

Uji Antioksidan Ekstrak Etanol 70%, N-Heksan, Etil Asetat Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill) dengan Metode DPPH

Putri Wahyu Ningrum^{1*}, Supriyanto², Estuningtyas Ayu Hapsari³

^{1*,2,3} Universitas An Nuur Purwodadi, Grobogan, Jawa Tengah, Indonesia

correspondence e-mail: ningrumputri395@gmail.com

Abstract

Avocado (Persea americana Mill) is a fruit that is popular with many people, because it contains various nutrients. However, the use of avocados is not accompanied by the use of the seeds. Avocado seeds are usually used as antioxidants. Antioxidants are substances that the body needs to neutralize free radicals and prevent damage caused by free radicals. The aim of this research was to determine the antioxidant activity of avocado seed extract (Persea americana Mill) using the DPPH method. Avocado seed extract was extracted by soxhletation with different solvents 70% ethanol, n-hexane, and ethyl acetate. The extract obtained was identified for chemical compound content. Test antioxidant activity using the DPPH method to determine a good IC_{50} value. Based on the research results, the antioxidant test with different solvents that obtained a good IC_{50} value was n-hexane solvent with an IC_{50} value of $2.14\mu g/ml$. The conclusion of the research is that good antioxidant test results with n-hexane solvent obtained an IC_{50} value of $2.14\mu g/ml$, the lower the IC_{50} value, the higher the antioxidant.

Keywords: Antioxidant; DPPH; Solvent; *Persea americana* Mill.

Riwayat artikel:

Dikirim:

25 Juli 2024

Revisi

19 Agustus 2024

Diterima

25 September 2024



© 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution ShareAlike (CC BY SA) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).

A. Pendahuluan

Indonesia adalah salah satu negara tropis yang memiliki beragam jenis tanaman dan buah. Alpukat (*Persea americana* Mill) merupakan salah satu buah yang banyak digemari oleh masyarakat, karena rasanya yang lezat dan mengandung berbagai macam nutrisi. Selain dikonsumsi sebagai makanan, alpukat (*Persea americana* Mill) juga digunakan sebagai campuran produk kosmetika, salah satu produk dari kosmetika adalah masker wajah, toner, body lotion, dan lain-lain. Akan tetapi pemanfaatan buah alpukat yang begitu banyak ini tidak diiringi dengan pemanfaatan bijinya. Biji alpukat terdapat banyak sekali campuran kompleks senyawa polifenolik dan alkaloid biasanya digunakan untuk anti kolesterol, anti mikroba, antioksidan, antipprotozoa, dan dapat membantu menurunkan tekanan darah.

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan dalam jumlah berlebihan sehingga jika terjadi paparan radikal bebas yang berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan dari luar. Berdasarkan sumber perolehannya antioksidan di bagi menjadi 2 kelompok yaitu, antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan alami lebih banyak diamati di bandingkan dengan antioksidan sintetik, karena antioksidan sintetik di khawatirkan memiliki efek samping sehingga antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat di butuhkan (Bulla *et.,al* 2020). Biji alpukat mengandung senyawa fitokimia diantaranya flavonoid, tanin, alkaloid, terpenoid, saponin, polifenol, dan mengandung minyak yang tinggi, sehingga berpotensi dijadikan sumber minyak (Yachya & Sulistyowati, 2015).

Senyawa fitokimia dari ekstrak biji alpukat dapat dilakukan dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut etanol dan penentuan aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat dilakukan dengan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Pada Penelitian Prasetyowati *et.,al* 2014 pelarut yang digunakan untuk mengekstrak biji alpukat di antaranya adalah etanol 70%, n-heksan, etil asetat. Efektivitas suatu sampel untuk menangkal radikal bebas dari metode DPPH dinamakan dengan IC₅₀ (*inhibition concentration*). Apabila nilai IC₅₀ < 50 µg/ml maka dikategorikan memiliki antioksidan sangat kuat, IC₅₀ antara 50-100 µg/ml digolongkan kuat, IC₅₀ berkisar antara 100-250 µg/ml termasuk sedang, dan jika

IC₅₀ yang dimiliki antara 250-500 µg/ml maka termasuk lemah. Jadi semakin kecil nilai IC₅₀ (*inhibition concentration*) maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Yanuarti *et.al* 2017).

Pemilihan pelarut sangat berpengaruh terhadap kualitas dan kuantitas ekstrak biji alpukat yang diperoleh. Ekstraksi dilakukan dengan cara soxhletasi, pada proses soxhletasi memerlukan beberapa kali proses sirkulasi dengan suhu 65-175°C. (Susanty dan Fairus, 2016).

Berdasarkan pendahuluan yang telah dipaparkan, maka dalam penelitian ini dilakukan ekstraksi menggunakan metode soxhletasi dengan menggunakan pelarut yang berbeda yaitu etanol 70% (polar), n-heksan (nonpolar), etil asetat (semi polar). Pemilihan pelarut dengan berbagai sifat kepolarannya untuk mengetahui pelarut dengan sifat manakah aktivitas antioksidan yang optimal.

B. Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan cara pengujian antioksidan ekstrak etanol 70%, n-heksan, etil asetat biji alpukat (*Persea americana Mill*) dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

Alat Dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah gelas ukur, tabung reaksi, pipet, timbangan analitik, *waterbath*, KLT, cawa porselin, sendok tanduk, sendok logam, spatula, beaker glass, batang pengaduk, neraca analitik, 1 set alat soxhletasi, aluminium foil, hot plate, pisau, baskom, talenan, labu alas bulat, *rotary evaporator*, lemari pendingin, spektrofotometer UV-Vis.

Bahan yang digunakan yaitu ekstrak biji alpukat (*Persea americana Mill*), etanol 70%, n-heksan, etil asetat, etanol p.a, aquadest, *dragendroff*, serbuk Mg, larutan gelatin, NaCl 10%, *Lieberman-burchard*, wagner, FeCl₃ 1%, HCl 2 N, HCl pekat, quercetine, dan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di laboratorium UPF Yankestrad Tawangmangu, Jalan Raya Lawu No. 11 Kec. Tawangmangu Kab. Karanganyar, Jawa tengah. Determinasi bertujuan untuk menentukan spesies tumbuhan menggunakan ciri yang bersifat spesifik (morfologi) yang tidak dimiliki oleh tumbuhan lainnya.

Pengambilan Bahan

Pengambilan biji alpukat di perkebunan alpukat di Dusun kuncen Desa Jatipohon, Kecamatan Grobogan, Kabupaten Grobogan dengan kondisi pengambilan buah alpukat yang berwarna hijau, segar, dan tidak busuk.

Pembuatan Serbuk Biji Alpukat

Biji alpukat sebanyak 3kg dibersihkan dengan cara mengupas kulit biji, kemudian diiris tipis-tipis. Irisan biji alpukat dilakukan pengeringan dibawah sinar matahari kurang lebih selama 7 hari. Biji alpukat yang sudah kering dihaluskan menggunakan grinder. Serbuk biji alpukat yang sudah halus diayak dengan mesh nomor 60 sehingga diperoleh serbuk halus biji alpukat.

Pembuatan Ekstrak Biji Alpukat

Ekstraksi biji alpukat (*Persea americana Mill*) menggunakan metode soxhletasi. Serbuk biji alpukat ditimbang sebanyak 40 gram, dibalut dengan kertas saring membentuk timbel sesuai ukuran tabung ekstraktor soxhlet, sampel dimasukan dalam tabung soxhlet, kemudian pompa untuk sirkulasi kondensor dihidupkan, setelah itu atur suhu saat ekstraksi berjalan. Ekstraksi ini menggunakan tiga pelarut yang berbeda, yaitu etanol 70%, n-heksan, dan etil asetat tambahkan masing masing di labu ukur sebanyak 500 ml kedalam labu lemak yang sudah ditimbang (ujung sisi labu diolesi vaselin), kemudian labu dipanaskan dengan tabungn soxhlet. Soxhletasi dilakukan selama 1-3 jam. Tahap selanjutnya pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak kental biji alpukat (Prasetyowati, 2020).

Parameter Esktrak

1. Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan untuk mengetahui kebenaran simplisia menggunakan panca indra dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa (Safitri et al, 2014).

2. Skrining Fitokimia

a. Identifikasi Polifenol

Identifikasi senyawa polifenol dilakukan dengan cara ekstrak biji alpukat sebanyak 0,5gram dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan methanol 2 ml. Larutan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Warna hitam menunjukkan hasil positif polifenol (Wardhani dan Supartono, 2015).

b. Identifikasi Alkaloid

Identifikasi senyawa alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak biji alpukat sebanyak 0,5gram dilarutkan dengan etanol 70% dan ditambah 5 tetes HCl 2 N. Ekstrak dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, kemudian dinginkan dan saring filtrat. Filtrat yang diperoleh dibagi menjadi 3 bagian. Tabung pertama ditambah pereaksi Mayer sebanyak 3 tetes menghasilkan endapan putih jika positif alkaloid, tabung kedua ditambahkan pereaksi Wagner sebanyak 3 tetes akan timbul endapan jingga sampai merah coklat mengandung alkaloid, dengan pereaksi dragendorff menghasilkan endapan berwarna jingga sampai merah coklat (Malik *et al*, 2014).

c. Identifikasi Flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan cara tambahkan 5ml aquadest pada 0,5gram ekstrak, dipanaskan dalam waktu 5 menit dan saring. Hasil penyarian dikocok setelah penambahan 0,1 serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat. Apabila positif menghasilkan warna kuning, merah, atau jingga (Dewi *et al*, 2021).

d. Identifikasi Saponin

Identifikasi senyawa saponin dilakukan dengan cara Ekstrak biji alpukat sebanyak 0,5gram tambahkan aquades dan dikocok kuat selama 5 menit. Apabila terbentuk buih setinggi setelah penggojogan menunjukkan adanya saponin dan penambahan 2 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Malik *et al*, 2014).

e. Identifikasi Tanin

Identifikasi senyawa tanin dilakukan dengan cara ekstrak biji alpukat sebanyak 0,5gram dilarutkan dalam etanol 70%, ditambahkan aquadest dan dipanaskan di atas tangas air selama 10 menit dan disaring. Filtrat ditambahkan larutan gelatin 1% dalam NaCl 10% akan terbentuk endapan putih jika ekstrak mengandung tanin (Malik *et al*, 2014).

f. Identifikasi Terpenoid

Identifikasi senyawa terpenoid dilakukan dengan cara ekstrak biji alpukat sebanyak 0,5gram dilarutkan dengan etanol 70%, ditambahkan pereaksi Lieberman-Burchard, jika terbentuk warna biru hijau maka mengandung steroid, sedangkan jika terbentuk warna merah ungu atau cincin kecoklatan mengandung triterpenoid (Khotimah, 2016).

3. Uji Kadar Air

Sebanyak 10gram simplisia ditimbang dalam cawan yang telah ditara. Lalu dikeringkan pada suhu 105°C selama $\pm$ 15 menit di dalam oven. Kemudian dimasukkan cawan dalam desikator hingga suhu kamar dan dicatat bobot tetap yang diperoleh, kemudian dicatat. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dan catat hasil dalam bentuk persen (Marpaung & Septyani, 2020).

4. Uji Susut Pengeringan

Penentuan susut pengeringan dilakukan 3 kali replikasi dengan cara menimbang serbuk. Susut pengeringan yang terlalu tinggi pada serbuk akan memudahkan jamur dan bakteri serta perubahan kimiawi yang dapat merusak serbuk. Alat dinyalakan dan dipanaskan selama 10 menit. Kemudian masukan 2gram serbuk biji alpukat ke dalam *moisture balance*, di tunggu sampai lampu pada alat mati, kemudian di catat dan hitung nilai rata ratanya.

5. Uji Kadar Abu

Penetapan kadar abu menggunakan metode thermogravimetri tanur bertujuan untuk memberikan gambaran karakteristik sisa kadar abu monorganik setelah pengabuan. Sebanyak 2 g ekstrak ditimbang lalu dimasukan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, ekstrak diratakan. Bahan dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan, dan ditimbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, maka ditambahkan air panas lalu disaring melalui kertas saring bebas abu. Sisa bahan kertas saring dipijarkan dengan krus yang sama. Filtrat dimasukan ke dalam, krus diuapkan, dan dipijarkan pada suhu 45°C hingga bobot tetap. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara kemudian dihitung.

6. Uji KLT

a. Identifikasi senyawa flavonoid

Fase gerak yang digunakan n-butanol : asam asetat : air (4:1:5). Penampak noda uap yang digunakan adalah ammonia dengan baku pembanding kuersetin. Hasil menunjukan terbentuknya noda berwarna biru pada lampu UV 366 nm dan berwarna hitam pada lampu UV 254 nm. Pada hasil setelah penguapan ammonia, menghasilkan warna bercak berwarna biru (Jawa *et al*, 2021)

b. Identifikasi senyawa Saponin.

Fase gerak yang digunakan kloroform : methanol : air (10:7:4). Baku pembanding yang digunakan adalah sapogenin. Apabila terjadi pembentukan warna hijau kekuningan pada UV 366 nm dan 254 nm dan setelah penyemprotan *Lieberman-Bouchard* menghasilkan warna kuning, maka hasil dinyatakan positif mengandung saponin (Zaini *et.al* 2020)

c. Identifikasi senyawa alkaloid

Fase gerak yang digunakan etil asetat : methanol : air (6:4:2) penampak noda yaitu pereaksi *Dragendorff*, baku pembanding yaitu piperin. Jika timbul warna coklat atau jingga setelah penyemprotan pereaksi *dragendroff* menunjukkan adanya alkaloid bila tanpa pereaksi kimia dibawah lampu UV366 nm alkaloid akan berfluoreses biru – hijau atau ungu.

Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 0,4 mM dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 0,0157 g dilarutkan dalam gelas kimia menggunakan etanol p.a kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan dicukupkan volumenya dengan etanol p.a hingga tanda batas. (Kusuma, 2020).

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH dipipet 0,4 mM dipipet sebanyak 1 mL kedalam labu ukur 5 mL kemudian dicukupkan volumenya dengan etanol p.a hingga tanda batas, Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm (Kusuma, 2020).

c. Pembuatan Larutan Stok Uji Ekstrak Biji Alpukat

Ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill) ditimbang sebanyak 5 mg, dilarutkan dengan etanol p.a dalam gelas kimia sambil dihomogenkan, lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan volumenya dengan etanol p.a hingga tanda batas.

d. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill) dengan metode DPPH

Pengujian aktivitas ekstrak biji alpukat sebagai antioksidan dilakukan dengan memipet larutan stok 500 ppm masing-masing 0,05 mL, 0,1 mL, 0,2 mL, 0,4 mL, dan 0,8 mL kemudian dimasukan kedalam labu tentukur 5 mL yang

di bungkus alumunium foil dan ditambah 1 mL DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya dengan etanol p.a hingga tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, dan 80 ppm. Campuran dihomogenkan kemudian ditutup dan didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 518 nm (Handayani, 2018).

e. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Larutan pembanding kuersetin, dibuat dengan ditimbang sebanyak 2 mg kuersetin dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml ditambahkan etanol p.a 5 ml dikocok hingga homogen dicukupkan dengan etanol sampai tanda batas, sehingga didapat konsentrasi larutan kuersetin 200 ppm. Lalu dibuat larutan uji pembanding dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm dengan dipipet sebanyak 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml dan 2,5 ml dari larutan induk dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas (Nathania *et al*, 2020)

f. Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui absorbansi saat senyawa uji bereaksi dengan senyawa DPPH. Penentuan waktu inkubasi dilakukan dengan cara memipet 0,5 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm dan 80 ppm), kemudian ditambahkan dengan larutan 0,4 mM DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang maksimum 518 nm yang dimulai dari menit ke-0 hingga menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit (Rizkayanti *et al*, 2017)

g. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak biji alpukat (*Persea americana Mill*) dan Larutan Kuersetin

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara masing-masing larutan uji dipipet sebanyak 0,5 mL, dengan konsentrasi (5 ppm, 10 ppm dan 20 ppm, 40 ppm dan 80 ppm) dan Larutan Kuersetin dengan konsentrasi (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm), kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi mL, kemudian ditambahkan 0,4 mM larutan DPPH. Larutan tersebut kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 20 menit, selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-VIS pada panjang

gelombang 518 nm. Semua pengerjaan dilakukan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari (Rizkayanti *et al*, 2017).

h. Perhitungan Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} dapat dihitung berdasarkan persentase peredaman antara radikal DPPH dengan larutan sampel.

Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan aplikasi Microsoft Excel dengan cara analisis probit. Analisis regresi probit adalah analisis yang digunakan untuk melihat hubungan antara variable dependen yang bersifat kategori (Kualitatif). Data diolah menggunakan analisis probit antara log konsentrasi larutan uji (x) dengan presentase aktivitas antioksidan (y) sehingga diperoleh IC_{50} . Kemudian variable dependen yang bersifat kategori (Kuantitatif) salah satunya adalah Analisis menggunakan SPSS. Data hasil uji SPSS yang dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA* dengan syarat data terdistribusi normal dan homogen dengan nilai signifikansi ≥ 0.05 . Jika data tidak normal dan homogen ≤ 0.05 , analisis dilakukan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan *Mann Whitne*.

C. Hasil dan Pembahasan

Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi adalah proses menentukan nama tanaman secara spesifik dan merupakan tahap awal dalam penelitian uji antioksidan. Determinasi biji alpukat dilakukan di laboratorium UPF Yankestrad Tawangmangu, Jalan Raya Lawu No. 11 Kec. Tawangmangu Kab. Karanganyar, Jawa tengah pada tanggal 26 April 2024.

Hasil determinasi menurut laboratorium UPF Yankestrad Tawangmangu adalah sebagai berikut :

Famili : Lauraceae
Spesies : *Persea americana Mill*
Sinonim : *Laurus persea L*

Hasil determinasi di atas sudah sesuai dengan penelitian terdahulu oleh (Permatasari, 2016).

Hasil Pengambilan Bahan Dan Pembuatan Serbuk

Pengambilan biji alpukat di perkebunan alpukat di Dusun kuncen Desa Jatipohon, Kecamatan Grobogan, Kabupaten Grobogan pada tanggal 20 Maret

2024. Proses pengumpulan bahan dimulai dari pengambilan buah alpukat yang berwarna hijau, segar, dan tidak busuk. Waktu panen dilakukan pada saat pagi hari, setelah itu dilakukan pemisahan buah dan bijinya. Biji yang diperoleh dibersihkan dan dicuci lalu ditiriskan, kemudian di potong tipis tipis dan dijemur dibawah sinar matahari selama kurang lebih 7 hari. Biji alpukat yang sudah kering dihaluskan menggunakan grinder. Serbuk biji alpukat yang sudah halus diayak dengan mesh nomor 60. Pengayakan serbuk biji alpukat bertujuan untuk menyeragamkan ukuran sehingga serbuk dapat larut dan terserap dengan baik oleh pelarut. Hasil bobot basah 3 kg diperoleh bobot serbuk biji alpukat sebanyak 500 gram.

Hasil Pembuatan Ekstrak Biji alpukat

Ekstrak biji alpukat (*Persea americana Mill*) menggunakan metode Soxhlet. Soxhlet dilakukan dengan metode panas dalam waktu 1 jam 3x siklus menggunakan pelarut etanol 70%, n-heksan, dan etil asetat. Hasil penelitian nilai rendemen ekstrak biji alpukat menggunakan metode Soxhlet dengan pelarut etanol 70%, n-heksan, dan etil asetat yang tertinggi adalah pelarut etil asetat dengan nilai rendemen 43%. Pada penelitian sebelumnya Nadya Syafa'ah (2019) rendemen yang dihasilkan dari ekstrak dengan pelarut berbeda yang lebih bagus yaitu etanol 70% biji alpukat menggunakan metode ekstraksi maserasi yaitu sebesar 13,09%. Etil asetat bersifat semi polar dan n-heksan bersifat non polar. Hal ini menunjukkan bahwa pada pelarut tersebut memiliki pengaruh terhadap perolehan rendemen ekstrak biji alpukat yang menggunakan metode ekstraksi. Perbedaan nilai rendemen terhadap jenis pelarut sejalan dengan penelitian yang menyatakan bahwa perbedaan jenis pelarut berpengaruh terhadap rendemen ekstrak biji alpukat.

Parameter Ekstrak

1. Hasil Uji Organoleptis serbuk

Tabel 1. Hasil Uji Organoleptis

Warna	Aroma	Bentuk	Rasa
Cokelat kehitaman	Khas biji alpukat	Serbuk	Pahit

Hasil uji organoleptis menunjukkan bahwa serbuk biji alpukat memiliki warna cokelat ekhitaman, bau khas biji alpukat, bentuk serbuk, dan rasa pahit.

2. Hasil Uji Skrining Fitokimia

Uji kandungan kimia dilakukan untuk mengetahui ada atau tidak adanya senyawa dalam biji alpukat. Hasil dari uji Kandungan kimia biji alpukat ekstrak etanol 70%, n-heksan, dan etil asetat. Untuk ekstrak biji alpukat dengan pelarut etanol 70% teridentifikasi mengandung polifenol, alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Ekstrak dengan pelarut etanol 70% tidak mengandung senyawa triterpenoid dikarenakan tidak larut dalam pelarut polar. Pada umumnya triterpenoid dapat larut dalam pelarut non polar seperti kloroform atau karbon tetraklorida.

Hasil ekstrak biji alpukat dengan pelarut n-heksan teridentifikasi mengandung alkaloid, flavonoid, dan terpenoid. Ekstrak dengan pelarut n-heksan tidak mengandung polifenol, saponin, dan tanin dikarenakan tidak larut dalam pelarut non polar. Pada umumnya saponin, tanin, dan polifenol larut dalam pelarut polar seperti etanol 70%.

Hasil ekstrak biji alpukat dengan pelarut etil asetat teridentifikasi mengandung polifenol, alkaloid, flavonoid, dan tanin. Ekstrak dengan pelarut etil aetat tidak mengandung saponin dan triterpenoid, dikarenakan saponin tidak larut dengan pelarut semi polar, pada umumnya saponin berada dalam bentuk glikosida dan cenderung bersifat polar. Kemudian untuk triterpenoid tidak larut dengan pelarut semi polar karena Pada umumnya triterpenoid dapat larut dalam pelarut non polar seperti kloroform atau karbon tetraklorida.

Uji kandungan senyawa dalam 3 pelarut adalah proses pengecekan senyawa untuk mengetahui kandungan senyawa ekstrak biji alpukat. Hasil dinyatakan positif mengandung kandungan senyawa sesuai dengan penelitian Fajar 2017.

3. Hasil Uji Kadar Air

Menunjukkan nilai kadar air menggunakan *moisture analyzer*. Tujuan dari penetapan kadar air adalah mengetahui residu air setelah pengeringan atau proses pengentalan ekstrak. Penetapan kadar air dilakukan untuk memenuhi standar komposisi sehingga kualitas produk dapat dipertahankan. Pada penelitian Auliasari *et.al*/ 2016, kadar air biji alpukat mencapai 9,13% dan tidak berbeda jauh dari hasil penelitian sebesar 8,5%. Hasil kadar air yang baik yaitu kurang dari 10%.

4. Hasil Uji Susut Pengeringan

Pada penelitian Kirani (2020) susut pengeringan biji alpukat mencapai nilai 7,5% dan tidak berbeda jauh dari penelitian sebesar 5,55%. Hasil kadar susut pengeringan yang baik adalah kurang dari 10%.

5. Hasil Uji Kadar Abu

Tabel 2. Penetapan Uji Kadar Abu serbuk simplisia biji alpukat

Parameter pengujian	Simplisia Biji Alpukat			Rata – rata (mg) ± SD
	1	2	3	
Kadar Abu (%)	3,02	2,67	2,91	2,87 ± 1,79

Penetapan kadar abu menggunakan metode thermogravimetri tanur bertujuan untuk memberikan gambaran karakteristik sisa kadar abu monorganik setelah pengabuan. Kadar abu merupakan sisa hasil pembakaran bahan organik yang berupa zat anorganik, yang komposisi dan kandungannya tergantung dari bahan dan cara pengabuannya (Hutomo *et, al* 2015). Hasil penetapan kadar abu tertinggi adalah 3,02% dengan rata-rata 2,87% tidak jauh dari penelitian sebelumnya oleh Mayasari (2015) kadar abu untuk simplisia biji alpukat dengan rata-rata adalah 2,98%.

6. Hasil Uji KLT

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk mempertegas hasil yang di dapat pada uji tabung kandungan senyawa kimia. Hasil nilai Rf dari pelarut etanol 70% menunjukkan positif alkaloid, flavonoid, dan saponin. Sementara larutan n-heksan dan etil asetat hasil nilai Rf positif alkaloid dan flavonoid. Sedangkan untuk nilai Rf senyawa saponin menunjukkan negatif dikarenakan tidak larut dengan pelarut non polar dan semi polar, dan pada umumnya saponin berada dalam bentuk glikosida dan cenderung bersifat polar (Chairiah, 2019). Hasil KLT yang di dapat menunjukkan hasil yang sama dengan uji tabung kandungan senyawa kimia.

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

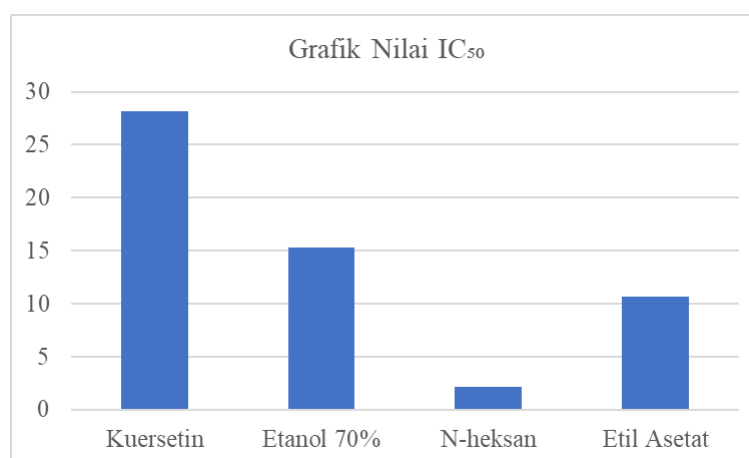
Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Pelarut Ekstrak	Konsentrasi ppm	Absorbansi	Inhibisi (%)	Nilai IC ₅₀
Etanol 70%	5	0,182	46,78	15,3
	10	0,183	46,49	
	20	0,062	81,87	
	40	0,038	88,88	
	80	0,023	93,27	
N-heksan	5	0,097	71,63	2,14
	10	0,096	71,92	
	20	0,095	72,22	
	40	0,090	73,68	
	80	0,086	74,85	
Etil Asetat	5	0,189	44,74	10,66
	10	0,187	45,32	
	20	0,089	73,97	
	40	0,075	78,07	
	80	0,039	88,58	
Kuersetin Pembanding	10	0,015	95,61	28,15
	20	0,014	95,90	
	30	0,013	96,19	
	40	0,013	96,19	
	50	0,012	96,49	

Sebelum melakukan pengujian antioksidan, dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimal (λ max), diukur nilai absorbansinya larutan DPPH 0,4 mM pada Panjang gelombang 400-800 nm. Hasil Panjang gelombang maksimum larutan DPPH 0,4 nM adalah 518 nm. Secara teoritis λ max berada pada gelombang 518 nm. Setelah itu dilakukan pengukuran Panjang gelombang blanko sbelum pengujian aktivitas antioksidan terhadap sampel. Hasil absorbansi blanko yang didapatkan 0,184 pada gelombang 518 nm.

Aktivitas antioksidan tergantung pada nilai IC_{50} , antioksidan dengan nilai IC_{50} yang baik di bawah 50 kategori (sangat kuat), aktivitas antioksidan (kuat) nilai IC_{50} -nya sebesar 50-100, antioksidan (sedang) nilainya sebesar 100-150, dan antioksidan (lemah) 151-200. Maka dapat disimpulkan bahwa, semakin tinggi nilai IC_{50} , maka aktivitas antioksidannya semakin lemah, sedangkan semakin rendah nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidannya semakin kuat (Tristantini *et al*, 2016).

Kandungan senyawa kimia yang didapat dari perbedaan pelarut seperti etanol 70%, n-heksan, dan etil asetat adalah senyawa senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tertarik yaitu senyawa flavonoid dan alkaloid. Karena flavonoid memiliki sifat antioksidan yang sangat baik dan dapat menunjukkan aktivitas antioksidannya dengan cara mentransfer atom hidrogen ke radikan bebas, dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut glikon. Kemudian senyawa alkaloid sebagai antioksidan karena memiliki atom nitrogen dalam strukturnya, yang memiliki pasangan elektron bebas untuk meredam aktivitas radikal bebas dalam tubuh. Alkaloid bekerja dengan mendonorkan atom H pada radikal bebas (Kartika *et., al* 2020).



Gambar 1. Garfik Nilai IC_{50}

Pada penelitian peneliti mendapatkan nilai IC_{50} ekstrak biji alpukat dengan pelarut etanol 70% sebesar 15,3 $\mu\text{g/ml}$ termasuk antioksidan dengan kategori sangat kuat, karena pelarut etanol 70% bersifat polar. Sehingga pelarut etanol 70% dapat menarik senyawa senyawa pada biji alpukat yang bersifat polar seperti alkaloid, tanin, dan saponin.

Hasil uji antioksidan ekstrak biji alpukat mendapatkan nilai IC_{50} sebesar 2,14 μ g/ml dengan pelarut n-heksan termasuk antioksidan dengan kategori sangat kuat, karena pelarut n-heksan bersifat non polar. Sehingga senyawa senyawa yang bersifat non polar dalam biji alpukat dapat tertarik seperti flavonoid, saponin, dan terpenoid dimana senyawa tersebut sebagai substansi antioksidan.

Hasil dari uji antioksidan ekstrak biji alpukat mendapatkan nilai IC_{50} sebesar 10,66 μ g/ml dengan pelarut etil asetat, termasuk antioksidan dengan kategori sangat kuat. Karena pelarut etil asetat bersifat semi polar, sehingga dapat menarik senyawa senyawa yang bersifat semi polar dalam biji alpukat seperti polifenol.

Ekstrak biji alpukat memiliki nilai IC_{50} lebih tinggi dari baku pembandingan kuersetin. Karena semakin rendah nilai IC_{50} maka semakin tinggi antioksidannya, sehingga antioksidan ekstrak biji alpukat dengan pelarut n-heksan lebih baik dari kuersetin. Berdasarkan hal tersebut, dari ketiga pelarut dalam kategori antioksidan sangat kuat pada ekstrak biji alpukat adalah pelarut n-heksan dengan nilai IC_{50} sebesar 2,14 μ g/ml.

Perbedaan pelarut dalam uji antioksidan dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan. Dalam uji antioksidan ekstrak biji alpukat pelarut n-heksan (nonpolar) menarik lebih banyak komponen bioaktif yang ada pada biji alpukat daripada pelarut polar dan semi polar.

D. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji alpukat dengan pelarut n-heksan memiliki nilai IC_{50} sebesar 2,14 μ g/ml, dikategorikan antioksidan sangat kuat.

E. Daftar Pustaka

- Bulla, Cunha, and Nitbani (2020). Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan senyawa Alkaloid, Daun pepaya (*Carica Pepaya L*) Kultivar Lokal. Chem. Notes 2020. 1 (1), 58-68.
- Dewi, I. S., Saptawati, T., Rachma, F. A., (2021) *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit dan Biji Terong Belanda (Solanum betaceum Cav)*.
- Handayani, S., Najib, A., & Wati, N. P. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius L.*) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas 1, 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil (DPPH). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(2), 299-308.

- Hutomo, H. D., Swastawati, F., dan Rianingsih, L (2015). Pengaruh Konsentrasi Asap Cair Terhadap Kualitas dan Kadar Kolesterol Belut (*Monopterus albus*) Asap. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan Volume 4*, Nomor 1, Halaman 7-14.
- Khotimah, K. (2016). Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Metabolit Sekunder Senyawa Karpain Pada Ekstrak Metanol Daun *Carica pubescens* Lenne dan K.Koch Dengan LC/MS (Liquid Chromatograph-tandem Mass Spectrometry). Skripsi. Malang: Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Kusuma, I. M., Veryanti, P. R., & Chairunnisa, B. (2020). Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Buah Kawista (*Limonia acidissima*) dengan Metode DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Sainstech Farma*, 13(2), 60-65.
- Malik, A., Edward, F., Waris, R., (2014). Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Metanolik Herba Boroco (*Celosia argentea* L.). *Jurnal Fitokimia Indonesia*. 1(1): 1-5.
- Marpaung, M.P., Septiyani, A. 2020. Penentuan Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Kental Etanol Batang Akar Kuning. *Journal Of Pharmacopolium*. 3 (2). 29.
- Nathania, E. K., Maarisit, W., Potalangi, N. O., & Tapehe, Y. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kecubung Hutan (*Brugmansia suaveolens* Bercht. & J. Presl) Dengan Menggunakan Metode DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Biofarmasetikal Tropis*, 3(2), 40-47.
- Prasetyowai, 2020 Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Ekstraksi Dengan Metode Soxhletasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Minyak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Media Ilmiah Teknologi Pangan (Scientific Journal of Food Technology) ISSN : 2407-3814 (print Vol. 4, No.2, 85 - 93, September 2017).
- Prasetyowati, Retno P dan Fera T.O. 2014 Pengambilan Minyak Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill) Dengan Metode Ekstraksi. *Jurnal Teknik Kimia*. 2(17) : 16-18.
- Rahmatullah, S.W., Susiani, E.F., Pahlevi, M.R., Kurniawan, G., Leyla, S.N., (2021). Aktivitas Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* (Christ) Swing) sebagai Antipiretik pada Mencit yang Diinduksi Vaksin DPT. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 6(2): 341-349.
- Rizkayanti, R., Diah, A. W. M., & Jura, M. R. (2017). Uji aktivitas antioksidan ekstrak air dan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* LAM). *Jurnal Akademika Kimia*, 6(2), 125-131.
- Stephanie Mutiara Novatama, "Identifikasi dan Uji Antioksidan Senyawa Betasianin dari Ekstrak Buah Bit Merah (*Beta Vulgaris* L.)" (Skripsi Program Sarjana Studi Kmia Universitas Negeri Semarang, Semarang 2016), h. 14.
- Tristantini, Dewi 2016. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). Yogyakarta: Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia.
- Viviliya 2018. Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak etanol biji adas (*foeniculum vulgare* mill), rimpang kencur (*kaempferia galanga* l.), rimpang kunyit putih (*curcuma zedoaria* (berg.) roscoe), herba pegagan (*centella asiatica*) serta ramuannya. Skripsi. Malang : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

- Whardhani, R.A.P dan Supartono. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) pada Bakteri. Indonesia. *Journal of Chemical*.4(1): 46-51.
- Wijaya, D. P., Paendong, J. E., & Abidjulu, J. (2014). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dari daun nasi (*Phrynium capitatum*) dengan metode DPPH (*1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil*). *Jurnal MIPA*, 3(1), 11-15.
- Yachya, A, & Sulistiyowati (2015). Aktivitas Antibakteri Biji dan Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana Mill*) Terhadap *Aerobateranogenes* dan *Proteus Miriabilis*, B.
- Yanuarto, H. Purnamaningsih, A. Nurorrozi, & S. Indarjulyanto. 2017. Saponin: Dampak terhadap Ternak (Ulasan) *Jurnal Peternakan Sriwijaya*. Vol. 6 (2): 79-90. ISSN 2303-1093.