

Test of anticholesterol activity extract and fractions of clove mistletoe leaves (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) in vitro

Uji aktivitas antikolesterol ekstrak serta fraksi daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) secara in vitro

Cindhan Bingar Widyaswara ^{a*}, Rahmat Hidayat ^a, Danang Raharjo ^a

^a Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa, Surakarta.

*Corresponding Authors: cindhanbingar@email.com

Abstract

Background: Increased consumption of foods high in saturated fat and cholesterol can lead to hypercholesterolemia. Although statins are effective in treating hypercholesterolemia, their use may cause adverse effects, creating a need for alternative therapies derived from natural products. Clove mistletoe leaves (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) contain bioactive compounds, particularly flavonoids, which have potential anti-cholesterol activity. **Methods:** Extraction was carried out using the sonication method with 70% ethanol as the solvent. The extract was fractionated using three solvents: water, ethyl acetate, and n-hexane. Phytochemical screening was performed using qualitative tube tests, followed by an in vitro anticholesterol assay using the Liebermann-Burchard method. The IC₅₀ value was calculated using linear regression analysis of the relationship curve of concentration versus percentage of cholesterol reduction. **Result:** The results showed that the ethyl acetate fraction had the highest anticholesterol activity with an IC₅₀ value of 18,043 ppm, followed by the water fraction (22,910 ppm), ethanol extract (41,645 ppm), and n-hexane fraction (85,510 ppm). The IC₅₀ value of the ethyl acetate fraction was the closest to the IC₅₀ value of simvastatin (7,703 ppm) as a positive control. **Conclusions:** The ethyl acetate fraction showed the highest activity with an IC₅₀ value of 18,043 ppm, while the n-hexane fraction showed the lowest activity with an IC₅₀ value of 85,510.

Keywords: Anti-cholesterol, Clove Mistletoe Leaves, Fractionation, In Vitro, Liebermann-Burchard.

Abstrak

Latar Belakang: Peningkatan konsumsi makanan tinggi lemak jenuh dan kolesterol dapat menyebabkan hiperkolesterolemia. Penggunaan obat golongan statin sebagai terapi hiperkolesterolemia diketahui efektif namun berpotensi menimbulkan efek samping sehingga diperlukan alternatif dari bahan alam. Daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid berpotensi sebagai antikolesterol. **Metode:** Proses ekstraksi dilakukan dengan metode sonikasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak difraksinasi menggunakan 3 pelarut yaitu air, etil asetat, dan n-heksan. Sampel diuji skrining fitokimia menggunakan uji tabung, kemudian diuji aktivitas antikolesterol secara in vitro menggunakan metode Liebermann-Burchard. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan analisis regresi linier dari kurva hubungan konsentrasi versus persentase penurunan kolesterol. **Hasil:** Hasil menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antikolesterol tertinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 18,043 ppm, diikuti oleh fraksi air (22,910 ppm), ekstrak etanol (41,645 ppm), dan fraksi n-heksan (85,510 ppm). Nilai IC₅₀ fraksi etil asetat ini adalah yang paling mendekati nilai IC₅₀ simvastatin (7,703 ppm) sebagai kontrol positif. **Kesimpulan:** Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antikolesterol tertinggi dengan IC₅₀ 18,043 ppm dan fraksi n-heksan memiliki aktivitas antikolesterol paling rendah dengan IC₅₀ 85,510 ppm.

Kata Kunci: Antikolesterol, Daun Benalu Cengkeh, Fraksinasi, In Vitro, Liebermann-Burchard.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i4.1902>

Article History:

Received: 18/06/2026,
Revised: 17/09/2026,
Accepted: 17/09/2026,
Available Online: 18/10/2026.

QR access this Article



Pendahuluan

Kolesterol menyebabkan sekitar 2,6 juta kematian setiap tahun di dunia. Angka kolesterol di Indonesia dilaporkan mencapai kurang lebih 39,8% yang menunjukkan bahwa kondisi ini merupakan masalah kesehatan yang cukup serius [2].

Kolesterol dapat diobati dengan obat-obatan sintesis, golongan statin merupakan obat yang sering digunakan dan dipilih untuk menurunkan kadar kolesterol [8]. Penggunaan obat-obatan tersebut memiliki efek samping, oleh karena itu banyak orang yang mencari alternatif selain penggunaan obat kolesterol dengan memanfaatkan bahan alam [2].

Pemanfaatan bahan alam untuk menurunkan kolesterol salah satunya yaitu benalu cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.). Benalu cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.). Bagian tanaman yang dipilih dari benalu cengkeh yaitu pada daunnya, karena daun benalu cengkeh mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu tanin, flavonoid, saponin, dan triterpenoid [14]. Flavonoid diduga berperan sebagai antikolesterol melalui mekanisme penghambatan enzim HMG-CoA reduktase, meskipun mekanisme spesifik pada ekstrak daun benalu cengkeh belum sepenuhnya diketahui [7].

Berdasarkan uraian di atas, Peneliti tertarik untuk melakukan Penelitian “Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Serta Fraksi Daun Benalu Cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) Secara In Vitro”. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi antikolesterol ekstrak serta fraksi dari daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) secara in vitro.

Metode Penelitian

Desain Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimental laboratorium dimana Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil fitokimia dan aktivitas antikolesterol ekstrak serta fraksi daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) secara In Vitro. Penelitian ini dimulai dengan pengambilan sampel dan determinasi tanaman, pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak kental, standarisasi ekstrak kental, fraksinasi, skrining fitokimia ekstrak dan fraksi, pengujian aktivitas antikolesterol secara In Vitro, dan analisis data.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam Penelitian ini antara lain grinder, ultrasonik bath/sonikator (Shinva), blender (Miyako), rotary evaporator (RE 100-pro), waterbath, spektrofotometer Uv-Vis (18-Onc). Bahan yang digunakan pada Penelitian ini adalah daun benalu cengkeh, logam Mg, HCl (Merck), FeCl₃ (Merck), H₂SO₄ (Merck), pereaksi Liebermann-Burchard, reagen Mayer, aquades, etanol 70%, serbuk kolesterol, n-heksan, etil asetat, kloroform.

Determinasi

Daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) dilakukan determinasi di UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional RSUP Dr. Sardjito Tawangmangu.

Persiapan Bahan

Daun benalu cengkeh yang digunakan didapat dari Desa Conto, Kecamatan Bulukerto, Kabupaten Wonogiri, Jawa Tengah. Daun dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran yang menempel setelah itu dikeringkan. Pengeringan dilakukan dengan cara pengovenan dengan suhu 50 °C. Daun dihaluskan menggunakan grinder untuk mendapatkan ukuran yang lebih kecil, kemudian serbuk diayak menggunakan ayakan nomor 40.

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) dilakukan dengan metode sonikasi (Ultrasonic-assisted extraction/UAE) menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10. Serbuk simplisia daun benalu cengkeh dimasukkan ke dalam beaker glass dan ditambahkan pelarut etanol 70%. Beaker glass ditutup aluminium foil dan dimasukkan ke dalam ultrasonic bath yang telah berisi aquades. Ekstraksi dilakukan selama 45 menit dengan suhu 60 °C. Hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring Whatman No.1 sehingga diperoleh filtrat. Filtrat dievaporasi menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C dan dipekatkan menggunakan waterbath pada suhu 50 °C sampai diperoleh ekstrak kental daun benalu cengkeh [6].

Fraksinasi

Ekstrak daun benalu cengkeh yang sudah kental ditimbang 10 gram, lalu dilarutkan dengan sedikit etanol dan ditambah 100 mL aquades. Larutan ekstrak dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 100 mL kemudian dilakukan fraksinasi dengan mengocok corong pisah. Proses fraksinasi n-heksan dilakukan tiga kali sampai lapisan n-heksan berwarna jernih. Diperoleh dua fraksi yang terpisah yaitu fraksi n-heksan dan fraksi air. Fraksi air yang diperoleh dipartisi kembali menggunakan pelarut etil asetat dengan jumlah dan perbandingan yang sama yaitu 100 mL dan 1:1, fraksinasi dilakukan sebanyak tiga kali. Fraksi etil asetat dan fraksi air dipisahkan untuk memperoleh fraksi etil asetat. Fraksi yang diperoleh dikentalkan menggunakan waterbath hingga mendapatkan fraksi yang lebih kental [5].

Uji Fitokimia Ekstrak dan Fraksi

1. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara menyiapkan tabung reaksi lalu dimasukkan 1 ml larutan uji. Larutan ditambahkan 0,5 mg serbuk logam Mg dan 2 tetes HCl 12M. Hasil positif mengandung flavonoid ditandai dengan timbulnya warna jingga [13].

2. Uji alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan cara menyiapkan tabung reaksi lalu dimasukkan 1 ml larutan uji. Larutan ditambahkan 2 ml asam sulfat 2 N dan ditambahkan 1 tetes reagen Mayer. Apabila terdapat senyawa alkaloid maka ditandai dengan terbentuknya endapan putih [13].

3. Uji tanin

Uji tanin dilakukan dengan cara menyiapkan tabung reaksi lalu dimasukkan 1 ml larutan uji. Larutan ditambahkan dengan larutan besi (III) Klorida 1%. Apabila positif mengandung senyawa tanin maka ditandai dengan timbulnya warna hijau kehitaman [13].

4. Uji saponin

Uji saponin dilakukan dengan menyiapkan tabung reaksi lalu dimasukkan 1 ml larutan uji. Larutan ditambahkan aquades sampai seluruh sampel terendam lalu kocok, tambahkan 3 tetes HCl 1N setelah itu kocok kembali kuat-kuat. Apabila positif mengandung senyawa saponin maka ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil dengan tinggi 1-10 cm dan bertahan selama minimal 7-10 menit [13].

5. Uji steroid/triterpenoid

Uji triterpenoid dilakukan dengan cara menyiapkan tabung reaksi lalu dimasukkan 1 ml larutan uji. Larutan ditambahkan dengan pereksi Liebermann Burchard. Apabila terbentuk warna hijau atau biru menandakan adanya steroid dan apabila terbentuk warna merah atau violet menandakan adanya triterpenoid [11].

Uji Antikolesterol Ekstrak dan Fraksi

1. Pembuatan larutan baku kolesterol

Dibuat konsentrasi 200 ppm dengan menimbang serbuk kolesterol 10 mg dan dilarutkan dalam 50 mL kloroform. Larutan blanko yang digunakan yaitu 5 mL kloroform ditambahkan 1 mL Liebermann-Burchard [10].

2. Pembuatan panjang gelombang maksimal

Larutan induk kolesterol konsentrasi 200 ppm diambil 0,5 mL kemudian diencerkan menggunakan kloroform hingga volume mencapai 5 mL. Larutan direaksikan dengan 1 mL Liebermann-Burchard, lalu dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 400-700 nm [10].

3. Penentuan Operating time

Diambil 0,5 mL larutan baku kolesterol 200 ppm lalu ditambahkan kloroform sampai volume 5 mL, lalu direaksikan dengan 1 mL Liebermann-Burchard. Operating time diukur tiap 1 menit sampai menit yang menunjukkan absorbansi yang stabil menggunakan panjang gelombang maksimal untuk mendeteksi kolesterol dan dibuat hubungan antara waktu pengukuran yang stabil [10].

4. Pembuatan larutan kontrol

Kontrol yang digunakan adalah 5 mL larutan kolesterol konsentrasi 100 ppm dalam kloroform dipipet 5 mL kemudian direaksikan dengan 1 mL Liebermann-Burchard [10].

5. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak dan fraksi

Larutan baku ekstrak disiapkan dalam 5 seri konsentrasi. Setiap larutan dibuat dengan mengambil larutan stok ekstrak sebanyak 0,25 mL; 0,5 mL; 0,75 mL; 1 mL; dan 1,25 mL, kemudian ditambahkan kloroform hingga volume total mencapai 5 mL. Dengan cara ini, konsentrasi akhir masing-masing larutan menjadi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm, dihitung dari larutan stok ekstrak 100 ppm [10].

6. Pengujian antikolesterol ekstrak dan fraksi

Setiap larutan seri konsentrasi ekstrak dan fraksi diambil 2 mL dan ditambah 2 mL kolesterol baku kemudian direaksikan dengan 1 mL Liebermann-Burchard. Campuran reaksi kemudian dibiarkan di tempat gelap selama waktu Operating time (OT) hingga terjadi perubahan warna menjadi hijau. Perubahan warna ini merupakan indikasi reaksi antara kolesterol dan reagen yang digunakan. Setelah itu, hasil warna diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, untuk menentukan intensitas warna dan menilai efek penurunan kolesterol oleh ekstrak atau fraksi [10].

Hasil dan Pembahasan

Determinasi Tanaman

Determinasi daun benalu cengkeh dilakukan di UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional RSUP Dr. Sardjito Tawangmangu. Hasil determinasi yang diperoleh menyatakan bahwa sampel yang diujikan merupakan daun benalu cengkeh dengan nama latin *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. yang termasuk dalam famili Loranthaceae. Pengujian yang dilakukan yaitu pengujian fisika melalui sampel tangkai dan daun segar dari daun benalu cengkeh. Hasil pengujian digunakan sebagai dasar bahwa sampel yang digunakan dalam Penelitian ini merupakan daun benalu cengkeh dengan jenis *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.

Preparasi Simplisia

Daun benalu cengkeh yang digunakan didapat dari Desa Conto, Kecamatan Bulukerto, Kabupaten Wonogiri, Jawa Tengah sebanyak 1000 gram daun benalu cengkeh segar. Daun benalu cengkeh dikeringkan dengan cara pengovenan dengan suhu 50 °C, setelah kering daun benalu cengkeh dihaluskan menggunakan grinder dan diayak menggunakan ayakan nomor 40. Daun benalu cengkeh yang dipilih tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua karena terdapat kandungan flavonoid yang lebih tinggi [14]. Daun benalu cengkeh dicuci dengan tujuan menghilangkan kotoran yang menempel pada daun. Daun benalu cengkeh selanjutnya dikeringkan, pengeringan dilakukan dengan cara pengovenan dengan suhu 50 °C. Proses pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga tidak mudah ditumbuhi oleh mikroba seperti fungi dan bakteri yang menyebabkan pembusukan. Daun dihaluskan menggunakan grinder untuk mendapatkan ukuran yang lebih kecil, serbuk diayak menggunakan ayakan nomor 40 untuk mendapatkan serbuk dengan ukuran yang seragam dan halus agar mempermudah penarikan senyawa pada saat proses ekstraksi [1]. Diperoleh serbuk daun benalu cengkeh sebesar 550 gram dengan % rendemen yang diperoleh yaitu 55%.

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak daun benalu cengkeh menggunakan metode sonikasi (*Ultrasonic-assisted extraction/UAE*) menggunakan alat sonikator dan menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10. Pemilihan pelarut etanol 70% karena kemampuan pelarut ini dalam menarik senyawa bioaktif dengan kepolaran yang luas (polar, semi polar, dan non polar), etanol 70% juga memiliki tingkat polaritas yang lebih tinggi daripada etanol 95% sehingga senyawa flavonoid yang diekstraksi lebih banyak [12]. Hasil ekstrak kental yang diperoleh dari metode sonikasi serbuk simplisia daun benalu cengkeh sebanyak 550 g diekstraksi dengan etanol 70% sebanyak 5500 mL adalah 161,293 gram dengan rendemen 23,553%. Hasil ekstrak yang didapatkan tersebut sesuai dengan Penelitian yang dilakukan oleh [17], yaitu ekstraksi daun benalu cengkeh menggunakan pelarut etanol 70% menghasilkan rendemen ekstrak etanol sebesar 23,4%.

Fraksinasi

Tujuan dari fraksinasi yaitu untuk memperoleh ekstrak yang tidak tercampur atau murni. Prinsip yang digunakan merupakan like dissolve like yaitu senyawa akan larut pada pelarut dengan kepolaran yang sejenis [12]. Ekstrak daun benalu cengkeh difraksinasi menggunakan metode cair-cair dengan corong pisah. Berdasarkan hasil fraksinasi rendemen etil asetat lebih banyak dibandingkan fraksi air dan fraksi n-Heksan yaitu etil asetat sebesar 61,52%; air 24,23%; dan n-Heksan 14,25 %. Pelarut etil asetat digunakan untuk menarik senyawa polifenol (flavonoid, tanin) dan alkaloid. Flavonoid merupakan senyawa aktif fraksi etil asetat daun benalu cengkeh sehingga rendemen fraksi etil asetat lebih banyak. Pelarut n-Heksan dapat menarik senyawa non polar yaitu steroid, triterpenoid. Pelarut air dapat menarik senyawa polar yaitu flavonoid [4].

Uji Fitokimia Ekstrak dan Fraksi

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia

Senyawa	Pereaksi	Indikator Positif	Ekstrak Etanol	Fraksi Air	Fraksi Etil Asetat	Fraksi N-Heksan
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl	Merah/jingga	(+)	(+)	(+)	(+)
Alkaloid	Reagen Mayer	Endapan putih	(+)	(+)	(+)	(-)
Tanin	FeCl ₃ 1%	Hijau kehitaman	(+)	(+)	(+)	(-)
Saponin	Aquades + HCl 1N	Terdapat buih stabil	(+)	(+)	(-)	(-)
Steroid	Liebermann-Burchard	Hijau/biru	(-)	(-)	(-)	(-)
Triterpenoid	Liebermann-Burchard	Merah/violet	(+)	(+)	(+)	(+)

Pengujian flavonoid menggunakan serbuk logam Mg dan HCl dan hasil positif terbentuk warna kuning, merah, atau jingga [13]. Hasil pengujian flavonoid menunjukkan hasil positif pada ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan yang ditandai dengan terbentuknya warna merah/jingga. Keberadaan flavonoid pada seluruh fraksi menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki rentang kepolaran yang luas dan merupakan senyawa utama pada daun benalu cengkeh yang berperan sebagai antikolesterol. Hasil ini sejalan dengan Penelitian [16], yaitu daun benalu cengkeh positif mengandung senyawa flavonoid pada ekstrak air, ekstrak etanol, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat.

Pengujian alkaloid menggunakan reagen Mayer dan hasil positif menunjukkan endapan putih. Hasil pengujian alkaloid menunjukkan hasil positif pada ekstrak etanol, fraksi air, dan fraksi etil asetat yang ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Hasil pada fraksi n-heksan tidak positif mengandung alkaloid karena alkaloid umumnya bersifat polar hingga semi polar sehingga lebih mudah larut ke dalam pelarut air dan etil asetat dibandingkan n-heksan yang bersifat non polar.

Pengujian tanin menggunakan pereaksi FeCl₃ 1% dan hasil positif terbentuk warna hijau kehitaman [13]. Hasil pengujian tanin menunjukkan hasil positif pada ekstrak etanol, fraksi air, dan fraksi etil asetat yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Hasil pada fraksi n-heksan tidak positif mengandung tanin karena rendahnya kelarutan senyawa ini dalam pelarut non polar. Tanin umumnya bersifat polar sehingga lebih mudah larut ke dalam pelarut polar dan semi polar. dibandingkan n-heksan yang bersifat non polar. Hasil ini sejalan dengan Penelitian [16], yaitu daun benalu cengkeh positif mengandung senyawa tanin pada ekstrak air, ekstrak etanol, dan fraksi etil asetat, serta negatif pada fraksi n-heksan.

Pengujian saponin menggunakan aquades dan HCl 1N, hasil positif terbentuk buih stabil selama minimal 7-10 menit setelah pengocokan, kemudian apabila ditetesi HCl 1N busa tidak akan hilang [13]. Hasil

pengujian saponin menunjukkan hasil positif pada ekstrak etanol dan fraksi air dengan terbentuknya buih yang stabil, hasil pengujian negatif pada fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan. Hasil negatif pada fraksi etil asetat dan n-heksan menunjukkan bahwa saponin lebih larut pada pelarut polar karena memiliki gugus gula yang menyebabkan sifatnya sangat hidrofilik. Hasil ini sejalan dengan Penelitian [16], yaitu daun benalu cengkeh positif mengandung senyawa saponin pada ekstrak air dan ekstrak etanol, serta negatif pada fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan.

Pengujian triterpenoid menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard, hasil positif terbentuknya warna merah atau violet [11]. Hasil pengujian triterpenoid menunjukkan hasil positif pada ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan yang ditandai dengan terbentuknya warna merah/violet. Keberadaan triterpenoid pada seluruh fraksi menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki variasi struktur dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda sehingga dapat larut pada berbagai pelarut. Hasil ini sejalan dengan Penelitian [16], yaitu daun benalu cengkeh positif mengandung senyawa triterpenoid pada ekstrak air, ekstrak etanol, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat.

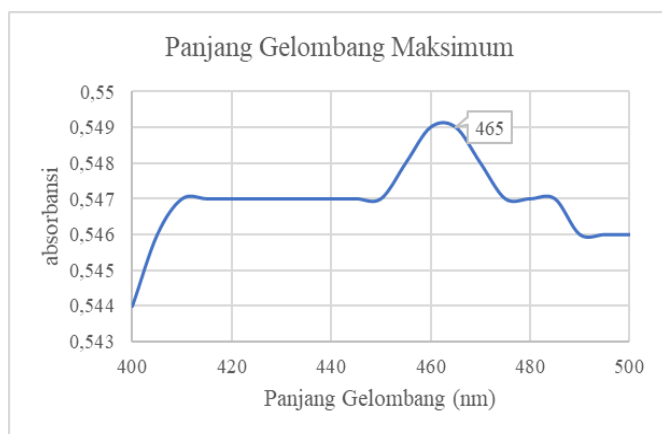
Uji Antikolesterol Ekstrak dan Fraksi

Pengujian aktivitas antikolesterol ekstrak dan fraksi daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) pada Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode Liebermann-Burchard. Metode ini merupakan metode yang memiliki sifat spesifik dalam identifikasi kolesterol yang termasuk ke dalam golongan senyawa steroid [9]. Metode ini menggunakan pereaksi asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Asam asetat anhidrat berfungsi untuk menciptakan kondisi bebas air dan untuk membentuk turunan asetil dari senyawa steroid, sedangkan penambahan asam sulfat pekat digunakan untuk menghasilkan warna hijau khas pada senyawa steroid termasuk kolesterol [7].

Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan dengan pemindaian (running) pada rentang panjang gelombang 400-700 nm. Pengukuran panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang yang memiliki serapan maksimum yaitu saat senyawa berada pada kondisi optimum dapat diperoleh kepekaan yang maksimum [15].

Berdasarkan hasil pengukuran panjang gelombang maksimum baku kolesterol yang dilakukan, diperoleh panjang gelombang maksimum baku kolesterol yaitu 465 nm. Hasil tersebut mendekati Penelitian yang dilakukan [10] yaitu panjang gelombang maksimum baku kolesterol yang diperoleh yaitu 425 nm. Panjang gelombang maksimum ditentukan berdasarkan hasil pemindaian secara aktual dan diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 465 nm sebagai puncak absorbansi tertinggi pada kondisi Penelitian ini.

Operating time dilakukan menggunakan larutan baku kolesterol dengan interval waktu 1 menit selama 30 menit. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa nilai absorbansi yang stabil adalah pada menit ke 9-14. Hal tersebut menandakan bahwa menit ke 9-14 merupakan waktu stabil larutan kolesterol. Hasil tersebut mendekati Penelitian yang dilakukan [3] yaitu Operating time yang diperoleh pada menit ke-15. *Operating time* dilakukan untuk mengetahui waktu optimum senyawa bereaksi dengan reagen sehingga absorbansi yang diukur dapat maksimal.



Gambar 1. Panjang gelombang maksimum

Hasil pengujian aktivitas antikolesterol menunjukkan bahwa seluruh sampel daun benalu cengkeh memiliki kemampuan dalam penurunan kolesterol. Perhitungan nilai IC₅₀ menggunakan persamaan garis regresi

linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel (X) dengan aktivitas penurunan kadar kolesterol rata-rata (Y) dari seri pengukuran sampel. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak serta fraksi semakin tinggi juga persentase penurunan kolesterol yang dihasilkan. Peningkatan persentase penurunan kolesterol ini menunjukkan adanya hubungan yang sebanding antara konsentrasi ekstrak serta fraksi dengan aktivitas penurunan kolesterol. Hal ini terjadi karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak serta fraksi maka semakin banyak senyawa aktif yaitu flavonoid yang berikatan dengan kolesterol, sehingga membuktikan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak serta fraksi daun benalu cengkeh berperan dalam menghambat atau menurunkan kolesterol. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak serta fraksi semakin rendah nilai IC₅₀ yang dihasilkan.

Tabel 2a. Presentase penurunan kolesterol untuk setiap konsentrasi

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Penurunan Kolesterol
Simvastatin	5	46,998
	10	52,174
	15	58,799
	20	66,046
	25	70,807
Ekstrak	5	11,387
	10	15,114
	15	21,946
	20	27,536
	25	31,884
Fraksi Air	5	23,810
	10	28,986
	15	40,994
	20	46,377
	25	51,760
Fraksi Etil Asetat	5	33,540
	10	40,166
	15	46,170
	20	51,760
	25	59,213
Fraksi N-Heksan	5	3,106
	10	7,246
	15	9,524
	20	12,422
	25	14,907

Tabel 2b. Nilai IC₅₀ dari setiap sampel

Sampel	IC ₅₀ (ppm)
Simvastatin	7,703
Ekstrak	41,645
Fraksi Air	22,910
Fraksi Etil Asetat	18,043
Fraksi N-Heksan	85,510

Kontrol positif simvastatin menunjukkan aktivitas antikolesterol tertinggi dengan persentase penurunan kolesterol paling tinggi 70,809% pada konsentrasi 25 ppm, simvastatin memiliki IC₅₀ sebesar 7,703 ppm. Nilai IC₅₀ yang kecil menunjukkan bahwa simvastatin memiliki potensi yang sangat kuat dalam menurunkan kolesterol. Hasil ini sesuai dengan mekanisme kerja simvastatin sebagai inhibitor enzim HMG-CoAR yang berperan sebagai biosintesis kolesterol. Pengujian kontrol positif yaitu simvastatin bertujuan sebagai standar pembandingan terhadap aktivitas penurunan kolesterol dari ekstrak serta fraksi daun benalu cengkeh, apabila semakin dekat nilai IC₅₀ ekstrak serta fraksi daun benalu cengkeh dengan nilai IC₅₀ simvastatin maka semakin besar potensi ekstrak serta fraksi sebagai agen antikolesterol alami.

Berdasarkan data hasil uji ekstrak serta fraksi daun benalu cengkeh, fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antikolesterol paling tinggi dibandingkan ekstrak serta fraksi daun benalu cengkeh lainnya, dimana pada konsentrasi 25 ppm persentase penurunan kolesterolnya adalah 59,213% dengan nilai IC₅₀ sebesar 18,043 ppm. Nilai IC₅₀ etil asetat adalah nilai yang paling mendekati IC₅₀ simvastatin. Tingginya aktivitas antikolesterol pada fraksi etil asetat mengindikasikan senyawa antikolesterol utama pada daun benalu cengkeh cenderung bersifat semi polar. Pelarut etil asetat mampu menarik senyawa flavonoid yang diketahui sebagai senyawa utama daun benalu cengkeh yang berperan dalam mekanisme penurunan antikolesterol. Flavonoid berperan sebagai senyawa yang dapat mereduksi trigliserida (TGA) dan menurunkan LDL, serta dapat menghambat kerja enzim HMG Co-A reduktase [7].

Senyawa flavonoid yaitu kuersetin berperan penting dalam penurunan kolesterol menggunakan metode Liebermann-Burchard. Penurunan kadar kolesterol terjadi akibat adanya pembentukan ikatan hidrogen antara gugus hidroksil pada kolesterol dan gugus karbonil pada senyawa flavonoid. Ikatan kompleks antara flavonoid dan kolesterol tersebut menyebabkan sebagian kolesterol terikat dan menyebabkan penurunan kadar kolesterol. Kolesterol yang tidak membentuk ikatan kompleks (kolesterol bebas) akan bereaksi dengan pereaksi Liebermann Burchard membentuk kompleks berwarna hijau [3].

Fraksi air juga menunjukkan aktivitas antikolesterol yang baik, aktivitas antikolesterol fraksi air di bawah fraksi etil asetat dimana pada konsentrasi 25 ppm persentase penurunan kolesterolnya adalah 51,760% dengan nilai IC₅₀ sebesar 22,910 ppm. Aktivitas ini berkaitan dengan senyawa polar yang larut dalam pelarut polar yaitu air. Aktivitas fraksi air yang cukup tinggi mengindikasikan bahwa selain flavonoid, senyawa polar lain seperti tanin dan saponin juga mungkin berkontribusi terhadap aktivitas antikolesterol melalui mekanisme yang berbeda, seperti pengikatan asam empedu atau penghambatan absorpsi kolesterol.

Ekstrak etanol daun benalu cengkeh memiliki aktivitas antikolesterol yang lebih rendah dibandingkan fraksi etil asetat dan fraksi air dimana pada konsentrasi 25 ppm persentase penurunan kolesterolnya adalah 31,884% dengan nilai IC₅₀ sebesar 41,645 ppm. Hal ini disebabkan karena ekstrak masih mengandung berbagai jenis senyawa yang belum terpisah berdasarkan kepolarannya sehingga konsentrasi senyawa yang berperan sebagai antikolesterol belum optimal. Hal ini menunjukkan bahwa fraksinasi berpengaruh terhadap aktivitas antikolesterol daun benalu cengkeh. Fraksi n-heksan menunjukkan aktivitas antikolesterol yang paling rendah dibandingkan sampel yang lain dimana pada konsentrasi 25 ppm persentase penurunan kolesterolnya adalah 14,907% dengan nilai IC₅₀ sebesar 85,510 ppm. Rendahnya aktivitas ini disebabkan oleh sifat pelarut n-heksan yang non polar sehingga lebih dominan menarik senyawa lipofilik seperti lemak, lilin, dan pigmen yang umumnya tidak berperan secara signifikan dalam penghambatan kolesterol.

Kesimpulan

Uji aktivitas antikolesterol menggunakan metode Liebermann-Burchard ekstrak serta fraksi daun benalu cengkeh menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan menunjukkan adanya aktivitas antikolesterol dengan nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 41,645; 22,910; 18,043; dan 85,510 ppm. Fraksi etil asetat daun benalu cengkeh menunjukkan potensi paling tinggi sebagai agen antikolesterol alami. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengisolasi senyawa aktif spesifik, menguji aktivitas in vivo, dan mengevaluasi toksisitasnya.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan, baik finansial maupun nonfinansial, yang berkaitan dengan pelaksanaan penelitian, penulisan, dan publikasi artikel ini.

Referensi

- [1] Aini, R. N. U. R. (2023). *Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Infusa Daun Rambutan (Nephelium Lappaceum L.) Dengan Metode Abts*. Skripsi. Duta Bangsa Surakarta. Surakarta.
- [2] Alya, R., Sholih, M. G., & Fadhilah, N. Y. (2025). Literature Review: Efektivitas Tanaman Herbal Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Pada Penyakit Hiperkolesterolemia. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 11(1), 228-234.

- [3] Andriani, S., & Anggraini, D. I. (2023). Uji aktivitas antikolesterol variasi ekstrak etanol sawi pakcoy (*Brassica chinensis*) secara *in vitro*. *Jurnal Farmasi Sains dan Terapan (Journal of Pharmacy Science and Practice)*, 10(1), 44-50.
- [4] Aprilianti, N. M., Purgiyanti, P., & Barlian, A. A. (2023). Penentuan kadar total fenol fraksi n-heksan, etil asetat, dan air herba pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban). *Parapemikir: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 12(1), 77-85.
- [5] Fatimah, O. N. (2025). Analisis Kadar Fenolik, Flavonoid Dan Aktivitas Inhibisi Enzim *A-Amilase* Dari Ekstrak Etanol Serta Fraksi Gagang Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L.). Skripsi. Duta Bangsa Surakarta.
- [6] Hasanah, R. (2023). *Uji aktivitas ekstrak etil asetat kulit pisang tanduk (Musa acuminata x Musa balbisiana) sebagai antibakteri Propionibacterium acnes*. Skripsi. Universitas dr. Soebandi. Jember.
- [7] Ilyas, A. N., Rahmawati, R., & Widiastuti, H. (2020). Uji aktivitas antikolesterol ekstrak etanol daun gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) secara *in vitro*. *Window of Health: Jurnal Kesehatan*, 057-064.
- [8] Laksono, S., & Afiyani, N. (2023). Farmakoterapi pasien hiperkolesterolemia familial: Suatu tinjauan narasi. *Farmasains*, 10(1), 9-18.
- [9] Lindawati, N. Y., Ningsih, D. W., Tinggi, S., Kesehatan, I., & Tengah, J. (2020). Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol Buah Kiwi Hijau (*Actinidia deliciosa*). *Ilmiah Manuntung*, 6(2), 183-191.
- [10] Nafiah, A. (2025). *Studi In Vitro Antikolesterol Dan Flavonoid Total Dari Ekstrak Etanol Bawang Putih, Bawang Hitam Dan Bawang Putih Tunggal (Allium Sativum L.)*. Skripsi. Duta Bangsa Surakarta. Surakarta.
- [11] Nola, F., Putri, G. K., Malik, L. H., & Andriani, N. (2021). Isolasi senyawa metabolit sekunder steroid dan terpenoid dari 5 tanaman. *Syntax Idea*, 3(7), 1612-1619.
- [12] Prasetyo, V. (2024). *Fraksinasi dan Penetapan Kadar Flavonoid Pada Ekstrak Etanol Selada Air (Nasturtium officinale W. T. Aiton)*. Skripsi. Universitas Pakuan. Bogor.
- [13] Qhoir, F. (2023). *Skrining fitokimia metabolit sekunder ekstrak mahoni (Swietenia mahagony) potensial sebagai medikasi virus covid-19*. Skripsi. Universitas Medan Area. Medan.
- [14] Sari & Susilowati. (2020). Perbandingan Kadar Flavonoid Total Seduhan Daun Benalu Cengkeh (*Dendrophthoe petandra* L.) pada Bahan Segar dan Kering. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 9(2), 33-40.
- [15] Vifta, R. L., Mafitasari, D., & Rahman, E. (2020). Skrining Antioksidan Dan Aktifitas Antidiabetes Ekstrak Terpurifikasi Etil Asetat Kopi Hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Zarah*, 8(2), 62-68.
- [16] Fitrilia, T. (2015). Ekstrak Daun Benalu Cengkeh (*Dendrophthoe Pentandra* (L.) Miq) Sebagai Agen Antioksidan Dan Antidiabetes Secara In Vitro. Doctoral dissertation. Bogor Agricultural University (IPB). Bandung.
- [17] Fitrilia, T. (2017). Inhibisi Enzim α -Glukosidase Menggunakan Ekstrak Daun Benalu Cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Mic). *Jurnal Agroindustri Halal*, 3(1), 041-047.