

## Analisis Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Alpukat Mentega (*Persea Americana* Mill)

Hudallil Chusnah<sup>1</sup>, Mutista Hafshah<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Chemistry Department, Faculty of Science and Technology, UIN Walisongo Semarang, Indonesia

### ABSTRAK

Aktivitas fisik yang kurang, produk makanan cepat saji, stress yang meningkat karena adanya tuntutan kerja adalah resiko yang menyebabkan perubahan pada tubuh yang tidak disadari dapat memicu timbulnya penyakit degeneratif. Munculnya penyakit degeneratif dapat disebabkan oleh adanya radikal bebas yang dapat menyebabkan kanker dan membunuh sel-sel dalam tubuh. Penyakit degeneratif yang muncul akibat adanya radikal bebas dapat diatasi oleh antioksidan. Riset ini bertujuan untuk mengetahui persen rendemen, mengetahui senyawa metabolit sekunder, dan menentukan nilai IC<sub>50</sub> aktivitas antioksidan kulit batang alpukat mentega (*Persea americana* Mill). Proses ekstraksi kulit batang alpukat mentega menggunakan metode maserasi. Hasil ekstraksi diperoleh rendemen sebanyak 36,6321 %. Kandungan metabolit sekunder di dalam kulit batang alpukat mentega yaitu flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazil). Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega memiliki nilai IC<sub>50</sub> 137,81 ppm yang tergolong ke dalam bahan alam dengan kategori aktivitas antioksidan sedang, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami.

**Kata kunci:** analisis fitokimia; antioksidan; metabolit sekunder; *Persea americana* Mill

### ABSTRACT

Lack of physical activity, fast food products, and increased stress due to work pressures are all dangers that might induce unnoticed changes in the body that can lead to degenerative diseases. The existence of free radicals, which can cause cancer and damage cells in the body, might trigger the emergence of degenerative disorders. Antioxidants can help to prevent degenerative disorders caused by the presence of free radicals. The purpose of this study is to investigate the yield percentage, secondary metabolite chemicals, and the IC<sub>50</sub> value of the antioxidant activity of butter avocado stem bark (*Persea americana* Mill). The maceration method is used in the extraction of avocado butter bark. The obtained extraction results give as much as. Flavonoids, tannins, saponins, and alkaloids are among the secondary metabolites found in butter avocado stem bark. The antioxidant activity was then determined using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazil) technique. The ethanol extract of avocado butter stem bark exhibited an IC<sub>50</sub> value of 137.81 ppm, indicating that it was a natural product with moderate antioxidant activity that may be exploited as a natural antioxidant source.

**Keywords:** antioxidants; *Persea americana* Mill; phytochemical analysis; secondary metabolites

Received: 29-08-2023, Accepted: 20-10-2024, Online: 11-04-2025

### PENDAHULUAN

Ilmu pengetahuan dan teknologi mengalami perkembangan yang pesat, sehingga menyebabkan munculnya beragam produk yang memudahkan kehidupan manusia. Di lain sisi, berbagai kemudahan dan kenyamanan tersebut memiliki dampak buruk yang harus dikendalikan. Aktivitas fisik yang kurang, produk makanan cepat saji, stress yang meningkat karena adanya tuntutan kerja adalah resiko yang menyebabkan perubahan pada tubuh yang tak disadari dapat memicu timbulnya penyakit degeneratif. Munculnya penyakit degeneratif dapat disebabkan oleh adanya radikal bebas, radikal bebas mampu merusak dinding sel, kromosom, serta DNA yang dapat menyebabkan kanker dan membunuh sel-sel dalam tubuh. Penyakit degeneratif yang muncul akibat adanya radikal bebas dapat diatasi oleh antioksidan

\*Corresponding author:  
mutista.hafshah@walisongo.ac.id

(Suiraoaka, 2012). Radikal bebas masuk ke dalam tubuh berbentuk racun kimiawi yang berasal dari minuman, makanan, udara yang terpapar polusi, serta ultraviolet dari matahari (Iskandar, 2004). Radikal bebas di dalam tubuh terbentuk secara terus-menerus, dan sebagian besar mampu terlibat dalam proses munculnya penyakit degeneratif berupa kanker. Oleh sebab itu, efek negatif dari radikal bebas perlu diredam oleh senyawa seperti antioksidan (Jami'ah et al., 2018).

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menghambat adanya reaksi oksidasi. Proses penghambatan tersebut dilakukan dengan mengikat radikal bebas serta molekul yang sangat reaktif (Barru et al., 2013a). Selain dari dalam tubuh, antioksidan dapat ditemukan di dalam beberapa tumbuhan seperti jahe, kayu manis, kunyit, andaliman, secang, buah naga hingga tumbuhan alpukat (Fakriah et al., 2019; Helmalia et al., 2019). Aktivitas antioksidan dapat ditemukan dalam tumbuhan karena di dalam tumbuhan terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder seperti antosianin, fenolik, flavonoid, dan tanin (Andarina & Djauhari, 2017).

Tanaman alpukat mentega adalah tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia, di mana tanaman ini dikenal sebagai tanaman buah. Pemanfaatan daging buah alpukat mentega yaitu untuk konsumsi sebagai makanan harian. Selain itu, daun alpukat dan biji alpukat mentega juga dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat. Daun alpukat mentega juga memiliki manfaat dalam bidang kecantikan, karena daun alpukat memiliki kandungan seperti flavonoid, polifenol, alkaloid, saponin, quersetin yang bersifat antibakteri dan anti radang. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa tanaman alpukat mentega (*Persea americana* Mill) termasuk dalam tanaman dengan manfaat dapat mencegah penuaan dini sebab mengandung antioksidan di dalamnya. Senyawa-senyawa bioaktif yang memiliki peran utama sebagai antioksidan yaitu flavonoid, saponin, alkaloid, terpenoid, tanin, dan safrol yang terdapat dalam daun (Mailana et al., 2016).

Penelitian mengenai kandungan fitokimia ekstrak etanol buah alpukat, kulit buah alpukat, daun alpukat, hingga biji alpukat mentega telah banyak ditemukan, namun belum ada penelitian mengenai analisis fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega. Sehingga dilakukannya penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega.

## METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan antara lain: kertas saring (*Whatman*), pipet volume (*Pyrex*), batang pengaduk (*Pyrex*), spatula (*Pyrex*), corong (*Pyrex*), Erlenmeyer (*Pyrex*), gelas becker (*Pyrex*), labu ukur (*Pyrex*), penangas air (*Gian*), neraca analitik (*Matler Teledo*), blender (*Miyako*), *waterbath*, Evaporator (*DLAB RE 100-Pro*) dan Spektrofotometer UV-Vis (*Orion AQUAMATE 8000*).

Bahan yang digunakan antara lain: ekstrak kulit batang alpukat mentega pada pohon berusia 3-4 tahun dengan diameter batang 2 – 5 cm yang diperoleh dari Kecamatan Ngaliyan, Kota Semarang; serbuk Mg; HCl pekat; FeCl<sub>3</sub> 10%; pereaksi *Wagner*; etanol 96%; *2-2diphenyl-1-picrylhidrazyl* (DPPH); etanol pro analisis; dan akuades.

### Pembuatan ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega (Tristantini et al., 2016)

Pembuatan ekstrak kulit batang alpukat mentega dilakukan dengan cara batang alpukat segar dicuci menggunakan air mengalir, kemudian dikupas untuk memisahkan antara kulit dengan batang kayu, dan dipotong untuk memperkecil ukuran partikel. Kulit batang alpukat mentega dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan blender, bubuk kulit batang alpukat mentega sebanyak 100 g dimasukkan dalam Erlenmeyer, dan ditambahkan etanol 96% yang telah melewati proses destilasi sebanyak 1000 mL dan selanjutnya dimaserasi selama 1 x 24 jam sambil diaduk setiap 12 jam sekali. Kulit batang alpukat mentega kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga menghasilkan filtrat 1 dan residu, kemudian residunya ditambahkan etanol 96% yang telah melewati proses destilasi dan dilakukan proses maserasi kembali hingga hari ke 5. Proses ekstraksi maserasi ini dihentikan saat mencapai hari ke 5, setelah itu dilakukan proses penyaringan kembali sehingga diperoleh filtrat 1 hingga filtrat 5. Filtrat 1 hingga filtrat 5 dicampur dan diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*

hingga menghasilkan ekstrak kental. Setelah diperoleh ekstrak kental, dapat dihitung persen rendemen yang didapatkan dari hasil percobaan, menggunakan persamaan 1.

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Massa Ekstrak}}{\text{Massa Bahan Alam Kering}} \times 100\% \quad (1)$$

### Analisis fitokimia

#### *Analisis flavonoid* (Harborne, 1987)

Sampel sebanyak 2 mg, ditambahkan air panas secukupnya dan dididihkan selama 5 menit lalu disaring. Sampel yang telah dididihkan dan disaring diambil sebanyak 5 mL, ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,05 mg dan 5 tetes HCl pekat. Sampel positif mengandung flavonoid jika terbentuk larutan berwarna kuning jingga hingga merah.

#### *Analisis tannin* (Jones & Kinghorn, 2006)

Ekstrak sebanyak 2 mL ditambahkan reagen FeCl<sub>3</sub> 10% sebanyak 5 tetes. Sampel menunjukkan positif mengandung tanin jika terbentuk warna hijau kehitaman atau biru tua.

#### *Analisis saponin* (Depkes, 1995)

Aquades sebanyak 10 mL ditambahkan ke dalam sampel ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega sebanyak 2 mL dan dididihkan, kemudian setelah dingin dikocok secara kuat selama 10 detik dan ditambahkan HCl 2N sebanyak 1 tetes. Sampel menunjukkan positif mengandung saponin ketika terbentuk buih stabil 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit.

#### *Analisis alkaloid* (Jones & Kinghorn, 2006; Marliana et al., 2005)

Sebanyak 2 mg sampel dilarutkan dalam 5 mL HCl 2N, larutan yang diperoleh dibagi ke dalam 2 tabung buah reaksi. Tabung 1 digunakan sebagai blanko, sedangkan tabung 2 ditambahkan dengan pereaksi Wagner sebanyak 3 tetes. Sampel menunjukkan positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan berwarna coklat muda sampai kuning.

### Uji Antioksidan

#### *Pembuatan larutan 2-2diphenyl-1-picrylhidrazyl (DPPH)* (Brand-Williams et al., 1995)

Larutan DPPH dengan konsentrasi 50 ppm dibuat dengan cara menimbang serbuk DPPH sebanyak 5 mg, dilarutkan dalam etanol sebanyak 100 mL dalam labu ukur dan dihomogenkan. Pembuatan larutan sampel

Sampel induk dengan konsentrasi 2000 ppm dibuat dengan cara menimbang ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega sebanyak 1 g dan dilarutkan dengan etanol, dimasukkan ke dalam labu ukur 500 mL, kemudian ditambahkan etanol pro analisis hingga tanda batas dan dihomogenkan (Handayani et al., 2014). Kemudian dari larutan sampel induk tersebut, dibuat sampel dengan konsentrasi 80 ppm, 200 ppm, 320 ppm, 440 ppm, dan 560 ppm.

#### *Pengujian panjang gelombang serapan maksimum larutan DPPH* (Handayani et al., 2014; Saputra & Yudhantara, 2019)

Panjang gelombang serapan maksimum larutan DPPH diuji dengan mengambil larutan DPPH 50 ppm sebanyak 3,5 mL menggunakan pipet, ditambahkan 0,5 mL etanol, dibiarkan di tempat gelap selama 30 menit pada suhu ruang dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimumnya antara 450-550 nm.

#### *Penentuan konsentrasi antioksidan ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega (Persea americana Mill)*

Pengujian nilai absorbansi kontrol dilakukan dengan mengambil etanol pro analisis sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan DPPH dengan konsentrasi 50 ppm sebanyak 3,5 mL di dalam labu ukur. Larutan tersebut kemudian didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang dan serapannya diukur pada panjang gelombang maksimum (Handayani et al., 2014). Kemudian pada pengujian aktivitas antioksidan dalam sampel dilakukan dengan mengambil larutan ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega berbagai konsentrasi sebanyak 0,5 mL, masing-masing sampel ditambahkan DPPH dengan konsentrasi 50 ppm sebanyak 3,5 mL dalam labu ukur. Larutan tersebut kemudian didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang dan

serapannya diukur pada panjang gelombang maksimum (Handayani et al., 2014). Aktivitas penangkapan radikal bebas dihitung menggunakan persamaan 2 dan perhitungan nilai IC<sub>50</sub> menggunakan rumus persamaan regresi (Handayani et al., 2014).

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \quad (2)$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Preparasi Sampel

Sampel pada penelitian ini menggunakan kulit batang alpukat mentega (*Persea americana* Mill), berasal dari Kecamatan Ngaliyan, Kota Semarang. Batang alpukat mentega segar dicuci terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada kulit batang tersebut. Kemudian kulit batang alpukat mentega dipisahkan dari batang kayunya, dan dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil. Kulit batang alpukat mentega tersebut kemudian dikeringkan dan dihaluskan menggunakan blender, sehingga diperoleh sampel berbentuk serbuk halus berwarna coklat.

### Ekstraksi

Metode ekstraksi yang diaplikasikan pada penelitian ini yaitu ekstraksi maserasi menggunakan etanol yang telah melalui proses destilasi. Etanol dipilih sebagai pelarut dalam proses ekstraksi ini karena pelarut etanol adalah pelarut yang mampu menarik senyawa-senyawa yang larut dalam pelarut non polar hingga polar (Snyder et al., 1997). Proses maserasi ini dilakukan dengan perendaman sebanyak 100 g serbuk simplisia. Proses maserasi dilakukan selama 5x24 jam dengan melewati proses pengadukan setiap 12 jam sekali. Pengulangan perendaman pada simplisia (*remaserasi*) menggunakan pelarut dengan volume yang sama dilakukan pergantian pelarut setiap 1x24 jam. Proses *remaserasi* dan pengadukan dilakukan untuk memastikan senyawa-senyawa yang terkandung dalam sampel dapat larut dengan maksimal. Maserasi dilakukan selama 5 hari karena filtrat yang diperoleh pada hari ke 5 menunjukkan warna yang cukup bening dan menandakan bahwa senyawa yang terkandung di dalam simplisia telah larut. Simplisia yang telah direndam selama 24 jam kemudian disaring menggunakan kertas saring, sehingga diperoleh filtrat berwarna coklat tua pada hari pertama dan terus memudar hingga hampir jernih pada hari ke lima.

Filtrat yang telah diperoleh kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada temperatur 50°C dengan kecepatan 60 rpm sehingga akan menghasilkan ekstrak kental. Proses penguapan dilakukan untuk menghilangkan pelarut dan memperoleh hasil berupa ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh memiliki aroma khas dari kulit batang alpukat dengan campuran aroma manis dan berwarna coklat tua. Massa ekstrak kental yang diperoleh yaitu 36,6321 g, kemudian dilakukan perhitungan persen rendemen yang diperoleh menggunakan persamaan 3.1. Rendemen yang diperoleh dari filtrat hasil maserasi yaitu sebanyak 36,6321%. Perhitungan persen rendemen tersebut dilakukan untuk mengetahui perbandingan hasil ekstrak kental yang diperoleh dari simplisia yang diekstraksi.

### Analisis Fitokimia Terhadap Ekstrak Etanol Kulit Batang Alpukat Mentega

Proses analisis fitokimia ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif di dalam kulit batang alpukat mentega. Berdasarkan pada analisis fitokimia yang telah dilakukan, dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Hasil yang diperoleh dalam analisis fitokimia ekstrak kulit batang alpukat mentega, dapat dibandingkan dengan analisis fitokimia pada bagian tanaman alpukat mentega yang lainnya, seperti yang dapat dilihat pada tabel 1.

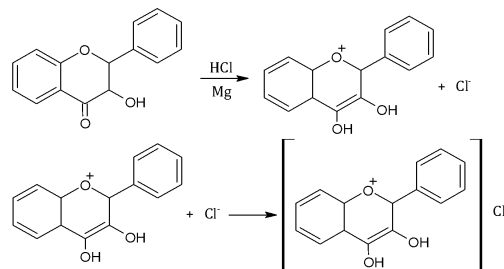
**Tabel 1.** Perbandingan Analisis Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang, Daging Buah, Kulit Buah, Biji, dan Daun Alpukat Mentega

Golongan Senyawa	Ekstrak Etanol Kulit Batang Alpukat	Ekstrak Etanol Daging Buah Alpukat <sup>a</sup>	Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat <sup>b</sup>	Ekstrak Etanol Biji Alpukat <sup>c</sup>	Ekstrak Etanol Daun Alpukat <sup>d</sup>
Flavonoid	+	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	+	+
Alkaloid	+	+	+	+	+

<sup>a</sup>(Simarmata et al., 2018)<sup>b</sup>(Wulandari et al., 2019)<sup>c</sup>(Marlinda et al., 2012)<sup>d</sup>(Azzahra et al., 2019)

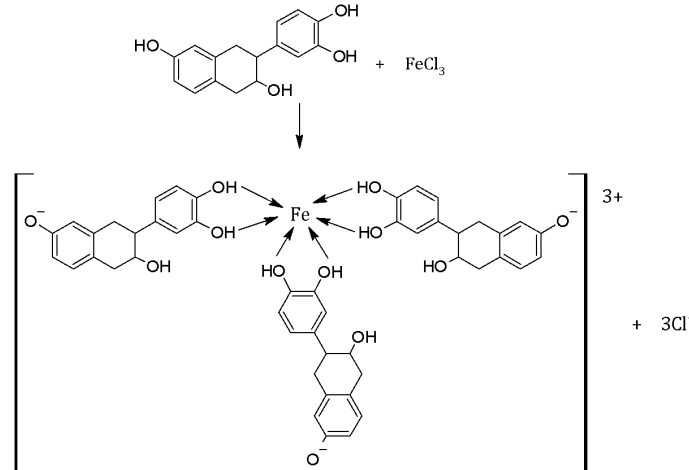
### Flavonoid

Analisis secara kualitatif ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega pada pengujian kandungan flavonoid menunjukkan bahwa senyawa flavonoid positif terkandung di dalam ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega. Adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega dapat dideteksi dengan adanya perubahan warna menjadi kuning-jingga. Munculnya warna kuning-jingga ini disebabkan karena adanya reaksi reduksi dari Mg yang terjadi dalam suasana asam karena adanya penambahan HCl. Senyawa flavonoid dapat menghasilkan warna merah, jingga, atau kuning ketika tereduksi oleh Mg dan HCl (Harborne, 1987). Mekanisme reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan Mg dan HCl dapat dilihat pada gambar 1.

**Gambar 1.** Mekanisme reaksi flavonoid dengan Mg dan HCl (Tukiran, 2017)

### Tanin

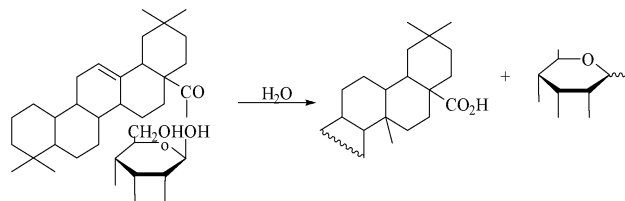
Hasil pengujian tanin pada ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega menunjukkan hasil yang positif, ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Identifikasi adanya senyawa tanin dilakukan dengan proses penambahan  $\text{FeCl}_3$ . Senyawa tanin yang termasuk dalam senyawa bersifat polar karena memiliki gugus OH, ketika ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  10% akan mengalami perubahan warna menjadi hijau kehitaman (Jones & Kinghorn, 2006). Pembentukan senyawa kompleks antara tanin dengan  $\text{FeCl}_3$  terjadi karena adanya ion  $\text{Fe}^{3+}$  sebagai atom pusat dan tanin memiliki atom O dengan pasangan elektron bebas sehingga dapat berkoordinasi dengan atom pusat sebagai ligan. Mekanisme reaksi yang terjadi antara senyawa tanin dengan  $\text{FeCl}_3$  10% dapat dilihat pada gambar 2.



**Gambar 2.** Mekanisme reaksi tanin dengan  $\text{FeCl}_3$  10% (Sri Sulasmi et al., 2019)

### Saponin

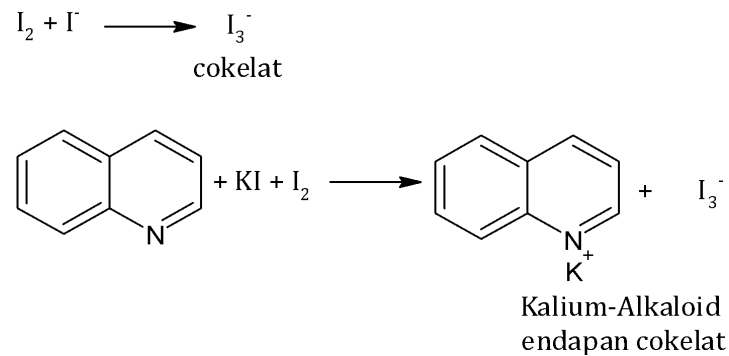
Saponin menunjukkan hasil positif ketika ekstrak yang diuji membentuk buih setinggi 1-10 cm pada selang waktu  $\pm 10$  menit (Depkes, 1995). Berdasarkan pada analisis fitokimia, ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega positif mengandung senyawa saponin karena membentuk buih stabil setinggi  $\pm 4$  cm dalam waktu selama  $\pm 10$  menit. Saponin adalah senyawa aktif yang mudah terdeteksi melalui kemampuannya dalam membentuk buih. Senyawa saponin cenderung bersifat polar karena adanya ikatan glikosida di dalamnya yang mampu membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi g (Harborne, 1987). Senyawa dengan gugus polar dan non polar memiliki permukaan yang aktif, sehingga saat saponin bertemu dengan air akan membentuk misel. Gugus non polar akan menghadap ke dalam dan gugus polarnya akan menghadap ke luar, keadaan tersebut yang membuat larutan tampak membentuk busa (Robinson, 1995). Mekanisme reaksi yang terjadi saat dilakukan pengujian senyawa saponin dapat dilihat pada gambar 3.



**Gambar 3.** Mekanisme reaksi pengujian senyawa saponin (Marliana et al., 2005)

### Alkaloid

Pengujian alkaloid dengan menggunakan pereaksi Wagner menunjukkan hasil yang positif saat terbentuk endapan coklat hingga kuning, karena uji Wagner menyebabkan reaksi pembentukan senyawa kompleks mengendap. Endapan tersebut diperkirakan sebagai kalium-alkaloid. Pembuatan pereaksi Wagner menyebabkan iodine bereaksi dengan ion  $\text{I}^-$  yang berasal dari kalium iodida, sehingga akan menghasilkan ion  $\text{I}_3^-$ . Uji Wagner menyebabkan ion logam  $\text{K}^+$  akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang menghasilkan endapan coklat (Marliana et al., 2005). Mekanisme reaksi yang terjadi saat dilakukan pengujian senyawa saponin dapat dilihat pada gambar 4. Berdasarkan pada analisis fitokimia, ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega positif mengandung senyawa alkaloid karena terbentuk endapan coklat.



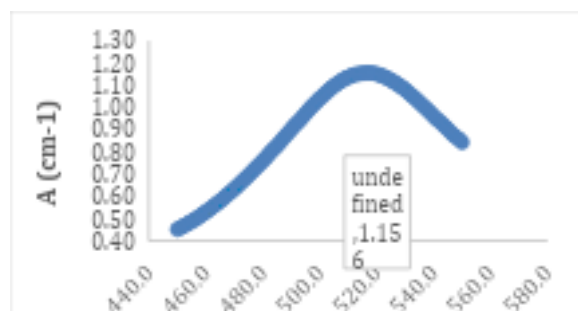
**Gambar 4.** Mekanisme reaksi pengujian senyawa alkaloid (Marliana et al., 2005)

### Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*), merupakan suatu metode untuk menguji aktivitas antioksidan bahan alam berdasarkan kemampuan antioksidannya dalam meredam radikal bebas. Metode pengukuran antioksidan menggunakan DPPH ialah metode yang cepat, sederhana, serta tidak memerlukan banyak reagen seperti yang digunakan pada metode-metode lain. Hasil pengukuran yang diperoleh dari metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan pada sampel secara umum dan tidak berdasarkan pada jenis radikal yang mampu dihambat (Barru et al., 2013b). Larutan DPPH pada metode ini memiliki peran sebagai radikal bebas yang bereaksi dengan antioksidan dan akan mengubah DPPH menjadi *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil* dengan sifat non-radikal. Adanya perubahan warna ungu pada larutan DPPH menjadi kuning yang berasal dari gugus pikril menjadi kuning pucat atau merah muda merupakan tanda bahwa terjadi peningkatan jumlah *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil* yang mampu diamati menggunakan spektrofotometer sehingga dapat ditentukan aktivitas peredaman radikal bebas yang mampu dilakukan oleh sampel (Barru et al., 2013b). Metode DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri dalam analisisnya, hasil pengujian DPPH dapat diinterpretasikan dengan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitor Concentration*).  $IC_{50}$  adalah konsentrasi sampel atau substrat dengan kemampuan untuk mereduksi 50% aktivitas dari DPPH, semakin tinggi aktivitas antioksidan ditandai dengan semakin kecilnya nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh (Barru et al., 2013b).

### Penetapan Panjang Gelombang Optimum DPPH

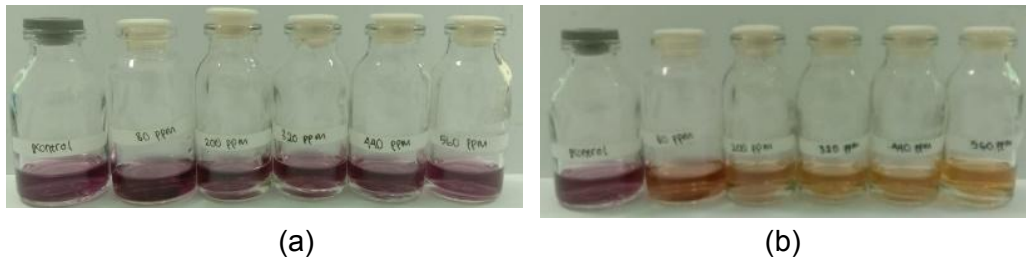
Panjang gelombang optimum dari larutan DPPH dengan konsentrasi 50 ppm dilakukan menggunakan pengukuran nilai absorbansi pada rentang 450-550 nm. Berdasarkan pada hasil pengukuran tersebut, diperoleh nilai panjang gelombang optimum dari larutan DPPH dengan konsentrasi 50 ppm adalah 517 nm. Panjang gelombang pada serapan optimum untuk DPPH secara teoritis yaitu pada panjang gelombang 515-517 nm (Winarsi, 2007). Adapun hasil yang diperoleh, ditunjukkan pada gambar 5.



**Gambar 5.** Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

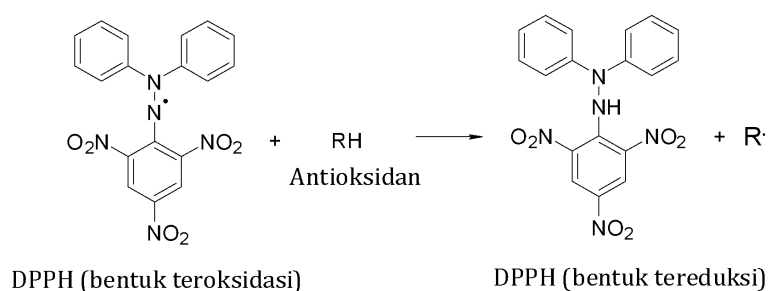
### Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Alpukat Mentega

Ekstrak kulit batang alpukat mentega yang telah dibuat dengan seri konsentrasi 80 ppm, 200 ppm, 320 ppm, 440 ppm, dan 560 ppm dicampur dengan larutan DPPH 50 ppm. Ekstrak yang digunakan dalam uji ini yaitu sebanyak 0,5 mL, dan larutan DPPH 50 ppm yang digunakan sebanyak 3,5 mL. Larutan tersebut didiamkan selama 30 menit dalam suhu ruang, sampel membutuhkan waktu untuk bereaksi dengan radikal bebas karena reaksi yang terjadi merupakan reaksi yang berjalan lambat,. Reaksi berjalan ditunjukkan dengan adanya perubahan warna yang semula ungu berubah menjadi kuning setelah didiamkan selama 30 menit dalam suhu ruang, seperti yang dapat dilihat pada gambar 6.



**Gambar 6.** Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega dengan berbagai variasi konsentrasi (a) sebelum didiamkan selama 30 menit (b) setelah didiamkan selama 30 menit

Perubahan warna tersebut menunjukkan kapasitas antioksidan dari masing-masing ekstrak. Warna ungu yang muncul disebabkan oleh sebuah radikal bebas DPPH dengan elektron yang tidak memiliki pasangan, sedangkan warna kuning muncul ketika elektron telah berpasangan. Perubahan warna tersebut terjadi ketika radikal bebas ditangkap oleh antioksidan yang melepaskan atom H yang akan menjadi DPPH-H yang stabil. Sehingga jika berdasarkan pada mekanismenya, antioksidan ini dapat dikategorikan sebagai antioksidan sekunder (Heo et al., 2005; Vadlapudi et al., 2012). Mekanisme reaksi yang terjadi saat dilakukan aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang alpukat mentega dapat dilihat pada gambar 7. Perubahan warna yang terjadi mengakibatkan penurunan nilai absorbansi pada setiap kenaikan konsentrasi dan % Inhibisi dari ekstrak kulit batang alpukat mentega. Nilai % Inhibisi dari ekstrak kulit buah alpukat mentega dapat dilihat pada tabel 2.

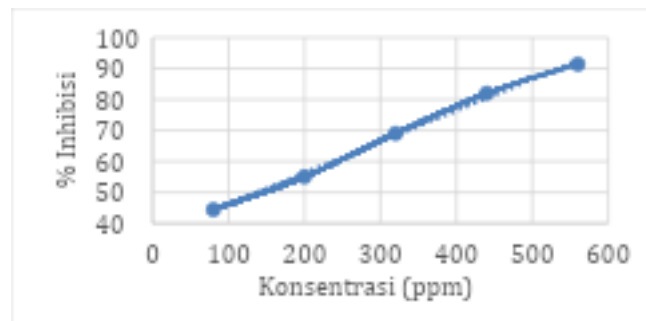


**Gambar 7.** Mekanisme Reduksi DPPH dari Senyawa Peredam Radikal Bebas (Prakash, 2001)

**Tabel 2.** % Inhibisi seri konsentrasi ekstrak etanol kulit batang alpukat mentega

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi
80	44,389 ± 0,009
200	55,039 ± 0,009
320	69,023 ± 0,005
440	82,016 ± 0,013
560	91,436 ± 0,016

Hasil perhitungan di atas digunakan dalam persamaan regresi linier (Gambar 8), nilai konsentrasi ekstrak (ppm) digunakan sebagai nilai pada sumbu x (absis), sedangkan nilai % Inhibisi digunakan sebagai nilai pada sumbu y (ordinat) menggunakan aplikasi *Microsoft Excel*.



**Gambar 8.** Kurva Persamaan Regresi Linier Aktivitas Antioksidan

Gambar 8 menyatakan kurva regresi linier dari aktivitas antioksidan dengan nilai  $y = 0,1009x + 36,095$  dan  $R^2 = 0,9962$ . Berdasarkan hasil analisis dari kurva yang diperoleh, terlihat bahwa peningkatan konsentrasi sebanding dengan % Inhibisi. Hal ini terlihat dari kurva konsentrasi dengan % Inhibisi, yang membentuk garis linear dengan setiap terjadi kenaikan konsentrasi. Parameter yang digunakan dalam menentukan kapasitas antioksidan adalah  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration*). Nilai  $IC_{50}$  kulit batang alpukat mentega yang diperoleh berdasarkan dari persamaan kurva yaitu sebesar  $137,8097 \text{ ppm}$ . Perbandingan nilai  $IC_{50}$  dari beberapa bagian alpukat seperti daging buah, kulit buah, biji, hingga daun alpukat mentega yang telah dilakukan oleh para peneliti sebelumnya dengan nilai  $IC_{50}$  dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada ekstrak kulit batang alpukat mentega dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3.** Perbandingan Nilai  $IC_{50}$

Bagian	$IC_{50}$ (ppm)	Keterangan
Kulit Batang Alpukat	137,81	Sedang
Daging Buah Alpukat <sup>a</sup>	116,40	Sedang
Kulit Buah Alpukat <sup>b</sup>	137,34	Sedang
Biji Buah Alpukat <sup>c</sup>	41,50	Sangat Kuat
Daun Alpukat <sup>d</sup>	417,00	Lemah

<sup>a</sup>(Hartono et al., 2019)

<sup>b</sup>(Siyanti et al., 2019)

<sup>c</sup>(Sutrisna et al., 2015)

<sup>d</sup>(Kemit et al., 2016)

Berdasarkan pada nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh dari beberapa bagian tanaman alpukat mentega, dapat dikatakan bahwa biji buah alpukat mentega merupakan bagian tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi jika dibandingkan dengan bagian-bagian tanaman lainnya. Meskipun demikian, bagian kulit batang alpukat mentega merupakan bagian yang cukup potensial jika dibandingkan dengan daun alpukat mentega.

## SIMPULAN .

Berdasarkan pada hasil dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa persen rendemen ekstrak etanol kulit batang alpukat *mentega* (*Persea americana Mill*) yang diperoleh sebanyak  $36,6321 \%$ . Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit batang alpukat *mentega* (*Persea americana Mill*) yaitu flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang alpukat *mentega* (*Persea americana Mill*) menggunakan metode DPPH memiliki nilai  $IC_{50}$   $137,81 \text{ ppm}$  yang termasuk dalam kategori antioksidan sedang.

## DAFTAR RUJUKAN

- Andarina, R., & Djauhari, T. (2017). Antioksidan Dalam Dermatologi. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 4(1), 39–48.
- Azzahra, F., Arefadil Almalik, E., & Atkha Sari, A. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kefarmasian Akfarindo*, 1–10. <https://doi.org/10.37089/jofar.v0i0.63>
- Barru, H., Fajar, H., Prabawati, E. F., & Jember, A. F. (2013a). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Edamame (*Glycin max ( L ) Merrill*) dengan Metode DPPH. 1(1), 27–31.
- Barru, H., Fajar, H., Prabawati, E. F., & Jember, A. F. (2013b). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Edamame ( *Glycin Max ( L ) Merrill* ) Dengan Metode DPPH Hadi Barru Hakam Fajar Siddiq \*, Rosida , Erika Fauziah Prabawati. L, 27–32.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). *Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity* (Vol. 28).
- Depkes, R. (1995). *Farmakope Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fakriah, Kurniasih, E., Adriana, & Rusydi. (2019). *Sosialisasi bahaya radikal bebas dan fungsi antioksidan alami bagi kesehatan*. 3(1), 1–7.
- Handayani, V., Ahmad, A. R., Sudir, M., Etlingera, P., & Sm, R. M. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala ( *Etlingera elatior ( Jack ) R . M . Sm* ) Menggunakan Abstrak. *Pharm Sci Res*, 1(2), 86–93.
- Harborne, J. . (1987). *Metode Fitokimia* (K. Padmawinata & I. Soediro (eds.)). Institut Teknologi Bandung.
- Hartono, B., Chrisanto, C., & Farfar, I. O. (2019). Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Aktivitas Antioksidan Berbagai Macam Jus Buah Berdasarkan Metode DPPH (The Effect of Storage Time on Antioxidant Activities of Various Fruit Juices According to DPPH Method Abstract). *Jurnal Kedokteran Meditek*, 25(2), 75–80.
- Helmalia, A. W., Putrid, & Andi, D. (2019). *Potensi Rempah-Rempah Tradisional sebagai Sumber Antioksidan Alami untuk Bahan Baku Pangan Fungsional*. 2(1), 26–31.
- Heo, S. J., Cha, S. H., Lee, K. W., Cho, S. K., & Jeon, Y. J. (2005). Antioxidant Activities of Chlorophyta and Phaeophyta from Jeju Island. *Algae*, 20(3), 251–260.
- Iskandar, J. (2004). *Menuju Hidup Sehat dan Awet Muda*. PT. Bhuana Ilmu Populer.
- Jami'ah, S. R., Ifaya, M., Pusmarani, J., & Nurhikma, E. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca sapientum*) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 4(1), 33–38. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v4i1.22>
- Jones, W. ., & Kinghorn, A. . (2006). *Extraction of Plant Secondary Metabolites*. In: *Sharker, S.D. Latif Z., Gray A.L, eds. Natural Product Isolation* (2nd editio). Humana Press.
- Kemit, N., Widarta, I. W. R., & Nocianitri, K. A. (2016). Kandungan Senyawa Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill). *Jurnal Ilmu Teknologi Pangan*, 5(2), 130–141.
- Mailana, D., Nuryanti, & Harwoko. (2016). Antioxidant Cream Formulation of Ethanolic Extract from Avocado Leaves (*Persea americana* Mill.). *Acta Pharmaciae Indonesia*, 4(2), 7–15.
- Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*, 3(1), 26–31.
- Marlinda, M., Sangi, M. S., & Wuntu, A. D. (2012). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA*, 1(1), 24. <https://doi.org/10.35799/jm.1.1.2012.427>
- Prakash, A. (2001). Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories-Analytical Progress*, 19(2), 1–4.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. (Diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata (ed.)). ITB.
- Saputra, A. N., & Yudhantara, S. M. (2019). Formulasi Krim Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) Sebagai Antioksidan Menggunakan Variasi Asam Stearat dan Trietanolamin. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 2(1), 11–20.

- Simarmata, Y., Manurung, K., Harefa, K., Sri, M., & Hasibuan, R. (2018). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antidiabetes dari Ekstrak Etanol Daging Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Farmanesia*, 5(1), 2–7.
- Siyanti, A., Fitriani, N., & Narsa, A. C. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Peredaman DPPH. *Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 10, 72–75. <https://doi.org/10.25026/mpc.v10i1.357>
- Snyder, C. R., Kirkland, J. J., & Glajach, J. L. (1997). *Practical HPLC Method Development* (Second Edi). John Wiley and Sons, Lnc.
- Sri Sulasmi, E., Saptasari, M., Mawaddah, K., & Ama Zulfia, F. (2019). Tannin Identification of 4 Species Pteridophyta from Baluran National Park. *Journal of Physics: Conference Series*, 1241(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1241/1/012002>
- Suiraoaka, I. . (2012). *Penyakit degeneratif, mengenal, mencegah dan mengurangi faktor resiko 9 penyakit degeneratif*. Medical Book.
- Sutrisna, E., Trisharyanti, Ik., Munawaroh, R., Suprpto, & Dwi Mahendra, A. (2015). Efek Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill) Dengan Metode Dpph. *University Research Colloquium*, 1, 167–170.
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Jonathan, J. G. (2016). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung ( *Mimusops elengi* L ). *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan” Pengembangan Teknologi Kimia Untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*, G1 1-7.
- Tukiran, S. D. (2017). Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Klampok Watu. *Syzygium Litorale*). *Unesa Journal Of Chemistry*, 6, 155–160.
- Vadlapudi, V., Kaladhar, D. S. V. G. K., Paul, M. J., Kumar, S. V. N. S., & Behara, M. (2012). Antioxidant Activities of Marine Algae : A Review. *International Journal of Recent Scientific Research*, 3(7), 574–580.
- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas (Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan)*. Kanisius.
- Wulandari, G., Abdul Rahman, A., & Rubiyanti, R. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Antibacterial Activity Of Avocados Peel (*Persea americana* Mill) Extract On *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Media Informasi*, 15, 74–80.