

Determination of Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Avocado Stem Bark (*Persea americana* Mill) Ethanol Extract in Inhibiting DPPH

Richa Poetri Risnata^{1*}, Agriana Rosmalina Hidayati¹, Handa Muliastari¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram, Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

Article History

Received : October 10th, 2024

Revised : October 30th, 2024

Accepted : November 07th, 2024

*Corresponding Author:

Richa Poetri Risnata, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram, Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia; Email: poetrisnata12@gmail.com

Abstract: Excessive free radicals in the body can trigger degenerative diseases. Therefore, antioxidant help is needed from outside the body to inhibit free radicals. Long-term use of synthetic antioxidants is limited because they can cause cancer. This encourages the development of natural antioxidants, one of which comes from avocado stem bark. Avocado stem bark contains flavonoids which act as antioxidants. This study aims to determine the total flavonoid content and antioxidant activity of avocado stem bark ethanol extract in inhibiting DPPH. Avocado stem bark was extracted using sonication followed by the identification of flavonoids using a tube test and thin layer chromatography test. Determination of total flavonoid content was carried out using the colorimetric method and antioxidant testing using the DPPH method. The results obtained were that the avocado stem bark was positive for containing flavonoids based on tube tests and thin layer chromatography. The results of determining the flavonoid content in the ethanol extract of avocado stem bark were 5.572 mgQE/g. The ethanol extract of avocado stem bark is a very strong antioxidant with an IC₅₀ of 21.221 ppm. So it was concluded that avocado stem bark can be used as a natural antioxidant candidate.

Keywords: Antioxidants, avocado stem bark, DPPH, total flavonoids content.

Pendahuluan

Indonesia adalah negara dengan sumber daya alam melimpah, memiliki beragam tumbuhan dimanfaatkan sebagai obat. Alpukat (*Persea americana* Mill) merupakan tumbuhan yang mempunyai banyak manfaat. Tanaman alpukat mempunyai efek farmakologis yaitu daun alpukat bersifat sitotoksik dan menghambat perkembangbiakan sel kanker serviks dengan menggunakan metode MTT (Mardiyangsih & Ismiyati, 2014). Kulit batang alpukat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* karena adanya senyawa metabolik sekunder seperti flavonoid, saponin, dan alkaloid (Islamie & Puspita, 2015). Sebuah studi oleh Silva (2020) menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang alpukat mengandung antrakuinon, kumarin,

flavonoid dan tanin. Flavonoid yang ditemukan dalam kulit dan biji alpukat memiliki sifat anti kanker dan antioksidan yang melawan radikal hidroksil yang dapat merusak tubuh (Silva *et al.*, 2020), (Dewi *et al.*, 2018).

Radikal bebas merupakan produk metabolisme tubuh manusia yang reaktif, dapat terus merespon molekul lain membentuk banyak radikal bebas, dan menimbulkan berbagai penyakit degeneratif (Yuslianti, 2018). Tubuh memproduksi antioksidan yang mampu meredam radikal bebas, namun ketika radikal bebas terlalu banyak, antioksidan dalam tubuh tidak mampu mengendalikannya. Oleh karena itu, bantuan antioksidan dari luar sangat diperlukan. Antioksidan sintetik yang umum digunakan antara lain BHA, BHT, dan TBHQ. Penggunaan antioksidan sintetik dibatasi bahkan dilarang pada dosis tinggi karena efek samping

toksik dan karsinogenik jangka panjang (Ariviani, S, Rajendra, 2021). Penelitian di Amerika menunjukkan bahwa suplementasi vitamin E dapat meningkatkan risiko penyakit jantung sebesar 10% dan kanker paru-paru sebesar 28%. Para peneliti bahkan mengaitkan suplementasi dengan 7 β -karoten, 4% vitamin E, dan 16% vitamin A dengan peningkatan risiko kematian (Yuliarti, 2009).

Berdasarkan uraian di atas, mendorong pengembangan kapasitas antioksidan dari bahan alami berupa kulit batang alpukat. Obat-obatan ini diharapkan memiliki efek samping lebih rendah, relatif murah, dan mudah didapat (Wahid *et al.*, 2017). Antioksidan alami terdapat hampir di seluruh bagian tanaman termasuk buah-buahan, akar, dan kulit kayu (Aminah *et al.*, 2017). Ekstrak etanol 70% dari biji alpukat mempunyai aktivitas antioksidan dengan IC₅₀ sebesar 15,39 ppm dan tergolong sangat kuat (Sutriningsih & Astuti, 2017). IC₅₀ ekstrak etanol daun alpukat sebesar 61,29 ppm (wahyuningrum, n.d.), dan IC₅₀ ekstrak etanol 96% kulit alpukat adalah 11,50 ppm (Harningsih & Thalitha, 2020). Belum ada penelitian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang alpukat dan dengan pendekatan kemotaksonomi, kulit batang alpukat diharapkan memiliki aktivitas antioksidan. Antioksidan yang dikembangkan dipengaruhi oleh kadar flavonoid pada tanaman. Semakin banyak flavonoid yang dihasilkan maka semakin optimal pula potensi kulit batang alpukat sebagai bahan baku antioksidan (Kemit *et al.*, 2019). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid total dan menentukan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang alpukat.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2022 sampai April 2023. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Lanjut Fakultas MIPA, Laboratorium Biologi Farmasi, Laboratorium Farmakokimia, Laboratorium Riset dan Pengembangan Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram.

Alat dan bahan

Alat penelitian yang diperlukan adalah alat-alat gelas laboratorium, aluminium foil, bunsen, cawan porselen, chamber, corong kaca, corong pisah, kaca arloji, kertas saring, kuvet, mikropipet, pipet tetes, pipet ukur, tabung reaksi, *rotary evaporator*, neraca analitik, sonikator, UV-Vis spektrofotometer, vial, vortex, dan waterbath. Bahan-bahan dalam penelitian ini yaitu AlCl₃ 10% (aluminium klorida), aquades, asam asetat glasial, HCl (asam klorida), etanol 70%, etanol pa, etil asetat pa, kuersetin, kulit batang alpukat, n-heksan pa, pereaksi DPPH, sitroborat, pelat silika gel GF254, serbuk Mg (magnesium), dan silika gel.

Metode penelitian

Pembuatan simplisia kulit batang alpukat

Kulit batang alpukat dikoleksi di daerah perkebunan Desa Timbanuh, Kecamatan Pringgasela, Kabupaten Lombok Timur. Varietas alpukat yang digunakan adalah varietas marta hijau. Kulit batang alpukat yang digunakan yaitu kulit batang yang sudah tua pada percabangan tanaman alpukat. Kulit batang alpukat Alpukat yang dihasilkan disortir Kembali dan dipotong kecil-kecil kulit alpukat yang sudah dibersihkan, lalu dijemur di bawah sinar matahari. Sampel kering ditimbang dan dihitung berat keringnya. Terakhir sampel digiling dengan blender dan berat sampel yang dihasilkan ditimbang kembali. Simplisia disimpan pada toples atau wadah bertutup rapat.

Pembuatan ekstrak kulit batang alpukat

Proses ekstraksi kulit batang alpukat dengan metode ultrasonik dilakukan menggunakan etanol 70% dengan perbandingan 1:5. Serbuk kulit batang alpukat sebanyak 300 gram dilarutkan dengan 1,5 liter etanol 70%. Simplisia kulit batang alpukat diletakkan pada alat sonikator selama 30 menit. Ekstrak cair kulit batang alpukat kemudian disaring untuk memisahkan filtrat dengan ampasnya. Ampas dari penyaringan kulit batang alpukat dilakukan 2 kali pengulangan. Ekstrak etanol kulit batang alpukat dipekatkan dengan *rotary evaporator* suhu 40° C. Pengentalan ekstrak kulit batang alpukat dilanjutkan dengan waterbath pada suhu 40° C. Ekstrak yang sudah pekat disimpan pada

botol tertutup (Anal *et al.*, 2014) dan dihitung rendemennya.

Skrining fitokimia kandungan flavonoid

Skrining fitokimia flavonoid dilakukan dengan menimbang 200 mg ekstrak pekat kemudian menambahkan 5 mL aquades. Ekstrak dipanaskan selama ± 5 menit. Ekstrak etanol kulit batang alpukat ditambahkan dengan 1 mL HCl pekat dan sedikit bubuk Mg. Flavonoid ditandai dengan terbentuk warna jingga atau merah (I. S. Dewi *et al.*, 2021; Sulistyoyingdyah & Ramayani, 2017).

Identifikasi flavonoid Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi flavonoid dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase geraknya n-heksana : etil asetat (3:7). Sebanyak 10 mg ekstrak etanol kulit batang alpukat dan 1 mg kuersetin ditambahkan masing-masing 1 mL etanol pa. Ekstrak etanol kulit batang alpukat dan kuersetin masing-masing ditotol pada posisi berbeda pada pelat KLT dengan jarak 1 cm. Selanjutnya masukkan pelat KLT ke dalam chamber tertutup yang telah berisi fase gerak. Bercak-bercak yang terbentuk dilihat di sinar ultraviolet 254 nm dan 366 nm, kemudian hitung *R_f*nya (Latif *et al.*, 2018).

Penetapan kadar flavonoid total kulit batang alpukat

Pembuatan larutan stok kuersetin 1000 ppm

Pembuatan larutan stok kuersetin 1000 ppm dengan 10 mg kuersetin ditambahkan 10 mL etanol pa.

Menentukan operating time

1 mL kuersetin 50 ppm dilarutkan dalam 1 mL AlCl₃ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maks 414 nm selama 60 menit dalam selang waktu 1 menit.

Menentukan panjang gelombang maks kuersetin

Larutan kuersetin 50 ppm dipipet ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mL, lalu tambahkan larutan AlCl₃ 10% sebanyak 1 mL dan asam asetat 5% 8 mL selama waktu operasional. Penyerapan maksimum diukur di panjang gelombang antara 370 hingga 600 nm.

Membuat kurva standar kuersetin

Larutan standar kuersetin dibuat dalam lima seri konsentrasi yakni 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm. Setiap 1 mL standar kuersetin diberikan AlCl₃ 10% 1 mL dan asam asetat 5% sebanyak 8 mL, lalu diinkubasi selama waktu operasional. Absorbansi dihitung dipanjang gelombang maks pada spektrofotometer UV-Vis. Kurva baku kuersetin dibuat dari hasil serapan masing-masing larutan baku kuersetin yang diperoleh, kemudian ditentukan persamaan regresi linearnya.

Penentuan kandungan flavonoid total dari kulit batang alpukat

Larutan stok 10.000 ppm dibuat dengan cara menimbang 50 mg ekstrak etanol kulit batang alpukat, lalu dilarutkan dalam 5 mL etanol pa. 1 mL larutan stok 10.000 ppm ditambahkan dengan 1 mL larutan AlCl₃ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Sampel diinkubasi dengan suhu kamar selama *operating time*. Pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis dilakukan pada panjang gelombang maks. Sampel dibuat rangkap tiga dengan perlakuan sama. Kandungan flavonoid total ditunjukkan sebagai mgEQ/g ekstrak (Aminah *et al.*, 2017; Asmorowati & Lindawati, 2019).

Pengujian Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Alpukat

Larutan DPPH 0,1 mM

DPPH diambil sebanyak 0,0019 gram (BM = 394,32 g/mol) ditambahkan dengan 50 mL etanol pa pada labu ukur yang dilapisi aluminium foil dan dihomogenisasi.

Menentukan operating time

Ambil 2 mL larutan kuersetin lalu tambahkan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 2 mL ke vial. Campuran larutan dihomogenisasi menggunakan vortex dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm selama 60 menit dengan selang waktu 1 menit.

Menentukan panjang gelombang maksimum DPPH

Larutan DPPH 0,1 mM dipipet ke dalam vial sebanyak 2 mL, kemudian diberi 2 mL etanol pa. Vial-vial tersebut dilapisi aluminium foil dan didiamkan selama waktu operasional di suhu kamar. Pengukuran panjang gelombang maks

diantara 400 nm hingga 800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Pengujian aktivitas antioksidan kuersetin

Konsentrasi kuersetin yang digunakan dalam pengujian antioksidan adalah 3, 5, 7, 9, dan 11 ppm dari larutan stok kuersetin 100 ppm. Setiap seri konsentrasi dipipet 2 mL ke setiap vial yang dibungkus aluminium foil, kemudian setiap vial ditambah dengan 2 mL larutan DPPH 0,1 mM. Setiap rangkaian konsentrasi dilakukan inkubasi pada suhu kamar, dan serapan diukur pada panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Vis dan diulang tiga kali.

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang alpukat

Pembuatan larutan stok 1000 ppm dengan cara menambahkan 10 mg ekstrak kulit alpukat ke labu ukur 10 mL, kemudian menambahkan etanol pa sampai tanda batas. Ekstrak 1000 ppm dibuat dalam lima seri konsentrasi yaitu 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm. Setiap larutan uji dipipet ke dalam vial sebanyak 2 mL yang dibungkus aluminium foil, kemudian ditambah dengan 2 mL larutan DPPH 0,1 mM ke dalam larutan. Setiap vial berisi rentang konsentrasi didiamkan selama waktu operasional. Serapan sampel diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maks dan diulang tiga kali.

Analisis data

Perhitungan kadar flavonoid total

Kadar flavonoid total (KFT) ditentukan menggunakan persamaan 1 (Susiloningrum & Sari, 2021).

$$KFT = \frac{C \times V \times Fp}{m} \quad (1)$$

Keterangan:

C = konsentrasi sampel ekuivalen kuersetin (ppm atau mg/1000 mL)

V = volume total ekstrak (mL)

Fp = faktor pengenceran

m = berat sampel (mg)

Perhitungan Persen Inhibisi dan IC₅₀

Persen penghambatan dihitung dengan rumus berikut (Fauziah *et al.*, 2021):

$$\frac{\text{Absorbansi dari kontrol} - \text{Absorbansi dari sampel}}{\text{Absorbansi dari kontrol}} \times 100\%$$

Hasil dan Pembahasan

Simplisia Kulit Batang Alpukat

Kulit batang alpukat dipilih karena berdasarkan pendekatan kemotaksonomi memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Mutiarra *et al.*, 2015). Batang alpukat yang digunakan yaitu batang cabang dari percabangan tanaman alpukat yang sudah tua atau berumur 5 tahun, karena pohon yang sudah tua memiliki metabolit sekunder lebih banyak. Proses pengeringan berlangsung selama 4 hari, sampel yang sudah kering ditandai dengan warna coklat tua dan kulit batang mudah dipatahkan. Tujuan dari pengeringan yaitu menurunkan kadar air simplisia untuk menjaga kualitas simplisia (Rusmawati *et al.*, 2021). Kadar air simplisia diperoleh sebesar 9,78%, hal ini sesuai dengan syarat kadar air simplisia yang baik yaitu di bawah 10% untuk kulit batang (Departemen kesehatan republik indonesia, 1985). Hasil penghalusan simplisia diperoleh berat sampel kering sebanyak 899 gram. Rendemen simplisia yang didapatkan sudah memenuhi syarat simplisia baik yaitu 29,96%, dikatakan rendemen yang baik jika >14% (Indonesia, 2017). Hal ini menunjukkan bahwa proses ekstraksi dan pengeringan kulit batang alpukat berlangsung secara optimal (vitasari, 2013).

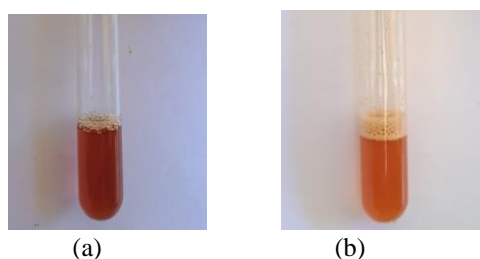
Ekstrak Kulit Batang Alpukat

Ekstraksi kulit batang alpukat dilakukan dengan metode sonikasi, didapatkan hasil ekstraksi sebanyak 3 liter. Senyawa flavonoid bersifat polar, maka cenderung akan larut dalam etanol 70% karena memiliki kepolaran lebih tinggi dari etanol 96% (Riwanti *et al.*, 2020). Oleh karena itu digunakan pelarut etanol 70% untuk menarik flavonoid. Sonikasi dipilih karena cepat, pelarut sedikit, dan energi yang lebih rendah dari ekstraksi konvensional (Sholihah *et al.*, 2017). Ekstrak kulit batang alpukat dipekatan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C untuk mencegah kerusakan atau perubahan struktur flavonoid yang sifatnya termolabil (Yuliantari *et al.*, 2017). Pengentalan ekstrak kulit batang alpukat dilanjutkan dengan *waterbath* pada suhu 40°C dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 56,11 gram. Pemekatan dilakukan untuk memisahkan pelarut etanol dari filtrat yang dihasilkan sehingga menghasilkan ekstrak pekat yang tidak berbahaya bagi tubuh

(Aminah *et al.*, 2017). Rendemen ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 18,87% telah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia yaitu rendemen ekstrak kental lebih dari 10%. Semakin banyak rendemen yang diperoleh maka semakin banyak ekstrak yang dihasilkan dan menunjukkan semakin efisien perlakuan yang digunakan (Dewatisari *et al.*, 2018; Indonesia, 2017).

Skrining Fitokimia Kandungan Flavonoid

Skrining fitokimia flavonoid diuji dengan reagen HCl dan serbuk Mg untuk mereduksi inti benzopiron yang ada pada struktur flavonoid sehingga akan membentuk warna jingga atau merah. Pada uji tabung dilakukan pemanasan ekstrak yang bertujuan agar ekstrak kental dan pelarut dapat larut dengan sempurna (Ergina, 2014). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang alpukat mengandung flavonoid yang ditandai dengan terbentuk warna jingga. Menurut teori, perubahan warna merah atau jingga menandakan adanya flavonoid (Bertin *et al.*, 2020). **Gambar 1** menunjukkan hasil identifikasi flavonoid. Hal ini sesuai dengan penelitian Osuntokun *et al.*, (2018) bahwa kulit batang alpukat positif mengandung flavonoid (Osuntokun *et al.*, 2018). Penemuan serupa juga telah dilaporkan oleh Bertin *et al.*, (2020) pada uji tabung bahwa pada kulit batang alpukat mengandung flavonoid ditandai dengan perubahan warna menjadi oranye. Senyawa flavonoid juga ditemukan pada daun, biji, dan kulit buah alpukat (Aminah *et al.*, 2017; Kopon *et al.*, 2020; Mulyaningsih *et al.*, 2022).

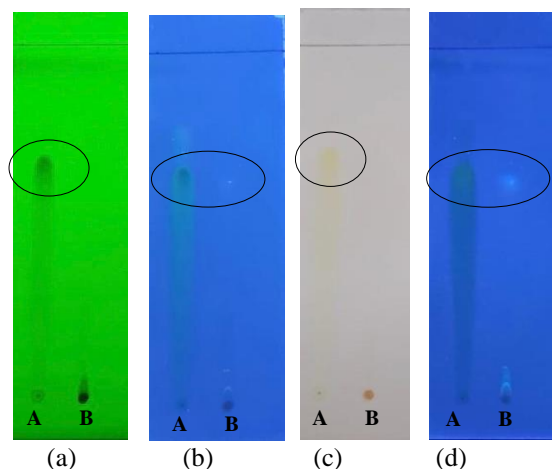


Gambar 1 Hasil identifikasi flavonoid ekstrak kulit batang alpukat sebelum penambahan (a) dan sesudah penambahan reagen (b)

Identifikasi Flavonoid menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Uji KLT bertujuan untuk memastikan adanya flavonoid pada ekstrak etanol kulit batang alpukat (Forestryana & Arnida, 2020).

KLT adalah metode untuk memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan distribusi antara fase diam dan fase gerak (Koirewoa *et al.*, 2012). Fase gerak dipilih berdasarkan kemampuan melulusi senyawa. n-heksana dan etil asetat memiliki polaritas yang berbeda-beda, sehingga memungkinkan terjadinya pemisahan senyawa nonpolar, semipolar, dan polar (Forestryana & Arnida, 2020). Oleh karena itu, n-heksana dan etil asetat digunakan sebagai fase gerak dalam penelitian ini. Penjenuhan eluen bertujuan untuk menjenuhkan suasana dalam chamber sehingga kecepatan eluen sama dan proses elusi merata (Husa & Mita, 2020). Jenis reagen semprot yang digunakan adalah reagen sitroborat. Sitroborat merupakan reagen yang sangat sensitif dan spesifik untuk mendeteksi flavonoid dan spesifik untuk gugus orto-dihidroksil (Murwanto & Santosa, 2012). KLT dipilih karena prosesnya cepat, sederhana, hemat biaya, dan banyak digunakan untuk mengidentifikasi kemurnian senyawa (Rosamah, 2019). Hasil KLT dari ekstrak kulit batang alpukat dan kuersetin terdapat pada **Gambar 2**.



Gambar 2 Profil KLT dari A (standar kuersetin) dan B (ekstrak kulit batang alpukat) menggunakan fase gerak n-heksan : etil asetat pada UV 254 nm (a), UV 366 nm (b), setelah disemprot dengan sitroborat (c), dan UV 366 setelah disemprot sitroborat (d).

Standar kuersetin menggunakan lampu UV 254 nm menunjukkan terbentuknya bercak, sedangkan ekstrak kulit batang tidak terlihat bercak. Setelah penyemprotan sitroborat, bercak pada kuersetin terlihat jelas pada UV 366 nm dan menunjukkan warna fluoresen kuning. Ekstrak kulit batang alpukat mencapai nilai R_f 0,625 dengan fluoresensi biru, dan standar kuersetin

mencapai nilai R_f 0,65 dengan fluoresensi kuning pada UV 366 nm. Warna bercak yang terbentuk menunjukkan ekstrak standar dan ekstrak kulit batang alpukat mengandung flavonoid. Hal ini sesuai dengan teori Wagner dan Bladt (2001) yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid dapat berfluoresensi membentuk warna hijau, kuning, dan biru. Hasil penelitian sejalan dengan Silva *et al.*, (2020), yang menyatakan bahwa ekstrak kulit batang alpukat menunjukkan bercak-bercak biru dan kuersetin menunjukkan bercak kuning pada uji KLT (Latif *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2020).

Nilai R_f dari standar dan sampel berada pada rentang 0,2 hingga 0,8 dan oleh karena itu disebut nilai R_f yang baik (Syarifuddin & Dewi, 2011). Dua senyawa yang nilai R_f nya sama atau hampir sama dikatakan mempunyai sifat yang sama (Ipandi *et al.*, 2016). Ketika selisih R_f sampel dan R_f pembanding lebih besar dari 0.05 maka dikatakan bahwa sampel positif mengandung senyawa pembanding (Husa & Mita, 2020). Perbedaan antara R_f sampel dan R_f referensi adalah 0,025 maka dinyatakan sampel kulit batang alpukat mengandung senyawa kuersetin dengan nilai R_f yang hampir sama

Kadar Flavonoid Total Kulit Batang Alpukat

Penentuan kandungan flavonoid didasarkan metode kolorimetri (Parthasarathi & Park, 2015), dimana $AlCl_3$ mempunyai gugus keto di atom C-4 dan hidroksil di atom C-3 atau C-4 yang berdekatan, dan akan membentuk kompleks (Sari *et al.*, 2021). Karena adanya sistem aromatik terkonjugasi, spektrofotometri UV-Vis digunakan, dan flavonoid menunjukkan pita serapan yang kuat dalam spektrum UV dan spektrum Vis (Aminah *et al.*, 2017). Kuersetin digunakan sebagai larutan standar karena termasuk dalam golongan flavonol dan memiliki gugus keto dan gugus hidroksil yang berdekatan. Kuersetin juga dapat bereaksi dengan $AlCl_3$ membentuk kompleks warna (Azizah *et al.*, 2014; Syarifuddin & Dewi, 2022).

Panjang gelombang maks diperoleh 414 nm yang mendekati panjang gelombang maksimum teoritis kuersetin, yaitu 415 nm (Ipandi *et al.*, 2016). Panjang gelombang maks ditentukan agar mengurangi terjadinya kesalahan pada saat pengukuran berulang. *Operating time* atau waktu operasional yang dicapai adalah 25 menit, terbukti dengan penyerapan yang mulai

stabil. Hal ini menunjukkan bahwa flavonoid habis bereaksi dengan pereaksi $AlCl_3$ pada waktu ke-25 menit (Suharyanto & Prima, 2020). Kurva standar kuersetin didasarkan pada hukum Beer-Lambert, dengan persyaratan penyerapan berkisar antara 0,2 hingga 0,8 (Asmorowati & Lindawati, 2019). Persamaan regresi linier yang dihasilkan mempunyai nilai $y = 0,0054x + 0,053$ dan $r = 0,9979$. Persamaan regresi tersebut linier dilihat dari r yang mendekati angka 1 (Susilowati & Estiningrum, 2016). **Tabel 1** menunjukkan hasil pengukuran kandungan flavonoid ekstrak kulit batang alpukat.

Tabel 1 Hasil penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak kulit batang alpukat

Rep-likasi	Absorbansi	Kadar Flavonoid Total (mgQE/g ekstrak)	Rata-Rata KFT (mgQE/g ekstrak) \pm SD
1	0.3528	5.551	
2	0.3504	5.507	5.572
3	0.3586	5.659	\pm 0.078

Ekstrak etanol kulit batang alpukat pada **Tabel 1** memiliki kadar flavonoid total rata-rata yaitu 5,572 mgQE/g ekstrak dengan koefisien variasi (KV) 1,399%. Nilai koefisien variasi menunjukkan bahwa data yang didapatkan memiliki tingkat ketelitian kerja yang baik, dikarenakan nilai KV telah memenuhi syarat yaitu kurang dari 2% (Asmorowati & Lindawati, 2019). penetapan kadar flavonoid total kulit batang alpukat lebih rendah dibandingkan dengan daun alpukat dan lebih tinggi dibandingkan kulit buah alpukat. Pada ekstrak daun alpukat yang diteliti oleh Mulyaningsih *et al.*, (2022) memiliki kadar flavonoid total sebesar 67,058 mgQE/g ekstrak sedangkan penelitian Aminah *et al.*, (2017) menunjukkan kadar flavonoid total dari kulit buah alpukat sebesar 4,012 mgQE/g ekstrak (Mulyaningsih *et al.*, 2022), (Aminah *et al.*, 2017). Penelitian Silva *et al.*, (2020) mendapatkan kadar flavonoid total ekstrak kulit batang alpukat sebesar 160,52 mgRE/ g ekstrak. Perbedaan hasil kadar flavonoid total ini dapat disebabkan oleh jenis alpukat yang berbeda, tempat tumbuh, waktu pengumpulan tanaman, dan jenis pelarut yang digunakan.

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Alpukat

Uji antioksidan metode DPPH dipilih karena merupakan metode yang pengerjaannya cepat, mudah dilakukan pada sampel apapun, dan dapat mendeteksi kadar antioksidan walaupun dengan aktivitas yang lemah (Pourmorad, Liang JY, Ho ChW, 2006). Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan nilai serapan yang konstan dan mempunyai nilai optimal (A. P. Dewi, 2019). Panjang gelombang maks diperoleh 517 nm, dan hasil yang diperoleh sesuai dengan hasil penelitian Amalia (2023), dimana panjang gelombang maks DPPH adalah 517 nm (Amalia *et al.*, 2023). Waktu operasional DPPH ditentukan 23 menit, yang memungkinkan larutan uji bereaksi secara optimal. Hal ini sesuai dengan teori bahwa waktu operasional DPPH adalah 15-30 menit (Erlidawati., 2018; Molyneux, 2004). DPPH merupakan senyawa yang sangat sensitif terhadap cahaya, maka pengerjaannya dilakukan dalam kondisi gelap untuk mendapatkan hasil yang akurat (Mutiara *et al.*, 2015). Tujuan pengukuran IC₅₀ adalah untuk melihat aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang alpukat. **Tabel 2** menunjukkan hasil pengukuran aktivitas antioksidan.

Tabel 2 Hasil pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak dan kuersetin

Bahan uji	Rata-rata IC ₅₀ (ppm) ± SD	Kategori antioksidan
Kuersetin	7,419 ± 0,154	Sangat kuat
Ekstrak etanol kulit batang alpukat	21,221 ± 0,021	Sangat kuat

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang alpukat ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna dari ungu menjadi kuning ketika ditambahkan larutan DPPH ke dalam larutan uji. Radikal bebas DPPH dengan elektron tidak berpasangan menghasilkan warna ungu. Ketika elektron berpasangan, warnanya berubah menjadi kuning. Perubahan intensitas warna ungu ini disebabkan oleh redamnya radikal bebas karena bereaksinya DPPH dengan atom hidrogen dari sampel sehingga terjadi pembentukan 2,2-difenil-1-pikrildrazin (Muthia *et al.*, 2019). Berdasarkan **Tabel 2**, kuersetin memiliki rata-rata nilai IC₅₀ 7,419 ppm, termasuk sebagai

antioksidan yang sangat kuat karena IC₅₀ <50. Semakin tinggi nilai IC₅₀ yang diperoleh maka aktivitas antioksidannya semakin lemah (Siyanti *et al.*, 2019). Nilai IC₅₀ tersebut tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Amalia (2022) yang menetapkan nilai IC₅₀ untuk kuersetin adalah 5,34 ppm. Ekstrak etanol kulit batang alpukat mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat yaitu sebesar 21,198 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa kulit batang alpukat memiliki potensi dan dapat dikembangkan menjadi agen antioksidan alami.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini, diperoleh rata-rata dari kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit batang alpukat sebesar 5,572 mgQE/g ekstrak dan nilai IC₅₀ yang diperoleh yaitu 21,221 ppm termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan sangat kuat.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada kedua orangtua, perkebunan Desa Timbanuh dan Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan yang telah membimbing dan mendukung penelitian ini.

Referensi

- Amalia, B. R., Muliarsi, H., & Hidayati, A. R. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) dan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*, 10(1), 69. <https://doi.org/10.20527/jps.v10i1.14863>
- Aminah, A., Tomayahu, N., & Abidin, Z. (2017). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), 226–230. <https://doi.org/10.33096/jffi.v4i2.265>
- Anal, A. K., Jaisanti, S., & Noomhorm, A. (2014). Enhanced yield of phenolic extracts from banana peels (*Musa acuminata* Colla AAA) and cinnamon barks (*Cinnamomum varum*) and their

- antioxidative potentials in fish oil. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2632–2639. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0793-x>
- Ariviani, S., & Rajendra, F. (2021). *Kacang Tunggak Sebagai Pangan Sumber Antioksidan Potensial dan Alternatif Strategi Peningkatan Kapasitas Antioksidatifnya*. Yogyakarta: Deepublish.
- Asmorowati, H., & Lindawati, N. Y. (2019). Penetapan kadar flavonoid total alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15(2), 51–63.
- Azizah, D. N., Kumolowati, E., & Faramayuda, F. (2014). Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl₃ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 45–49. <https://doi.org/10.26874/kjif.v2i2.14>
- Bertin, J., Bindzi, A. Z., Ngono, R., Abondo, M., Ngoupayo, J., & Victorine, B. F. (2020). Micrography, phyto-chemical screening and physico-chemical properties of *Bridelia micrantha* (Hochst.) Baill. and *Persea americana* L. stem bark. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(3). www.phytojournal.com
- Departemen kesehatan republik indonesia. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Ditjen POM RI.
- Dewatisari, W. F., Rumiyan, L., & Rakhmawati, I. (2018). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria* sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), 197. <https://doi.org/10.25181/jppt.v17i3.336>
- Dewi, A. P. (2019). Penetapan Kadar Vitamin C Dengan Spektrofotometri Uv-Vis Pada Berbagai Variasi Buah Tomat. *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, 2(1), 9–13. <https://doi.org/10.36341/jops.v2i1.1015>
- Dewi, I. S., Septawati, T., & Rachma, F. A. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit dan Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.). *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*, 4, 1210–1218.
- Dewi, S. R., Argo, B. D., & Ulya, N. (2018). Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Pleurotus ostreatus*. *Rona Teknik Pertanian*, 11(1), 1–10. <https://doi.org/10.17969/rtp.v11i1.9571>
- Ergina, S. N. (2014). Ergina, Siti Nuryanti & Indarini Dwi Pursitasari. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol. *Akad. Kim*, 3(3), 165–172.
- Erlidawati., & S. (2018). *Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes*. Syiah Kuala University Press.
- Fauziah, A., Sudirga, S. K., & Parwanayoni, N. M. S. (2021). Uji Antioksidan Ekstrak Daun Tanaman Leunca (*Solanum nigrum* L.). *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 8(1), 28. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2021.v08.i01.p03>
- Forestryana, D., & Arnida, A. (2020). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113. <https://doi.org/10.52434/jfb.v11i2.859>
- Harningsih, T., & Thalitha Larassati Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, W. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Tabir Surya Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca* Linn) Dan Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill). *Jurnal.Akfarsam.Ac.Id*, 6(2), 231–239. https://www.jurnal.akfarsam.ac.id/index.php/jim_akfarsam/article/view/365
- Husa, F., & Mita, S. R. (2020). Identifikasi Bahan Kimia Obat dalam Obat Tradisional Stamina Pria dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Farmaka*, 18(2), 16–25. <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/25955>
- Indonesia, departemen K. R. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia* (edisi kedua). Ditjen POM RI.
- Ipandi, I., Triyasmono, L., & Prayitno, B. (2016). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi (*Leucosyke capitellata* Wedd.). *Jurnal Pharmascience*, 5(1), 93–100.
- Islamie, R., & Puspita. (2015). Uji Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan

- Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25922. *Jurnal Ilmiah Sains Dan Teknologi*.
- Kemit, N., Dewa, G.M.P., & Pande K.D.K. (2019). Stabilitas Senyawa Flavonoid Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Perlakuan pH dan Suhu. *Media Ilmiah Teknologi Pangan (Scientific Journal of Food Technology)*, 6(1), 34–42.
- Koirewoa, Y. A., Fatimawali, & Wiyono, W. I. (2012). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L.). *Jurnal Farmasi*, 47–52.
- Kopon, A. M., Baunsele, A. B., & Boelan, E. G. (2020). Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Asal Pulau Timor. *Akta Kimia Indonesia*, 5(1), 43. <https://doi.org/10.12962/j25493736.v5i1.6709>
- Latif, R. A., Mustapa, M. A., & Duengo, S. (2018). Analisis Kadar Senyawa Flavonoid Ekstrak Metanol Kulit Batang Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Seminar Nasional Farmasi Universitas Negeri Gorontalo*, 435–448.
- Lohita Sari, B., Rurianti, W., & Simanjuntak, P. (2015). Toksisitas, Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Air Kulit Kayu Massoi (*Cryptocarpa massoy* (Lauraceae)). *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(1), 18–26. <https://doi.org/10.33751/jf.v4i1.183>
- Mardiyaningsih, A., & Ismiyati, N. (2014). Cytotoxic Activity Of Ethanolic Extract Of *Persea americana* Mill. Leaves On HeLa Cervical Cancer Cell Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanolik Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Pada Sel Kanker Leher Rahim HeLa. *Traditional Medicine Journal*, 19(1), 2014.
- Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(December 2003), 211–219. <https://doi.org/10.1287/isre.6.2.144>
- Mulyaningsih, S., Yasrifah, H. S., & Taofik, D. B. I. (2022). Uji Kadar Flavonoid Total dari Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Life Science: Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 4(2), 64–69. <https://doi.org/10.31980/jls.v4i2.2352>
- Murwanto, P. E., & Santosa, D. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan Tumbuhan *Cynara scolimus* L., *Artemisia china* L., *Borreria repens* DC., *Polygala paniculata* L. Hasil Koleksi dari Taman Nasional Gunung Merapi dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*, 17(3), 53.
- Muthia, R., Saputri, R., & Verawati, S. A. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Mundar (*Garcinia forbesii* King.) Menggunakan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil), *Jurnal Pharmascience*, 6(1), 74
- Mutiara, R., Priani, S. E., & Mulyanti, D. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.) dan Formulasinya dalam Bentuk Sediaan Masker Gel Peel Off. *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba 2015*, 5(2), 223–224. <http://ejournal.poltektegal.ac.id/index.php/parapemikir/article/view/381>
- Osuntokun, O. temitope, MO, A., OM, A., & AO, O. (2018). Efficacy of Essential Oils from *Persea americana* Stem Bark and Seed Extracts. *Journal of Applied Microbiology and Biochemistry*, 01(03), 0–6. <https://doi.org/10.21767/2576-1412.100012>
- Pourmorad, Liang JY, Ho ChW, T. C. (2006). Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Food Chemistry* 120:1. *Food Chemistry*, 20(1), 290–295.
- Riwanti, P., Izazih, F., & Amaliyah. (2020). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96%. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2(2), 82–95.
- Rosamah, E. (2019). *Kromatografi Lapis Tipis*. Mulawarman University Press.
- Rusmawati, L., Rahmawan Sjahid, L., & Fatmawati, S. (2021). Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Terhadap Kadar Fenolik Dan Aktivitas Tabir Surya Ekstrak Etanol 70% Daun Cincau Hijau (Cyclea

- barbata Miers.). *Media Farmasi Indonesia*, 16(1), 1643–1651. <https://doi.org/10.53359/mfi.v16i1.171>
- Sari, D. Y., R, W., & AN, T. (2021). Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Jamur Susu Harimau (*Lignosus rhinocerus*). *Jurnal Farmasi Udayana*, 10(1), 23. <https://doi.org/10.24843/jfu.2021.v10.i01.p03>
- Sholihah, M., Ahmad, U., & Budiastira, I. W. (2017). Application of Ultrasonic Wave to Increase Extraction Yield and Effectiveness of Antioxidant from Mangosteen Rind. *Jurnal Keteknik Pertanian*, 05(2), 1–11. <https://doi.org/10.19028/jtep.05.2.161-168>
- Silva, Y. R. R., Silva, L. D., Rocha, T. L., Dos Santos, D. B., Bezerra, J. C. B., Machado, K. B., DE PAULA, J. A. M., & Amaral, V. C. S. (2020). Molluscicidal activity of *persea americana* mill. (lauraceae) stem bark ethanolic extract against the snail *biomphalaria glabrata* (say, 1818): A novel plant-derived molluscicide? *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 92(4), 1–16. <https://doi.org/10.1590/0001376520202000715>
- Siyanti, A., Fitriani, N., & Angga. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Peredaman DPPH. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 10, 72–75. <https://doi.org/10.25026/mpc.v10i1.357>
- Suharyanto, & Prima, D. A. N. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 110–119.
- Sulistyoingdyah, F., & Ramayani, L. . (2017). Skrining Fitokimia Ekstrak Infusa Kulit Petai (*Parkia speciosa* Hassk). *Jurnal Jawara*, 5 (1).
- Susiloningrum, D., & Sari, D. E. M. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp) Dengan Variasi Konsentrasi Pelarut. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 5(2), 117–127.
- Susilowati, & Estiningrum, D. (2016). Penentuan Golongan Seyawa dan Total Flavonoid Ekstrak Etanol Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr & Perry) secara Spektrofotometri Uv-Vis Determination. *Journal of Pharmacy*, 5(1), 19–24. <https://ojs.stikesnas.ac.id/index.php/jf/article/view/152>
- Sutriningsih, & Astuti, I. W. (2017). Uji Antioksidan dan Formulasi Sediaan Masker Peel -Off dari Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Miil.) Dengan Perbedaan Konsentrasi PVA (Polivinil Alkohol). *Indonesi Natural Research Pharma-ceutichal Journal*, 1(9), 67–75.
- Syarifuddin, K. A., & Dewi, A. (2022). Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Tempuyung (*Sonchus arvensis*) Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *FitoMedicine: Journal Pharmacy and Sciences*, 12(2), 69–76.
- vitarsari, E. . (2013). *Antihiperlipidemia Ekstrak Etanol Batang Kayu Kuning (Arcangelisia flafa (L.) Merr.) terhadap Tikus Putih Galur Wistar yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak*. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Farmasi: Semarang.
- Wahid, A., Diah, M., & Rama, M. (2017). 224183-Uji-Aktivitas-Antioksidan-Ekstrak-Air-Da. 6(May), 125–131.
- wahyuningrum, retno ra. (n.d.). *Antioksidan Daun Teh*. PT. ISFI.
- Yuliantari, N. W. A., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2017). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Menggunakan Ultrasonik The Influence of Time and Temperature on Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Sirsak Leaf (*Annona mur.* *Media Ilmiah Teknologi Pangan*, 4(1), 35–42.
- yulianti, N. (2009). *A to Z Food Supplement*. CV ANDI.
- Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan* (edisi 1). Yogyakarta: Deepublish.