

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID, FENOLIK TOTAL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70% BIJI
BUAH ALPUKAT MENTEGA (*Persea americana* Mill.)
MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Oleh:

MIKO PARADILA

231148201326

SKRIPSI

Untuk memenuhi salah satu syarat ujian
guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi



**PROGRAM STUDI S-1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA
2024**

LEMBAR PENGESAHAN

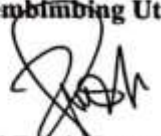
**PENETAPAN KADAR FLAVONOID, FENOLIK TOTAL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70% BIJI BUAH
ALPUKAT MENTEGA (*Persea americana* MILL) MENGGUNAKAN
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Dipersiapkan dan disusun oleh:

**MIKO PARADILA
231148201326**

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 14 Agustus 2024


Pembimbing Utama,


Nurillahi Febia Leswana, S. Si., M. Sc
NIK: 0322.A4.28

Mengetahui,
Ketua Program Studi S-1 Farmasi

Hiati Geografi, M. Sc.,
NIK: 0419.A4.25

Pembimbing Pendamping,


Maria Elvina Tresia, S. Farm., M. Farm.,
NIK: 0322.A4.27

Tim Penguji:

Ketua : apt. Muh. Taufiqurrahman, M. Farm.,

Anggota :

1. apt. Reksi Sundu, M. Sc.,

2. Maria Elvina Tresia, S. Farm., M. Farm.,


.....

.....

PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAKAN SKRIPSI

Skripsi sarjana yang terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada pengarang dengan mengikuti aturan HaKI yang berlaku di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh isi skripsi haruslah seizin Ketua Prodi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Karya tulis saya, skripsi ini, adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar sarjana, baik di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda maupun perguruan tinggi lain.
2. Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan dari pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing dan masukan Tim Penelaah/Tim Penguji.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Samarinda, Agustus 2024

Yang membuat pernyataan,

(Miko Paradila)

KUTIPAN

“Yang buruk sengaja Allah lepaskan, agar yang baik mempunyai kesempatan untuk datang”.

- Ali bin Abi Thalib

LEMBAR PERSEMBAHAN

“Teruntuk mereka yang sangat andal membimbing anak, sungguh mereka baru belajar menjadi orang tua ketika aku ada”.

Terimakasih kedua orang tua ku.

ABSTRAK

Biji alpukat mentega merupakan varietas yang banyak ditemukan di wilayah Indonesia. Biji alpukat mengandung metabolit sekunder seperti fenol dan flavonoid yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan. Tujuan penelitian ini untuk menentukan kadar flavonoid total, fenolik total serta aktivitas antioksidan biji buah alpukat mentega yang dimaserasi selama 3×24 jam menggunakan etanol 70%. Penentuan kadar flavonoid dan fenolik total serta aktivitas antioksidan dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Dari hasil penelitian diperoleh kadar senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol 70% biji buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) mengandung fenolik total sebesar 127,26 mgGAE/gram, flavonoid total sebesar 1,7606 mgQE/gram dan memiliki nilai IC₅₀ 29,51 ppm yang termasuk kedalam aktivitas antioksidan sangat kuat. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin tinggi aktivitas antioksidan. Kadar fenolik total menunjukkan nilai yang lebih besar dibandingkan kadar flavonoid total sehingga pada ekstrak biji alpukat senyawa fenolik yang memiliki peran utama dalam aktivitas antioksidan.

Kata kunci: biji alpukat mentega, flavonoid, fenolik, antioksidan, spektrofotometri UV-Vis.

ABSTRACT

*Butter avocado seed is a variety that is widely found in Indonesia. Avocado seeds contain secondary metabolites such as phenolic and flavonoids that have potential antioxidant activity. The purpose of this study was to determine the levels of total flavonoids, total phenolics and antioxidant activity of butter avocado seeds macerated for 3×24 hours using 70% ethanol. Determination of total flavonoid and phenolic content and antioxidant activity by UV-Vis spectrophotometric method. From the research results, it was obtained that the levels of secondary metabolite compounds of 70% ethanol extract of butter avocado seeds (*Persea americana* Mill.) contained total phenolics of 127.26 mgGAE/gram, total flavonoids of 1.7606 mgQE/gram and had an IC50 value of 29.51 ppm which includes very strong antioxidant activity. The smaller the IC50 value, the higher the antioxidant activity. The total phenolic content shows a greater value than the total flavonoid content so that in avocado seed extract phenolic compounds have a major role in antioxidant activity.*

Keywords: *butter avocado seed, flavonoids, phenolics, antioxidants, UV-Vis spectrophotometry.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini dengan judul **“PENETAPAN KADAR FLAVONOID, FENOLIK TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70% BIJI BUAH ALPUKAT MENTEGA (*Persea americana* Mill.) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS”**.

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi kewajiban sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada jurusan S1-Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

Penulis menyadari bahwa tanpa adanya bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, penyelesaian skripsi ini tidak akan terwujud. Oleh karena itu, dengan ketulusan dan kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :

1. Kepada yang terhormat Ibu Ns. Andrea Theofrida Bone, S. Kep., MAN., Selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.
2. Kepada yang terhormat Ibu apt. Liniati Geografi, M. Sc., Selaku Ketua Program Studi S1-Farmasi.
3. Kepada yang terhormat Ibu apt. Liniati Geografi, M. Sc., Selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak membantu selama proses perkuliahan.
4. Kepada Ibu Nurillahi Febria Leswana, M. Sc., dan Ibu Maria Elvina Teresia B, M. Farm., Selaku Dosen Pembimbing Penulisan Skripsi ini, terimakasih atas saran, dukungan dan arahan yang telah diberikan selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
5. Kepada Bapak apt. Taufiqurrahman, M. Farm., dan Ibu apt. Reksi Sundu, M. Sc., selaku Dosen Penguji skripsi yang telah memberikan masukan dan saran yang bermanfaat bagi perbaikan skripsi ini.
6. Seluruh staff dosen, staff administrasi serta seluruh karyawan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.
7. Kepada kedua orang tua saya, nenek dan almarhum kakek saya, dan adik-adik saya yang telah memberikan banyak pengorbanan serta kasih sayang

kepada saya hingga saya dapat menyelesaikan kuliah saya, dan terimakasih kepada ibu Umul Karimah, S. Si., M. Si., yang telah banyak memberikan uluran tangan untuk membantu saya mengembangkan ide dalam menyelesaikan skripsi ini.

8. Kepada teman-teman seperjuangan saya Dea Ayu Kartika, Sonia Berliani, S. Farm dan teman perjalanan saya Dimas Yogi Pratama, S. Farm, yang selalu memberikan penghiburan, semangat, dukungan dan bantuan dalam menyelesaikan perkuliahan. Saya selaku penulis juga ingin menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penelitian ini tentu tidak terlepas dari kekurangan, dengan itu penulis sangat mengharapkan adanya saran dan kritik yang bermanfaat bagi penulis di masa yang akan datang. Semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat.

Samarinda, Agustus 2024

Miko Paradila

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAKAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
KUTIPAN	iv
LEMBAR PERSEMBAHAN	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Identifikasi Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Hipotesis Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Buah Alpukat	4
2.1.1 Klasifikasi Tanaman	4
2.1.2 Karakteristik Tanaman.....	5
2.1.3 Kandungan Senyawa Biji Buah Alpukat.....	6
2.1.4 Fenolik	7
2.1.5 Flavonoid	9
2.1.6 Antioksidan	10
2.2 Ekstraksi	11
2.3 Reagen <i>Follin-Ciocalteu</i>	12
2.4 DPPH (<i>2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl</i>).....	13
2.5 Spektrofotometri UV-Vis	14
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	16
3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian.....	16
3.1.1 Tempat Penelitian.....	16
3.1.2 Waktu Penelitian	16

3.2	Alat Dan Bahan Penelitian.....	16
3.2.1	Alat.....	16
3.2.2	Bahan	16
3.3	Metode Penelitian	16
3.3.1	Jenis Penelitian.....	16
3.3.2	Definisi Oprasional	17
3.3.2.1	Biji Buah Alpukat.....	17
3.3.2.2	Uji Kualitatif.....	17
3.3.2.3	Uji Kuantitatif.....	17
3.3.3	Populasi Dan Sampel/Sumber Data	17
3.3.4	Teknik Pengumpulan Data.....	17
3.3.4.1	Data Primer.....	17
3.3.4.2	Data Sekunder	18
3.3.5	Teknik Analisis Data.....	18
3.4	Prosedur Penelitian	18
3.4.1	Uji Kualitatif	18
3.4.1.1	Determinasi Identifikasi Tanaman	18
3.4.1.2	Pembuatan Saimplisia	19
3.4.1.3	Ekstraksi	19
3.4.1.4	Uji Skrining Fitokimia.....	20
3.4.2	Uji Kuantitatif	21
3.4.2.1	Penetapan Kadar Fenolik Total	21
3.4.2.2	Penetapan Kadar Flavonoid Total	22
3.4.2.3	Uji Aktivitas Antioksidan.....	23
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
4.1	Determinasi Tanaman	26
4.2	Preparasi Sampel.....	26
4.3	Ekstraksi.....	27
4.4	Skrining Fitokimia	28
4.5	Penetapan Kadar Fenolik Total.....	29
4.6	Penetapan Kadar Flavonoid Total.....	32
4.7	Aktivitas Antioksidan.....	34
4.8	Hubungan Kadar Fenolik, Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan.....	37
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
5.1	Kesimpulan	39
5.2	Saran	39
	DAFTAR PUSTAKA	40
	LAMPIRAN.....	48

DAFTAR TABEL

	HALAMAN
Tabel 2.1 Hasil Skrining Fitokimia	7
Tabel 4.1 Hasil Susut Pengerinan Simplisia.....	26
Tabel 4.2 Hasil Ekstraksi Biji Buah Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.).....	27
Tabel 4.3 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Biji Buah Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.).....	28
Tabel 4.4 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Buah Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	28
Tabel 4.5 Hasil Pengukuran Absorbansi Asam Galat	31
Tabel 4.6 Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Biji Buah Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.).....	32
Tabel 4.7 Hasil Pengukuran Absorbansi Quercetine	33
Tabel 4.8 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Biji Buah Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.).....	34
Tabel 4.9 Hasil Perhitungan IC ₅₀ Vitamin C	35
Tabel 4.10 Hasil Perhitungan IC ₅₀ Ekstrak Biji Buah Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	36

DAFTAR GAMBAR

	HALAMAN
Gambar 2.1 Buah Alpukat Varietas Mentega.....	5
Gambar 2.2 Struktur Senyawa Fenolik	8
Gambar 2.3 Struktur Asam Galat	9
Gambar 2.4 Struktur Senyawa Flavonoid	9
Gambar 2.5 Reaksi Fenol Dengan Reagen <i>Follin-Ciocalteu</i>	12
Gambar 2.6 Reaksi Peredaman Radikal Bebas DPPH dengan Antioksidan	13
Gambar 2.7 Skema Spektroskopi Serapan UV-Vis.....	15
Gambar 4.1 Grafik Kurva Baku Asam Galat I.....	31
Gambar 4.2 Grafik Kurva Baku Quercetine.....	33
Gambar 4.3 Grafik %Inhibisi Vitamin C	35
Gambar 4.4 Grafik %Inhibisi Sampel	36

DAFTAR LAMPIRAN

	HALAMAN
Lampiran 1 <i>Timeline</i> Penelitian.....	48
Lampiran 2 Alur Penelitian	49
Lampiran 3 Hasil Determinasi.....	50

Lampiran 4 Sertifikat Keaslian Quersetin	51
Lampiran 5 Sertifikat Keaslian DPPH	52
Lampiran 6 Preparasi Sampel Biji Buah Alpukat	53
Lampiran 7 Pembuatan Simplisia.....	53
Lampiran 8 Ekstraksi.....	55
Lampiran 9 Hasil Pengujian Kualitatif.....	57
Lampiran 10 Perhitungan Susut Pengerinan	61
Lampiran 11 Perhitungan % Rendemen.....	61
Lampiran 12 Pembuatan Larutan dan Pereaksi	62
Lampiran 13 Perhitungan Kadar Fenolik Total.....	66
Lampiran 14 Perhitungan Kadar Flavonoid Total.....	67
Lampiran 15 Perhitungan % Inhibisi Vitamin C.....	68
Lampiran 16 Perhitungan % Inhibisi Sampel.....	70
Lampiran 17 Rancangan Anggaran Penelitian	72

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Alpukat merupakan salah satu jenis buah yang banyak digemari karena rasanya enak dan kaya manfaat. Alpukat berkhasiat sebagai antioksidan, antidiabetes serta memiliki efek hipolipidemik dengan mekanisme hipolipidemik alpukat yang mempengaruhi penyerapan lemak makanan dan transportasi kolesterol (Afrianti, 2010). Alpukat mengandung senyawa karotenoid, asam lemak, mineral, fenolik, fitosterol, protein dan vitamin. Daun buah alpukat secara empiris digunakan sebagai obat nyeri syaraf, nyeri lambung, dan dapat menurunkan tekanan darah tinggi serta mengobati batu ginjal. Namun, kebanyakan masyarakat hanya memanfaatkan buah dan daunnya saja, sementara biji alpukat jarang digunakan dan hanya menjadi limbah (Syafa'ah dkk., 2019).

Penelitian biji buah alpukat juga membuktikan bahwa skrining fitokimia ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) mengandung golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, flavonoid, polifenol, saponin, triterpenoid, kuinon, monoterpenoid dan seskuiterpenoid (Marlinda, 2012). Berbagai penelitian mencoba memanfaatkan biji buah alpukat untuk dijadikan produk seperti tepung untuk pembuatan roti, kue, dan biskuit yang kaya serat (Rivera dkk., 2019 dalam Bangar dkk., 2022), dan minuman teh antioksidan (Araujo dkk., 2018 dalam Bangar dkk., 2022), penstabil emulsi minyak dalam air (Velderrain dkk., 2021 dalam Bangar dkk., 2022), produk fermentasi substrat padat (Yepes-Betancur dkk., 2021 dalam Bangar., dkk. 2022), pengawet alami (Pacheco dkk., 2017 dalam Bangar dkk., 2022), agen antibakteri untuk mengawetkan produk daging (Villarreal-Lara dkk., 2019 dalam Bangar dkk., 2022), pewarna alami dalam industri makanan, farmasi dan kosmetik (Dabas dkk., 2011; Hatzakis dkk., 2019; Arlene dkk., 2015 dalam Bangar dkk., 2022).

Senyawa polifenol, seperti flavonoid dan fenolik yang terkandung dalam biji buah alpukat memiliki sifat antioksidan karena memiliki gugus hidroksil pada cincin aromatik yang mampu meredam radikal bebas (Ardila, 2020). Sehingga kadar flavonoid dan fenolik berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan.

Semakin besar kadarnya, maka semakin besar aktivitas antioksidan yang dihasilkan (Ardila, 2020). Kadar flavonoid, fenolik total dan antioksidan pada biji buah alpukat juga dipengaruhi varietas jenis alpukatnya. Pada penelitian Marsigit (2016) kadar fenolik total dari dua varietas alpukat yang dihasilkan berbeda, ekstrak etanol biji alpukat hijau panjang mengandung 4,994 mg GAE/100g dan ekstrak etanol biji alpukat hijau bundar mengandung 8,169 mg GAE/100g (Marsigit, 2016). Penelitian lain menunjukkan intensitas flavonoid lemah pada ekstrak etanol biji alpukat varietas mentega, sedangkan ekstrak etanol biji alpukat varietas merah bundar memiliki intensitas flavonoid yang tinggi (Malangngi dkk., 2012).

Ekstraksi merupakan proses penyarian zat-zat berkhasiat aktif dari campurannya dengan menggunakan pelarut dan metode yang sesuai berdasarkan sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi, maserasi merupakan metode ekstraksi dengan proses perendaman simplisia dan tidak perlu pemanasan, sehingga tidak menurunkan kadar senyawa yang terkandung dalam sampel (Wahyulianingsih dkk., 2016). Pelarut yang biasa digunakan dalam maserasi adalah metanol, etanol, aseton, isopropil alkohol dan etil asetat (Savitri dkk., 2017). Dalam penelitian ini menggunakan etanol 70% sebagai pelarut. Etanol 70% dapat menembus dinding sel pada sampel, sehingga mampu melakukan difusi sel dan menarik senyawa bioaktif lebih cepat (Yulianti dkk., 2020). Pada penelitian aktivitas antioksidan pada alpukat mentega yang diekstraksi dengan etanol 70% memiliki aktivitas penangkap radikal bebas sebesar 92,970 % (Marlinda dkk., 2012).

Berdasarkan hal tersebut, maka penelitian mengenai analisis kadar senyawa flavonoid dan fenolik total serta aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol biji buah alpukat varietas mentega (*Persea americana* Mill.) penting untuk dilakukan. Penggunaan pelarut etanol bertujuan untuk menarik metabolit sekunder yang bersifat polar seperti senyawa fenolik dan flavonoid. Pengukuran dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan varietas mentega karena banyak ditemukan di wilayah Indonesia. Biji buah alpukat yang mengandung flavonoid dan fenolik total serta memiliki aktivitas antioksidan tinggi dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan fungsional yang baik untuk kesehatan.

1.2 Identifikasi Masalah

Berapakah kadar flavonoid, fenolik total serta aktivitas antioksidan pada ekstrak biji buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.)?

1.3 Tujuan Penelitian

Menentukan kadar flavonoid total, fenolik total, dan aktivitas antioksidan pada ekstrak biji buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.).

1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Memberikan informasi kepada para pembaca kadar flavonoid dan fenolik total serta aktivitas antioksidan yang terkandung dalam biji buah alpukat mentega.

2. Manfaat praktis

Memberikan informasi kepada para pembaca tentang kandungan senyawa yang terdapat dalam biji buah alpukat mentega.

1.5 Hipotesis Penelitian

1. H_0 : Biji buah alpukat tidak mengandung senyawa senyawa flavonoid dan senyawa fenolik total serta memiliki aktivitas antioksidan pada kadar tertentu.

2. H_1 : Biji buah alpukat mengandung senyawa senyawa flavonoid dan senyawa fenolik total serta tidak memiliki aktivitas antioksidan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Buah Alpukat

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) merupakan tanaman yang termasuk dalam famili *Lauraceae* yang banyak tumbuh di daerah tropis dan subtropis (Katja dkk. 2009 dalam Felistiani, 2017). Di Indonesia salah satu jenis buah alpukat yang banyak dikembangkan dan menjadi jenis alpukat unggul yaitu alpukat mentega yang tergolong dalam varietas alpukat hijau bundar. Buah alpukat mentega berbentuk bulat sedikit lonjong pada bagian atas dengan panjang 13-17 cm, kulit buah berwarna hijau. Daging buah alpukat mentega tebal dengan tekstur lembut dan tidak berair, warna daging buah menyerupai seperti mentega berwarna kuning. Buah alpukat mentega dapat dipanen sekitar 6-7 bulan setelah bunga mekar (Andajani dan Rahardjo, 2020). Kedudukan tanaman alpukat dalam taksonomi tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut (Noorul, 2016):

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Sub Kelas	: Dialypetalae
Ordo	: Ranales
Famili	: Laeaceae
Genus	: <i>Persea</i>
Spesies	: <i>Persea americana</i> (Mill.)



Gambar 2.1 Buah Alpukat Varietas Mentega.

Sumber: Cybext (2019) dalam Maziyyatul (2022)

2.1.2 Karakteristik Tanaman

Tanaman pohon alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki tinggi berkisar 3-10 m, ranting tegak dan berambut halus, daun berdesakan di ujung ranting, bunga alpukat terletak di dekat ujung ranting, bunganya sangat banyak dengan diameter 1-1,5 cm, berwarna kekuningan, berbulu halus dan terdapat benang sari dalam 4 karangan, buah alpukat berbentuk menyerupai bola lampu dampai bulat telur, berwarna hijau kekuningan berbintik ungu, gandel atau halus dan wangi, biji buah alpukat berbentuk seperti bola dan hanya terdapat satu biji dalam 1 buah (Handayani dan Citra, 2009). Pohon alpukat yang berukuran besar mampu menghasilkan jutaan bunga dalam semusim. Bunga alpukat muncul pada ujung tunas. Bunga betina tunggal dengan tangkai sari panjang dan diakhiri dengan kepala sari yang membesar (Felistiani, 2017).

Daun alpukat merupakan bagian tanaman yang dapat dimanfaatkan selain buahnya. Daun alpukat muda pada beberapa daerah digunakan sebagai obat tradisional sebagai antihipertensi (Tahla dkk., 2011 dalam Widarta dan Anarta, 2017), antihiperlipidemia (Kolawole dkk., 2012), antidiabetes (Marrero-Faz dkk., 2014 dalam Widarta dan Anarta, 2017), antikanker (Mardiyarningsih dan Ismiyati, 2014 dalam Widarta dan Anarta, 2017), antibakteri (Ogundare dan Oladejo, 2014 dalam Widarta dan Anarta, 2017) serta berpotensi memiliki aktivitas antioksidan (Asaolu dkk.,

2010 dalam Widarta dan Anarta, 2017). Daun alpukat mengandung senyawa kimia diantaranya saponin, alkaloid, flavonoid dan tanin (Tengo dkk., 2013).

Bagian biji buah alpukat memiliki selaput kulit yang memisahkan antara buah dan biji, buah alpukat yang sudah matang atau tua memiliki selaput kulit biji berwarna kekuningan. Biji alpukat diketahui memiliki efek antioksidan yang cukup baik selain itu biji alpukat memiliki efek hipoglikemik dan dapat dimanfaatkan untuk pengobatan secara tradisional dengan mengonsumsi seduhan air dari biji buah alpukat. Biji alpukat juga dipercaya mampu mengobati sakit gigi, maag kronis, hipertensi, diabetes melitus dan dipercaya mampu menurunkan kadar glukosa sekaligus dapat digunakan sebagai antimikroba (Nahar, 2017).

2.1.3 Kandungan Senyawa Biji Buah Alpukat

Kandungan fitokimia merupakan senyawa-senyawa aktif yang terdapat pada tumbuhan dengan ciri memiliki cita rasa, warna dan aroma yang khas (Patel, 2013 dalam Felistiani, 2017). Biji alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki beberapa kandungan senyawa aktif seperti polifenol, flavonoid, triterpenoid, kuinon, saponin, tanin, monoterpenoid dan seskuioterpenoid (Arukwe dkk., 2012 dalam Felistiani, 2017).

Biji alpukat yang banyak mengandung senyawa aktif memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai obat tradisional untuk pengobatan sariawan, kencing batu, darah tinggi, sakit gigi, bengkak akibat peradangan, dan kencing manis. Kandungan fenolik yang terkandung dalam biji alpukat diduga berpotensi memiliki efek antioksidan (Arukwe dkk., 2012 dalam Felistiani, 2017). Biji alpukat dimanfaatkan sebagai sumber fitoterapeutik untuk mengatasi infeksi parasit dan mikosis. Diketahui biji alpukat mengandung senyawa fitosterol, triterpen, asam lemak, asam furanoik, dimer flavonol, proantosianidin dan asam absisat. Beberapa senyawa yang terkandung

telah terbukti memiliki aktivitas antifungsi dan efek larvasidal (Leite dkk., 2009 dalam Felistiani, 2017).

Berdasarkan penelitian sebelumnya dilakukan uji skrining fitokimia pada ekstrak etanol 70%, pada biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). Hasil senyawa yang terkandung dapat dilihat pada (Tabel 2.1) :

Tabel 2.1. Hasil Skrining Fitokimia (Munte dkk., 2023)

Senyawa	Hasil
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Fenolik	+
Saponin	+
Tannin	+
Triterpenoid/steroid	-

Keterangan:

(+) mengandung senyawa metabolit sekunder

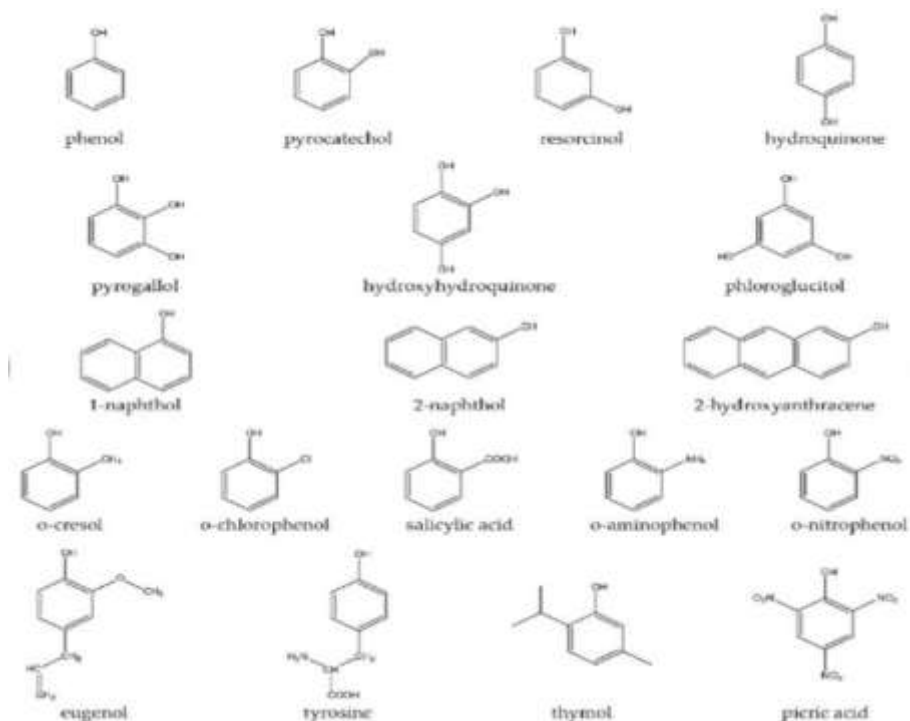
(-) tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

2.1.4 Fenolik

Senyawa fenolik dengan unsur atom penyusun karbon, hidrogen dan hidroksida (C_6H_5OH) merupakan komponen yang memberikan aktivitas antioksidan yang merupakan golongan fitokimia terbesar pada tumbuhan. Fenolik memiliki kemampuan dalam meredam oksigen reaktif karena terdapat gugus hidroksil pada cincin aromatik yang berperan sebagai donor elektron (Indra dkk., 2019). Kadar fenolik total adalah kandungan fenolik total yang terdapat pada suatu sampel. Fenolik yang terkandung di dalam tanaman bersifat redoks dan sifatnya memungkinkan adanya aktivitas antioksidan. Kandungan fenolik total juga disebut *Total Phenolic Content* (TPC) yang

dinyatakan dalam satuan GAE/g sampel (Johari dan Khong, 2019).

Gambar struktur senyawa fenolik dapat dilihat pada (Gambar 2.2) :

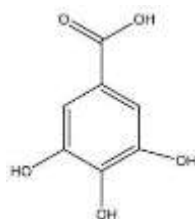


Gambar 2.2 Struktur senyawa fenolik (Sobiesiak, 2017)

Asam galat merupakan senyawa turunan fenolik yang sebagian besar banyak ditemukan dalam tanaman, dibuktikan bahwa aktivitas antioksidan berhubungan dengan adanya gugus hidroksil bebas dan terkonjugasi pada senyawa fenolik seperti asam galat (Maesaroh dkk., 2018).

Asam galat sering digunakan sebagai larutan pembanding karena senyawa ini memiliki sifat stabil, murni dan relatif terjangkau. Asam galat akan bereaksi dengan reagen *Follin-Ciocalteu* dalam suasana basa dengan penambahan natrium karbonat. Asam galat termasuk dalam senyawa kompleks warna biru dengan absorbansi yang diukur pada panjang gelombang 765 nm. Pembanding asam galat atau kurva baku ini digunakan untuk mendapatkan persamaan regresi linier agar kadar senyawa fenolik yang uji dapat diukur (Nofita dan Nurlan, 2020). Fenolik memiliki berbagai potensi bioaktivitas seperti antioksidan, anti

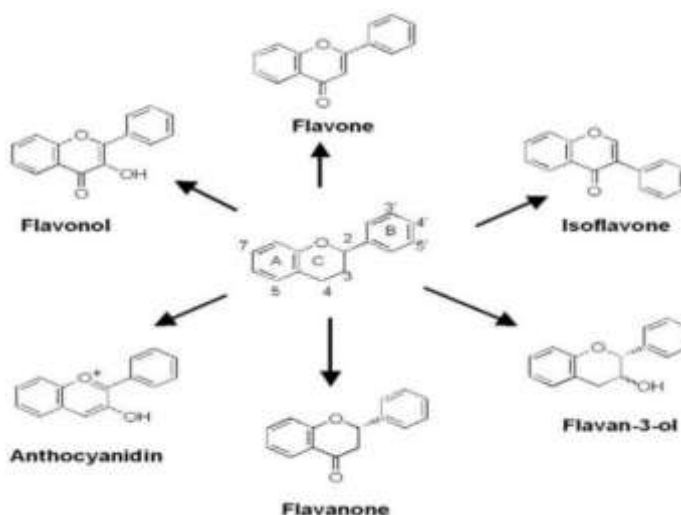
inflamasi, antimikroba dan antiviral (Tripoli dkk., 2005). Struktur senyawa asam galat dapat dilihat pada (Gambar 2.3) :



Gambar 2.3 Struktur senyawa asam galat (Wanita dan I Gusti, 2020)

2.1.5 Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan senyawa fenolik dan terdapat hampir disemua jenis tanaman Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki banyak manfaat sebagai obat tradisional (Latifah, 2015). Senyawa flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆. Gugus hidroksi (-OH) yang terdapat dalam flavonoid berfungsi meningkat berbagai glikosida sehingga meningkatkan kelarutan flavonoid alam air (Latifah, 2015). Struktur senyawa flavonoid dapat dilihat pada (Gambar 2.4) :



Gambar 2.4 Struktur senyawa flavonoid (Nishiumi dkk., 2011)

Flavonoid termasuk ke dalam senyawa aromatik yang bersifat antioksidan. Senyawa flavonoid aktif dalam menangkal radikal bebas yang ditentukan adanya gugus fungsi -OH (hidroksi), Flavonoid sebagai antioksidan bekerja dengan cara mensupresi pembentukan

Reactive Oxygen species (ROS) baik dengan inhibisi enzim-enzim atau dengan cara mengikat *trace element* yang terkait dengan pembentukan radikal bebas, mendeteksi ROS dan meningkatkan regulasi atau proteksi pertahanan antioksidan (Widiasari, 2018). Flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi dan antikanker. Senyawa flavonoid juga dipercaya berperan sebagai alat pertahanan tanaman dari serangan serangga atau hewan herbivora dan juga penyebab penyakit pada tanaman (Widiasari, 2018).

2.1.6 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pendonor elektron atau reduktan yang memiliki berat molekul kecil tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas sehingga kerusakan sel dapat dihambat (Winarsi, 2007 dalam Latifah, 2015). Radikal bebas merupakan molekul kimia yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan dan dapat teroksidasi didalam tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel yang berbahaya bagi tubuh (Verrananda dkk., 2016). Terdapat dua sumber radikal bebas yaitu endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen berasal dari dalam tubuh yang terjadi akibat autooksidasi, oksidasi enzimatis dan *respiratory burst*. Adapun radikal bebas yang berasal dari luar (eksogen) disebabkan oleh polusi udara, radiasi UV, sinar-X, pestisida, cemaran logam berat pada bahan makanan dan juga asap rokok (Irianti dkk., 2021).

Fungsi antioksidan dikelompokkan berdasarkan mekanisme kerjanya, terdapat dua fungsi antioksidan (sekunder dan primer atau utama). Antioksidan dengan fungsi sekunder bekerja mengurangi laju autooksidasi dengan pemutusan rantai maupun penstabilan radikal bebas, sedangkan antioksidan dengan fungsi utama (primer) bekerja dengan mendonorkan atom H dengan cepat pada radikal lipida agar

menjadi bentuk yang lebih stabil (Barus, 2009). Antioksidan berfungsi mencegah terjadinya berbagai macam penyakit, seperti penyakit kardiovaskular, jantung koroner (Mbata, 2010; Gunawan, 2020), kanker serta penuaan dini. Penambahan antioksidan dalam makanan efektif mengurangi oksidasi lemak yang menyebabkan bau tengik pada makanan, toksisitas dan destruksi biomolekul di dalam makanan (Palmer dan Kitchin, 2010; Gunawan, 2020).

Sumber antioksidan dibagi menjadi dua, alami dan buatan. Antioksidan alami diperoleh dari ekstraksi bahan alami seperti buah-buahan dan tumbuhan, sedangkan antioksidan buatan disintesis dari suatu reaksi. Secara alami tubuh memproduksi sistem antioksidan alami (antioksidan internal) untuk melindungi diri dari serangan radikal bebas, akan tetapi kemampuan memproduksi antioksidan secara alami akan semakin berkurang dengan bertambahnya usia (Sayuti dan Yenrina, 2015 dalam Gunawan, 2020).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan yang memiliki kelarutan yang berbeda, dalam metode ekstraksi bahan alam, dikenal suatu metode maserasi. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi yang sederhana untuk dilakukan. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut organik. Pelarut organik akan menembus dinding sel kemudian akan menembus masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan terlarut. Karena adanya perbedaan konsentrasi Antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang terpekat akan dipaksa keluar. Keuntungan menggunakan metode ini adalah metode dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan (Cheong dkk., 2005 dalam Moito, 2018).

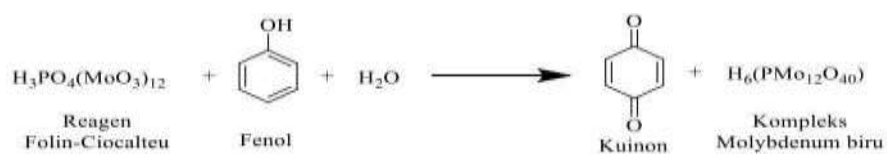
Metode maserasi merupakan salah satu metode bahan alam yang menggunakan lemak panas, akan tetapi lemak-lemak panas itu telah diganti dengan pelarut-pelarut organik yang mudah menguap. Dengan penekanan utama pada maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dengan jaringan yang diekstraksi (Guenther dalam Diantika dkk., 2014). Saat proses

perendamaan simplisia akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel, sehingga sitoplasma akan pecah dan metabolit sekunder yang terkandung didalamnya akan terlarut dalam pelarut organik yang digunakan. Lamanya waktu perendaman simplisia pada metode maserasi akan memperbanyak jumlah sel yang terpecah, sehingga bahan aktif yang terlarut juga semakin banyak (Chairunnisa dkk., 2019).

2.3 Reagen *Follin-Ciocalteu*

Pengujian senyawa fenolik dengan menggunakan metode *Follin-Ciocalteu*. Pereaksi *Follin-Ciocalteu* merupakan larutan kompleks yang terbuat dari asam heteropolifosfatungstat dan asam fosfomolibdat. Asam-asam yang digunakan tersusun dari natrium molibrat, natrium tungstate, air, bromin, litium sulfat, asam klorida dan asam fosfat. Prinsip metode *Follin-Ciocalteu* yaitu reaksi reduksi dan oksidasi kolorimetrik dengan tujuan untuk mengukur semua senyawa fenolik. Senyawa fenolat yang teridentifikasi akan menghasilkan warna biru, semakin pekat warna yang dihasilkan maka semakin tinggi kandungan senyawa fenolik pada sampel (Adawiah dkk., 2015).

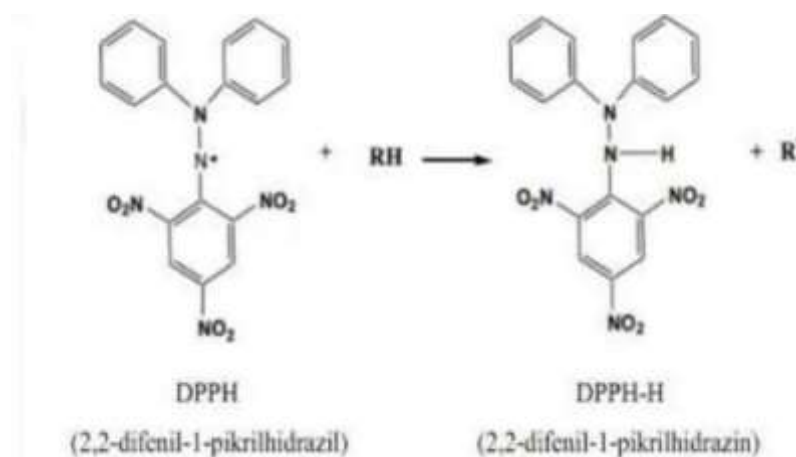
Senyawa fenolik memiliki sifat polar yang cenderung larut dalam pelarut polar, sehingga pelarut yang digunakan untuk uji fenolik dapat digunakan aquades. Senyawa fenolik lebih larut dalam air karena bergabung dengan gula yang terdapat dalam rongga sel (Anwariyah, 2011). Antioksidan yang terkandung dalam sampel dapat terdeteksi dengan mengukur kapasitas reduksi dengan pereaksi *Follin-Ciocalteu* menggunakan spektrofotometer. *Follin-Ciocalteu* merupakan pereaksi kompleks dari fosfomolibdat-fosfotungstat. Molibdenum pada kompleks ini adalah Mo (VI) yang akan mengalami penurunan anion fenolat ditandai dengan perubahan warna kuning menjadi warna biru (Sugiat, 2010). Reaksi reagen *Follin-Ciocalteu* dengan fenol dapat dilihat pada (Gambar 2.5) :



Gambar 2.5 Reaksi fenol dengan reagen *Follin-Ciocalteu*
(Ramadhan dkk., 2021)

2.4 DPPH (2,2 diphenyl-1-picryl-hydrazyl)

DPPH merupakan radikal bebas yang mampu menerima donor elektron (radikal hidrogen) dari senyawa lain yang akan membentuk senyawa yang lebih stabil dan stabil dalam larutan berair (Musdalifah, 2016 dalam Ardila, 2020). Metode DPPH umumnya dipergunakan untuk menguji aktivitas antioksidan, larutan DPPH akan bereaksi dengan senyawa antioksidan yang akan berubah menjadi *diphenilpicrylhydrazine* yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah kadar *diphenilpicrylhydrazine* ditunjukkan dengan adanya perubahan warna pada larutan yang berwarna ungu menjadi berwarna kuning pucat (Alam dkk., 2013 dalam Ardila, 2020).



Gambar 2.6 Reaksi peredaman radikal bebas DPPH dengan antioksidan (Molyneux, 2004 dalam Nugroho, 2021)

Prinsip kerja DPPH dengan interaksi antara DPPH dan antioksidan (secara radikal hidrogen atau transfer elektron pada DPPH yang akan menstabilkan radikal bebas). DPPH dan elektrok radikal bebas yang berpasangan akan membentuk larutan berwarna kuning terang dari ungu tua. Transfer proton akan menghasilkan DPPH menjadi senyawa non-radikal. Jika elektron tidak berdampungan pada radikal DPPH maka radikal DPPH akan berdampungan dengan atom hidrogen dan membentuk DPPH-H tereduksi. Absorbansi antioksidan dapat diukur dengan spektrofotometer Uv-Vis menggunakan panjang gelombang 517 nm. Absorbansi di ukur setelah proses inkubasi selama 30menit, hal ini bertujuan agar larutan dapat bereaksi dengan sempurna (Musdalifah, 2016

dalam Ardila, 2020).

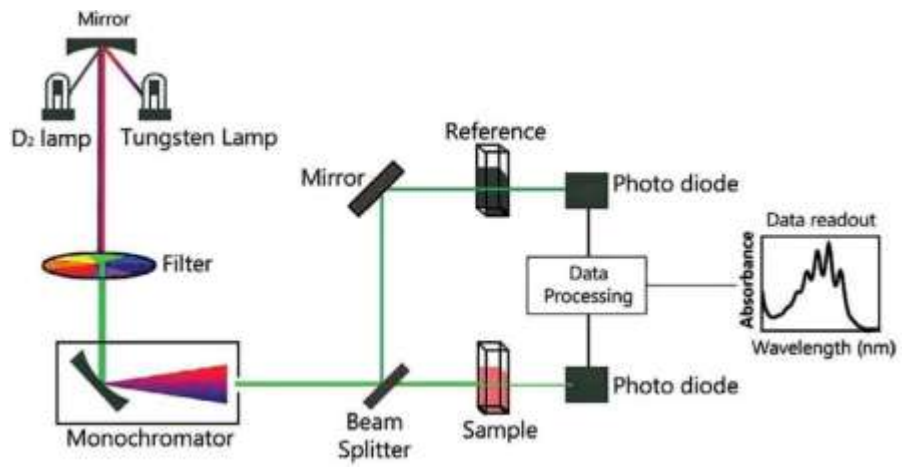
Hasil metode DPPH diperlihatkan dalam parameter EC_{50} (*Efficient Concentration*) atau IC_{50} (*Inhibition Concentration*). IC_{50} merupakan Konsentrasi yang dapat menyebabkan larutan atau sampel tereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Apabila persentase EC_{50} atau IC_{50} lebih besar maka aktivitas antioksidan semakin rendah atau lemah, begitu pula sebaliknya (Alam dkk., 2013 dalam Ardila, 2020).

2.5 Spektrofotometri UV-Vis

Spektroskopi adalah cabang ilmu kimia yang mengkaji interaksi berbagai tipe radiasi elektromagnetik dengan suatu bahan kimia (Nazar, 2018 dalam Khairunnisa, 2021). Spektrofotometri merupakan suatu metode pengukuran dengan adanya absorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu yang melewati media larutan yang terdiri dari sampel yang akan ditentukan serapan cahayanya (Lestari, 2009 dalam Khairunnisa, 2021)

Spektrofotometri UV-Vis merupakan suatu metode instrumen yang umumnya diaplikasikan dalam menganalisis senyawa kimia yang bertujuan mendeteksi senyawa berdasarkan adanya absorbansi foton pada daerah UV-Vis dengan panjang gelombang antara 200-700 nm (Irawan dkk., 2019 dalam Khairunnisa, 2021). Prinsip kerja metode spektrofotometri UV-Vis dengan suatu cahaya yang bersifat monokromatik yang akan melewati suatu media berupa larutan yang nantinya terjadi penyerapan pada sebagian cahaya, kemudian sebagian cahaya ada yang dipantulkan lalu sebagian lainnya akan dipancarkan (Fatimah, 2016 dalam Khairunnisa, 2021).

Absorpsi cahaya pada suatu panjang gelombang tertentu yang melewati media larutan yang terdiri dari sampel yang kemudian ditentukan serapannya (Lestari, 2009 dalam Khairunnisa, 2021). Skema pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada (Gambar 2.7) :



Gambar 2.7 Skema Spektroskopi Serapan UV-Vis (Soni dkk., 2021)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian

3.1.1 Tempat Penelitian

Pengujian analisis senyawa fenolik, flavonoid total serta aktivitas antioksidan pada ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dilakukan di Laboratorium Prodi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

3.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama 3 bulan dimulai dari bulan Maret 2024 sampai Mei 2024.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi spektrofotometri UV-Vis (B-One UV Vis 100-OAX), oven (Binder 115), blender (Panasonic MX-GX), rotary evaporator (Heidolph), hot plate (Maspion S-301), neraca analitik (OHAUS), seperangkat alat kaca (Pyrex), corong (Herma), rak tabung, pipet mikro (Dragonlab), pipet tetes, kuvet, kertas saring, aluminium foil.

3.2.2 Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian meliputi ekstrak biji buah alpukat mentega, aquadest, metanol, etanol 70%, etanol p.a 96% , HCl 2 N, reagen Mayer dan Dragendrof, serbuk Mg, FeCl₃ 5%, asam galat, Na₂CO₃ p.a, asam asetat 5%, AlCl₃, kuersetin, Follin-Ciocalteu, vitamin C, DPPH (2,2 diphenyl-1-picryl-hydrazyl).

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menguji ekstrak etanol biji alpukat

mentega pada biji buah alpukat secara kualitatif untuk mengetahui adanya kandungan senyawa fenol dan flavonoid, kedua senyawa ini memiliki potensi sebagai antioksidan, serta dilakukan pengujian secara kuantitatif untuk mengetahui kadar flavonoid dan fenolik total serta kadar antioksidan yang terkandung dalam biji buah alpukat.

3.3.2 Definisi Oprasional

3.3.2.1 Biji Buah Alpukat

Biji buah alpukat merupakan bagian dari tanaman buah alpukat yang diperoleh dari pohon alpukat di daerah Tenggarong, Kalimantan Timur.

3.3.2.2 Uji Kualitatif

Uji kualitatif merupakan metode untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada sampel ekstrak etanol biji alpukat mentega dengan melakukan uji fitokimia.

3.3.2.3 Uji Kuantitatif

Uji kuantitatif merupakan metode yang digunakan untuk mengidentifikasi kadar metabolit sekunder yang terkandung pada sampel ekstrak etanol biji alpukat mentega dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.3.3 Populasi Dan Sampel/Sumber Data

Sampel dalam penelitian ini menggunakan biji buah alpukat dari buah alpukat varietas mentega yang diperoleh di wilayah Tenggarong, Kalimantan Timur dengan kriteria buah yang telah matang dengan ciri kulit buah berwarna hijau gelap.

3.3.4 Teknik Pengumpulan Data

3.3.4.1 Data primer

Data yang diperoleh dengan mengumpulkan biji buah alpukat mentega yang akan di uji di laboratorium Prodi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan

Dirgahayu Samarinda dengan metode spektrofotometer UV-Vis untuk menetapkan kadar senyawa flavonoid dan fenolik total serta aktivitas antioksidan yang terkandung.

3.3.4.2 Data Sekunder

Data sekunder diperoleh dari berbagai jurnal ilmiah, buku maupun literatur lain yang mendukung serta berkaitan dengan penelitian ini, sebagai acuan dalam rancangan penelitian.

3.3.5 Teknik Analisis Data

Data yang disajikan dalam bentuk gambar, tabel, grafik serta pembahasan. Hasil penelitian dengan uji kualitatif berupa tabel dan gambar dari pengamatan perubahan yang terjadi dalam mereaksikan sampel. Hasil penelitian uji kuantitatif berupa nilai absorbansi dari sampel. Kadar sampel akan diketahui melalui perhitungan kurva baku yang diperoleh dari nilai $y = bx + a$, dimana y merupakan nilai absorbansi dan x adalah kadar yang terukur. Dilakukan perhitungan potensi antioksidan dengan rumus pada (Persamaan 3.1) :

$$\%inhibisi = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\% \quad (3.1)$$

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Uji Kualitatif

3.4.1.1 Determinasi Identifikasi Tumbuhan

Buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) yang dikumpulkan kemudian dilakukan determinasi di Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman Samarinda. Hasil dari determinasi akan menyatakan bahwa spesies *Persea americana* atau bukan.

3.4.1.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia kering menggunakan biji buah alpukat mentega yang telah dibersihkan dengan air dan dikeringkan, kemudian dikupas kulit arinya. Selanjutnya, biji buah alpukat yang sudah bersih dirajang dengan ketebalan 2-3 cm dan dikeringkan di oven dengan suhu 60°C selama 6 jam. Simplisia yang sudah dikeringkan, kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan nomor 60 mesh (Rahmawati dkk., 2022). Serbuk simplisia disimpan dalam toples kaca dan ditutup rapat. Dilakukan uji susut pengeringan dengan memasukan 1 gram simplisia kedalam krus porselen yang telah ditara dan dikeringkan di oven suhu 105 °C selama 5 jam dan ditimbang (Depkes RI, 2000; dalam Andini dan Putri, 2021), kemudian dihitung dengan rumus pada (Persamaan 3.2).

$$\text{Susut pengeringan} = \frac{\text{berat sebelum pemanasan} - \text{berat akhir}}{\text{berat sebelum pemanasan}} \quad (3.2)$$

3.4.1.3 Ekstraksi

Ekstrak biji alpukat diperoleh dengan cara maserasi. Serbuk simplisia biji alpukat dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70 % selama 3×24 jam dengan pengadukkan kemudian disaring menggunakan kain saring dan ampas akan diremaserasi selama 3×24 jam. Maserat yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental (Febrila, 2021). Ekstrak kental yang diperoleh dihitung persen (%) rendemennya dengan rumus pada (Persamaan 3.3) :

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot simplisia (g)}} \times 100\% \quad (3.3)$$

Ekstrak yang diperoleh dilakukan uji bebas etanol dengan menggunakan 2 tetes asam sulfat pekat dan 1 mL kalium dikromat ditambahkan kedalam ekstrak. Jika terjadi perubahan warna jingga menjadi hijau kebiruan maka ekstrak mengandung etanol (Sukadiasa Dkk., 2023).

3.4.1.4 Uji Skrining Fitokimia

Ekstrak yang diperoleh akan dilakukan uji skrining fitokimia meliputi :

1. Uji alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol biji alpukat mentega dicampurkan dengan HCl 2 N sebanyak 1 mL dan aquadest sebanyak 9 mL, setelah itu dipanaskan selama 2 menit, dilakukan pendinginan dan penyaringan lalu diperoleh filtrat 2 tabung reaksi dimasukkan filtrat sebanyak 0,5 mL, setelah itu 2 tetes pereaksi Meyer dan Dragendorf ditambahkan pada masing-masing tabung reaksi. Adapun hasil positif alkaloid ditandai jika terdapat endapan atau kekeruhan warna putih (Meyer) atau merah (Dragendorf) (Wirasti, 2019).

2. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol biji alpukat mentega ditimbang dan ditambah pelarut metanol sebanyak 3 mL kemudian dipanaskan di suhu 60°C. Lalu ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,1 mg lalu ditambah HCl pekat sebanyak 5 tetes. Hasil positif flavonoid ditandai dengan adanya warna menjadi merah, kuning atau jingga (Wirasti, 2019).

3. Uji Saponin

Ekstrak etanol biji alpukat mentega sebanyak 1 gram dimasukkan dalam sebuah tabung reaksi. Setelah itu, dimasukkan air panas sebanyak 10 mL

dan didinginkan terlebih dahulu kemudian dilakukan pengocokan kuat-kuat (10 detik). Adapun hasil positif saponin ditunjukkan jika terdapat buih selama 10 menit (tinggi 1-10 cm) dan buih tetap ada apabila ditambahkan HCl 2 N 1 tetes (Wirasti, 2019).

4. Uji Fenol

Sebanyak 1 mL ekstrak etanol biji alpukat mentega diteteskan dengan 2 tetes dari larutan FeCl₃, 5%. Hasil positif fenolik jika menunjukkan warna hijau atau warna hijau biru (Wirasti, 2019).

3.4.2 Uji Kuantitatif

3.4.2.1 Penetapan Kadar Fenolik Total

Penetapan kadar fenolik total mengacu prosedur penelitian (Ramadhan dkk., 2021; Malik dkk., 2015; Wahdaningsih dkk., 2017). Langkah pertama melakukan penetapan panjang gelombang maksimal konsentrasi 100 ppm asam galat sebanyak 0,1 mL yang ditambahkan 0,4 mL reagen *Follin-Ciocalteu* yang didiamkan selama 3 menit, kemudian ditambahkan 1 mL larutan Na₂CO₃ 1 M dengan 3,5 mL aquadest. Penentuan *operating time* diberi perlakuan serupa pada interval 1menit dan diperoleh absorbansi stabil pada 0–60 menit. Pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimal 400-784 nm. Penetapan kadar fenolik total menggunakan standar asam galat sebagai kurva baku dengan seri konsentrasi 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm. Seri kurva standar asam galat dan ekstrak diberi perlakuan yang sama seperti penentuan panjang gelombang maksimal yang sebelumnya didiamkan selama *operating time* dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm (Ramadhan dkk., 2021; Malik dkk., 2015;

Wahdaningsih dkk., 2017). Penetapan kadar fenolik total dari ekstrak yang didapat dengan memasukkan absorbansi pada regresi linier kurva baku (Das dkk., 2014 dalam Wahdaningsih dkk., 2017). Kadar fenolik total dapat dihitung dengan rumus pada (Persamaan 3.4) (Rollando dan Monica, 2018):

$$\text{Kadar fenolik total} = \frac{C \times V \times F_p}{M} \quad (3.4)$$

Keterangan :

C : konsentrasi Asam Galat (mg/L)

V : Volume Ekstrak (L)

F_p : Faktor Pengenceran

M : Bobot Ekstrak (Gram)

3.4.2.2 Penetapan Kadar Flavonoid Total

Percobaan penelitian kadar flavonoid merujuk penelitian (Chang dkk., 2002) diawali penetapan panjang gelombang maksimal larutan kuersetin 100 ppm sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 3 mL etanol p.a, 0,2 mL AlCl₃ serta 0,2 mL, asam asetat 20% dan 5,6 mL aquadest. Kemudian diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dengan panjang gelombang maksimal 400-500 nm. Penentuan *operating time* diberi perlakuan serupa pada interval 1menit dan diperoleh absorbansi stabil pada 0–60 menit. Penetapan kadar flavonoid total dengan menggunakan larutan standar kuersetin sebagai kurva baku dengan seri konsentrasi 40, 60, 80, 100, dan 120 ppm. Seri kurva baku dan ekstrak diberi perlakuan yang serupa seperti penentuan panjang gelombang maksimal yang sebelumnya didiamkan selama *operating time* sebelum pembacaan menggunakan

spektrofotometer UV-Vis (Chang dkk., 2002). Penetapan kadar flavonoid dalam ekstrak didapat dengan memasukkan nilai absorbansi pada regresi linier kurva baku (Ramadhan Hafiz dkk., 2021; Anwar dkk., 2017). Kadar flavonoid total dinyatakan sebagai total ekuivalen kuersetin per 1 gram ekstrak (mg *QE*/g). Kadar flavonoid dapat dihitung dengan rumus pada (Persamaan 3.5) (Rollando dan Monica, 2018):

$$\text{Kadar flavonoid total} = \frac{C \times V \times F_p}{M} \quad (3.5)$$

Keterangan :

C : konsentrasi Kuersetin (mg/L)

V : Volume Ekstrak (L)

F_p : Faktor Pengenceran

M : Bobot Ekstrak (Gram)

3.4.2.3 Uji Aktivitas Antioksidan

1. Penyiapan Larutan DPPH 100 ppm

Larutan pereaksi adalah larutan DPPH 100 ppm dalam pelarut etanol p.a 96%. Larutan ini dibuat dengan cara menimbang 5 mg serbuk DPPH, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, lalu ditambahkan etanol 96%, sebagian kemudian di kocok untuk melarutkan serbuk DPPH dan selanjutnya ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas (Yuliani dkk., 2016).

2. Penyiapan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm sebagai larutan induk. Penyiapan larutan uji dilakukan dengan menimbang ekstrak etanol biji alpukat mentega sebanyak 100 mg, dimasukkan ke

dalam labu ukur 100 mL dan ditambah etanol 96% sebagian lalu di kocok hingga homogen, kemudian ditambahkan etanol 96% hingga tanda batas. Setelah itu, dibuatkan menjadi larutan uji 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm (Yuliani dkk., 2016).

3. Penyiapan Kontrol Positif Vitamin C

Ditimbang 5mg vitamin C dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 50 mL kemudian ditambahkan dengan etanol 96% sampai tanda batas. Kemudian dibuatkan pengenceran menjadi 5 seri konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm (Yuliani dkk., 2016).

4. Penentuan *Operating Time*

Larutan uji dari ekstrak etanol biji alpukat mentega dibuat beberapa konsentrasi. Konsentrasi ekstrak uji yang dibuat adalah 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm. Ekstrak uji diambil konsentrasi terendah yaitu 10 ppm, dilakukan *operating time* dengan cara 1,2 mL ekstrak uji ditambah 0,9 mL metanol p.a, dan 0,9 mL larutan DPPH 100 ppm. Larutan uji diukur pada menit ke 0, 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 pada panjang gelombang maksimum 517nm (Yuliani dkk., 2016).

5. Pengukuran Absorbansi Peredaman

Larutan Blanko, larutan uji, dan kontrol positif yang telah dibuat dalam beberapa konsentrasi, masing-masing diambil sebanyak 1,2 mL, ditambahkan 0,9 mL metanol p.a dan 0,9 mL larutan pereaksi DPPH 100 ppm, dimasukkan dalam tabung lalu di kocok. Larutan di diamkan 30 menit kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum. Blanko yang digunakan

adalah etanol 96% dan kontrol positif yang digunakan adalah vitamin C (Yuliani dkk., 2016).

6. Perhitungan Potensi Antioksidan

Absorbansi yang diperoleh dibandingkan dengan absorbansi DPPH sehingga diperoleh % aktivitas antioksidannya dengan menggunakan rumus pada (Persamaan 3.6) :

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \times 100\% \quad (3.6)$$

Kemudian hasil akhir menentukan $IC_{50\%}$ (*Inhibition Concentration 50%*) dengan persamaan regresi linier $y = bx + a$ dimana x merupakan konsentrasi (ppm) dan y merupakan persentase inhibisi (%) (Lutfiyanie, 2015).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Dalam penelitian ini digunakan biji buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) sebagai sampel yang diperoleh dari tanaman pribadi di wilayah Kota Tenggarong, Kalimantan Timur, sampel kemudian dideterminasi di Laboratorium Anatomi Dan Sistematika Tumbuhan Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman Samarinda. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran serta identitas tanaman agar menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan baku penelitian. Sesuai surat nomor: 064/UN17.7.025.16/HA/VII/2023 hasil determinasi menunjukkan tanaman tergolong dalam famili Lauraceae dengan spesies *Persea americana* Mill. Atau alpukat (Terlampir).

4.2 Preparasi Simplisia

Sampel biji buah alpukat yang telah dikumpulkan dan dicuci bersih dipreparasi untuk dijadikan serbuk simplisia kering. Proses pengeringan menggunakan metode pemanasan dengan oven bersuhu 60°C selama 24 jam, kemudian dihaluskan menggunakan belender dan diayak. Tujuan penyerbukan simplisia untuk memperluas permukaan simplisia dan mempercepat proses penarikan metabolit sekunder pada ekstraksi. Sebelum diekstraksi, dilakukan uji susut pengeringan dengan suhu pemanasan 105 °C selama 15 menit secara berulang hingga diperoleh bobot yang konstan. Hasil susut pengeringan dapat dilihat pada tabel 4.1 dibawah ini:

Tabel 4.1 Hasil Susust Pengeringan Simplisia

Berat Cawan	Berat Simplisia	Berat Awal	Hasil Penimbangan	Rata-Rata	Hasil Susut Pengeringan
			34,200 gram		
33,23 gram	1 gram	34,32 gram	34,187 gram 34,182 gram	34,19 gram	0,12%
			34,182 gram		

Hasil uji susut pengeringan diperoleh sebesar 0,12% sesuai dengan syarat mutu ($\leq 10\%$), uji susut pengeringan bertujuan untuk memberi batas atau rentang besarnya senyawa yang hilang selama proses pengeringan (Depkes RI, 2000).

4.3 Ekstraksi

Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan cara merendam serbuk biji buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) menggunakan pelarut etanol 70% selama 3×24 jam dengan pengadukan sesekali setiap hari dan diremaserasi kembali selama 3×24 jam. Metode maserasi dipilih karena metode yang paling umum dan lebih sederhana, tidak memerlukan peralatan khusus serta dapat dilakukan pada suhu ruang (Perawati dkk., 2022). Sehingga cocok digunakan untuk ekstraksi pada sampel biji alpukat agar kandungan senyawa fenolik serta flavonoid yang tidak tahan terhadap pemanasan tetap terjaga. Pengadukan selama proses maserasi bertujuan untuk melarutkan seluruh bagian sampel agar mencapai kondisi yang homogen. Penggunaan etanol 70% sebagai cairan penyari karena etanol bersifat polar dan dapat melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semipolar maupun non polar (Sentat dkk., 2015). Maserat yang diperoleh selanjutnya dipekatkan menggunakan *evaporator* untuk memperoleh ekstrak kental dan dihitung persen rendemennya, hasil rendemen yang diperoleh sebanyak 14%. Hasil rendemen dapat dilihat pada tabel 4.2 dibawah ini:

Tabel 4.2 Hasil Ekstraksi Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Jenis Ekstrak	Berat Simplisia	Berat Ekstrak	%Rendemen
Ekstrak Kental	300 Gram	42,02 Gram	14%

Ekstrak yang telah dipekatkan kemudian dilakukan uji bebas etanol untuk memastikan ekstrak telah terbebas dari senyawa pelarut etanol, pengujian menggunakan 2 tetes asam sulfat pekat dan 1 mL kalium dikromat yang ditambahkan kedalam ekstrak. Diperoleh hasil ekstrak kental bebas etanol dengan ditandai tidak adanya perubahan warna jingga menjadi hijau kebiruan. Hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.) bebas etanol sehingga dapat disimpulkan ekstrak dapat digunakan ketahap selanjutnya (Tabel 4.3).

Tabel 4.3 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Biji Buah Alpukat Mentega
(*Persea americana* Mill.)

Identifikasi	Prosedur	Hasil
Uji Bebas Etanol	Ekstrak+H ₂ SO ₄ +K ₂ Cr ₂ O ₇	Tidak ada perubahan warna menjadi kebiruan

4.4 Skrining Fitokimia

Ekstrak kental biji buah alpukat kemudian dilakukan pengujian skrining fitokimia sebagai uji pendahuluan untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Berdasarkan hasil skrining fitokimia, biji buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) menunjukkan positif mengandung senyawa alkaloid pada pereaksi Dragendorff sedangkan pereaksi Mayer negatif. Hasil fitokimia ekstrak biji alpukat juga menunjukkan positif mengandung flavonoid, saponin dan fenol dengan ditandai terjadinya perubahan warna dan bentuk sesuai dengan standar yang telah ditetapkan. Hasil skrining fitokimia ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Munthe dkk., 2023, Kopon dkk., 2020 dan Benget, 2016.

Tabel 4.4 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Senyawa	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
Alkaloid	Mayer	Tidak Ada Endapan	+ (Positif)
	Dragendroff	Endapan Jingga Kecoklatan	
Flavonoid	HCl Pekat	Oren Kemerahan	+ (Positif)
Saponin	Dikocok Kuat Dan HCl	Berbusa	+ (Positif)
Fenol	FeCl ₃	Coklat Kehijauan	+ (Positif)

Pengujian alkaloid menggunakan pereaksi Dragendorff menyebabkan terbentuknya endapan berwarna jingga hingga coklat yang menunjukkan positif mengandung alkaloid, endapan yang terjadi karena adanya kandungan kalium alkaloid. Pereaksi Dragendorff membentuk suatu garam tetraiodobismut berwarna jingga sampai merah kecoklatan (Azzahra dkk., 2022; Setyowati, 2014). Hasil

negatif pada pereaksi Mayer dapat disebabkan adanya alkaloid spesifik pada biji alpukat yang menyebabkan tidak dapat bereaksi dengan Mayer, Pereaksi Mayer untuk mengidentifikasi alkaloid golongan narkotika dan opium (Banget, 2016; Gandjar dkk., 2008).

Pengujian flavonoid dengan menggunakan HCl yang berfungsi mendeteksi adanya senyawa inti benzopiranon yang akan menghasilkan garam benzopirillinum (garam flavilium) setelah penambahan HCl, reduksi menggunakan serbuk Mg dan HCl pekat menghasilkan senyawa kompleks berwarna oranye kemerahan pada flavonol (Ni'ma dan Lindawati, 2022).

Pengujian saponin dengan penambahan air kemudian digojok dengan kuat, sehingga akan menimbulkan busa yang menunjukkan sampel mengandung glikosida. Glikosida memiliki kemampuan membentuk buih didalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa aglikon. Reaksi positif menunjukkan busa yang terbentuk bertahan tidak kurang dari 10 menit setelah digojok dan stabil setelah penambahan HCl (Prayoga dkk., 2019; Setyowati dkk., 2014). Terdapat gugus polar dan nonpolar pada senyawa saponin yang bersifat aktif permukaan sehingga saat penggojokan dengan air akan mengalami hidrolisis dan membentuk misel. Misel yang terbentuk menyebabkan gugus polar menghadap keluar dan gugus non polar menghadap kedalam yang tampak seperti busa (Prayoga dkk., 2019; Robinson, 1991).

Pengujian fenol menunjukkan perubahan warna yang terjadi karena FeCl_3 bereaksi dengan gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa fenol dan membentuk senyawa kompleks berwarna coklat kehijauan sampai kehitaman dan ion Fe^{3+} yang berperan mengalami hibridisasi. Senyawa fenol mengandung gugus hidroksil yang terikat pada karbon tak jenuh (Bawekes dkk., 2023).

4.5 Penetapan Kadar Fenolik Total

Kadar senyawa fenolik total ekstrak etanol 70% biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan asam galat (GAE) sebagai larutan standar. Asam galat merupakan salah satu golongan senyawa fenol alami turunan asam hidroksibenzoat (Wahdaningsih dkk., 2017). Pada penetapan kadar fenolik total, asam galat direaksikan dengan Folin-Ciocalteu dalam suasana basa dengan

penambahan Na_2CO_3 agar terjadi disosiasi proton menjadi ion fenolat. Kandungan senyawa fenolik didasarkan dengan terbentuknya senyawa kompleks fosfomolibdat-fostungstat ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi biru sehingga dapat dilakukan pengukuran absorbansi (Mahardika dkk., 2020; Kusbandari dan Prasetyo, 2018). Semakin pekat warna biru yang terbentuk menandakan banyaknya ion fenolat yang terbentuk, artinya semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolik yang akan mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) membentuk kompleks molibdenum-tungsten sehingga warna yang dihasilkan semakin pekat (Majid dkk., 2023; Supriningrum dkk., 2020).

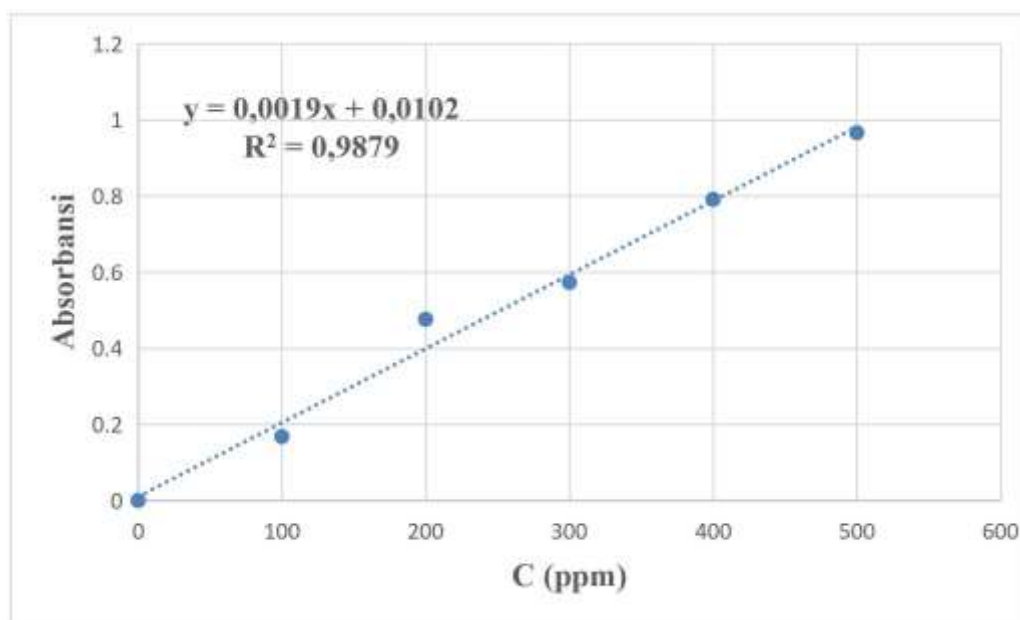
Sebelum menentukan kadar fenolik total, dilakukan penentuan panjang gelombang maksimal dengan larutan standar asam galat 100 ppm dengan *range* 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Diperoleh panjang gelombang maksimal yaitu 778 nm. Tujuan penetapan panjang gelombang untuk mengetahui besar panjang gelombang yang dibutuhkan asam galat untuk mencapai serapan maksimum. Selanjutnya menentukan *operating time* menggunakan larutan standar asam galat 100 ppm menit ke 0-60, diperoleh absorbansi tertinggi pada menit ke 60. penentuan *operating time* untuk menentukan lama waktu inkubasi setelah larutan dicampurkan. Inkubasi larutan dilakukan agar semua zat bereaksi sempurna dan menghasilkan absorbansi yang stabil. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali pada tiap-tiap larutan untuk memperoleh hasil yang akurat. (Sari dkk., 2020).

Larutan asam galat dibuat dalam beberapa seri konsentrasi (100, 200, 300, 400 dan 500) ppm dengan masing-masing konsentrasi dibuat sebanyak tiga replikasi yang kemudian diinkubasi selama 60 menit dan diukur serapannya dengan panjang gelombang maksimum 778 nm. Hasil yang diperoleh dari pengukuran serapan larutan asam galat untuk memperoleh persamaan regresi linier. Dalam penelitian ini hasil rata-rata absorbansi tiap konsentrasi larutan asam galat diperoleh persamaan regresi linier $y = 0,0019x + 0,0102$ dengan nilai $r^2 = 0,9879$ ($r = 0,9894$ nilai r mendekati 1 yang berarti nilai tersebut linier). Dari data yang diperoleh, semakin tinggi konsentrasi asam galat, semakin tinggi pula nilai absorbansi yang diperoleh. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam

galat dapat dilihat pada (tabel 4.5).

Tabel 4.5 Hasil Pengukuran Absorbansi Asam Galat

No.	Absorbansi				
	100	200	300	400	500
1	0,171	0,456	0,555	0,798	0,980
2	0,167	0,456	0,551	0,776	0,964
3	0,166	0,516	0,612	0,800	0,953
Rata-Rata	0,168	0,476	0,573	0,791	0,966
Persamaan Linier	$y=0,0019x+0,0102$ $R^2=0,9879$				



Gambar 4.1 Grafik Kurva Baku Asam Galat

Pengukuran kadar fenolik total ekstrak etanol 70% biji buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) menggunakan 0,1 gram ekstrak yang dilarutkan dalam 100 mL metanol, diperoleh larutan ekstrak dengan konsentrasi 1000 ppm. Pengukuran dibuat tiga replikasi agar diperoleh data yang akurat. Hasil yang diperoleh dari penetapan kadar fenolik total ekstrak etanol 70% biji buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) adalah 127,26 mgGAE/Gram, artinya tiap gram ekstrak mengandung senyawa fenolik sebesar 127,26 mg setara dengan asam galat. Hasil penetapan kadar fenolik total dapat dilihat pada (tabel 4.6).

Tabel 4.6 Hasil Penetapan Kadar fenolik Total Ekstrak Biji Buah Alpukat
(*Persea americana* Mill.)

Berat Ekstrak	Absorbansi	Absorbansi Rata-Rata	Konsentrasi (ppm)	Kadar Fenolik Total
0,1 gram	0,205	0,252	1000	127,26 mgGAE/Gram
	0,274			
	0,276			

4.6 Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total menggunakan quersetine (QE) sebagai larutan standar dengan penambahan AlCl_3 dalam suasana basa kuat dengan penambahan asam asetat sehingga membentuk kompleks warna lebih kuning yang diharapkan akan terjadi pergeseran panjang gelombang kearah nampak (*visible*).

AlCl_3 membentuk kompleks karena memiliki C-4 pada gugus keto dan C-3 atau C-5 pada gugus hidroksil yang bertetangga (Wahdaningsih dkk., 2017).

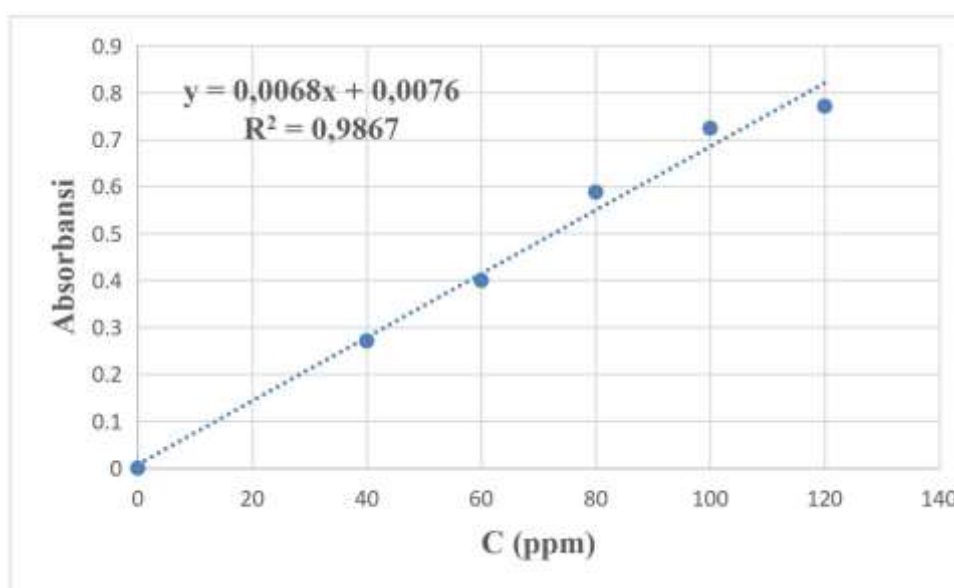
Penggunaan quersetine sebagai larutan standar karena quersetine termasuk kedalam golongan flavonoid (flavonol) yang umum digunakan dalam menentukan kadar flavonoid dan paling luas persebarannya pada tumbuhan (Senet dkk., 2018).

Penentuan kadar flavonoid total dilakukan dalam beberapa tahapan; penentuan panjang gelombang, penentuan *operating time*, pengukuran absorbansi larutan standar dan penentuan kadar flavonoid total. Penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan larutan quersetine 100 ppm dengan *range* 400-448 nm. Diperoleh panjang gelombang maksimum 443 nm. Penentuan *operating time* menggunakan larutan quersetin 100 ppm diukur serapannya pada panjang gelombang 443 nm mulai menit 0 sampai menit ke-60. Diperoleh serapan tertinggi pada menit ke-60. Pembuatan larutan standar menggunakan quersetine yang dibuat dalam beberapa konsentrasi (40, 60, 80, 100 dan 120) ppm yang masing-masing dibuat replikasi 3 kali. Masing-masing konsentrasi ditambahkan AlCl_3 10% dan asam asetat 20% kemudian diinkubasi selama 60 menit untuk menyempurnakan proses reaksi agar menghasilkan serapan yang stabil dan diukur pada panjang gelombang maksimum 443 nm. Pengukuran larutan standar untuk menentukan persamaan linier. Dalam penelitian ini diperoleh persamaan regresi linier $y = 0,0068x + 0,0076$ dan $r^2 = 0,9867$ ($r = 0,9844$ nilai r mendekati 1 yang

berarti linier). Hasil absorbansi larutan standar dapat dilihat pada (tabel 4.7).

Tabel 4.7 Hasil Pengukuran Absorbansi Quersetin

No.	Absorbansi				
	40	60	80	100	120
1	0,266	0,392	0,580	0,723	0,764
2	0,272	0,402	0,590	0,730	0,774
3	0,276	0,407	0,595	0,720	0,776
Rata-Rata	0,271	0,400	0,588	0,724	0,771
Persamaan Linier	$y=0,0068x+0,0076$ $R^2=0,9867$				



Gambar 4.2 Grafik Kurva Baku Quercetine

Penetapan kadar flavonoid total menggunakan 2 gram ekstrak etanol 70% biji buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) yang dilarutkan kedalam 100 mL etanol p.a, menghasilkan larutan sampel induk dengan konsentrasi 2%. Larutan induk diberi perlakuan yang sama seperti larutan standar dan diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 443 nm dengan replikasi sebanyak 3 kali untuk hasil yang akurat. Diperoleh hasil dari penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% biji buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) sebesar 1,7605 mgQE/Gram. Artinya tiap gram ekstrak mengandung senyawa flavonoid sebesar 1,7605 mg setara dengan quersetine. Hasil penetapan kadar flavonoid total dapat dilihat pada (tabel 4.8).

Tabel 4.8 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Biji Buah Alpukat
(*Persea americana* Mill.)

Berat Bahan	Absorbansi	Absorbansi Rata-Rata	Konsentrasi	Kadar Flavonoid Total
2 Gram	0,248 0,246 0,248	0,247	2%	1,7605 mgQE/Gram

4.7 Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan menggunakan vitamin C sebagai pembanding dan DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil*) yang berperan sebagai radikal bebas. Vitamin C berfungsi sebagai senyawa yang dapat meredam radikal bebas. Vitamin C digunakan sebagai larutan pembanding karena vitamin C merupakan antioksidan sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi. Vitamin C dapat menangkap senyawa radikal bebas karena memiliki gugus hidroksil bebas (Aryanti dkk., 2021). Penggunaan larutan pembanding vitamin C untuk mengetahui absorbansi radikal bebas DPPH yang stabil ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning (*diphenyl picrylhidrazin*), hal ini bertujuan untuk mengukur kerja penghambatan radikal bebas dan elektron tunggal seperti transfer H^+ (Ardila, 2020).

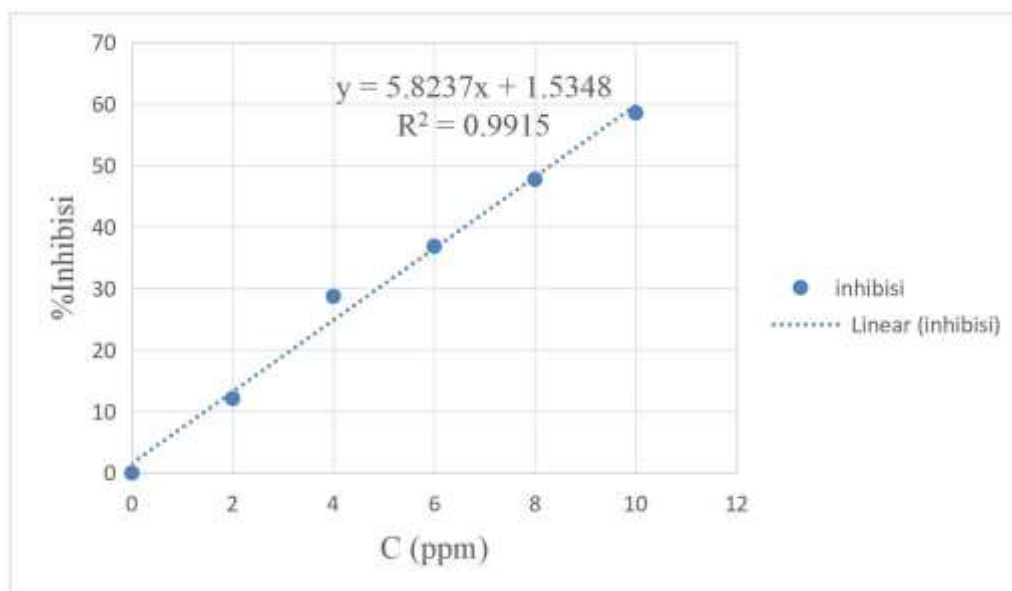
Pengukuran dilakukan dengan membuat larutan induk DPPH 100 ppm, larutan induk vitamin C 100 ppm dan larutan sampel 1000 ppm. Penentuan *operating time* menggunakan larutan sampel dengan konsentrasi terendah dari seri konsentrasi yang telah dibuat, diukur menit 0-60 pada panjang gelombang 517 nm. Diperoleh *operating time* pada menit ke-30. Larutan pembanding menggunakan vitamin C dibuat dalam beberapa seri konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm, sedangkan larutan uji menggunakan larutan induk ekstrak etanol biji buah alpukat 1000 ppm yang diencerkan menjadi beberapa konsentrasi (10, 20, 30, 40 dan 50) ppm. Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 1,2 mL kemudian ditambahkan metanol 0,9 mL, DPPH sebanyak 0,9 mL dan didiamkan selama 30 menit untuk memaksimalkan reaksi agar diperoleh absorbansi yang stabil. Tiap-tiap konsentrasi dibuat replikasi sebanyak 3 kali untuk mendapatkan data yang akurat. Vitamin C yang sudah diukur absorbansinya kemudian dihitung persen inhibisi

dan nilai IC_{50} nya. Persen inhibisi untuk membuat kurva standar vitamin C agar memperoleh persamaan regresi liniernya, diperoleh nilai $y = 5,8237x + 1,5348$ dan $r^2 = 0,9915$ ($r = 0,996$). Nilai r mendekati 1 yang berarti nilai tersebut linier, sehingga dapat dikatakan absorbansi dan konsentrasi memiliki hubungan korelasi yang sangat kuat (Hidayahtullah dkk., 2023). Hasil perhitungan persen inhibisi dapat dilihat pada (tabel. 4.9). Nilai IC_{50} vitamin C dihitung dengan rumus $y = bx + a$ dimana nilai y adalah 50 dan x adalah konsentrasi vitamin C dalam menangkak 50% radikal bebas, sehingga diperoleh hasil $IC_{50} = 8,322$ ppm (sangat kuat).

Tabel 4.9 Hasil Perhitungan IC_{50} Vitamin C

No.	<u>Absorbansi</u>				
	2	4	6	8	10
1	0,822	0,640	0,575	0,453	0,348
2	0,795	0,652	0,565	0,473	0,424
3	0,780	0,652	0,583	0,498	0,358
Rata-Rata	0,799	0,648	0,574	0,475	0,377
%Inhibisi	12,1	28,71	36,85	47,74	58,52
IC_{50}	8,322 ppm				
Kesimpulan	Sangat Kuat				

Absorbansi DPPH = 0,909



Gambar 4.3 Grafik % Inhibisi Vitamin C

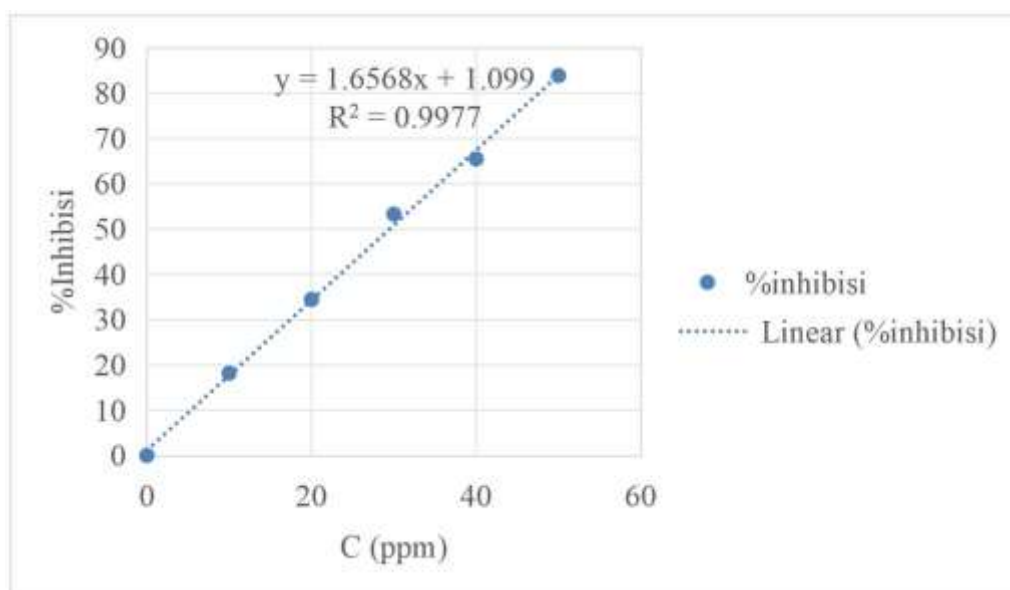
Pengukuran IC_{50} sampel ekstrak biji buah alpukat masuk dalam kategori sangat kuat. Ekstrak diukur terlebih dahulu absorbansinya pada panjang

gelombang 517 nm. Hasil absorbansi digunakan untuk menghitung persen inhibisi yang dapat dilihat pada (tabel 4.10) dan membuat persamaan linier. Diperoleh persamaan linier $y = 1,6568x + 1,099$ $r^2 = 0,9977$ ($r=0,9988$) nilai r mendekati 1 yang berarti linier. Nilai IC_{50} ekstrak etanol biji buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) yang diperoleh adalah 29,51 yang tergolong sangat kuat.

Tabel 4.10 Hasil Perhitungan IC_{50} Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.)

No.	Absorbansi				
	10	20	30	40	50
1	0,266	0,392	0,580	0,723	0,764
2	0,272	0,402	0,590	0,730	0,774
3	0,276	0,407	0,595	0,720	0,776
Rata-Rata	0,271	0,400	0,588	0,724	0,771
%Inhibisi	18,15	34,43	53,25	65,45	83,83
IC_{50}	29,51 ppm				
Kesimpulan	Sangat Kuat				

Absorbansi DPPH = 0,909



Gambar 4.4 Grafik %Inhibisi Sampel

Nilai IC_{50} digolongkan menjadi 4 kategori antioksidan yaitu sangat lemah ($IC_{50} > 200$ ppm), sedang (IC_{50} 120-200 ppm), kuat (IC_{50} 100-150 ppm), dan sangat kuat (IC_{50} 50-100 ppm) atau ($IC_{50} < 50$ ppm) pada penelitian ini diperoleh aktivitas antioksidan vitamin C dan ekstrak etanol biji buah alpukat mentega < 50 ppm yang dapat disimpulkan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat.

4.8 Hubungan Kadar Fenolik, Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan

Antioksidan merupakan molekul atau senyawa yang dapat menstabilkan radikal bebas dengan mendonorkan elektron dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Nur dkk.,2019; Lu dkk., 2010).

Antioksidan eksogen dapat diperoleh secara sintetik dan alami, secara alami antioksidan dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan atau buah-buahan yang mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dan fenolik yang dapat meredam aktivitas radikal bebas (Nur dkk., 2019; Cos dkk., 1998).

Penelitian yang dilakukan Nur dkk (2019) mengenai korelasi antara kadar fenolik dan flavonoid total terhadap antioksidan menggunakan ekstrak daun jati membuktikan bahwa terdapat korelasi terhadap kadar fenolik dan flavonoid total yang tinggi memberikan aktivitas meredam radikal DPPH (Nur dkk., 2019). Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Wardani dkk (2020) yang meneliti korelasi antara aktivitas antioksidan dengan kandungan senyawa fenolik dari tanaman *Celosia argentea* L. juga membuktikan bahwa aktivitas antioksidan dengan senyawa fenolik memiliki nilai koefisien korelasi dan dapat diartikan ada hubungan antara aktivitas antioksidan dengan senyawa fenolik, semakin tinggi senyawa fenolik maka semakin kecil nilai IC₅₀ yang dihasilkan (Wardani dkk., 2020).

Tumbuhan memiliki kandungan metabolit sekunder berpotensi sebagai antioksidan alami yang berfungsi menetralkan radikal bebas. Golongan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan fenolik merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan atau disintesis oleh tumbuhan (Pangisian dkk., 2022). Senyawa metabolit sekunder dapat bertindak sebagai antioksidan dengan memutus ikatan rantai radikal bebas secara langsung dan menangkap berbagai spesies reaktif. Aktivitas menangkap radikal bebas bergantung pada jumlah dan letak gugus -OH pada senyawa dalam menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan atom hidrogen pada radikal lipida. Secara kuantitatif, kadar metabolit sekunder menentukan besar kecilnya kemampuan suatu senyawa dalam menghambat radikal bebas, semakin besar kadar metabolit sekundernya maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Nur dkk., 2019; Konate dkk., 2010; Shahwar dkk., 2010).

Pada penelitian ini ekstrak etanol 70% biji buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) pada uji kualitatif menunjukkan bahwa biji alpukat mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan fenolik dimana metabolit sekunder inilah yang dapat menghasilkan aktivitas antioksidan. Sedangkan pada uji kuantitatif menunjukkan nilai kadar fenolik total yang lebih tinggi dibandingkan kadar flavonoid total, sehingga dapat dikatakan bahwa fenolik dari biji buah alpukat merupakan senyawa utama dalam peranan antioksidan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai kadar flavonoid, fenolik total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% biji buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) yang diperoleh di daerah Tenggarong, Kalimantan Timur dapat disimpulkan bahwa biji alpukat mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan fenol. Aktivitas antioksidan menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 29,51 ppm, sedangkan nilai IC_{50} pada vitamin C sebesar 8,322 ppm. Kadar total fenolik dan flavonoid yang diperoleh masing-masing sebesar 127,26 mgGAE/Gram dan 1,7065 mgQE/Gram. Ekstrak etanol 70% biji buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan kadar total fenolik yang lebih tinggi dibandingkan kadar total flavonoid, sehingga senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder utama dalam aktivitas menangkap radikal bebas.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada uji pemilihan pelarut yang cocok untuk menghasilkan kadar metabolit sekunder yang lebih besar dan akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiah., Sukandar, D., Muawanah, A. (2015). Aktivitas antioksidan dan kandungan komponen bioaktif sari buah namnam. *Jurnal Kimia VALENSI*. 1(2). Halaman: 130-136. p-ISSN: 2460-6065.
- Andajani, W., Rahardjo, D. (2020): Analisis faktor-faktor yang mempengaruhi pendapatan usahatani alpukat. *Jurnal Agroteknologi Dan Agribisnis*, 4(2). Halaman: 143-154. p-ISSN: 2579-3659. e-ISSN: 2721-2807.
- Andini & Putri, C. Fernanda. (2021): Standarisasi simplisia kulit buah mangga (*Mangifera indica* L.) varietas gadung. *Jurnal kefarmasian dan gizi pharmadematica*. 1(1). Halaman: 1-8. p-ISSN: 2808-3970. e-ISSN: 2808-3423.
- Anggraeny, D., Rumengan, I., Djakarsi, G., Suptijah, P. (2017): Aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) disalut dengan nanokitosan. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 5(2).
- Anwar, K., Fadillaturrahmah., Sari, D.P. (2017). Analisis kandungan flavonoid total ekstrak etanol daun binjai (*Mangifera caesia* Jack.) dan pengaruhnya terhadap kadar glukosa darah tikus yang diinduksi fruktosa-lemak tinggi. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. Volume. 2. Halaman: 20-30.
- Ardila, T. (2020): Uji Total Fenol Dan Aktivitas Antioksidan Daun Teh (*Camellia sinensis*) Berdasarkan Tahun Pangkas Di Kebun Teh Wonosari Lawang. *Skripsi Prodi Biologi*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang. Indonesia.
- Aryanti, R., Perdana, F., Rizkio, Rasen A. Mahendra. (2021). Telaah metode pengujian aktivitas antioksidan pada daun teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). *Jurnal Surya Medika*. 7(1). Halaman: 15-24. p-ISSN: 2460-7266. e-ISSN: 2655-2051.
- Azzahra, Fara., Sari, Irma Sofyana., Ashari, D. Nurrah. (2022). Penetapan nilai rendemen dan kandungan zat aktif ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) berdasarkan perbedaan pelarut ekstraksi. *Jurnal Farmasi Higea*. 14(2). Halaman: 159-168. e-ISSN: 2541-3554. p-ISSN: 2086-9827.
- Bangar, S., Dkk. (2022): Avocado seed discoveries: chemical composition, biological properties, and industrial food applications. *Journal Food Chemistry*, X (16).
- Barus, R. (2009). Pemanfaatan Bahan Pengawet dan Antioksidan Alami Pada Industri Bahan Makanan. *Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap Dalam Bidang Ilmu Kimia Analitik Fakultas MIPA-Universitan*

Sumatera Utara. Halaman: 1-27.

- Bawekes, Sellyana M., Yudistira, A., Rumondor, EM. (2023). Uji kualitatif kandungan senyawa kimia perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle). *PHARMACON*. 12(3). Halaman: 373-377.
- Benget, Vivekananda V., Sidharta, B. Boy Rahardjo., Sinung, F. (2016). Uji aktivitas antibakteri ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap *Bacillus cereus* dan *Vibrio cholerae* dengan variasi pengeksrak. *Jurnal Universitas Atma Jaya Yogyakarta*.
- Chairunnisa, Sarah., Wartini, Ni Made., Suhendra, Lutfi. (2019). Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai sumber saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*. 7(4). ISSN : 2501-488X.
- Chang, C., Dkk. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal Of Food And Grug Analysis*. 10(3). Halaman: 178-182.
- Depkes RI. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, 1st ed. Depkes RI.
- Diantika., Dkk. (2014). Peengaruh lama ekstraksi dan konsentrasi pelarut etanol terhadap ekstraksi antioksidan biji kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 15(3). halaman : 159-164.
- Febrila, B. (2021): Stabilitas Fisik, Uji Iritasi Dan Tingkat Kesukaan Formulasi Sediaan Krim Masker Dengan Tambahan Ekstrak Etanol Daun *Sonneratia caseolaris*. *Skripsi Prodi Farmasi*, Universitas Nahdlatul Ulama Kalimantan Timur.
- Felistiani, V. (2017): Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.). Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Dan Limpa Pada Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinfeksi *Staphylococcus aureus*. *Skripsi Prodi Biologi*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang. Indonesia.
- Guna, I Made Divasti., Putra, I Nengah K., Wiadnyani, A. A. I. Sri. (2020). Pengaruh konsentrasi etanol terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun rambusa (*Passiflora foetida* L.). *Jurnal Itepa*. 9(3). Halaman: 291-300. ISSN: 2527-8010.
- Gunawan, A. (2020): Penentuan Kadar Fenolik, Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Maserat Teh Hijau (*Camellia sinensis*), Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*) Dan Jeruk Manis (*Citrus sinensis*). *Skripsi Prodi Kimia*, Universitas Hassanudi. Makassar. Indonesia.

- Handayani, A.P., Citra, Hika. (2009): Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol 96% Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Formula Sabun Transparan. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Husna, Ulfa M. (2022). Pengaruh Lama Pencelupan Alpukat Mentega (*Persea americana* Mill.) Pada Edibel Coating Pati Kulit Singkong Terhadap Kualitas Selama Masa Simpan. *Skripsi Fakultas Pertanian*. Universitas Lampung.
- Indra., Nurmalasari, N., Kusmiati, M. (2019). fenolik total, kandungan flavonoid, dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mareme (*glochidion arborescenes blume.*) *jurnal sains farmasi dan klinis*. 6(3). halaman: 206-212. p-ISSN: 2407-7062. e-ISSN: 2442-5435.
- Irianti, T., Kuswandi., Nuranto, S., Purwanto. (2021). Antioksidan dan kesehatan. Gajah Mada University Press. Yogyakarta, Indonesia. ISBN : 978-602-386-928-2.
- Johari, M.A., Khong, H.Y. (2019). Total phenolic content and antioxidant and antibacterial activities of *Pereskia bleo*. *Hindawi: Advances in Pharmacological Sciences*. 1(4). doi: 10.1155/2019/7428593.
- Khairunnisa. (2021): Penetapan Kadar Fenolik Dan Tanin Total Dan Analisis Aktivitas Antioksidan Pada Jamur Merang (*Volvariella volvaceae* Bull.) Dengan Metode DPPH. *Skripsi Prodi Farmasi*, Universitas Alauddin. Makassar. Indonesia.
- Kopon, A. M., Baunsele, A. B., Boelan, E. (2020): Skrining senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) asal Pulau Timor, *Jurnal Akta Kimia Indonesia* 5; Halaman: 43-52.
- Lakhanpal, dan Rai. (2007): Quercetine: a versatile flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, Vol. 2.
- Latifah. (2015). identifikasi golongan senyawa flavonoid dan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak rimpang kencur (*Kaemperia galangan* L.) Dengan Metode Dpph. *Fakultas Sains Dan Teknologi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Maesaroh, Kiki., Kurnia, D., Anshori, J.A. (2018). Perbandingan metode uji aktivitas antioksidan DPPH, FRAP dan FIC terhadap asam askorbat, asam galat dan kuersetin. *Jurnal Chimica Et Natura Acta*. 6(2). Halaman 93-100.
- Mahardika, R. G., Roanisca, O., Sari, F. I Puspita. (2020). Fenolik total fraksi etil asetat daun pelawan (*Tristanopsis merguensis* Gridf.). *Jurnal Sains dan Edukasi Sains*. 3(1). Halaman: 8-14.

- Majid, Taufiqurrahman. Razak, Rais., Abidin, Zainal. (2023). Penetapan kadar fenolik ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan metode spektrofotometri UV -Vis. *BULLET: Jurnal Multidisiplin Ilmu*. 2(2). Halaman: 351-354. ISSN: 2829-2049.
- Malangingi, L., Sangi, M., Paendong, J.(2012): Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA Universitas Sam Ratulangi*. Manado, Indonesia.
- Malik, Abd & Ahmad, A.R., (2015). Determination of phenolic and flavonoid contents of ethanolic extract of kanunang leaves (*Cordia myxa* L.). *International Journal of Pharm Tech Research*. 7(2). ISSN: 0974-4304.
- Maravirnadita, A. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksan, Etil Asetat, Dan Air Dari Buah Belimbing Manis (*Averrhoa Carambola*) Dengan Metode DPPH. *Skripsi Program Studi Farmasi*. Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta, Indonesia.
- Marlinda, M., Sangi, M., Wuntu, A. (2012): Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji toksisitas ekstrak etanol biji buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA Universitas Sam Ratulangi*. Manado, Indonesia.
- Marsigit, W. (2016): Karakteristik morfometrik, proporsi, kandungan fenol total dan profil fenol daging buah, biji, kulit Alpukat (*Persea americana* Mill.) varietas ijo panjang dan ijo bundar. *Jurnal Agroindustri*, 6(1). Halaman: 18-27. ISSN: 2088-5369.
- Moito, R. (2018). Analisis Kadar Saponin Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove (*Sonneratia alba*) Dari Perairan Desa Manado Kabupaten Gorontalo Utara. *Skripsi Program Studi Teknologi Hasil Perikanan*. Universitas Negeri Gorontalo, Indonesia.
- Muflihunna, A., Syarif, S., Rahmawati, D. (2014): Uji aktivitas antioksidan varian jus buah delima (*Punicagranatum* L.) dengan metode FRAP. *Jurnal As-Syifaa*, 6(2). Halaman: 145-153. ISSN: 2085-4714.
- Munthe, Sri Wahyu N., Riskianto, R., Juvi, Denny., Novia, J. (2023). Antioxidant, total phenolic and total flavonoid of 70% ethanol extract of avocado seeds(*Persea americana* Mill.). *Pharmacogn Journal*. 15(4). Halaman: 599-605.
- Mustopa, H. (2015): Uji Potensi Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dan Pengembangan Krim Formulasi Antioksidannya. *Skripsi Framasi*, Politeknik Kesehatan Kementrian Kesehatan RI. Bandung. Indonesia.
- Nahar, Citra I. (2017) Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap *Streptococcus Mutans*. *Fakultas Kedokteran*

Gigi. Universitas Hasanuddin. Makassar.

- Ni'ma, Alifia., dan Lindawati, N. Yety. (2022). Analisis kadar total flavonoid ekstrak etanol daun adas (*Foeniculum Vulgare*) secara spektrofotometri Visible. *JFSP*. 8(1). Hal: 1-11. p-ISSN: 2549-9068. e-ISSN: 2579-4558.
- Nishiumi, S., Miyamoto, S., Dkk. (2011): Dietary flavonoids as cancer-preventive and therapeutic biofactors. *Artikel Frontiers in bioscience*.
- Noorul, H., Dkk. (2016). Health benefits and pharmacology of *Persea americana* Mill. (Avocado). *International Journal Of Research In Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 5(2). Halaman: 132-141. ISSN: 2278-2656.
- Novita, Dewi., Nurlan, D.S. (2020). Perbandingan kadar fenolik total ekstrak etanol 70% dengan ekstrak air daun surian (*Toona sureni* Merr.). *Jurnal Sains Dan Teknologi*. 12(2). ISSN: 2085-8019.
- Nugroho, D. Karakterisasi Senyawa Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Metanol Batang Gandaria (*Bouea macrophylla* Griff). *Skripsi Prodi Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Nur, Syamsu., dkk. (2019). Korelasi antara kadar total flavonoid dan fenolik dari ekstrak dan fraksi daun jati putih (*Gmelina arborea* Roxb.) terhadap aktivitas antioksidan. *Jurnal Farmasi Galenika*. 5(1). Halaman: 33-42. ISSN: 2442-8744.
- Pangisian, J., Sangi MS., Kumaunang, M. (2022). Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas antioksidan serta antibakteri biji buah pangi (*Pangium edule* Reinw.). *Jurnal LPPM Sains dan Teknologi*. 7(1). Halaman: 11-19. p-ISSN: 2407-6074. e-ISSN: 2808-7070.
- Perawati, S., dkk. (2022). Aktivitas salep ekstrak daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth.) sebagai obat luka sayat pada mencit. *Jorunal*. 7(1). Halaman: 35-43.
- Prayoga, Dewa Gede Eka., Nocianitri, Komang Ayu., Puspawati, N. Nyoman. (2019). Identifikasi senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak kasar daun pepe (*Gymnema reticulatum* Br.) pada berbagai jenis pelarut. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 8(2). Halaman: 111-121. ISSN: 2527-8010.
- Rahmawati, A.N., Dkk. (2022). Uji cemar mikroba dan kapang khamir ekstrak air daun *Muntingia calabura* L. (Kersen). *Pharmacon: Jurnal Framasi Indonesia*. 19(1). Halaman: 72-78.
- Ramadhan, H., Rezky, D., dan Susiani, E. (2021): Penetapan kandungan total fenolik-flavonoid pada fraksi etil asetat kulit batang kasturi (*Mangifera*

- casturi Kosterman). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 9(1).
- Rollando & Monica, E. (2018). Penetapan kandungan fenolik total dan uji aktivitas antioksidan fraksi air ekstrak metanol kulit batang falোক (*Sterculia quadrifida R. Br*). *Jurnal Farmasi dan Kesehatan*. Volume 8. halaman: 29-36.
- Sari, I. (2020): Analisis Mutu Fisik Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Dengan Lama Pengangkutan Berbeda. *Skripsi Prodi Agroteknologi*, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Pekanbaru, Indonesia.
- Savitri, Irena., Suhendra, Lutfi., Wartini, N.M., (2017). Pengaruh jenis pelarut pada metode maserasi terhadap karakteristik ekstrak *Sargassum polycystum*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 5(3). Halaman: 93-101. ISSN: 2503-488X.
- Senet, M. R., dkk. (2018). Penentuan kandungan total flavonoid dan total fenol dari akar kersen (*Muntingia calabura*) serta aktivitasnya sebagai antioksidan. *Jurnal Kimia*. 12(1). Halaman: 13-18. p-ISSN: 1970-9850. e-ISSN: 2599-2740.
- Sentat, T., Rizki, P. (2015). Uji aktivitas ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap penyembuhan luka bakar pada punggung mencit putih jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1(2). Halaman: 100-106.
- Sobiesiak, M. (2017): Chemical Structure Of Phenols And Its Consequence For Sorption Processes. Dalam Buku Phenolic Compounds-Natural Sources, Importance And Applications.
- Soni, R., Sana, R., Godara, S. (2021): Characterization Tools And Techniques For Nanomaterials And Nanocomposites. Dalam buku Nanomaterial and Nanocomposites, halaman: 62-80. ISBN: 978-0-367-48389-0 (hbk).
- Sukadiasa, K., Wintariani, N. P., Putra, I. (2023): uji efektivitas antibakteri ekstrak etanol 96% tanaman gonda (*Sphenoclea zeylanica* Gaertn) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Medicamento*. 9(1). Hal: 61-69. e-ISSN: 2356-4814.
- Syafa'ah, N., Rubiyanti, R., Aji, N. (2019): Pengaruh pelarut campur etil asetat an n-heksan terhadap rendemen dan golongan senyawa ekstrak biji alpukat. *Jurnal Media Informasi*, 15(1). Halaman: 54-64.
- Tengo, Nilda A., Bialagi, N., Suleman, N. (2013). Isolasi Dan Karakteristik Senyawa Alkaloid Dari Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Saintek*. 7(1).

- Tripoli, E., Dkk. (2005). The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Journal Nutrition Research Reviewers*. Vol. 18. Halaman: 98-112. DOI: 10,1079/NRR200495.
- Verrananda, Indri., Dkk. (2016). Identifikasi metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan ekstrak bunga tapak dara (*Catharanthus roseus*). *Prosiding Konferensi Farmasi Mulawarman*. 4(1). Halaman: 162-167.
- Wahdaningsih, Sri., DKK. (2017). Penetapan kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak metanol dan fraksi etil asetat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus* F. A. C. Weber, Briton dan Rose). *PHARMACON: Jurnal Ilmiah Farmasi*. 6(3). ISSN: 2302-2493.
- Wahyulianingsih., Handayani, Selpida., Malik, Abd. (2016). Penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L. Merr & Perry). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 3(2). Halaman: 188-193.
- Wanita, D dan I Gusti. (2020): Studi komputatif jalur sintesis asam elagat dari asam galat. *Jurnal Kimia UNESA*, 9(1).
- Wardani, Y. Kusuma., Kristiani, E. Betty Elok., Suchyo. (2020). Korelasi antara aktivitas antioksidan dengan kandungan senyawa fenolik dan lokasi tumbuh tanaman (*Celosia argentea* Linn.). *Bioma*. 22(2). Hal: 136-142. p-ISSN: 1410-8801. e-ISSN: 2598-2370.
- Widarta, I Wayan. Dan Arnata, I Wayan. (2017). Ekstraksi komponen bioaktif daun alpukat dengan bantuan ultrasonik pada berbagai jenis dan konsentrasi pelarut. *Jurnal AGRITECH*, 37(2). HALAMAN: 148-157. ISSN: 2527-3825.
- Widiasari (2018). Mekanisme inhibisi angiotensin converting enzim oleh flavonoid pada hipertensi. *Jurnal Collaborative Medical*. 1(2)
- Wirasti. (2019). Penetapan kadar fenolik total, flavonoid total dan uji aktivitas antioksidan ekstrak daun benalu petai (*Scurrula atropurpurea* Dans.) beserta penapisan fitokimia. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*. 4(1). Halaman: 1-5.
- Yuliana, Dian. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus acidophilus*. *Prodi Farmasi*. STIKES Bhaksi Husada Mulia Madiun.
- Yuliani, N. N., Smbara, Jefrin., Man, M. A., (2016). Uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) dengan metode DPPH. *Jurnal Info Kesehatan*, 14(1).

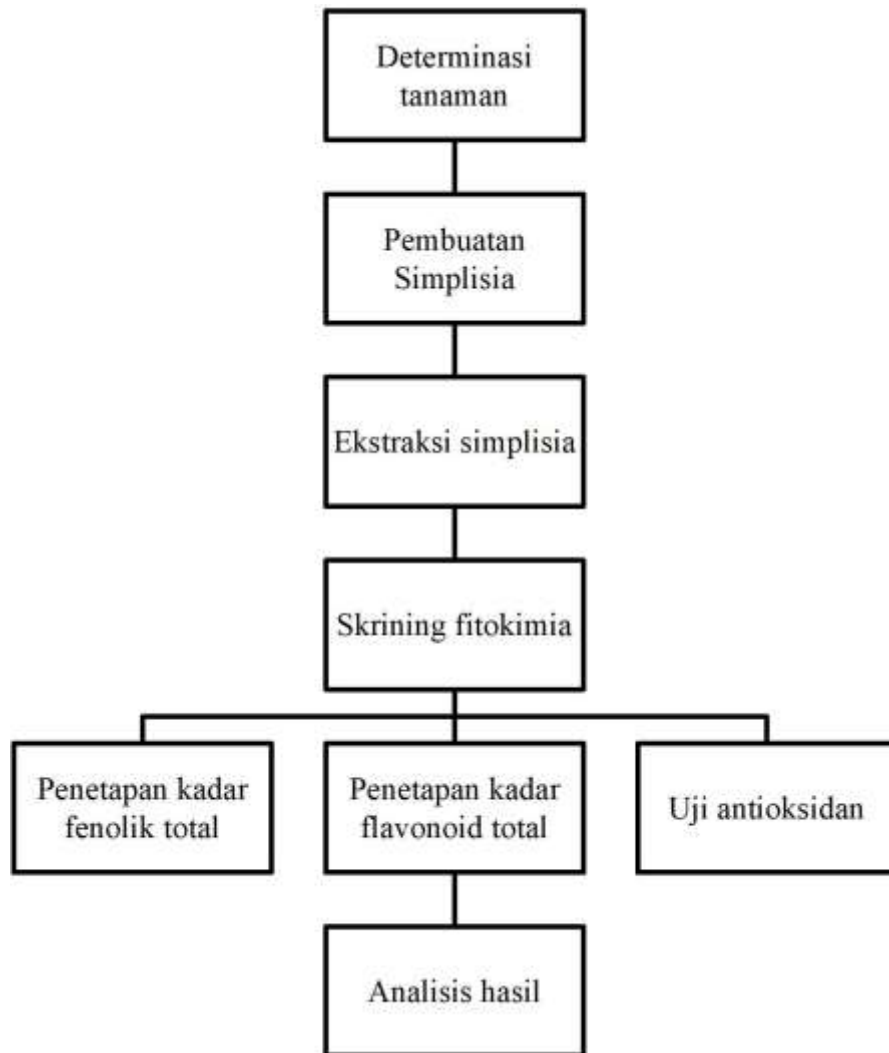
Yulianti, W., Ayuningtyas, G., Martini, R., Resmeiliana, I. (2020). Pengaruh metode ekstraksi dan polaritas pelarut terhadap kadar fenolik total daun kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Sains Terapan*. 10(2). Halaman : 41-49. p-ISSN : 2088-8732.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 *Timeline* Penelitian

No	Jenis kegiatan	Bulan							
		Maret 2024				Mei 2024			
		Min ggu Ke-1	Min ggu Ke-2	Min ggu Ke-3	Min ggu Ke-4	Min ggu Ke-1	Min ggu Ke-2	Min ggu Ke-3	Min ggu Ke-4
1.	Preparasi sampel dan ekstraksi								
2.	Ekstraksi								
3.	Uji fitokimia								
4.	Uji fenolik dan flavonoid total dan uji aktivitas antioksidan								
5.	Analisis hasil								
6.	Penyusunan penulisan akhir								

Lampiran 2 Alur Penelitian



Lampiran 3 Hasil Determinasi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MULAWARMAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM JURUSAN BIOLOGI
LABORATORIUM ANATOMI DAN SISTEMATIKA TUMBUHAN

Jl. Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua Samarinda – Kalimantan Timur 75123 Indonesia Telp./Fax: +62541747774.
Email: Lab.Anatomi&SistematikaTumbuhan@unmul.ac.id, <https://www.fmipa.unmul.ac.id>

SURAT KETERANGAN HASIL IDENTIFIKASI TUMBUHAN

Nomor : 064/JN17.7.025.16/HA/VII/2023.

Bersama ini menerangkan bahwa bahan yang dibawa oleh :

Nama : Umul Karimah, S.Si., M.Si
NIDN : 1101108801
Institusi : Program Studi Farmasi Fak. Farmasi Univ. Nahdlatul Ulama KALTIM
Tanggal Kirim Bahan/Sampel : 11 Juli 2023
Bentuk Bahan/Sampel : Daun dan Buah Segar
Kode Sampel : E.1

Adalah memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Superdivisi : Spermatophyta (Tumbuhan berbiji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (Berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas: Magnoliidae
Ordo : Laurales
Famili : Lauraceae
Genus : *Persea*
Spesies : *Persea americana* P.Mill.

Nama Indonesia/Lokal : Alpukat / Apokat

Demikian surat keterangan hasil identifikasi tumbuhan ini dibuat, agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.



Mengetahui :
Kepala Laboratorium
MIPA UNMUL

Dr. Dra. W. Ratna Kusuma, M.Si
NIP. 19650416 198903 2 001

Samarinda, 30 Juli 2023.

Kepala Laboratorium
Anatomi dan Sistematika Tumbuhan

Dr. Medi Hendra, M.Si

NIP. 19710516 199903 1 003

Tanggal Identifikasi	Dibuat oleh	Jabatan	Tanda Tangan
15 Juli 2023	Mintoro Dwi Putra, S.Pd NIP. 19740213 200810 1 001	Teknisi Laboran Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tumbuhan	

Lampiran 4 Sertifikat Keaslian Quercetin

Sigma-Aldrich

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA
Website: www.sigmaaldrich.com
Email USA: techserv@sigmaaldrich.com
Outside USA: eurtechserv@sigmaaldrich.com

Certificate of Analysis

Product Name:
Quercetin - ≥95% (HPLC), solid

Product Number: Q4851
Batch Number: SLCP7708
Brand: SIGMA
CAS Number: 117-39-5
Formula: C₁₅H₁₀O₇
Formula Weight: 302.24 g/mol
Quality Release Date: 22 NOV 2022



Test	Specification	Result
Appearance (Color) Yellow	Conforms	Conforms
Appearance (Form) Powder	Powder	Powder
¹ H NMR Spectrum Conforms to Structure	Conforms to Structure	Conforms
Loss on Drying	< 4 %	3 %
Purity (HPLC)	≥ 95 %	98 %



Brian Dulle, Supervisor
Quality Assurance
St. Louis, Missouri US

Lampiran 5 Sertifikat Keaslian DPPH



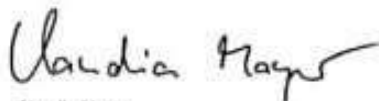
Sigma-Aldrich

www.sigmaaldrich.com

Certificate of Analysis

Product Name: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
Product Number: D9132
Batch Number: STBJ3113
CAS Number: 1898-66-4
Formula: C₁₉H₁₂N₂O₆
Formula Weight: 394.32
Storage Temperature: 2-8 C
Quality Release Date: 04 JUL 2019
Date retested: 21 MAR 2022
Recommended Retest Date: MAR 2025

TEST	SPECIFICATION	RESULT
APPEARANCE (COLOR)	GREEN TO VERY DARK GREEN AND BLACK	BLACK
APPEARANCE (FORM)	POWDER	POWDER
SOLUBILITY (COLOR)	DARK PURPLE	DARK PURPLE
SOLUBILITY (METHOD)	50MG/ML, CHCL ₃	50MG/ML CHCL ₃
CARBON CONTENT	51.5 - 58.1 % GEW.	56.4 %
NITROGEN CONTENT	15.8 - 18.8 % GEW.	16.2 %
INFRARED SPECTRUM	CONFORMS TO STRUCTURE	CONFORMS



Claudia Mayer
Manager Quality Control
Steinheim, Germany

Lampiran 6 Preparasi Sampel Biji Buah Alpukat Mentega



Gambar 1 : Pengumpulan bahan baku

Lampiran 7 Pembuatan Simplisia



Gambar 2 : Perajangan biji buah alpukat mentega



Gambar 3 : Biji buah alpukat mentega yang telah dikeringkan



Gambar 4 : Serbuk simplisia biji buah alpukat mentega

Lampiran 8 Proses Ekstraksi



Gambar 5 : Proses maserasi



Gambar 6 : Perolehan maserat



Gambar 7 : Proses pemekatan ekstrak



Gambar 8 : Perolehan Ekstrak kental

Lampiran 9 Hasil Pengujian Kualitatif



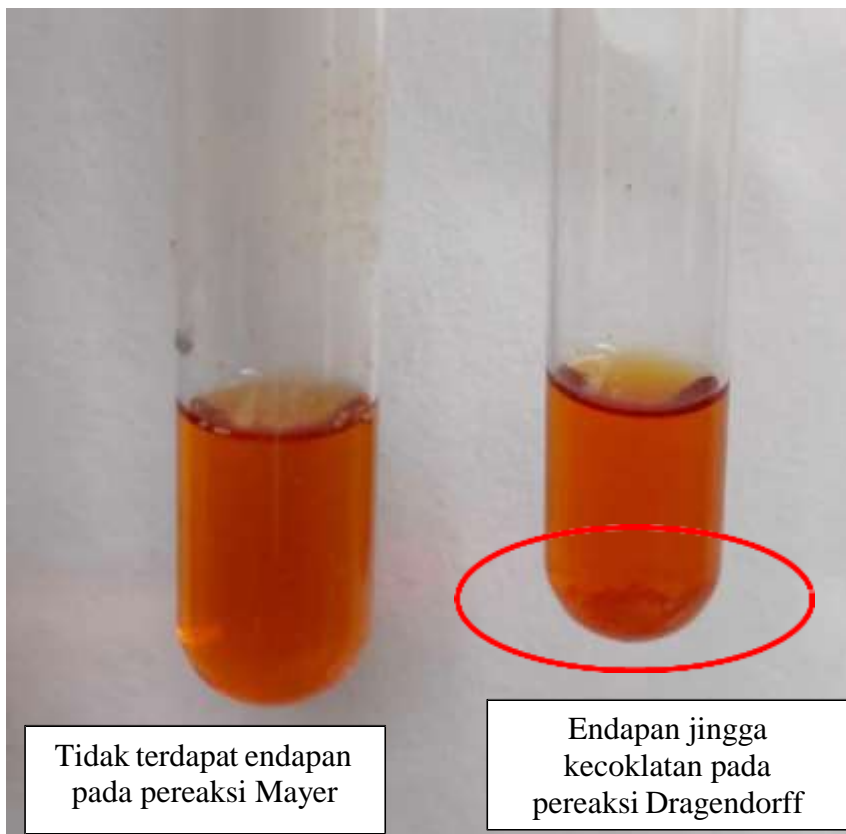
Gambar 9 : Hasil uji bebas etanol



Gambar 10 : Hasil skrining fitokimia



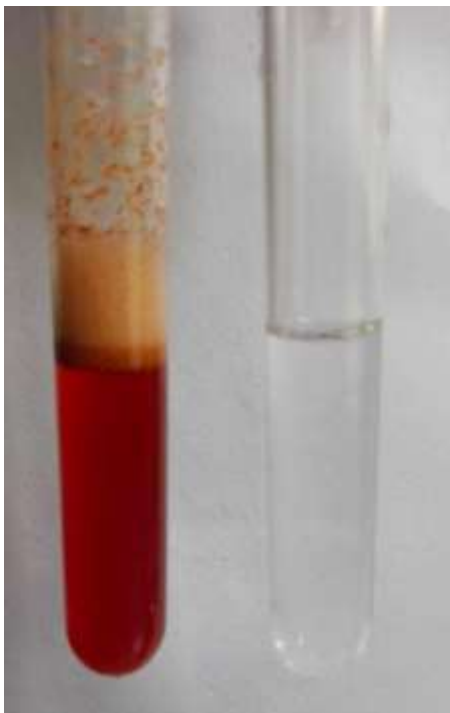
Gambar 11 : Uji alkaloid



Gambar 12 : Uji alkaloid



gambar 13 : Uji flavonoid



Gambar 14 : Uji saponin



Gambar 15 : Uji fenol

Lampiran 10 Perhitungan Susut Pengerinan

Tabel 4.1 Hasil Susut Pengerinan Simplisia

Berat Cawan	Berat Simplisia	Berat Awal	Hasil Penimbangan	Rata-Rata	Hasil Susut Pengerinan
			34.200 gram		
33.23 gram	1 gram	34.32 gram	34.187 gram	34.19 gram	0.12%
			34.182 gram		
			34.182 gram		

$$uu\ egerga = \frac{era\ eeu\ eaaa - era\ akhr}{era\ eeu\ eaaa} \times 100\%$$

$$uu\ egerga = \frac{34,23 - 34,19}{34,23} \times 100\%$$

$$uu\ egerga = 0,12\%$$

Lampiran 11 Perhitungan Persen Rendemen

Tabel 4.2 Hasil Ekstraksi Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Jenis Ekstrak	Berat Simplisia	Berat Ekstrak	%Rendemen
Ekstrak Kental	300 Gram	42,02 Gram	14%

$$\%edee = \frac{oo\ ekstrak}{oo\ a} \times 100\%$$

$$\%edee = \frac{42,02}{300} \times 100\%$$

$$\%edee = 14\%$$

Lampiran 12 Pembuatan Larutan Dan Pereaksi

1. Perhitungan Pengenceran Larutan

a. Larutan asam galat konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500 ppm (dalam 10 mL)

Larutan induk = 1000 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$1 = \frac{2 \times 2}{1}$$

Konsentrasi 100 ppm

$$1 = \frac{100 \times 10}{1000}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Konsentrasi 200 ppm

$$1 = \frac{200 \times 10}{1000}$$

$$V_1 = 2 \text{ mL}$$

Konsentrasi 300 ppm

$$1 = \frac{300 \times 10}{1000}$$

$$V_1 = 3 \text{ mL}$$

Konsentrasi 400 ppm

$$1 = \frac{400 \times 10}{1000}$$

$$V_1 = 4 \text{ mL}$$

Konsentrasi 500 ppm

$$1 = \frac{500 \times 10}{1000}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

b. Larutan kuersetin konsentrasi 40, 60, 80, 100, 120 ppm (dalam 10 mL)

Larutan induk = 1000 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$1 = \frac{2 \times 2}{1}$$

Konsentrasi 40 ppm

$$1 = \frac{40 \times 10}{1000}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ mL}$$

Konsentrasi 60 ppm

$$1 = \frac{60 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 0,6 \text{ mL}$$

Konsentrasi 80 ppm

$$1 = \frac{80 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 0,8 \text{ mL}$$

Konsentrasi 100 ppm

$$1 = \frac{100 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 1 \text{ mL}$$

Konsentrasi 120 ppm

$$1 = \frac{120 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 1,2 \text{ mL}$$

c. Larutan Vitamin C konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 ppm (dalam 10 mL)

Larutan induk = 100 ppm

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

$$1 = \frac{2 \times 2}{1}$$

Konsentrasi 2ppm

$$1 = \frac{2 \times 10}{100}$$

$$V1 = 0,2 \text{ mL}$$

Konsentrasi 4 ppm

$$1 = \frac{4 \times 10}{100}$$

$$V1 = 0,4 \text{ mL}$$

Konsentrasi 6 ppm

$$1 = \frac{6 \times 10}{100}$$

$$V1 = 0.6 \text{ mL}$$

Konsentrasi 8 ppm

$$1 = \frac{8 \times 10}{100}$$

$$V1 = 0,8 \text{ mL}$$

Konsentrasi 10 ppm

$$1 = \frac{10 \times 10}{100}$$

$$V1 = 1 \text{ mL}$$

d. Larutan Sampel Ekstrak Biji Alpukat Mentega konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 ppm (dalam 10 mL)

Larutan induk = 1000 ppm

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

$$1 = \frac{2 \times 2}{1}$$

Konsentrasi 10 ppm

$$1 = \frac{10 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 0,1 \text{ mL}$$

Konsentrasi 20 ppm

$$1 = \frac{20 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 0,2 \text{ mL}$$

Konsentrasi 30 ppm

$$1 = \frac{30 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 0,3 \text{ mL}$$

Konsentrasi 40 ppm

$$1 = \frac{40 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 0,4 \text{ mL}$$

Konsentrasi 50 ppm

$$1 = \frac{50 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 0,5 \text{ mL}$$

2. Pembuatan DPPH 100 ppm (dalam 10 mL)

Ditimbang 10 gram DPPH kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquadest, diperoleh larutan DPPH 100 ppm.

3. Pembuatan Pereaksi

a. FeCl_5 5% (dalam 10 mL)

Dilarutkan 5 gram FeCl_5 dengan aquadest 10 mL, diperoleh FeCl_5 5%.

b. HCl 2 N (dalam 100 mL)

Konsentrasi HCl pekat = 37%

Mr HCl = 36,5 Bj = 1,19 gram/mL

$$\begin{aligned} &= \frac{((10 \times \% \times J) \times ae)}{M} \\ &= \frac{((10 \times 37 \times 1,19) \times 1)}{1 \times 36,5} \\ &= 12,06 \end{aligned}$$

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

$$1 = \frac{2 \times 100}{12,06}$$

$$1 = \frac{2 \times 100}{12,06}$$

$$1 = 16,58$$

Volume aquadest = 100 - 16,58 = 83,42 mL

Dipipet 16,58 mL HCl pekat 37% kemudian diencerkan dengan aquadest sebanyak 83,42 mL, diperoleh HCl 2 N.

c. $K_2Cr_2O_7$ 0,25 N (dalam 10 mL)

Mr $K_2Cr_2O_7$ = 294,18

$$= o \times M \times \frac{1}{Mr} \times 10^3$$

$$M = \frac{\times \times Mr}{6 \times 1000}$$

$$M = \frac{10 \times 0,25 \times 294,18}{6 \times 1000}$$

$$M = 0,1225 \text{ gra}$$

Ditimbang $K_2Cr_2O_7$ 0,1225 gram kemudian dilarutkan dalam aquadest sebanyak 10 mL, diperoleh $K_2Cr_2O_7$ 0,25 N.

d. Na_2CO_3 5% (dalam 100 mL)

Dilarutkan 5 gram Na_2CO_3 dengan aquadest 100 mL, diperoleh Na_2CO_3 5%.

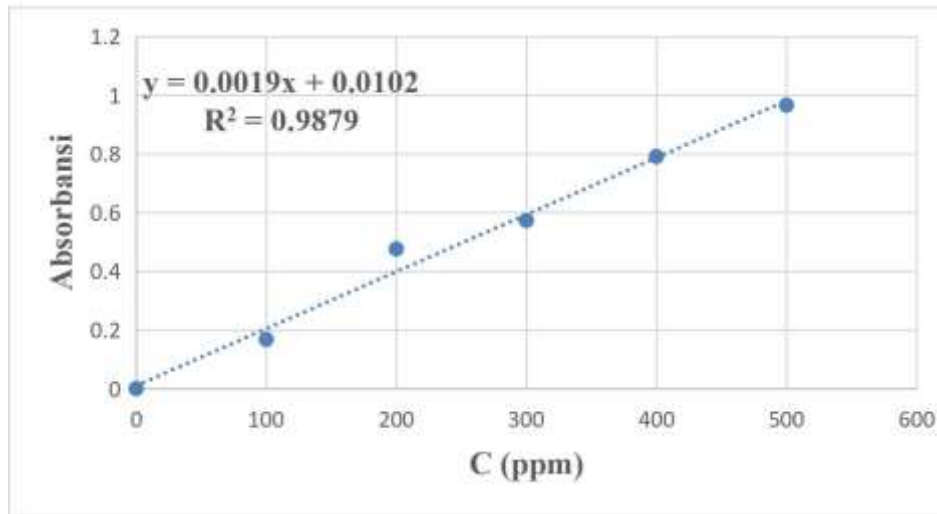
e. $AlCl_3$ 10% (dalam 50 mL)

Dilarutkan 5 gram $AlCl_3$ dalam aquadest 100 mL, diperoleh $AlCl_3$ 10%.

f. Asam Asetat 20% (dalam 100 mL)

Dilarutkan 20 gram asam asetat dengan aquadest 100 mL, diperoleh asam asetat 20%.

Lampiran 13 Perhitungan Kadar Fenolik Total



Gambar 16 Kurva standar asam galat

Diketahui : absorbansi ekstrak = 0,252

$$y = 0,0019x + 0,0102$$

$$0,252 = 0,0019x + 0,0102$$

$$= \frac{0,252 - 0,0102}{0,0019}$$

$$= 127,26 \text{ mg/L}$$

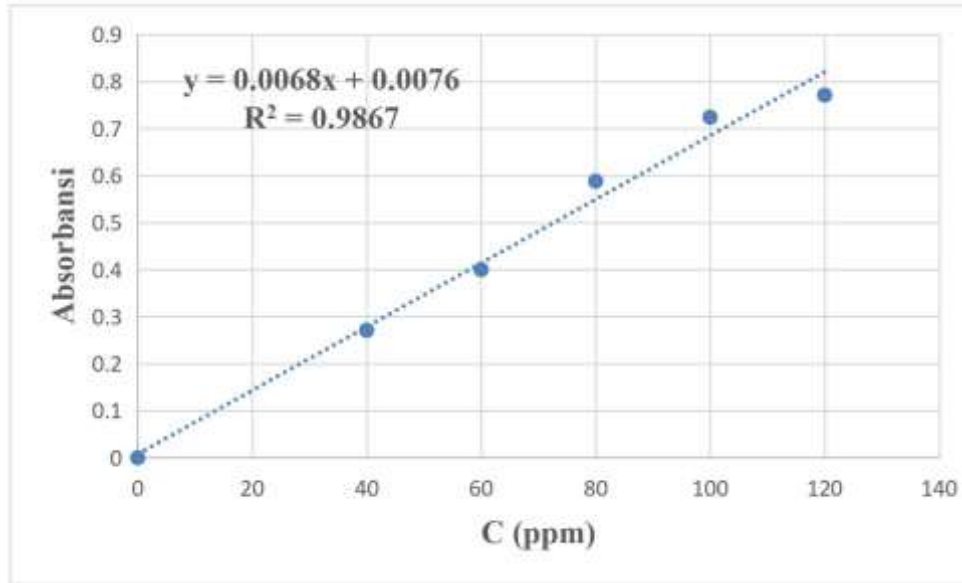
Kadar Fenolik Total

$$oa \text{ eok} = \frac{\text{mg} \times \text{ml}}{\text{gr}}$$

$$oa \text{ eok} = \frac{127,26 \times 0,1 \times 1}{0,1}$$

$$oa \text{ eok} = 127,26 \text{ g A/gra}$$

Lampiran 14 Perhitungan Kadar Flavonoid Total



Gambar 17 Kurva baku kuersetin

Diketahui : absorbansi ekstrak = 0,247

$$y = 0,0068x + 0,0076$$

$$0,247 = 0,0068x + 0,0076$$

$$= \frac{0,247 - 0,0076}{0,0068}$$

$$= 35,21 \text{ mg/L}$$

Kadar Flavonoid Total

$$oa \text{ avood} = \frac{\times \times}{\text{gra}}$$

$$oa \text{ avood} = \frac{35,21 \times 0,1 \times 1}{2}$$

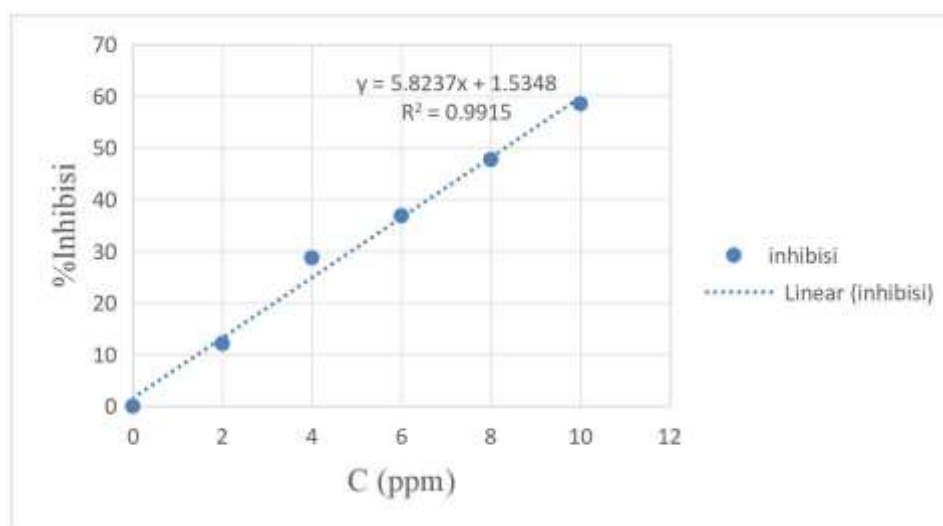
$$oa \text{ avood} = 1,7605 \text{ g /gra}$$

Lampiran 15 Perhitungan %Inhibisi Vitamin C

Tabel 4.9 Hasil Perhitungan IC₅₀ Vitamin C

No.	Absorbansi				
	2	4	6	8	10
1	0,822	0,640	0,575	0,453	0,348
2	0,795	0,652	0,565	0,473	0,424
3	0,780	0,652	0,583	0,498	0,358
Rata-Rata	0,799	0,648	0,574	0,475	0,377
%Inhibisi	12,1	28,71	36,85	47,74	58,52
IC₅₀	8,322 ppm				
Kesimpulan	Sangat Kuat				

Absorbansi DPPH = 0,909



Gambar 18: Grafik %Inhibisi Vitamin C

Perhitungan %Inhibisi Vitamin C

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

$$2 \text{ ppm } \% \text{Inhibisi} = \frac{0,909 - 0,799}{0,909} \times 100\% = 12,10\%$$

$$4 \text{ ppm } \% \text{Inhibisi} = \frac{0,909 - 0,648}{0,909} \times 100\% = 28,71\%$$

$$6 \text{ ppm } \% \text{Inhibisi} = \frac{0,909 - 0,574}{0,909} \times 100\% = 36,85\%$$

$$8 \text{ ppm } \% \text{Inhibisi} = \frac{0,909 - 0,475}{0,909} \times 100\% = 47,74\%$$

$$10 \text{ ppm } \% \text{Inhibisi} = \frac{0,909 - 0,377}{0,909} \times 100\% = 58,52\%$$

Nilai IC₅₀

$$y = bx + a$$

$$50 = 5,8237x + 1,5348$$

$$X = \frac{50 - 1,5348}{5,8237}$$

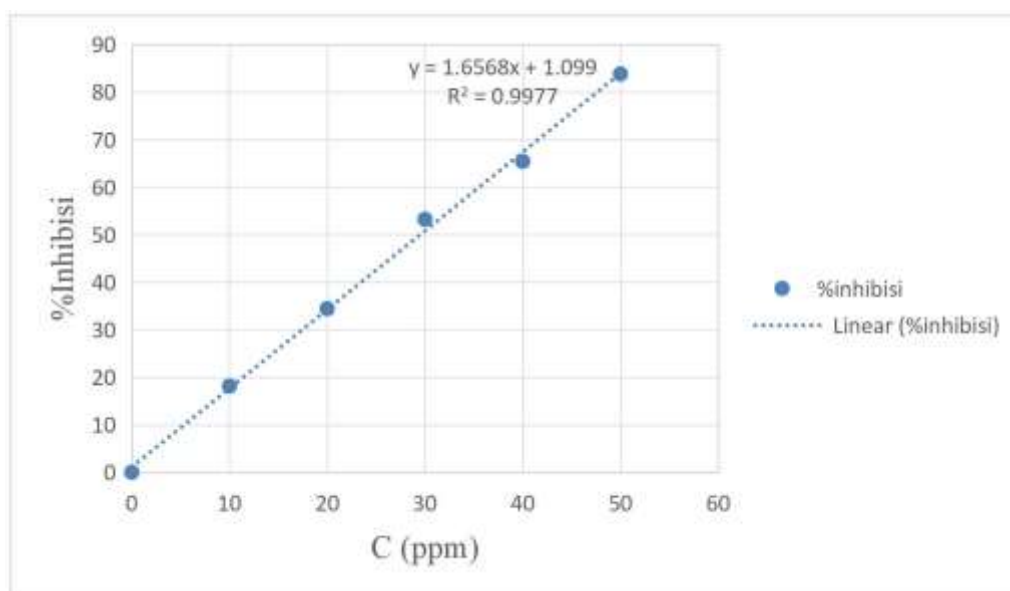
$$X = 8,322 \text{ ppm}$$

Lampiran 16 Perhitungan %Inhibisi Sampel

Tabel 4.10 Hasil Perhitungan IC₅₀ Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.)

No.	Absorbansi				
	10	20	30	40	50
1	0,266	0,392	0,580	0,723	0,764
2	0,272	0,402	0,590	0,730	0,774
3	0,276	0,407	0,595	0,720	0,776
Rata-Rata	0,271	0,400	0,588	0,724	0,771
%Inhibisi	18,15	34,43	53,25	65,45	83,83
IC₅₀	29,51 ppm				
Kesimpulan	Sangat Kuat				

Absorbansi DPPH: 0,909



Gambar 19: Grafik Inhibisi Sampel

$$\%Inhibisi = \frac{\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

$$10 \text{ ppm } \%Inhibisi = \frac{0,909 - 0,744}{0,909} \times 100\% = 18,15\%$$

$$20 \text{ ppm } \%Inhibisi = \frac{0,909 - 0,596}{0,909} \times 100\% = 34,43\%$$

$$30 \text{ ppm } \%Inhibisi = \frac{0,909 - 0,425}{0,909} \times 100\% = 53,25\%$$

$$40 \text{ ppm } \%Inhibisi = \frac{0,909 - 0,314}{0,909} \times 100\% = 65,45\%$$

$$50 \text{ ppm } \%Inhibisi = \frac{0,909 - 0,147}{0,909} \times 100\% = 83,83\%$$

Nilai IC₅₀

$$y = bx + a$$

$$50 = 1,6568x + 1,099$$

$$X = \frac{50 - 1,099}{1,6568}$$

$$X = 29,51 \text{ ppm}$$

Lampiran 17 Rancangan Anggaran Penelitian

Barang	Qty	Harga	Jumlah	Total
Bahan				635,000
Alpukat	Kg			
Etanol 70%	L	16,000	3	48,000
Aquadest	L	5,000	25	125,000
Etanol p.a 96%	L			
Metanol	L			
Pereaksi Dragendroff				
Pereaksi Mayer				
HCl				
Serbuk Mg				
FeCl ₃				
Na ₂ CO ₃				
Asam Galat	Gram	8,000	5	40,000
Folin-ciocalteu	mL	208,000	1	208,000
Quersetin	Gram	89,000	1	89,000
AlCl ₃	Gram	5,000	1	5,000
Na. Asetat	Gram	5,000	2	10,000
DPPH	Mg	65,000	1	65,000
Vit. C	Gram	15,000	3	45,000
Lain-lain				729,500
Sewa lab	Orang	679,500	1	679,500
Determinasi	Pcs	50,000	1	50,000
Total Keseluruhan				1,364,500