sinar matahari dan larutan didiamkan selama operating time hingga terbentuk respon warna menjadi hijau.

Selanjutnya dibuat larutan stok ekstrak konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan tersebut kemudian dilanjutkan dengan menyiapkan larutan seri ekstrak dengan konsentrasi 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm dalam labu ukur 10 ml. Ekstrak kemudian diencerkan dengan etanol 96% hingga tanda batas dan diaduk hingga larut. Masing-masing larutan ekstrak kemudian ditambahkan ke dalam tabung reaksi berisi kolesterol yang telah direaksikan dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Dalam larutan tersebut kemudian diamati perubahan warna yang terbentuk dan dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Amin, 2015).

### **Penentuan Nilai $EC_{50}$ dan Analisa Data**

Analisis data dilakukan dengan menghitung penurunan kadar kolesterol dan nilai  $EC_{50}$  untuk mengetahui berapa kadar antikolesterol yang dapat diturunkan oleh ekstrak etanol daun serai (*Cymbopogon citratus*). Penurunan kadar kolesterol dapat dihitung dengan rumus:

$$A=(C-B)/C \times 100\%$$

Keterangan:

A = %kolesterol yang berkurang

B = absorbansi kolesterol+sampel

C = absorbansi control positif

Nilai  $EC_{50}$  ditentukan untuk mengetahui besarnya aktivitas antikolesterol menggunakan persamaan berikut:

$$Y=bx+a$$

Keterangan:

Y = % penurunan kolesterol

X = konsentrasi sampel

a = intercept

b = slope/ harga kemiringan kurva

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pembuatan Simplisia Daun Serai (*Cymbopogon citratus*)

Langkah pertama yang dilakukan dalam penelitian yaitu proses pembuatan simplisia daun serai, proses pembuatan simplisia nabati secara umum yaitu meliputi pengumpulan bahan dasar, penyortiran basah, perajangan, pengeringan dan penyortiran kering (Fajriaty et al., 2018). Timbang 1 kg daun serai segar yang telah disortasi basah untuk menghindari kotoran, ranting, dan daun yang sudah rusak. Simplisia diproses dengan cara mengeringkan daun serai yang dapat dilakukan dengan cara mekanis maupun tradisional. Pengeringan daun serai dilakukan secara mekanis yaitu pengeringan menggunakan oven dengan suhu 45°C. Tujuan pengeringan ini adalah untuk mencegah reaksi enzimatis yang dapat merusak atau mengubah kandungan zat kimia dalam daun serai (Pratiwi et al., 2023). Tujuan dari perajangan ini yaitu untuk mempercepat pengeringan daun karena permukaannya yang lebih kecil menghasilkan pengeringan yang lebih cepat. Setelah kering sempurna daun serai kembali disortasi untuk mengeluarkan bahan asing atau pengotor dari daun serai kering. Simplisia daun serai yang masih utuh kemudian diserbukan dengan blender dan diayak dengan ayakan mesh no.60. Tujuannya adalah untuk menghasilkan serbuk yang lebih halus dengan menggunakan ayakan mesh no. 60. Proses penyaringan merupakan proses yang sangat penting untuk menentukan ukuran partikel yang akan digunakan. Pada simplisia daun serai menghasilkan berat serbuk 500 gram dengan warna coklat.



Gambar 1. Simplisia Daun Serai

Dari proses penyerbukan, sebelum di hasilkan serbuk halus yang sempurna sama rata, peneliti melakukan pengulangan beberapa kali pengulangan penghalusan. Hal ini dikarenakan simplisia daun serai tidak bisa langsung halus dalam 1 kali penghalusan. Hal ini dikarenakan simplisia daun serai tidak bisa langsung halus dalam 1 kali penghalusan. Banyaknya serat yang terdapat pada daun serai membuat daun serai cukup sulit dihaluskan. Tujuan utama dari penyerbukan yaitu untuk memperkecil ukuran partikel serbuk simplisia daun serai sehingga akan memperluas permukaan serbuk yang nanti akan mempermudah penarikan bahan kimia dalam daun serai saat ekstraksi. Selanjutnya, serbuk simplisia dimasukkan ke dalam wadah yang bersih, tertutup rapat, dan disimpan di tempat kering.

### Ekstraksi Simplisia Daun Serai (*Cymbopogon citratus*)

Pemilihan pelarut sangat penting dalam ekstraksi pelarut seperti maserasi karena dapat mempengaruhi efisiensi ekstraksi dan perolehan senyawa zat aktif dalam sampel ekstrak yang dibuat (Zhang et al., 2018) Pelarut dipilih berdasarkan hukum intermisibilitas dan kesamaan. Nilai polaritas pelarut yang mendekati polaritas zat terlarut akan lebih baik daripada nilai polaritas yang jauh lebih rendah. Pelarut ekstraksi diklasifikasikan menurut tingkat kepolarannya, dimulai dengan n-heksana yang paling tidak polar hingga air yang paling polar (Poojar et al., 2017). Dalam penelitian ini, pelarut etanol 70% digunakan. Metabolit sekunder yang bersifat polar, seperti senyawa fenolik dan flavonoid, dapat diekstraksi dengan sangat baik dari pelarut alkohol universal yang bersifat polar, seperti etanol dan metanol. Alkohol

mudah terbakar dan menguap, dan tidak membutuhkan panas tinggi untuk mengkonsentrasikan ekstraknya (Poojar et al., 2017).

Memasukkan 250 gram serbuk simplisia ke dalam bejana kaca tertutup memulai penelitian ini untuk membuat ekstrak. Setelah serbuk simplisia terendam sepenuhnya, tambahkan 3,75 liter cairan penyari etanol 70% ke dalam bejana dengan perbandingan 1:7,5 bagian. Simpan larutan sampel di tempat teduh dan terhindar dari sinar matahari langsung, hal ini dilakukan untuk menjaga stabilitas dari sampel ekstraksi, selanjutnya larutan ekstraksi disaring menggunakan kain flanel hingga dihasilkan maserat. Maserat yang dihasilkan dari penyaringan kemudian diuapkan pada suhu 60°C dengan rotary evaporator. Tujuan dari penggunaan rotary evaporator yaitu untuk melepaskan antara pelarut (etanol 70%) dengan senyawa aktif yang ada pada simplisia daun serai sehingga dapat diperoleh ekstrak kental yang belum sempurna. Ekstrak akan kemali diuapkan menggunakan water bath pada suhu 60°C sebagai proses akhir penguapan dari sisa-sisa pelarut yang masih tercampur dengan ekstrak. Digunakan waterbath dengan suhu 60°C dikarenakan waterbath memiliki suhu yang konstan, dengan suhu maksimal dalam penguapan ekstrak 60°C akan tetap menjaga kandungan senyawa metabolit yang terkandung didalamnya. Sehingga nantinya akan dihasilkan ekstrak kental yang murni (Ariani & Niah, 2020). Hasil ekstraksi kemudian ditimbang menggunakan neraca analitik dan selanjutnya dihitung randemen ekstrak.

**Tabel 1.** Hasil Randemen Ekstrak Simplisia Daun Serai (*Cymbopogon citratus*)

Simplisia	Berat Serbuk Simplisia	Berat Ekstrak Kental	% Rendemen
Daun Serai ( <i>Cymbopogon citratus</i> )	250 gram	29,81 gram	11,92 %

Berdasarkan Tabel diatas diketahui bahwa dari 250 gram serbuk simplisia daun serai (*Cymbopogon citratus*) yang direndam dengan kurang lebih 3,75 L pelarut etanol 70% menghasilkan ekstrak kental sebanyak 29,81 gram, sehingga diperoleh randemen ekstrak yaitu 11,92 %. Hasil rendemen ini cukup baik dan berhasil karena telah sesuai dengan standart randemen ekstrak kental daun serai yang ada pada literatur Farmakope Herbal Indonesia edisi ke-II yaitu jumlah rendemen tidak boleh kurang dari 11,4% (Kemenkes RI, 2022).

### Uji Skrinning Fitokimia Menggunakan KLT

Kromatografi memiliki dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase gerak ialah eluen bergerak di atas pelat hingga batas elusi sedangkan fase diam merupakan pelat hanya diam di satu tempat tanpa perlu dipindahkan. Plat fase pada slika gel sebagai fase diam memiliki sifat lebih polar, oleh karena itu senyawa polar cenderung berikatan dengan pelat, sedangkan senyawa non polar meningkat sehingga menghasilkan nilai Rf yang berbeda (Pratiwi et al., 2023). Hasil nilai Rf memberikan informasi tentang jumlah senyawa yang ada dalam sampel berdasarkan perbedaan nilai Rf tiap kelompok metabolit sekunder.

Ekstrak terlihat pada plat KLT yang dibatasi antara tepi atas dan bawah. tepi atas diberikan garis batas dengan jarak 0,5 cm, sedangkan pada tepi bawah diberikan garis batas dengan jarak 1cm, dan garis bawah digunakan untuk menotolkan sampel. Kemudian gunakan pinset untuk memasukkan plat KLT secara vartikal kedalam bejana yang berisi pelarut jenuh, dan area bercak tidak terendam dalam eluen. Spot atau noda yang dihasilkan disemprot dengan reagen semprot sehingga warna becak terlihat pada waktu pendeteksian dibawah lampu UV. Munculnya noda di bawah sinar UV disebabkan oleh intraksi sinar UV dengan gugus kromik yang dilekatkan oleh auksokrom yang terdapat pada noda tersebut. Aukoskrom adalah gugus fungsi yang fungsinya untuk memberikan komposisi warna yang lebih sensitif pada suatu senyawa. Auksoskrom terikat erat dengan keberadaan kromotor dalam senyawa (Aritonang, 2022).

**Tabel 2.** Hasil Nilai Rf Flavonoid Ekstrak etanol daun serai

Warna	Jarak Elusi (Cm)	Jarak Noda (Cm)	Nilai Rf (Cm)	Rf Baku Pemanding
Kuning pucat	5,6	4,8	0,85	0,85-0,92
Hijau	5,6	5	0,89	

**Gambar 2.** Hasil Pengamatan KLT Flavonoid Ekstrak etanol daun serai

Hasil ekstrak etanol daun serai untuk flavonoid menghasilkan 2 warna spot dengan warna kuning pucat nilai Rf 0,85 dan warna hijau nilai Rf 0,89 menurut Munawarah (2021) dengan standar acuan untuk kuersetin murni memberikan nilai Rf sebesar 0,85-0,92. Jadi nilai Rf sampel dengan standar baku pembanding memiliki nilai Rf dengan rentang nilai, sehingga dapat dikatakan bahwa daun serai mengandung flavonoid. flavonoid dapat berpendar dan dapat memberikan warna kuning, hijau, atau biru. Sedangkan untuk warna yang dihasilkan setelah diinjeksikan reagen  $\text{NH}_3$  ke dalam ekstrak etanol daun serai hanya sedikit perubahan warna atau fluoresensi kuning dan hijau. Maka jenis flavonoid yang terikat, mencakup flavonon dengan 3-OH bebas dan memiliki atau tidak memiliki 5-OH bebas (Sianto et al., 2022).

**Tabel 3.** Hasil Nilai Rf Terpenoid Ekstrak etanol daun serai

Warna	Jarak Elusi (Cm)	Jarak Noda (Cm)	Nilai Rf (Cm)	Rf Baku Pemanding
Hijau	5,6	2,7	0,48	0,57-0,97
Hijau kuning	5,6	4,2	0,75	
Kuning	5,6	5,2	0,92	

**Gambar 3.** Hasil Pengamatan KLT Terpenoid Ekstrak etanol daun serai

Hasil pemisahan KLT dari senyawa terpenoid ditunjukkan dari ekstrak etanol daun serai menunjukkan terdapat 3 bercak noda berwarna hijau dengan Nilai Rf 0,48, warna hijau kuning nilai Rf 0,75

dan warna kuning nilai Rf 0,92. Menurut Pratiwi *et al* (2023) mengatakan bahwa baku pembandingan yang digunakan  $\beta$  sitoserol didapat rentang nilai Rf 0,57-0,97. Sehingga nilai Rf sampel dan Rf pembandingan hampir sama nilainya, daun serai dapat dikatakan mengandung terpenoid dan merupakan senyawa terpenoid karena warnanya biru kehijauan setelah diinjeksi dengan pereaksi Lieberman-Burchard. Eluen dapat menunjukkan noda yang banyak karena kepolaran eluen tersebut sebanding dengan analit yang bersifat semi polar. Beberapa nilai Rf ada yang kecil dan ada yang lebih besar, sehingga terbagi menjadi fase gerak dan fase diam.

### Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol Daun Serai Terhadap Penurunan Kolesterol

Metode Lieberman Burchard digunakan untuk menguji aktivitas antikolesterol ekstrak etanol daun serai. Reaksi yang didapat dari metode Lieberman Burchard berfungsi untuk mengetahui jumlah kolesterol bebas pada setelah sampel bereaksi, absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Semakin banyak kolesterol dalam larutan sampel, semakin banyak warna hijau yang dihasilkan, yang berdampak pada hasil pengukuran absorbansi spektrofotometer UV-Vis. Reaksi Lieberman Burchard mengubah asam asetat anhidrat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) menjadi kolestadien dari struktur kolesterol; asam sulfat pekat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) berubah menjadi  $\text{HSO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{O}$ , dan  $\text{SO}_3$ , masing-masing dengan ikatan kolestadien. Asam sulfonat kolestadien dapat berikatan dengan senyawa fitokimia dalam ekstrak tumbuhan. Ini terjadi karena reaksi antara senyawa kolesterol dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Semakin banyak gugus flavonoid yang berikatan, semakin sedikit kolesterol bebas. Ini karena gugus substituen flavonoid lebih suka berikatan dengan asam sulfonat daripada gugus hidroksil, yang menyebabkan larutan menjadi lebih putih (Andriani & Anggraini, 2023).

Pada penelitian ini, konsentrasi kolesterol yang digunakan adalah 200 ppm dalam kloroform. Pilihan kloroform sebagai pelarut didasarkan pada kelarutan kolesterol dalam kloroform, yaitu satu bagian kolesterol non polar larut dalam 4,5 bagian kloroform. Untuk mengetahui aktifitas antikolesterol, bandingkan absorbansi senyawa berwarna hasil reaksi antara kolesterol bebas dan asam asetat anhidrat dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dari larutan kontrol (kolesterol 200 ppm+ asam asetat anhidrat 2 ml + 0,1 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) dengan larutan uji (kolesterol 200 ppm+ ekstrak etanol daun serai + asam asetat anhidrat 2 ml + 0,1 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Kemudian, jumlah penurunan kolesterol yang terjadi dapat dihitung.

Selanjutnya, penentuan operasi waktu dilakukan. Tujuannya adalah untuk menentukan waktu pengukuran senyawa saat absorbansi paling stabil. Hasil dari operating time dilihat dari tidak adanya penurunan absorbansi pada pengukuran menit ke 2 sampai ke menit 30. Hasil absorbansi dari menit ke 10 sampai menit ke 15 larutan baku kolesterol stabil dengan jarak penurunan masing masing 0,001 nm. Jadi, setelah panjang gelombang maksimum dan waktu operasional, 15 menit adalah waktu pembacaan absorbansi yang dipilih, langkah selanjutnya membuat kurva standar kolesterol dengan cara mereaksikan 5 konsentrasi kolesterol dengan 2 ml asam asetat anhidrat dan 0,1 ml asam sulfat pekat. Hasil koefisien korelasi dari kurva standar kolesterol adalah 0,8233. Hasil yang didapat sesuai dengan parameter linearitas yang baik yaitu apabila nilai koefisien regresi mendekati 1 (Amin, 2015).

Kemudian dilanjutkan uji aktivitas antikolesterol pada sampel ekstrak etanol daun serai. Masing-masing sampel dibuat sebanyak 5 seri konsentrasi yaitu 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm dalam kloroform. Dari deret konsentrasi pada sampel diambil 5 ml kemudian ditambahkan 5 ml baku kolesterol konsentrasi 200 ppm. Kemudian campuran antara sampel dan kolesterol di vortex selama 2 menit supaya terbentuk larutan yang homogen. Untuk membandingkan, 5 mililiter campuran diambil dan direaksikan dengan 2 mililiter asam asetat anhidrat dan 0,1 mililiter asam sulfat pekat. Bahan baku kolesterol 200 ppm juga digunakan. Larutan sampel dan larutan pembandingan yang sudah direaksikan didiamkan selama 15 menit agar larutan dapat membentuk kompleks warna hijau dan inkubasi dilakukan ditempat gelap serta terlindung dari cahaya, Ini terjadi karena kolesterol terdegradasi (tidak stabil terhadap cahaya) dan berubah menjadi kolestenon. Setelah didiamkan 15 menit, sebelum dibaca pada spektrofotometer larutan didiamkan selama 20 menit sesuai operating time yang digunakan. Pembacaan dilakukan menggunakan spektrofotometer UV- Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 410 nm. Penggunaan panjang

gelombang visibel dikarenakan reaksi larutan yang membentuk kompleks warna berwarna hijau yang dapat diukur dengan panjang gelombang visibel. Setelah larutan uji dibaca dengan spektrofotometer UV- Vis, selanjutnya untuk menghitung persen penurunan kadar kolesterol, kurangi kadar kolesterol dengan penambahan sampel uji, bagi dengan kadar kolesterol awal 200 ppm, kemudian kali 100 persen (Amin, 2015).

**Tabel 4.** Data Penurunan Kadar Kolesterol Ekstrak Etanol Daun Serai

Abs Baku	Konsentrasi Ekstrak	Abs Ekstrak	% Penurunan Kolesterol	Nilai EC <sub>50</sub>	Kategori Nilai EC <sub>50</sub>
1,0674	50 ppm	0,267	31,26 %	61,70 ppm	Kuat
	75 ppm	0,290	33,24 %		
	100 ppm	0,351	38,48 %		
	125 ppm	0,407	43,29 %		
	150 ppm	0,510	52,14 %		

Hasil pengukuran absorbansi dan perhitungan kadar kolesterol menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun serai dapat menurunkan kadar kolesterol bebas sebanyak 52,14% pada konsentrasi 150 ppm. Maka semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi nilai penurunan kolesterol pada ekstrak etanol daun serai. Nilai EC<sub>50</sub>, juga dikenal sebagai konsentrasi efektif, adalah konsentrasi ekstrak etanol daun serai yang diperlukan Nilai EC<sub>50</sub> dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier  $Y=bx+a$ , di mana nilai X adalah kadar ekstrak dan nilai Y adalah persentase penurunan (Anggraini & Nabillah, 2018). Perhitungan nilai EC<sub>50</sub> menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun serai memerlukan 61,70 ppm untuk mencapai penurunan kadar kolesterol sebanyak 50%. Menurut analisis penurunan kadar kolesterol bebas, penurunan kadar kolesterol terikat dan kadar kolesterol bebas disebabkan oleh peningkatan konsentrasi ekstrak etanol. Akibatnya, kepekatan warna dan nilai absorbansi larutan sampel menurun. Selain itu, perhitungan kadar tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun serai memiliki aktivitas antikolesterol secara in vitro.

Adanya senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dan terpenoid diduga atas kemampuan ekstrak etanol daun serai untuk menurunkan kadar kolesterol. Penelitian yang dilakukan oleh (Bandi et al., 2021) menyebutkan bahwa ekstrak tumbuhan yang mempunyai kandungan senyawa aktif flavonoid, saponin, tannin, dan terpenoid dapat membantu menurunkan kadar kolesterol. Keton atau gugus alkanon pada flavonoid bereaksi dengan gugus hidroksil pada kolesterol untuk membentuk ikatan hidrogen. Akibatnya, kolesterol yang diukur menggunakan alat spektrofotometer bukanlah kolesterol yang terikat flavonoid; itu adalah kolesterol bebas yang bereaksi dengan asam asetat anhidrat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Anggraini & Nabillah, 2018).

Aktivitas antikolesterol daun serai secara in vitro yang disebutkan diatas, berkaitan dengan kemampuan senyawa flavonoid dalam menentukan kadar kolesterol secara in-vivo. Pada penelitian (Bandi et al., 2021) menyebutkan, ekstrak etanol daun serai mampu menurunkan kadar kolesterol pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague dawley dengan dosis 200 mg/kgbb. Salah satu cara flavonoid membantu menurunkan kadar kolesterol adalah dengan menghambat enzim 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reduktase. Karena enzim ini terhambat, asam mevalonat tidak akan terbentuk, dan kadar kolesterol turun. Mekanisme flavonoid lainnya adalah dapat meningkatkan aktivitas dari enzim *Lechitin Cholesterol Acyl (LCAT)*. Enzim LCAT mengubah kolesterol bebas menjadi ester kolesterol yang lebih hidrofobik, yang memungkinkan ester kolesterol untuk berikatan dengan lipoprotein dan membentuk HDL baru. Selain itu, flavonoid juga mampu mengikat LDL dan dapat mengikis endapan kolesterol pada pembuluh darah koroner sehingga kadar kolesterol akan berkurang (Amin, 2015; Anggraini & Nabillah, 2018; Azhar et al., 2018).

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun serai memiliki senyawa metabolit sekunder Flavonoid dan Terpenoid/Steroid yang berpotensi sebagai aktivitas antikolesterol. Hasil skrining uji fitokimia melalui KLT dengan flavonoid nilai Rf 0,85 dan 0,89 Nilai Rf terpenoid 0,48, 0,75 dan 0,92. Ekstrak etanol daun serai menunjukkan bahwa penurunan kolesterol diperoleh nilai EC<sub>50</sub> sebesar 61,70 ppm dengan kategori kuat.

## REFERENSI

- Amin, M. S. (2015). Studi In-vitro : Efek Antikolesterol Dari Ekstrak Metanol Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Terhadap Kolesterol Total. *Skripsi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta*. <https://repository.uinjkt.ac.id/dspace/handle/123456789/37849>
- 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>
- Anggraini, D. I., & Nabillah, L. F. (2018). Activity Test of Suji Leaf Extract (*Dracaena angustifolia* Roxb.) on in vitro cholesterol lowering. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 21(2), 54–58. <https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.54-58>
- Ariani, N., & Niah, R. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok Mentah Secara in Vitro. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 5(2), 161–166. <https://doi.org/10.51352/jim.v5i2.270>
- Aritonang, N. S. (2022). Uji Identifikasi Senyawa Steroid Fraksi Ekstrak Metanol Andaliman (*Zanthoxylum acthopodium* DC ) Secara Kromatografi Lapis Tipis. *Journal Health and Science*, 6(1), 90–98.
- Azhar, R., Julianti, E., Natasasmita, S., & Dharsono, H. D. A. (2018). Antibacterial activity of Zingiber officinale roscoe extract as a potential root canal irrigation solution against *Enterococcus faecalis*. *Padjadjaran Journal of Dentistry*, 30(2), 124. <https://doi.org/10.24198/pjd.vol30no2.18328>
- Bandi, R. G., Lidia, K., & Rini, D. I. (2021). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Sereh Terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Putih. *Cendana Medical Journal (CMJ)*, 9(2), 292–297. <https://doi.org/10.35508/cmj.v9i2.5982>
- Ekpenyong, C. E., Akpan, E. E., & Daniel, N. E. (2014). Phytochemical Constituents, Therapeutic Applications and Toxicological Profile of *Cymbopogon citratus* Stapf (DC) Leaf Extract. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(1), 133–141.
- Fajriaty, I., IH, H., & Setyaningrum, R. (2018). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis dari Ekstrak Etanol Daun Bintangur (*Calophyllum soulattri* burm. F.). *Jurnal Pendidikan Informatika Dan Sains*, 7(1), 54–67.
- Hutahaen, T. A., & Februyani, N. (2023). STANDARDIZATION OF SPECIFIC PARAMETERS OF CITREH (*Cymbopogon citratus*) ETHANOL EXTRACT AS A NATURAL ANTIOXIDANT. *Media Bina Ilmiah*, 17(11), 2701–2708. [https://scholar.google.co.id/citations?view\\_op=view\\_citation&hl=id&user=woVemqIAAAAJ&citation\\_for\\_view=woVemqIAAAAJ:LkGwnXOMwfcC](https://scholar.google.co.id/citations?view_op=view_citation&hl=id&user=woVemqIAAAAJ&citation_for_view=woVemqIAAAAJ:LkGwnXOMwfcC)
- Kemenkes RI. (2022). *Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia: Vol. Edisi II*.
- Listiyana, A. D., Mardiana, M., & Prameswari, G. N. (2013). Obesitas sentral dan kadar kolesterol darah total. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 9(1), 37–43.
- Munawarah. (2021). PENETAPAN KADAR FENOLIK EKSTRAK ETANOL 96 % DAUN KETEPENG CINA (*Cassia alata* L ) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis. In *UIN Allauddin Makassar*.
- Poojar, B., Ommurugan, B., Adiga, S., Thomas, H., Sori, R. K., Poojar, B., Hodlur, N., Tilak, A., Korde, R., Gandigawad, P., In, M., Sleep, R., Albino, D., Rats, W., Article, O., Schedule, P., Injury, C. C., Sori, R. K., Poojar, B., ... Gandigawad, P. (2017). Methodology Used in the Study. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(10), 1–5. <https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS>
- Pratiwi, S. A., Februyani, N., Basith, A., Program, ), Fakultas, S. F., Kesehatan, I., Nahdlatul, U., Sunan,

- U., Bojonegoro, G., Yani, A., 10, N., Bojonegoro, K., Timur, J., & Bojonegoro, K. (2023). Skrining dan Uji Penggolongan Fitokimia dengan Metode KLT pada Ekstrak Etanol Kemangi (*Ocimum basilicum* L) dan Sereh Dapur (*Cymbopogon ciratus*). *Pharmacy Medical Journal*, 6(2), 140–147.
- Ramadhan, E. F., Fachriyah, E., & Kusriani, D. (2022). Potensi Antioksidan Ekstrak Etanol Residu Destilasi Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus*). *Greensphere: Journal of Environmental Chemistry*, 2(1), 14–17. <https://doi.org/10.14710/gjec.2022.14793>
- Sianto, B. V., Rollando, R., & Tambun, S. H. (2022). Uji Aktivitas Antikolesterol Kombinasi Ekstrak Daun Afrika *Vernonia amygdalina* dan Daun Pinus *Pinus merkusii* Secara In Vitro. *Sainsbertek Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi*, 3(1), 322–333. <https://doi.org/10.33479/sb.v3i1.202>
- Subandrate, Susilawati, & Safyudin. (2020). Mentorship of Prevention and Treatment Effort of Hypercholesterolemia in Students. *Jurnal Arsip Pengabdian Masyarakat*, 1(1), 1–7.
- Tanjung, N. U., Amira, A. P., Muthmainah, N., Program, S. R., Ilmu, S., Masyarakat, K., Utara, S., & Abstrak, M. (2022). Junk Food dan Kaitannya dengan Kejadian Gizi Lebih Pada Remaja. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Masyarakat*, 14, 2022.
- Widyastuti, D. R. (2018). *Uji Potensi Antikolesterol Ekstrak Kulit Buah Apel Hijau (Pyrus malus L.) Dengan Metode Spektrofotometri Vis Karya Tulis Ilmiah*.
- Wijayanti, Rina Wahyuno, Subagus Puspitasari, I., & Rizal, D. M. (2021). Increased Reproductive Capacity of Sprague Dawley Male Rats Assessed from the Number of Leydig Cells, Sertoli Cells, Primary Spermatocytes, and the Diameter of The Seminiferous Tubules through the Effect of Methanol Extract, Soluble and Insoluble Fraction. *Academic Journal*, 13(1), 3148. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2021.13.01.484>
- Yoga Adhi Dana, & Hanifah Maharani. (2022). Hubungan Indeks Massa Tubuh Dengan Kadar Kolesterol Pada Karyawan Dan Mahasiswi Politeknik Kudus. *FLORONA : Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 1(1), 1–9. <https://doi.org/10.55904/florona.v1i1.49>