



**UJI AKTIVITAS DAN KARAKTERISASI SENYAWA PENURUN KOLESTEROL
DARI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana*)**

**TESTING THE ACTIVITY AND CHARACTERIZATION OF CHOLESTEROL
LOWERING COMPOUNDS FROM THE ETHYL ACETATE FRACTION OF
BIDRARA LEAVES (*Ziziphus mauritiana*)**

Aga Adi Masyhuri^{1*}, Mohammad Rofik Usman¹, Boima Situmeang², Arianto Wibowo²

¹Prodi Teknik Laboratorium Medis, Universitas dr. Soebandi, Jl. Dr Soebandi No. 99 Jember, Jawa-Timur, Indonesia, 68111, ²Jurusan Kimia, Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon, Banten

*E-mail: aga@uds.ac.id

ABSTRAK

Salah satu bahan alam yang dapat digunakan untuk menurunkan aktivitas kolesterol dalam tubuh adalah tanaman bidara, (*Ziziphus mauritiana*). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa daun bidara positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tannin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter dan aktivitas senyawa penurun kolesterol pada daun bidara. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut metanol. Fraksinasi dilakukan dengan metode kromatografi kolom cair-cair dengan pelarut n-heksana dan etil asetat. Hasil skrining fitokimia pada fraksi etil asetat bidara menunjukkan bahwa fraksi mengandung senyawa golongan alkaloid, fenolik, flavonoid, terpenoid dan steroid. Hasil uji aktivitas penurun kolesterol mengungkapkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas dan kemampuan menurunkan kolesterol yang cukup kuat. Hasil analisis dengan FTIR menunjukkan kandungan senyawa metabolit sekunder pada fraksi etil asetat adalah senyawa golongan triterpenoid.

Kata Kunci: Bidara (*Ziziphus mauritiana*), Etil Asetat, Kolesterol.

ABSTRACT

One of the natural substances that can be used to reduce cholesterol activity in the body is the bidara plant (*Ziziphus mauritiana*). Previous studies have shown that the leaves of bidara positively contain alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. This research aims to determine the character and activity of cholesterol-lowering compounds in bidara leaves. Extraction was carried out using the maceration method with methanol as the solvent. Fractionation was performed using liquid-liquid column chromatography with solvents n-hexane and ethyl acetate. The results of the phytochemical screening of the ethyl acetate fraction of bidara revealed that the fraction contains compounds belonging to alkaloids, phenolics, flavonoids, terpenoids, and steroids. The results of the cholesterol-lowering activity test showed that the ethyl acetate fraction has strong activity and capability in lowering cholesterol. FTIR analysis revealed that the secondary metabolites in the ethyl acetate fraction consist of triterpenoid compounds

Keywords: Bidara (*Ziziphus mauritiana*), Ethyl Acetate, Cholesterol.

PENDAHULUAN

Daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) merupakan salah satu tanaman obat yang telah digunakan secara tradisional untuk berbagai tujuan kesehatan. Kandungan metabolit sekundernya, seperti

flavonoid, tanin, dan saponin, diketahui memiliki aktivitas biologis, termasuk sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antihiperlipidemia. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam daun bidara dapat membantu menurunkan kadar kolesterol total, LDL (low-density lipoprotein), serta meningkatkan HDL (high-density lipoprotein) (Rosalina *et al.*, 2023).

Penelitian Asimuddin *et al.*, (2020) mengungkapkan bahwa hasil skrining fitokimia daun bidara positif mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin dan tannin (Asimuddin *et al.*, 2020). Penelitian Youl *et al.*, (2019) mengungkapkan bahwa ekstrak dan fraksi etanol daun bida memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀ berkisar antara 8-12 ppm, dengan kandungan senyawa total polifenol berkisar antara 58-84 GAE/g (Youl *et al.*, 2019). Penelitian Febriza dkk., (2022) mengungkapkan bahwa ekstrak etanol daun bidara memiliki aktivitas antibakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun bidara dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75% memiliki kemampuan yang sama dengan nistatin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* (Febriza *et al.*, 2023).

Peningkatan kadar kolesterol dalam darah, yang dikenal sebagai hiperkolesterolemia, merupakan salah satu faktor risiko utama penyakit kardiovaskular, termasuk penyakit jantung koroner dan stroke (Lailatusholihah *et al.*, 2023). Penyakit ini menjadi penyebab utama kematian secara global, khususnya di negara-negara berkembang seperti Indonesia. Faktor gaya hidup tidak sehat, seperti pola makan tinggi lemak jenuh, kurang aktivitas fisik, serta stres, turut berkontribusi terhadap prevalensi hiperkolesterolemia di masyarakat. Berbagai terapi farmakologis telah tersedia untuk mengatasi masalah hiperkolesterolemia, seperti penggunaan statin. Namun, efek samping jangka panjang dari obat-obatan tersebut, seperti kerusakan hati dan gangguan otot, mendorong pencarian alternatif terapi yang lebih aman dan alami. Dalam konteks ini, tanaman obat menjadi salah satu pilihan potensial, terutama karena ketersediaannya yang melimpah dan efek samping yang relatif rendah.

Proses fraksinasi menggunakan pelarut seperti etil asetat bertujuan untuk memisahkan dan mengonsentrasi senyawa aktif tertentu, sehingga efektivitas farmakologisnya dapat ditingkatkan (Bintoro *et al.*, 2017). Fraksi etil asetat daun bidara diyakini mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid dan polifenol dalam jumlah tinggi yang berpotensi menurunkan kadar kolesterol. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas penurun kolesterol dari fraksi etil asetat daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) melalui pengujian laboratorium. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter dan aktivitas senyawa penurun kolesterol pada daun bidara (*Ziziphus mauritiana*). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap pengembangan obat herbal berbasis daun bidara sebagai terapi alami untuk hiperkolesterolemia.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara eksperimen di Laboratorium yang meliputi pengambilan sampel, preparasi sampel, determinasi sampel, ekstraksi, fraksinasi, pengujian penurun kolesterol ekstrak, dan analisis fraksi dengan FTIR. Pengambilan sampel daun tumbuhan bidara didapatkan dari desa Cimerak, kota Cilegon Banten.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari timbangan analitik, beaker gelas, Erlenmeyer, gelas ukur, maserator, evaporator, desikator, dan kolom kromatografi. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol (p.a), etil asetat (p.a), asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat (p.a), etanol 96% (p.a), kloroform (p.a), silika gel G60. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tumbuhan bidara yang didapatkan dari kota Cilegon.

Determinasi, Ekstraksi dan Fraksinasi Sampel

Determinasi sampel dilakukan di Laboratorium Herbarium, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Bagian sampel yang dipersiapkan untuk determinasi terdiri dari bagian akar, daun, kulit batang, ranting, daun, dan buah bidara yang disiapkan dalam bentuk herbarium. Ekstraksi sampel dilakukan terhadap simplisia dengan berat simplisia sebanyak 250 g. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah pelarut metanol dengan grade pro analis. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Ekstrak pekat metanol kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak pekat metanol bidara.

Fraksinasi ekstrak pekat metanol dilakukan dengan kromatografi kolom cair-cair. Ekstrak pekat metanol diimpregnasi kemudian dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi silika gel. Eluen yang digunakan terdiri dari n-heksana dan etil asetat. Pelarut pertama yang digunakan sebagai eluen adalah n-heksana sebanyak 250 mL, setelah semua pelarut terelusi dilanjutkan dengan pelarut etil asetat sebanyak 250 mL untuk mendapatkan fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat kemudian dievaporasi untuk mendapatkan fraksi etil asetat pekat. Terhadap fraksi etil asetat dilakukan uji skrining fitokimia dan uji aktivitas penurun kolesterol.

Uji aktivitas penurun kolesterol

Pengujian aktivitas penurun kolesterol mengaju pada penelitian Musa et al., 2018 dengan beberapa modifikasi. Larutan baku kolesterol dibuat dengan melarutkan sebanyak 40 mg garam kolesterol dalam 200 mL Etanol 96% sehingga dihasilkan larutan kolesterol dengan konsentrasi

200 ppm. Larutan deret standar dengan konsentrasi 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 g/mL dibuat dari larutan induk kolesterol 1000 g/mL dengan cara memipet sebanyak 0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4, 0.45, dan 0.5 mL. Kemudian ditambahkan Etanol sampai volume tepat 5 mL. Untuk masing-masing larutan, ditambahkan asam asetat anhidrat sebanyak 2 mL dan asam sulfat 98% sebanyak 0.1 mL, dan semuanya dihomogenkan. Setelah itu, foil aluminium digunakan untuk menutupi permukaan tabung reaksi dari cahaya matahari selama lima belas menit. Kemudian, absorbansi diukur dengan menggunakan panjang gelombang 423 nm. Kemudian dibuat kurva kalibrasi deret standarnya (Musa *et al.*, 2019).

Karakterisasi dengan FTIR

Fraksi etil asetat dikarakterisasi dengan FTIR. Tujuan karakterisasi dengan FTIR adalah untuk mengetahui gugus fungsi apa saja yang terdapat dalam fraksi etil asetat tersebut (Bialangi *et al.*, 2023).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak pekat metanol yang diperoleh dari simplisia sebanyak 250 g adalah 19,87 g. Massa sampel ekstrak metanol yang digunakan untuk fraksinasi sebanyak 10 g. Massa fraksi etil asetat yang didapatkan sebanyak 132,16 mg dengan rendemen 13,22%. Penelitian Musa *et al.* (2022) mengungkapkan rendemen di atas 20% merupakan rendemen yang baik untuk ekstraksi. Rendemen yang didapatkan dari fraksi etil asetat bidara belum termasuk rendemen yang tinggi. Berdasarkan hasil rendemen fraksi etil asetat bisa diasumsikan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi etil asetat merupakan senyawa yang bersifat semi polar seperti golongan flavonoid, terpenoid dan fenolik.

Hasil Skrining Fitomia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap fraksi etil asetat yang meliputi skiring terhadap senyawa golongan alkaloid, flavonoid, fenolik, terpenoid, saponin, dan steroid. Hasil uji skrining fitokimia ditunjukkan pada Tabel . berikut.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia fraksi etil asetat tumbuhan bidara

Senyawa	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
Alkaloid	Aquadest, HCl 2 M, Dragendorff	Terbentuk endapan berwarna orange	Positif
	Aquadest, HCl 2 M, Wagner	Terbentuk endapan berwarna Orange	Positif
Terpenoid	Kloroform, Asam asetat Anhidra, H ₂ SO ₄ pekat	Terjadi perubahan menjadi violet	Positif
Steroid	Kloroform, Asam asetat Anhidra, H ₂ SO ₄ pekat	Terjadi perubahan menjadi biru	Negatif
Saponin	Aquadest panas	Tidak terbentuk buih	Negatif
Flavonoid	FeCl 1 %	Terjadi perubahan menjadi kuning	Positif
Fenolik	AlCl ₃ 1%	Terjadi perubahan warna menjadi kuning	Positif

Hasil skiring fitokimia pada Tabel . di atas menunjukkan bahwa fraksi etil asetat bidara positif mengandung senyawa golongan alkaloid, terpenoid, flavonoid dan fenolik. Berdasarkan hasil uji fitokimia menyatakan bahwa uji steroid dan triterpenoid menggunakan metode Liebermann-Bouchard, fraksi etil asetat bidara dilarutkan dalam Kloroform kemudian ditambah Pereaksi Liebermann-Bouchard (Asam Asetat Anhidrat-Asam Sulfat 98%) menunjukkan hasil reaksi Triterpenoid dengan Pereaksi Liebermann-Bourchard menghasilkan warna merah-jingga sedangkan Steroid memberikan warna hijau-biru. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa Triterpenoid dan Steroid membentuk warna dengan Asam Sulfat 98% dalam pelarut asam asetat anhidrat (Elish *et al.*, 2023).

Pada uji saponin sampel menunjukkan tidak adanya busa ketika cairan uji ditambahkan air panas. Hal ini menyatakan bahwa daun bidara negatif mengandung senyawa golongan Saponin (Jain *et al.*, 2019). Daun bidara dapat berpotensi sebagai penurun kolesterol karena memiliki senyawa fenolik dan flavonoid. Hal ini terjadi karena pada senyawa fenolik dan tanin terdapat cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil yang dapat berikatan dengan kolesterol. Penelitian Bialangi *et al.*, (2024) mengungkapkan bahwa senyawa golongan flavonoid dan fenolik memiliki peranan penting dalam aktivitas penurun kolesterol (Bialangi *et al.*, 2024). Gugus -OH pada senyawa golongan flavonoid dan fenolik memiliki kemampuan untuk berikatan dengan kolesterol.

Hasil Uji Penurun Kolesterol

Fraksi etil asetat diuji penurunannya terhadap kolesterol. Pada uji penurunan kolesterol ini didasarkan pada mekanisme reaksi Lieberman-Burchard. Mekanisme yang terjadi ketika asam sulfat ditambahkan ke dalam campuran yang berisi kolesterol, maka gugus OH akan berpindah pada struktur kolesterol, yang kemudian kolesterol teroksidasi membentuk 3,5-kolestadiena. Produk ini dikonversi menjadi polimer yang mengandung kromofor yang menghasilkan warna hijau atau merah bata. Warna yang terbentuk terjadi karena reaksi gugus hidroksil atau OH dengan pereaksi Lieberman Burchard dan meningkatkan konjugasi dari ikatan tak jenuh dalam cincin yang berdekatan (Musa *et al.*, 2019).

Pembuatan larutan baku sampel 1000 ppm menggunakan fraksi etil asetat bidara. Kemudian dari larutan baku tersebut dibuat variasi konsentrasi sampel yaitu 0, 50, 100, 150, dan 200 ppm dengan pelarut etanol sampai dengan 2 mL. Kemudian ditambahkan dengan asam asetat anhidrat dan H₂SO₄ pekat. Setelah itu, diinkubasi selama 15 menit dan diuji menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 423. Pengujian dilakukan sebanyak dua kali atau duplo. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 2. di bawah.

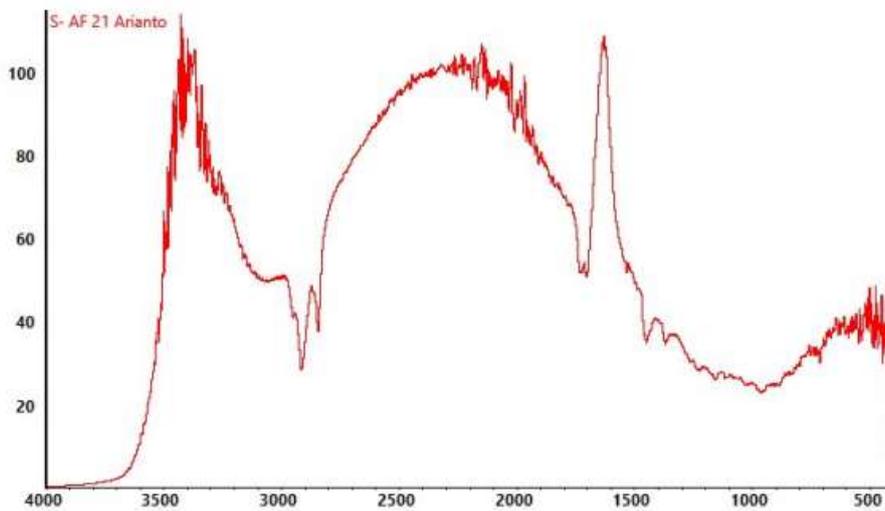
Tabel 2. Hasil pengujian aktivitas penurun kolesterol fraksi etil asetat

Konsentrasi Sampel (ppm)	Absorbansi Sampel		% Penurunan Kolesterol	
	1	2	1	2
0	0,682	0,684	0	0
50	0,598	0,599	12,917	12,427
100	0,428	0,441	37,243	35,526
150	0,243	0,246	64,269	64,035
200	0,109	0,107	84,269	84,356

Berdasarkan Tabel 2. di atas, absorbansi blanko berurutan yaitu 0,682 dan 0,684. Absorbansi sampel memperlihatkan penurunan dari konsentrasi sampel 0 ppm sampai dengan 200 ppm. Penurunan kolesterol pada sampel tersebut mengalami kenaikan pada setiap konsentrasi dengan persen penurunan berturut turut yaitu 12,917; 37,243; 64,269 dan 84,269 pada absorbansi 1 dan 12,427; 35,526; 64,035 dan 84,356 pada absorbansi 2. Hal ini menunjukkan bahwa pada fraksi etil asetat bidara memiliki aktivitas dalam penurunan kolesterol.

Karakterisasi Fraksi Etil Asetat Bidara dengan FTIR

Dalam rangka mengetahui gugus-gugus fungsi yang terdapat dalam fraksi etil asetat, maka dilakukan pengukuran menggunakan spektrum inframerah. Spektrum inframerah (IR) dalam lempeng KBr ditunjukkan pada Gambar 1. dan hasil interpretasinya tertera dalam Tabel 3.



Gambar 1. Hasil pengukuran FTIR fraksi etil asetat bidara

Tabel 3. Hasil interpretasi spektrum FTIR fraksi etil asetat bidara

	Bilangan gelombang fraksi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		Bentuk Pita	Dugaan Gugus Fungsi
		Ref. 1	Ref. 2		
% Transmittan	3381,1	3400	3255	Lebar	Uluran O-H
	2921,9	2987	2920	Tajam	Uluran C-H alifatik
	2850	2987	2920	Tajam	Uluran C-H alifatik
	1711,5		1726	Lebar	Uluran C=O
	1456,5	1456	1463	Tajam	Uluran C-H
	972	1040	1170	Lebar	Uluran C-O

SIMPULAN

Hasil skrining fitokimia pada fraksi etil asetat bidara menunjukkan bahwa fraksi mengandung senyawa golongan alkaloid, fenolik, flavonoid, terpenoid dan steroid. Hasil uji aktivitas penurun kolesterol mengungkapkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas dan kemampuan menurunkan kolesterol yang cukup kuat. Hasil analisis dengan FTIR menunjukkan kandungan senyawa metabolit sekunder pada fraksi etil asetat adalah senyawa golongan triterpenoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Asimuddin, M., Shaik, M.R., Fathima, N., Afreen, M.S., Adil, S.F., Siddiqui, M.R.H., Jamil, K., Khan, M., 2020. Study of antibacterial properties of ziziphus mauritiana based green synthesized silver nanoparticles against various bacterial strains. *Sustain.* 12. <https://doi.org/10.3390/su12041484>
- Bialangi, N., Musa, W.J.A., Situmeang, B., 2024. Metabolite Profiling of Potential Fraction From Ethyl Acetate Extract of *Ziziphus mauritiana* Leaves by LC-MS/MS Analysis. *Karbala Int. J. Mod. Sci.* 10, 542–548. <https://doi.org/10.33640/2405-609X.3371>
- Bialangi, N., Mustapa, M.A., Salimi, Y., Musa, W., Widiyantoro, A., Ibrahim, A.M., Situmeang,

- B., Sianturi, J., 2023. Evaluation of the Antiplasmodial Properties of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) and *Peperomia pellucida* (L.) Kunth. *Indones. J. Chem.* 23, 62–72. <https://doi.org/10.22146/ijc.74481>
- Bintoro, A., Ibrahim, A.M., Situmeang, B., 2017. Analisis Dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Daun Bidara (*Zhizipus mauritania* L.). *J. Itékima* 2, 84–94.
- Elish, S., Baky, M., Temraz, A., 2023. Phytochemical Profile and Antioxidant Capacity of *Ficus natalensis* Subsp. *leprieurii* (miq) Cultivated in Egypt: In-vitro Study. *Azhar Int. J. Pharm. Med. Sci.* 3, 70–76. <https://doi.org/10.21608/aijpm.2023.157607.1163>
- Febriza, A., Faradiana, S., Abdullah, M.F., 2023. Antibacterial Effects of *Ziziphus mauritiana* (Lam) Leaf Extract Against *Vibrio cholerae*. *Herb-Medicine J. Terbit. Berk. Ilm. Herbal, Kedokt. dan Kesehat.* 5, 9. <https://doi.org/10.30595/hmj.v5i3.14307>
- Jain, P., Haque, A., Islam, T., Alam, M.A., Reza, H.M., 2019. Comparative evaluation of *Ziziphus mauritiana* leaf extracts for phenolic content, antioxidant and antibacterial activities. *J. Herbs, Spices Med. Plants* 25, 236–258. <https://doi.org/10.1080/10496475.2019.1600627>
- Lailatusholihah, I., Tinggi, S., Kimia, A., 2023. CHEDS : Journal of Chemistry , Education , and Science Aktivitas Penurun Kolesterol Dari Ekstrak N -Heksana Daun Bidara (*Ziziphus Mauritiana*) 7, 232–237.
- Musa, W.J.A., Bialangi, N., Kilo, A.K., Lamangantjo, C.J., Situmeang, B., Ibrahim, A.M., 2022. Flavonoid Glycoside Compound From Tombili Seed (*Caesalpinia Bonducella*) And Its Antioxidant Activity. *Rasayan J. Chem.* 15, 2237–2242. <https://doi.org/10.31788/RJC.2022.1547087>
- Musa, W.J.A., Situmeang, B., Sianturi, J., 2019. Anti-cholesterol triterpenoid acids from *Saurauia vulcani* Korth. (Actinidiaceae). *Int. J. Food Prop.* 22, 1439–1444. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1650762>
- Rosalina, L., Mahendika, D., Asyura, M.M.A.Z., Aziz, S.A., Djafar, T., 2023. Utilization of *Ziziphus Mauritiana* Leaves for Lowering Cholesterol Level. *J. Penelit. Pendidik. IPA* 9, 737–741. <https://doi.org/10.29303/jppipa.v9i9.4268>
- Youl, E.N.H., Ouédraogo, C.A.P., Gambo, M., Ouédraogo, M., Kiendrebéogo, M., Traoré, A., Guissou, I.P., 2019. Antioxidant activity of crude ethanolic extract and fractions of *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae) leaves from Burkina Faso. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* 30, 1–9. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2017-0176>