

Phytochemical screening and antioxidant activity testing of avocado leaf ethanol extract (*Persea americana* Mill.) using the DPPH method

Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode DPPH

Ruhiya Rahmah¹⁾, Yayuk Putri Rahayu^{1*)}, Ridwanto¹⁾, Anny Sartika Daulay¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*e-mail author: yayukputri@umnaw.ac.id

ABSTRACT

Indonesia is a country that is famous for its wealth of natural energy sources and plants that have medicinal properties. Avocado is one of the plants that residents have used from generation to generation for traditional medicine. Avocado (*Persea americana* Mill.) is a plant that contains many compounds that have antioxidant properties. Secondary metabolite bioactive compounds that play a role are saponins, alkaloids, flavonoids, steroids, safrole, and tannins. Antioxidant compounds are electron distributors, which can counteract oxidants' negative impacts. This research aims to determine the ethanol extract content of avocado leaves containing secondary metabolites and the IC₅₀ value of avocado leaf extract. One method of measuring free radicals by antioxidant compounds is to use the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method with a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 516 nm and vitamin C as a comparison. The research showed positive results in the phytochemical screening of *Simplicia* and avocado leaf extract against alkaloids, flavonoids, tannins, steroid saponins, and glycosides. It can be concluded that the results of research on the antioxidant activity of avocado leaves have an IC₅₀ value of 9.24 µg/ml in the very strong category, equivalent to vitamin C comparison, which has antioxidant activity with an IC₅₀ value of 1.942 µg/ml in the very strong category.

Keywords: Avocado Leaves, Vitamin C, Phytochemical Screening, DPPH, Determination IC₅₀ values

ABSTRAK

Indonesia adalah negeri yang populer dengan kekayaan sumber energi alam dan memiliki tanaman-tanaman yang berkhasiat sebagai obat. Salah satu tanaman yang dimanfaatkan warga secara turun menurun untuk bahan obat tradisional yaitu alpukat. Alpukat (*Persea americana* Mill.) adalah tanaman yang banyak memiliki senyawa yang berkhasiat antioksidan. Senyawa biokatif metabolit sekunder yang berperan adalah saponin, alkaloid, flavonoid, steroid, safrol, dan tannin. Senyawa antioksidan merupakan penyalur elektron, yaitu senyawa yang dapat menangkal dampak negatif oksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan ekstrak etanol daun alpukat mengandung metabolit sekunder dan juga untuk menentukan nilai IC₅₀ Pada ekstrak daun alpukat. Salah satu metode pengukuran radikal bebas oleh senyawa antioksidan adalah dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dengan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm dan vitamin C sebagai pembanding. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa skrining fitokimia pada *simplicia* dan ekstrak daun alpukat terhadap uji alkaloid, flavonoid, tannin,

steroid saponin dan glikosida menunjukkan hasil yang positif. Dapat disimpulkan bahwa hasil penelitian uji aktivitas antioksidan daun alpukat memiliki nilai IC50 sebesar 9,24 µg/ml dengan kategori sangat kuat setara dengan vitamin C sebagai pembanding yang memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 sebesar 1,942 µg/ml dengan kategori yang sangat kuat.

Kata kunci: Daun Alpukat, Vitamin C, Skrining Fitokimia, DPPH, Penentuan nilai IC50

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal sebagai negara yang kaya akan sumber daya energi alam dan memiliki beragam tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat. Salah satu tanaman yang telah dimanfaatkan secara turun-temurun sebagai bahan obat tradisional adalah alpukat. Alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan tanaman yang kaya senyawa antioksidan, di antaranya flavonoid dan tannin, yang memiliki potensi sebagai pelindung kulit terhadap efek buruk sinar matahari (Darmirani dkk, 2021).

Tanaman alpukat awalnya berasal dari daerah tropis lembab di Meksiko dan kemudian dikembangkan serta diperluas distribusinya ke wilayah Amerika Latin, Amerika Serikat, dan Eropa. Hingga saat ini, alpukat telah menyebar ke seluruh dunia. Alpukat termasuk dalam keluarga Lauraceae dan sebagian besar tumbuh di wilayah tropis hingga subtropis sebagai anggota kelompok angiospermae. Tanaman ini dapat tumbuh optimal baik di dataran rendah maupun tinggi dengan curah hujan antara 1.500-3.000 mm per tahun (Darmirani et al., 2021). Misalnya, di dataran tinggi Gayo, Aceh, yang berada sekitar 1.200 meter di atas permukaan laut, kondisi iklimnya yang sejuk memungkinkan alpukat tumbuh dengan subur.

Daun alpukat mengandung senyawa aktif dengan aktivitas antioksidan yang signifikan, termasuk saponin, alkaloid, flavonoid, steroid, safrol, dan tannin. Senyawa antioksidan berfungsi sebagai penangkal radikal bebas yang dapat menyebabkan penuaan dini (Novasari, 2021). Alpukat mengandung polifenol yang tinggi, yang merupakan sumber alami antioksidan dan mampu melindungi sel-sel dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas (Sawiji et al., 2021).

Molekul antioksidan berfungsi untuk menangkal atau memperlambat kerusakan sel dengan menyeimbangkan kekurangan elektron

pada radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil dan reaktif karena keberadaan elektron tidak berpasangan, sehingga berpotensi merusak kulit. Untuk mencegah kerusakan kulit oleh radikal bebas, penerapan senyawa antioksidan dapat menjadi solusi (Sawiji et al., 2021).

Salah satu metode pengukuran radikal bebas oleh senyawa antioksidan adalah dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) merupakan suatu metode pengukuran antioksidan yang sederhana, mudah, cepat, tidak membutuhkan banyak reagen, menggunakan sampel minimal, dan kemampuan sensitif dalam menguji efek antioksidan senyawa alami (Hasanah dkk, 2023). Metode DPPH merupakan pendekatan yang praktis, efisien, dan memerlukan sedikit reagen. Prinsip kerjanya melibatkan perubahan warna dari ungu ke kuning, yang dapat diukur menggunakan spektrofotometri uv-vis pada panjang gelombang 517 nm, dengan aktivitas diekspresikan sebagai nilai IC50 (Masrifah et al., 2017). Dalam metode ini, DPPH berperan sebagai radikal bebas yang berinteraksi dengan senyawa antioksidan, mengakibatkan terbentuknya DPPH-H serta radikal antioksidan yang baru terbentuk. Senyawa antioksidan tersebut mampu memberikan atom hidrogen ke radikal DPPH, mengatasi defisit elektronnya, dan akhirnya membentuk radikal antioksidan yang bersifat stabil atau tidak berbentuk radikal. (Selfiani dkk, 2023).

Penelitian sebelumnya telah mengidentifikasi keberadaan flavonoid dalam daun alpukat (Puluh et al., 2019). Lebih lanjut, komponen seperti asam lemak omega-9 dan elemen aktif lainnya yang terdapat dalam daun alpukat menunjukkan kemampuan dalam menurunkan tingkat kolesterol total dan LDL serta meningkatkan level kolesterol HDL (Waruwu et al., 2021). Kehadiran senyawa seperti flavonoid,

alkaloid, saponin, dan tanin dalam ekstrak daun alpukat telah didokumentasikan (Rustanti & Lathifah, 2019). Keberadaan senyawa-senyawa tersebut menunjukkan potensi aktivitas antibakteri, sebagaimana ditunjukkan oleh penurunan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* oleh daging buah alpukat (Muchyar et al., 2018). Selain itu, potensi efek antidiabetes dari daun alpukat telah disoroti, mengingat kandungannya sebagai nutraceutical yang menunjukkan aktivitas antidiabetik (Hasanah et al., 2020).

Studi oleh Zaiyar et al. (2021) menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari daun alpukat memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan berdasarkan metode DPPH, dengan nilai IC50 masing-masing 118,8056 µg/mL dan 7,276 µg/mL dibandingkan dengan asam askorbat sebagai kontrol positif. Selanjutnya, penelitian oleh Wijaya (2020) mengungkapkan bahwa daun alpukat (*Persea americana* Mill) memiliki potensi sebagai agen antibakteri, dengan aktivitas inhibisi terhadap bakteri *Pseudomonas* sp., ditandai dengan zona hambat masing-masing 16,6 mm, 21,6 mm, dan 26,0 mm. Kandungan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tannin, dan quercetin yang terdapat pada daun alpukat diduga memiliki peran dalam mekanisme penghambatan bakteri tersebut.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas kandungan antioksidan yang terdapat dalam daun alpukat cukup menarik untuk dikaji dengan menggunakan metode DPPH. Maka peneliti tertarik untuk Skrining Fitokimia Dan Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun alpukat dengan metode DPPH.

METODE PENELITIAN

Bahan dan alat penelitian

Dalam penelitian ini, digunakan berbagai bahan, termasuk ekstrak etanol daun alpukat, aquadest, etanol 96%, aluminium klorida (AlCl₃), amil alkohol, asam asetat anhidrida, asam klorida, asam sulfat, DPPH, HCl 10%, HCl 0,1 N, methanol, dan vitamin C. Sedangkan alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah wadah tempat serbuk simplisia, beaker glass, erlenmeyer, gelas ukur, batang pengaduk, cawan perselin, timbangan analitik, tisu, sudip, spatula, rotary evaporator, objek glass, penggaris berskala dan blender.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan pendekatan purposif tanpa melakukan perbandingan dengan tumbuhan serupa dari lokasi lain. Lokasi pengambilan sampel berada di Gampoeng Sukaramai Atas, kecamatan Wih Pesam, kabupaten Bener Meriah.

Determinasi Sampel

Determinasi tanaman dilaksanakan di Herbarium Medanense (MEDA) Departemen Biologi FMIPA Universitas Sumatera Utara, yang berlokasi di Jalan Bioteknologi No. 1, Kampus USU, Medan. Tujuan dari determinasi ini adalah untuk menegaskan kebenaran identifikasi tanaman yang akan dimanfaatkan dalam penelitian, sehingga kesalahan dalam proses pengambilan bahan dapat diminimalkan.

Pembuatan Simplisia

Daun alpukat (*Persea americana* Mill.) yang telah dikumpulkan dengan berat mencapai 7 kg dibersihkan di bawah aliran air, kemudian ditiriskan dan diletakkan di atas kertas untuk proses penyerapan air. Setelah proses tersebut, daun yang masih utuh dikeringkan dengan cara dibiarkan mengalami ventilasi di ruangan yang terhindar dari paparan sinar matahari langsung. Setelah kering, daun diolah menjadi bentuk halus menggunakan blender, disaring dengan mesh 60, dan disimpan dalam wadah kaca di area yang dilindungi dari cahaya matahari (Lestari dkk, 2021).

Karakteristik Simplisia daun alpukat

Pemeriksaan kualitas simplisia daun alpukat mencakup analisis makroskopik dan mikroskopik, pengukuran kadar air, estimasi kadar abu keseluruhan, evaluasi kadar abu yang tidak larut dalam asam, penentuan konsentrasi ekstrak larut air, dan penentuan konsentrasi ekstrak larut dalam etanol.

Pembuatan ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.)

Ekstraksi daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) dilaksanakan melalui metode maserasi. Dalam proses ini, 500 g simplisia daun dimasukkan ke dalam maserator dan dilarutkan dengan etanol 96% sejumlah 3750 ml. Campuran tersebut dibiarkan selama 5 hari dalam kondisi yang terlindung dari sinar langsung, dengan

sesekali pengadukan, untuk menghasilkan maserat I. Selanjutnya, ampas dari maserat I dibilas menggunakan etanol 96% sebanyak 1250 ml untuk menghasilkan maserat II. Maserat I dan II kemudian digabungkan, ditempatkan dalam wadah tertutup, dan disimpan di lokasi yang sejuk dan terhindar dari sinar matahari selama 2 hari. Akhirnya, ekstrak tersebut diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu di bawah 50°C hingga diperoleh ekstrak yang kental (Depkes RI, 1979).

Pemeriksaan Alkaloid

Dalam prosedur pemeriksaan alkaloid, langkah pertama adalah dilakukan pencampuran sampel uji seberat 0,5 g dengan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, kemudian pemanasan menggunakan penangas air selama dua menit, diikuti dengan pendinginan dan penyaringan. Larutan hasil penyaringan digunakan untuk menguji keberadaan alkaloid dengan memasukkan 0,5 ml ke dalam tiga tabung reaksi yang berbeda. Tabung reaksi pertama diberikan 2 tetes pereaksi Mayer, sementara pada Tabung reaksi kedua dan ketiga, masing-masing ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat dan Dragendorff (Gultom dkk, 2023). Identifikasi alkaloid dianggap positif apabila terdapat endapan atau kekeruhan dalam minimal dua dari tiga tabung reaksi yang diujikan. (Depkes RI, 1995).

Pemeriksaan Flavonoid

Sejumlah 10 g sampel uji diolah dengan menambahkan 10 ml air panas, kemudian dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit dan disaring dalam kondisi panas. Sebanyak 5 ml filtrat kemudian diambil dan dicampur dengan 0,1 g serbuk magnesium, 1 ml asam klorida pekat, dan 2 ml amil alkohol. Campuran tersebut dikocok dan dibiarkan berpisah. Keberadaan flavonoid dianggap positif apabila terjadi perubahan warna pada lapisan amil alkohol menjadi merah, kuning, atau jingga (Depkes RI, 1995).

Pemeriksaan Tanin

Sebanyak 1 g sampel uji dilarutkan dengan cara mendidihkannya dalam 100 ml air suling selama 3 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Dari larutan tersebut, diambil 2 ml dan dicampur dengan 1-2 tetes pereaksi FeCl₃ (besi III) dengan konsentrasi 1%. Jika muncul warna biru kehitaman atau hijau kehitaman, hal ini

mengindikasikan keberadaan tanin dalam sampel (Depkes RI, 1995).

Pemeriksaan Saponin

Dalam prosedur pemeriksaan saponin, 0,5 g dari sampel uji diletakkan dalam tabung reaksi dan diinkorporasikan dengan 10 ml air yang telah dipanaskan. Setelah mencapai suhu ruangan, campuran tersebut dihomogenkan dengan intensitas selama 10 detik. Keberadaan saponin dapat dikarakterisasi melalui terjadinya formasi busa dengan ketinggian berkisar antara 1 hingga 10 cm, yang menunjukkan stabilitas selama setidaknya 10 menit. Lebih lanjut, busa tersebut tetap konsisten bahkan setelah penambahan 1 tetes larutan asam klorida 2N (Depkes RI, 1995).

Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid

Sejumlah 1 g sampel uji mengalami proses maserasi selama 2 jam dengan menggunakan 20 ml n-heksan, kemudian disaring. Filtrat yang dihasilkan diuapkan dalam cawan penguap. Pada sisa hasil penguapan, ditambahkan beberapa tetes pereaksi Liebermann-Burchard. Kemunculan warna biru atau biru hijau menunjukkan keberadaan steroida, sementara warna merah, merah muda, atau ungu menandakan adanya triterpenoida (Harborne, 1987).

Pemeriksaan Glikosida

Sebanyak 3 gram sampel ditimbang dan ditempatkan dalam beaker glass, kemudian ditambahkan dengan 21 ml etanol dan 9 ml aquades. Dosis 10 ml HCl 2N ditambahkan ke dalam campuran ini. Mixture tersebut kemudian dipanaskan dalam labu refluks selama 10 menit dengan suhu yang dipertahankan pada 105°C, kemudian didinginkan dan disaring. Dari hasil penyaringan, diambil 25 ml filtrat yang dicampur dengan 25 ml aquadest, diaduk dan disaring kembali. Larutan hasil penyaringan tersebut, sebanyak 20 ml, ditempatkan dalam cawan penguap dan dicampur dengan 8 ml isopropanol serta 12 ml kloroform. Proses penguapan dilakukan selama 2 menit dengan suhu 50°C. Setelah proses ini, tambahkan 2 ml methanol ke dalamnya. Dari larutan tersebut, 5 tetes diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi bersama 2 ml aquadest, lalu dipanaskan. Langkah berikutnya melibatkan penambahan molist dan 2 ml asam sulfat ke dalam tabung reaksi. Hasil yang

menunjukkan perubahan warna menjadi ungu dianggap sebagai hasil positif (Depkes RI, 1995).

Prinsip Metode Penangkapan Radikal Bebas DPPH

Kemampuan sampel uji dalam menghambat oksidasi DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil) sebagai radikal bebas dalam etanol dan methanol, yang ditandai dengan penurunan intensitas warna ungu DPPH, diukur menggunakan nilai IC50. IC50 merupakan konsentrasi dari sampel uji yang mampu mengurangi aktivitas radikal bebas hingga 50%. Nilai ini menjadi indikator untuk mengukur aktivitas antioksidan dari sampel yang diteliti (Molyneux, 2004).

Pembuatan larutan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil)

Sebanyak 10 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam methanol Pa. Selanjutnya, larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur berukuran 50 ml dan volume dinaikkan dengan methanol Pa hingga mencapai tanda batas, sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 200 ppm (Molyneux, 2004).

Pembuatan Larutan Blanko

Sebanyak 1 ml dari larutan standar DPPH dengan konsentrasi 200 ppm diambil menggunakan pipet dan ditempatkan ke dalam labu ukur berukuran 5 ml. Kemudian, volume diisi dengan metanol Pa hingga mencapai garis penanda, menghasilkan larutan dengan konsentrasi 40 ppm. Larutan tersebut disimpan dalam kondisi yang terlindung dari paparan Cahaya (Molyneux, 2004).

Penetapan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Sejumlah 1 ml larutan DPPH dengan konsentrasi 200 ppm diambil dan ditempatkan dalam labu ukur berkapasitas 5 ml. Larutan tersebut dilarutkan dengan metanol hingga mencapai tanda batas, menghasilkan konsentrasi sebesar 40 ppm. Selanjutnya, larutan ditempatkan dalam kuvet dan absorbansinya diukur pada rentang panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Visible untuk menentukan panjang gelombang maksimum absorbansi dari DPPH (Molyneux, 2004).

Penentuan Operating Time (Waktu Kerja)

Sejumlah 1 ml larutan DPPH dengan konsentrasi 40 ppm ditempatkan dalam labu ukur berkapasitas 5 ml. Larutan tersebut dilarutkan dengan metanol pa hingga mencapai tanda batas yang ditentukan. Setelah itu, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrometri uv-vis. Proses pengukuran dimulai dari menit pertama dan dilanjutkan hingga diperoleh stabilitas absorbansi selama 60 menit, menunjukkan kestabilan dalam proses pengukuran (Molyneux, 2004).

Pembuatan larutan sampel ekstrak Daun Alpukat

Sebanyak 25 mg (0,025 g) ekstrak daun alpukat ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur berukuran 25 ml. Selanjutnya, ekstrak tersebut dilarutkan dengan menggunakan metanol Pa hingga mencapai tanda batas yang ditentukan.

Pengukuran Absorbansi DPPH Ekstrak daun alpukat

Larutan ekstrak etanol dari daun alpukat dengan konsentrasi awal 200 ppm dipipet masing-masing sejumlah 0,03 ml, 0,04 ml, 0,05 ml, 0,06 ml, dan 0,07 ml. Kemudian, setiap volume tersebut ditempatkan dalam labu ukur berukuran 5 ml. Ke dalam setiap labu, ditambahkan 1 ml larutan DPPH yang memiliki konsentrasi 200 ppm, lalu volume dalam labu tersebut dilengkapi dengan metanol hingga mencapai garis batas yang ditetapkan. Dengan demikian, diperoleh konsentrasi larutan uji berturut-turut sebesar 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, dan 14 ppm. Selanjutnya, larutan-larutan tersebut dibiarkan istirahat di tempat yang gelap selama periode 5-10 menit. Absorbansi dari setiap larutan diukur pada panjang gelombang maksimal 516 nm. Seluruh prosedur ini diulang sebanyak tiga kali untuk memastikan konsistensi hasil.

Pengukuran Absorbansi DPPH Setelah Penambahan Vitamin C

Sejumlah 50 mg vitamin C kristal ditimbang dan dilarutkan dalam metanol dalam labu ukur berkapasitas 50 ml. Volume tersebut diperluas dengan metanol hingga mencapai tanda batas, menghasilkan konsentrasi sebesar 1000 ppm. Selanjutnya, larutan sebanyak 0,005 ml, 0,01 ml, 0,015 ml, 0,02 ml, dan 0,025 ml dipipet dan ditempatkan ke dalam labu ukur berukuran 5

ml. Ke dalam setiap labu tersebut, ditambahkan 1 ml larutan DPPH dengan konsentrasi 40 µg/ml, menghasilkan konsentrasi vitamin C masing-masing sebesar 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm. Absorbansi dari masing-masing larutan diukur pada panjang gelombang puncak yaitu 516 nm. Setelah dibiarkan selama periode waktu yang telah ditentukan, pengukuran absorbansi dilakukan tiga kali untuk memastikan konsistensi hasil.

Penentuan Persentase Peredaman

Kemampuan antioksidan diukur berdasarkan penurunan absorbansi larutan DPPH, yang ditandai dengan penurunan warna ungu. Perubahan nilai absorbansi DPPH sebelum dan setelah penambahan sampel dihitung untuk menentukan penurunan serapan. Persentase penurunan serapan dihitung dengan membandingkan perbedaan absorbansi sebelum dan sesudah penambahan sampel terhadap absorbansi awal larutan DPPH, menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{A_{\text{kontrol(DPPH)}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol(DPPH)}}} \times 100 \%$$

Keterangan :

A_{kontrol} : absorbansi tidak mengandung sampel

A_{sampel} : absorbansi mengandung sampel

Kemampuan antioksidatif diukur dengan memonitor penurunan absorbansi larutan DPPH, yang menunjukkan penurunan intensitas warna ungu. Perbedaan absorbansi antara kondisi awal dan setelah pemberian sampel dianalisis untuk mengestimasi penurunan serapan. Untuk menghitung persentase penurunan serapan, absorbansi sebelum dan sesudah pemberian

sampel dibandingkan dengan nilai awal larutan DPPH sesuai dengan persamaan berikut:

$$50 = ax + b$$

Keterangan:

50 : kemampuan antioksidan menghambat 50% aktivitas radikal bebas

a : Slope

b : Intercept

x : Konsentrasi (Molyneux, 2004).

Penentuan Nilai IC_{50} Antioksidan

Nilai IC_{50} adalah indikator konsentrasi sampel uji (dinyatakan dalam µg/ml) yang mengakibatkan penurunan DPPH sekitar 50%, menunjukkan kemampuan untuk mengurangi atau menghambat oksidasi sebesar 50%. Sebuah nilai aktivitas antioksidan sebesar 0% menandakan ketiadaan aktivitas antioksidan, sementara nilai 100% mengindikasikan penurunan oksidasi yang sempurna. Untuk menentukan batas konsentrasi aktivitas, pengujian perlu dilanjutkan dengan melakukan pengenceran pada larutan sampel. Hasil analisis dimasukkan ke dalam model regresi dengan konsentrasi sampel (µg/ml) sebagai sumbu X dan persentase penurunan (aktivitas antioksidan) sebagai sumbu Y.

HASIL DAN DISKUSI

Dari hasil identifikasi yang dilakukan di Herbarium Medanese (MEDA) Universitas Sumatra Utara, terungkap bahwa tanaman yang menjadi fokus penelitian ini adalah Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) yang termasuk dalam keluarga *Lauraceae*.

Tabel 1 Data Hasil Makroskopik dan Mikroskopik

No.	Karakteristik Simplisia	Syarat MMI	Hasil
1.	Makroskopis	Bau = Bau aromatik lemah Rasa = kelat dan pahit Warna = hijau kecoklatan Bentuk = simplisia	Memenuhi syarat
2.	Mikroskopis	1. hablur kalsium okslat 2. fragmen epidermis atas 3. rambut penutup 4. pembuluh kayu	Memenuhi syarat

Secara makroskopik, daun alpukat yang segar memiliki ciri-ciri sebagai berikut: daunnya bersifat tunggal dengan bentuk yang bisa berjongkok hingga berbentuk bulat telur yang memanjang. Panjang dari setiap helai daun berkisar antara 10 hingga 20 cm. Bagian pangkal dan ujung daun cenderung meruncing. Sementara itu, tepi daun biasanya berbentuk rata, namun terkadang sedikit bergulung ke arah atas. Permukaan daun bersifat halus atau licin dengan warna yang bervariasi antara hijau muda hingga hijau kecoklatan. Panjang tangkai daun berkisar antara 1,5 cm hingga 5 cm. Dari tabel 1 dapat dilihat bahwa makroskopik untuk simplisia daun alpukat memiliki bau aromatik yang lemah, bentuk

simplisia, rasa kelat dan pahit warna hijau kecoklatan. Sedangkan mikroskopik pada serbuk simplisia terlihat dibawah mikroskop rambut penutup, pembuluh kayu, hablur kalsium oksalat, dan fragmen epidermis atas. Jadi hasil yang diperoleh dari penelitian memenuhi syarat sesuai dengan MMI jilid II (1978).

Pemeriksaan fitokimia dilakukan dengan menguji keberadaan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid/triterpenoid, dan glikosida, yang dapat diidentifikasi melalui hasil skrining yang terdokumentasi pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 2 Hasil Pemeriksaan Karakterisasi Serbuk Simplisia Daun Alpukat

No.	Karakteristik Simplisia	Nilai (%)	Syarat MMI
1.	Penetapan kadar air	4,6 %	≤ 10%
2.	Penetapan kadar abu total	4,9 %	≤ 4,9%
3.	Penetapan kadar abu tidak larut asam	1,4 %	≤ 1,7%
4.	Penetapan Kadar sari larut etanol	22,5 %	≥18,9%
5.	Penetapan kadar sari larut air	20,5 %	≥19,0%

Keterangan :

≥ = Tidak kurang dari

≤ = Tidak lebih dari

MMI = Syarat Daun Alpukat pada Materia Medika Indonesia Jilid II Tahun 1978

Tabel 3 Skrining fitokimia Daun Alpukat

No.	Metabolit Sekunder	Simplisia	Ekstrak
1.	Alkaloid	(+) warna jingga	(+) warna jingga
2.	Flavanoid	(+) warna jingga	(+) warna jingga kuning
3.	Saponin	(+) Tinggi Busa 2 cm	(+) Tinggi busa 2 Cm
4.	Tanin	(+) Hijau kehitaman	(+) Hijau kehitaman
5.	Steroid	(+) warna hijau biru	(+) Warna hijau biru
6.	Glikosida	(+) cincing ungu	(+) Cincin Ungu

Keterangan :

(+) = Mengandung Zat Yang diperiksa

(-) = Tidak mengandung zat yang diperiksa

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa baik simplisia maupun ekstrak daun alpukat mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid/triterpenoid, dan glikosida. Semua

hasil skrining menunjukkan adanya senyawa-senyawa tersebut. Dalam uji untuk alkaloid, sejumlah ekstrak ditempatkan dalam tabung reaksi dan diberi tetesan HCl 2 N untuk mengekstraksi alkaloid dari simplisia. Seiring

dengan sifat basa alkaloid, penambahan HCl menghasilkan pembentukan garam. Proses pemanasan dilakukan untuk memisahkan alkaloid yang bukan dalam bentuk garamnya. Setelah itu, pendinginan dilakukan dan proses pengendapan diinisiasi dengan tiga jenis pereaksi (Mutmainnah, 2017). Dalam skrining sampel dengan pemeriksaan alkaloid, tampak adanya kekeruhan berwarna jingga pada pereaksi dragendrof dan borchadat. Sementara itu, pada pereaksi mayer, terlihat perubahan warna dan kekeruhan, yang mengindikasikan keberadaan alkaloid dalam sampel.

Dalam analisis flavonoid, ditemukan perubahan warna menjadi merah kuning atau jingga saat berinteraksi dengan lapisan amil alkohol, menandakan keberadaan flavonoid yang positif. Sebagai senyawa fenol, flavonoid ditandai dengan keberadaan banyak gugus -OH dan karakter polaritasnya yang disebabkan oleh perbedaan keelektronegatifan yang signifikan. Karakter polar ini memudahkan ekstraksi flavonoid dalam pelarut etanol, yang juga memiliki sifat polar berkat keberadaan gugus hidroksil, memfasilitasi pembentukan ikatan hydrogen. Keberadaan flavonoid cukup umum dalam berbagai buah, sayuran, dan minuman dengan manfaat biokimia serta aktivitas antioksidan yang diungkapkan.

Efek antihipertensi dari flavonoid telah diakui, dan senyawa ini juga berfungsi sebagai pigmen dalam tanaman, khususnya dalam menghasilkan warna bunga seperti merah atau biru dengan pigmentasi kuning pada kelopaknya, yang berperan penting dalam atraksi hewan penyerbuk (Ikalinus, 2015). Uji kualitatif flavonoid dengan pereaksi wilstater melibatkan interaksi dengan Mg dan HCl pekat pada ekstrak etanol dari daun alpukat. Tujuan dari penambahan HCl pekat adalah untuk mengalami hidrolisis flavonoid menjadi bentuk aglikonnya, spesifiknya melalui proses O-glikosil. Gugus glikosil kemudian akan digantikan oleh ion H⁺ dari asam, berdasarkan sifat elektrofiliknya. Proses reduksi menggunakan Mg dan HCl pekat menghasilkan kompleks senyawa yang menunjukkan warna merah atau jingga pada senyawa seperti flavonol, flavanon, flavanonol, dan xanton.

Dalam evaluasi saponin, teramati bahwa terbentuk busa dengan ketinggian mencapai 2 cm ketika diperlakukan dengan HCl 2 N, dan busa tersebut masih persisten, menandakan

keberadaan saponin yang positif. Konfirmasi ini didukung oleh kemampuan sampel yang dianalisis dalam membentuk busa dengan ketinggian antara 1 hingga 10 cm dalam rentang waktu sekitar 10 menit (Depkes RI, 1995). Mekanisme pembentukan busa ini terkait dengan sifat dual dari saponin, di mana sebagian senyawanya larut dalam air (hidrofilik) dan sebagian lainnya dalam pelarut nonpolar (hidrofobik), bertindak sebagai surfaktan yang mengurangi tegangan permukaan. Ketika digojok, gugus hidrofilik berikatan dengan molekul air dan gugus hidrofobik berikatan dengan udara, menghasilkan busa (Sulistyarini dkk, 2020).

Pada analisis tannin, terdeteksi perubahan warna menjadi hijau kehitaman, menunjukkan keberadaan tannin. Uji fitokimia dengan FeCl₃ digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan gugus fenol, dengan keberadaan fenol menandakan kemungkinan keberadaan tannin sebagai senyawa polifenol. Interaksi antara tannin dan FeCl₃ menghasilkan perubahan warna tersebut. Untuk memverifikasi keberadaan tannin, dilakukan pengujian dengan gelatin, di mana tannin berikatan dengan protein gelatin, menghasilkan endapan. Ini menggambarkan sifat tannin sebagai polihidroksi fenol yang dapat mengendapkan protein, terbukti saat tannin bereaksi dengan gelatin melalui ikatan hydrogen yang terbentuk antara tannin dan protein gelatin.

Dalam pemeriksaan terhadap steroid/triterpenoid, ditemukan perubahan warna menjadi hijau biru, menandakan keberadaan steroid. Analisis senyawa steroid dan triterpenoid didasarkan pada kemampuan keduanya dalam menghasilkan warna spesifik; biru atau hijau untuk steroid dan merah atau ungu untuk triterpenoid. Daun alpukat dalam bentuk simplisia menunjukkan hasil positif mengandung steroid berdasarkan perubahan warna hijau.

Terakhir, pada evaluasi glikosida, didapati endapan kekeruhan berwarna jingga dengan formasi cincin ungu, mengindikasikan keberadaan glikosida. Formasi cincin ungu ini berasal dari proses hidrolisis karbohidrat oleh asam sulfat menjadi monosakarida, yang selanjutnya mengalami kondensasi membentuk furfural, reaksi ini berujung pada pembentukan cincin ungu (Rubianti, 2022).

Dalam evaluasi kualitas simplisia, dilakukan serangkaian analisis termasuk penetapan kadar air, sari yang larut dalam etanol,

sari yang larut dalam air, abu total, dan abu yang tidak larut dalam asam. Analisis kadar air pada simplisia bertujuan untuk menentukan kandungan air di dalamnya. Standar umum menunjukkan bahwa kadar air pada simplisia sebaiknya tidak melebihi 10%, mengingat kadar air yang tinggi dapat memfasilitasi pertumbuhan mikroorganisme seperti kapang dan bakteri (SNI, 2014). Evaluasi abu total pada daun Alpukat menunjukkan angka sebesar 4,9%, sesuai dengan persyaratan MMI II (1979) yang menetapkan batas maksimal 4,9%. Analisis abu sangat krusial sebagai indikator kualitas, di mana parameter ini mengukur komponen anorganik yang tersisa setelah pembakaran, dan nilai abu yang rendah menunjukkan kualitas yang baik (Rachmania, 2013). Kadar abu yang tidak larut dalam asam tercatat sebesar 1,4%, sesuai dengan standar MMI II (1978) yang menetapkan batas maksimal 1,7%. Parameter ini memberikan informasi mengenai kandungan zat anorganik seperti pasir atau silika (Marliani, 2011).

Hasil analisis kadar sari yang larut dalam air menunjukkan angka 20,5%, melebihi standar minimum MMI II (1978) yang menetapkan batas minimal 19,0%. Sementara pada evaluasi sari yang larut dalam etanol, simplisia dimaserasi dengan etanol 96% hingga diperoleh kadar 22,5%, yang sesuai dengan persyaratan MMI II (1978) yang menetapkan batas minimal 18,9%. Penambahan kloroform dalam analisis sari yang larut dalam air bertujuan sebagai agen antimikroba mengingat air merupakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan mikroba.

Dalam evaluasi aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan teknik DPPH, metode ini telah menjadi pilihan utama dalam banyak penelitian sebelumnya untuk menilai aktivitas antioksidan in vitro. Pendekatan ini dikenal karena

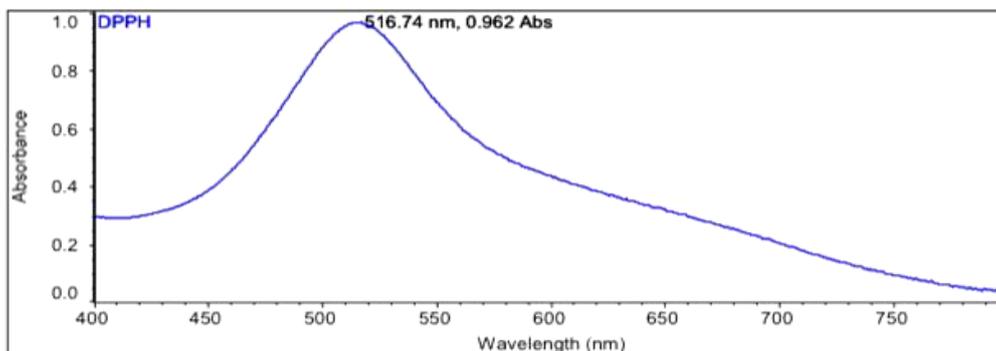
keefisienannya, menghemat waktu, serta penggunaan bahan kimia dan sampel yang lebih minimal. Untuk analisis, digunakan Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang optimal sekitar 517 nm. Aktivitas antioksidan dari ekstrak didefinisikan melalui parameter IC50, yang merupakan konsentrasi dari sampel yang diperlukan untuk mengurangi 50% radikal bebas DPPH. Estimasi nilai IC50 dijalankan berdasarkan persamaan regresi yang relevan. Dasar operasi teknik DPPH terletak pada interaksi antara molekul antioksidan dengan DPPH; baik melalui transisi elektronik atau pengambilan radikal hidrogen dari molekul DPPH. Transisi warna dari ungu ke kuning menandakan bahwa pasangan elektron pada radikal telah berikatan dengan molekul lain.

Dalam penelitian ini, aktivitas antioksidan yang berkaitan dengan penyerapan radikal DPPH dikaitkan dengan konsentrasi senyawa fenol dan flavonoid yang ada dalam tanaman. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa fenol memiliki sifat antioksidan karena kemampuannya dalam mengalihkan elektron. Senyawa fenol berfungsi sebagai zat pereduksi, pemberi hidrogen, penghambat oksigen tunggal, dan juga sebagai kelat logam yang efektif (Nathania dkk, 2020). Seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 1, panjang gelombang maksimum dari larutan DPPH dengan konsentrasi 40 ppm dalam pelarut metanol p.a diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil pengukuran menunjukkan puncak serapan maksimal sebesar 0,962 pada panjang gelombang 516 nm. Pentingnya pengukuran pada panjang gelombang maksimum adalah untuk memaksimalkan sensitivitas dan mengurangi potensi kesalahan, mengingat perubahan absorbansi terbesar terjadi pada panjang gelombang tersebut untuk setiap perubahan konsentrasi.

#	Sample ID	User Name
1	DPPH	Asus S340MC

Peaks:

nm	Abs
516.744	0.962



Gambar 1. Kurva Serapan Maksimum Larutan DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*)

Penetapan operating time digunakan untuk menemukan periode waktu di mana pengukuran sampel menunjukkan reaksi yang paling stabil terhadap DPPH (Rachmani, 2018). Operating time diukur dengan memperhatikan waktu yang diperlukan agar larutan menunjukkan absorbansi yang konstan. Proses penentuan operating time sangat penting untuk mengurangi kemungkinan kesalahan pengukuran. Nilai operating time dicapai ketika absorbansi DPPH mencapai tingkat kestabilan yang relatif konstan (Suharyanto, 2020). Dalam penelitian ini, hasil penentuan operating time dari larutan DPPH dengan konsentrasi 40 ppm selama 60 menit menunjukkan bahwa absorbansi mencapai stabilitas pada rentang menit ke-17 hingga ke-20, dengan nilai absorbansi stabil sebesar 0,943. Oleh karena itu, rentang waktu tersebut dianggap sebagai periode waktu optimal untuk melakukan pengukuran pada sampel dengan berbagai konsentrasi.

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan pada berbagai konsentrasi, yakni 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, dan 14 ppm. Pada setiap konsentrasi, larutan DPPH (200 ppm) ditambahkan, dan campuran diinkubasi selama 17-30 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum 516 nm, dan diperoleh nilai absorbansi rata-rata masing-masing konsentrasi, yaitu 0,759, 0,693, 0,533, 0,438, dan 0,334. Proses inkubasi dilakukan karena reaksi berlangsung lambat, memerlukan waktu untuk sampel bereaksi dengan radikal bebas DPPH.

Selama inkubasi, terjadi perubahan warna dari ungu menjadi kuning pada sampel daun alpukat, menandakan kemampuan antioksidan pada setiap konsentrasi. Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi radikal bebas DPPH dalam larutan metanol yang berwarna, dengan bantuan penghambat radikal bebas. Ketika larutan DPPH ungu bertemu dengan elektron pendonor, DPPH mengalami reduksi, warna ungu memudar menjadi kuning akibat gugus pikril. Prinsip kerja metode DPPH melibatkan atom hidrogen (H) dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal, mengubahnya dari (diphenylpicrylhydrazyl) menjadi senyawa non-radikal (diphenylpicrylhydrazine). Semakin tinggi konsentrasi larutan uji (aktivitas antioksidan), aktivitas DPPH menurun karena lebih banyak DPPH yang berpasangan dengan atom hidrogen dari sampel. Aktivitas peredaman radikal bebas diukur sebagai persentase inhibisi DPPH atau dapat diwakili oleh konsentrasi yang menyebabkan 50% kehilangan aktivitas radikal DPPH (IC50) (Manurung dkk, 2023).

Kemampuan antioksidan daun alpukat dinilai pada rentang waktu 17-20 menit, diukur sebagai penurunan serapan larutan radikal bebas DPPH (peredaman radikal bebas) setelah penambahan larutan sampel. Nilai persentase peredaman dihitung dengan membandingkan serapan larutan radikal bebas DPPH sebelum dan setelah penambahan sampel. Hasil analisis

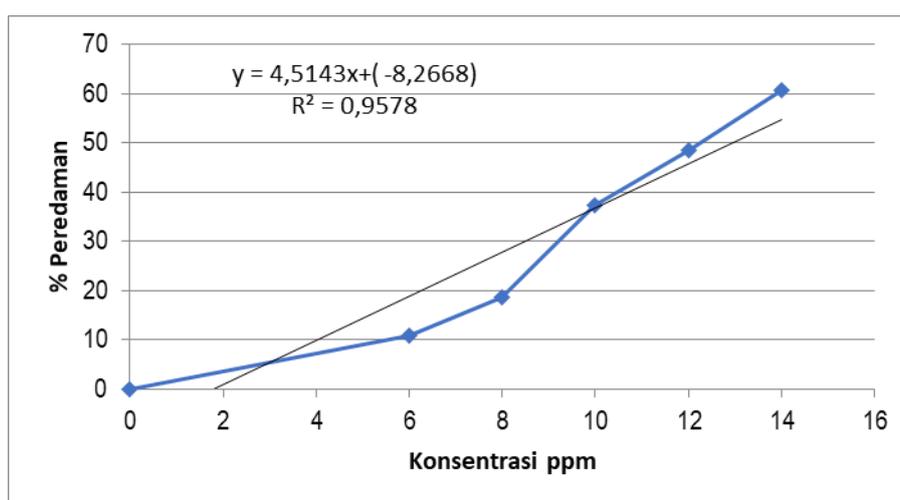
menunjukkan nilai persentase peredaman pada setiap konsentrasi.

Tabel 4 Hasil Analisis Peredaman Radikal Bebas Daun Alpukat Dan Larutan Vitamin C

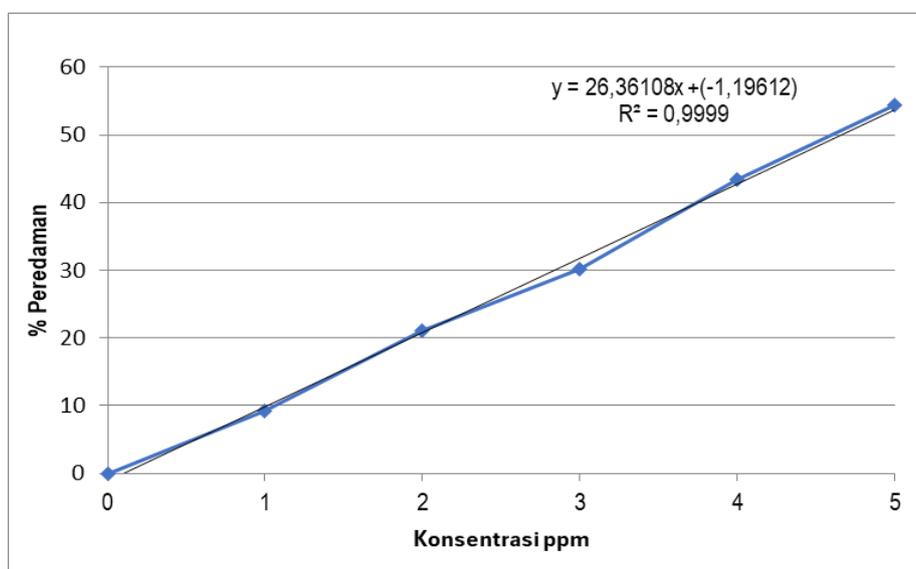
Larutan Uji	Konsentrasi Larutan uji (ppm)	% Peredaman
Daun Alpukat	0 (Blanko)	0
	6	10,8108
	8	18,5663
	10	37,3678
	12	48,5311
	14	60,7520
Larutan Vitamin C	0 (Blanko)	0
	1	9,1656
	2	21,0340
	3	30,1997
	4	43,3607
	5	54,4065

Berdasarkan Tabel 4 yang disajikan, dapat ditarik kesimpulan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi larutan uji, persentase peredaman DPPH juga mengalami peningkatan. Faktor-faktor seperti kestabilan senyawa antioksidan yang dapat terdegradasi akibat paparan oksigen, cahaya, suhu tinggi, dan proses pengeringan mempengaruhi efikasi antioksidan. Fungsi utama antioksidan adalah sebagai agen penghambat pada reaksi oksidasi. Dalam tubuh, antioksidan berfungsi untuk menonaktifkan radikal bebas dan mengurangi proses oksidasi yang dapat merusak sel. Mekanisme kerja antioksidan melibatkan

transfer elektron tunggal atau atom hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas. Untuk mengukur efisiensi antioksidan daun alpukat, digunakan parameter IC50 (Inhibition Concentration 50%). Sebuah formula dikategorikan memiliki kekuatan antioksidan yang tinggi jika IC50-nya $\leq 50\%$ (Manurung dkk, 2023). Sebuah nilai IC50 yang lebih kecil menunjukkan efikasi yang lebih tinggi dalam peredaman radikal bebas. Sebaliknya, konsentrasi IC50 yang meningkat mengindikasikan efikasi peredaman radikal bebas yang lebih rendah.



Gambar 5 Grafik % Peredaman antioksidan daun alpukat



Gambar 6 Grafik % Peredaman antioksidan vitamin C

Aktivitas antioksidan dapat diklasifikasikan ke dalam kategori sangat kuat, kuat, sedang, lemah, dan sangat lemah. Sebuah antioksidan dianggap sangat kuat jika mempunyai nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/ml, dikategorikan kuat dengan nilai IC₅₀ antara 50-100 µg/ml, sedang dengan nilai IC₅₀ antara 100-150 µg/ml, lemah dengan nilai IC₅₀ antara 151-200 µg/ml, dan sangat lemah jika nilai IC₅₀ lebih dari 200 µg/ml. Hasil perhitungan IC₅₀ diperoleh melalui persamaan regresi linier yang menggambarkan

relasi antara konsentrasi sampel uji dan persentase peredaman DPPH sebagai indikator aktivitas antioksidan. Konsentrasi larutan uji (dinyatakan dalam ppm) menjadi variabel bebas (sumbu x), sementara nilai persentase peredaman menjadi variabel terikat (sumbu y). Informasi lengkap mengenai hasil analisis nilai IC₅₀ untuk aktivitas antioksidan ekstrak daun alpukat dan vitamin C dapat ditemukan pada Tabel 5.

Tabel 5 Hasil persamaan regresi linier, nilai IC₅₀ ekstrak daun alpukat dan larutan Vitamin C

No.	Larutan Uji	Persamaan regresi	IC ₅₀	Kategori
1	Ekstrak daun alpukat	Y= 4,5143 x + (-8,2668)	9,24 µg/ml	Sangat kuat
2	Vitamin C	Y=26,36108 x+ (-1,19612)	1,942 µg/ml	Sangat Kuat

Berdasarkan data yang tertera pada Tabel 5, aktivitas antioksidan dari ekstrak daun alpukat menunjukkan kategori yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 9,24 µg/ml. Sementara itu, dalam pengukuran yang sama, vitamin C menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,942 µg/ml, menandakan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dibandingkan dengan ekstrak daun alpukat. Fenomena ini mungkin disebabkan oleh fakta bahwa vitamin C merupakan senyawa antioksidan alami yang murni, sehingga kemampuannya dalam menghambat radikal bebas DPPH sangat tinggi, mencapai hampir

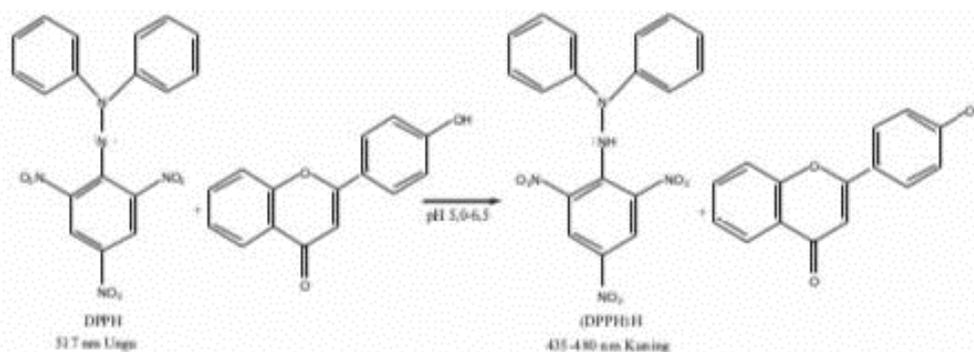
100% inhibisi. Vitamin C termasuk dalam kategori antioksidan sekunder yang efektif dalam menetralkan berbagai jenis radikal bebas di luar sel. Sifat ini disebabkan oleh adanya gugus hidroksil bebas dalam struktur vitamin C, yang berfungsi sebagai agen penangkap radikal bebas. Kehadiran polihidroksi dalam strukturnya dapat meningkatkan efisiensi aktivitas antioksidannya (Masrifah, 2017). Gambaran ilustrasi mengenai interaksi antara vitamin C dengan DPPH dapat ditemukan pada Gambar 7.

Reaksi peredaman radikal bebas DPPH dan atom yang berasal dari senyawa antioksidan dapat dilihat pada gambar 8

radikal baru. Radikal antioksidan yang dihasilkan dari reaksi tersebut dapat saling berinteraksi dan membentuk produk non-radikal. Kehadiran senyawa yang dapat berperan sebagai peredam radikal bebas menjadi bermanfaat ketika, setelah berinteraksi dengan radikal bebas, senyawa tersebut menghasilkan radikal baru yang stabil atau senyawa yang bukan radikal (Masrifah dkk, 2017).

Metabolit sekunder yang menonjol dalam aktivitas antioksidan pada daun alpukat adalah flavonoid. Flavonoid adalah senyawa fenol dengan gugus OH yang melekat pada cincin aromatik. Fungsinya adalah untuk mencegah potensi kerusakan yang diinduksi oleh radikal

bebas. Flavonoid beroperasi sebagai antioksidan melalui dua mekanisme, yaitu mekanisme langsung dan tidak langsung. Secara langsung, flavonoid berfungsi dengan memberikan ion hidrogen, sehingga efektif menetralkan dampak negatif dari radikal bebas (Manurung dkk, 2017). Dalam konteks penelitian ini, aktivitas antioksidan, khususnya berhubungan dengan peredaman radikal DPPH, terkait erat dengan keberadaan senyawa fenol dan flavonoid dalam tanaman. Ilustrasi reaksi antara radikal DPPH dengan flavonoid, yang berfungsi sebagai agen penangkap radikal, dapat ditemukan dalam gambar 9.



Gambar 9. Reaksi antara radikal DPPH dengan flavonoid

Flavonoid yang terdapat dalam ekstrak daun alpukat memiliki kemampuan untuk melepaskan H⁺, yang merupakan salah satu jenis radikal bebas. H⁺ ini kemudian bergabung dengan radikal DPPH, membentuk senyawa baru yang dikenal sebagai difenil pikrilhidrazin yang memiliki tingkat kestabilan yang lebih tinggi. Flavonoid dalam ekstrak daun alpukat, ketika bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan melepaskan H⁺, menghasilkan radikal baru yang relatif stabil dan tidak berpotensi merugikan tubuh, terutama karena adanya efek resonansi inti aromatik (Widyaningsih, 2010). Gugus fenolik yang ada dalam senyawa ini memiliki peran penting dalam mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh stres oksidatif. Senyawa fenol berfungsi sebagai agen pereduksi, pendonor hidrogen, peredam oksigen singlet, dan juga memiliki sifat sebagai pengelat logam yang berpotensi.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki kandungan fitokimia yang signifikan, termasuk alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid, dan glikosida, sesuai dengan persyaratan MMI Jilid II 1978. Selain itu, ekstrak dari daun alpukat menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat, dengan nilai IC₅₀ sebesar 9,244 µg/ml, dan bahkan lebih efektif daripada Vitamin C yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 1,942 µg/ml. Temuan ini menunjukkan potensi daun alpukat sebagai sumber fitokimia dan antioksidan yang dapat digunakan dalam pengembangan produk kesehatan atau pencegahan penyakit.

REFERENSI

- Anggorowati, D. A., Gita, P., Thufail. (2016). Potensi Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Sebagai Minuman Teh Herbal Yang Kaya Antioksidan. *Jurnal Industry Inovatif*. 6 (1). 1-7

- Ardiansyah, R. (2019). *Alpukat*. Surabaya. JP Books.
- Darmirani, Y., Cici, D., Chandra, P. (2021). Formulasi Hand And Body Lotion Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea gratissima* Gaertn) Sebagai Pelembab. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*. Vol 1 (2). 323-324.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1978). *Materia Medika Indonesia Jilid II*. Jakarta. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan. Hal: 70-76.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1989). *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Materi Medika Indonesia Jilid IV*. Jakarta: Direktorat Kesehatan Republik Indonesia.
- Erlidawati & Safrida. (2018). *Potensi Antioksidan Sebagai Diabetes*. Darussalam, Banda Aceh. Syiah Kuala University Press.
- Gultom, S. E., Mambang, D. E. P., Nasution, H. M., & Rahayu, Y. P. (2023). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia Pinnata* JR Forst & G. Forst) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella thypi*. *Jurnal Farmasi Klinik dan Sains*, 3(1), 1-9.
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Jakarta. Buku Kedokteran EGC.
- Handayani, F., Anita, A., dan Helen, N. (2019). Karakteristik Dan Skrining Fitokimia Simplisia Daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macracarpa* Jack). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 4 (1). 51-52.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi I. Bandung: ITB Press.
- Hasanah, L., Roosita, K., & Rimbawan, R. (2020). Pemberian minuman dan cookies galohgor terhadap kadar blood urea nitrogen (bun) dan kreatinin plasma penderita diabetes melitus tipe 2. *Jurnal Gizi Dan Kesehatan*, 12(1), 1-10. <https://doi.org/10.35473/jgk.v12i1.75>
- Hasanah, N., Yuniart, R., Nasution, H. M., & Rahayu, Y. P. (2023). Analisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jeruk kuok (*Citrus nobilis* L.) dengan metode DPPH (1, 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 1416-1424.
- Ikalinus, R., Sri.K,W. Ni luh. E. S. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus* 4(1) : 71-79
- Iskandar, B. Dea, D.P., Ferdy, F., Neni, F., dan Tiara. (2019). Evaluasi Sifat Fisik Dan Uji Kelembaban Sediaan Losion Yang Dijual Secara Online-Shop. *Jurnal Dunia Farmasi*. 4(1). 10-11.
- Katja, D.G., Edi, S., Frenly, W. (2009). Potensi Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill) Sebagai Sumber Antioksidan Alami. *Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam*. Vol 2 (1). 58-59.
- Lestari, D., Muthia, D. MA., Jati, P., dan Lidya, H.S., (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.). *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. 3(3). 163-164.
- Mailana, D., Nuryanti., dan Harwoko. (2016). Formulasi Sediaan Krim Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill). *Acta Pharmaciae Indonesia*. 4(2). 9-10.
- Mailandari, M. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Gancinia Kydia Roxb. Dengan Metode Dpph Dan Identifikasi Senyawa Yang Aktif. *Skripsi*. Hal 12-14.
- Manurung, B,L., Eva, M., Rollando. (2023). Formulasi Dan Antioksidan Daun Kelor (*Moringa aleifera*.) Dalam Sediaan Serum Dengan Metode Senyawa Radikal DPPH. *Sainsbertek Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi*.
- Marliani, L., Kusriani, H., dan Indah Sari, N. (2014). *Aktivitas Antioksidan Daun dan Buah Jamblang (Syzygium cumini L.) Skeel*. Sekolah tinggi ilmu Farmasi Bandung.
- Masrifah, Nurdin, R., Paulus, H.,U. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Dan Kulit Buah Labu Air (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.). *J Akademika Kim*, 6 (2):98-106.
- Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.

- Songklanakarın Journal of Science Technology*. 26 (2): 211-219.
- Muchyar, D., Pangemanan, D., & Supit, A. (2018). Uji daya hambat perasan daging buah alpukat (*persea americana mill.*) terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*. *E-Gigi*, 6(1). <https://doi.org/10.35790/eg.6.1.2018.19653>
- Mutmainnah B., (2017). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granctum L.*) dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi Poltekkes Makassar*. Vol 8 (2).
- Nathania, E.K., Wilmar, M., Nernie, O.P., Yusuf, T. (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 (The Tropical Journal of Biopharmaceutical)*. 3 (2), 40-47.
- Noviyanto, F. (2020). *Penetapan Kadar Ketoprofen dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. Kota Bandung-Jawa Barat. Penerbit Media Sains Indonesia.
- Puluh, E., Edi, H., & Siampa, J. (2019). Formulasi dan uji antibakteri sediaan masker gel peel-off ekstrak etanol daun alpukat (*persea americana mill.*) terhadap bakteri *staphylococcus epidermidis* sebagai antijerawat. *Pharmacon*, 8(4), 860. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29363>
- Rachmani, E. P. N., Pramono, S., dan Nugroho, A. E. (2018). Aktivitas Antioksidan Fraksi Flavonoid Bebas Andrografolid dari Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*. 1(2).
- Rubianti, I. Azmin, N. Nasir. M. (2022). Analisis Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Golka (*Ageratum Conyzoides*) Sebagai Tumbuhan Obat Tradisional Masyarakat Bima. *Jurnal Sains Dan terapan*. Vol (1) No (2).
- Rusliyanti, S.Y.C., Erna, F., dan Cikra, I.N.H.S. (2021). Formulasi Dan Stabilitas Mutu Fisik Sediaan Body Butter Ekstrak Kunyit Putih (*Curcuma mangga*) Val. *Artikel Pemakalah Paralel*. 387-388.
- Rustanti, E. and Lathifah, Q. (2019). Identifikasi senyawa kuersetin dari fraksi etil asetat ekstrak daun alpukat (*persea americana mill.*). *Alchemy Journal of Chemistry*, 6(2), 38. <https://doi.org/10.18860/al.v6i2.6768>
- Sarker, S.D., dan Lutfun, N. (2016). *Kimia Untuk Mahasiswa Farmasi*. Yogyakarta. Pustaka Pelajar.
- Sawiji, R.T., Elisabeth, O.J.L. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Body Butter Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah Dengan Metode DPPH. *Jurnal Surya Medika (JSM)*. 178-179.
- Sawiji, R.T., Elisabeth, O.J.L., Agustina, N.Y. (2020). Pengaruh Formulasi Terhadap Mutu Fisik Body Butter Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga (*Hylocereus polyhizus*). *Indonesian Journal Of Pharmacy and Natural Products*. Vol 3 (1). Hal 36-37.
- Sayuti, K., Rina, Y. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang. Andalas University Press.
- Selfiani, S., Nasution, M. P., & Rahayu, Y. P. (2023). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bunga melati (*Jasminum sambac (L.) Sol. ex Aiton*) dengan metode DPPH. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 1425-1433.
- Setiawan, F., Oeke Y., Ade K. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesia*. 2 (2).
- Suharyanto, S., dan Prima, D. A. N. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas L.*) yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*. 4(2). 110-119.
- Sulistyarini, I. Diah, A. Tony, A.W. (2015). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Buah Naga (*Hylocereus Polyrchizus*). *Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi "Yayasan Farmasi Semarang"*.
- Wahyuningrum, R. Wiranti, S.R. Ardiansyah, B.S. (2011). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea american Mill*). *Prosiding Kongres Ilmiah*. 68-72.

- Waruwu, S., Sibarani, J., & Simorangkir, S. (2021). Pengaruh pemberian alpukat terhadap kadar kolesterol total darah pada mahasiswa/i obesitas di fakultas kedokteran universitas hkbp nommensen medan tahun 2019. *Nommensen Journal of Medicine*, 6(2), 40-43. <https://doi.org/10.36655/njm.v6i2.240>
- Widyaningsih, W.,. (2010). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Dewa (*Gynura Procumbens*) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan-Yogyakarta*. 2(3). 978-979.
- Wijaya, I. (2020). Potensi Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Sebagai Anti Bakteri. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*. 9 (2). 695-701.
- Zaiyar, Alfin, S. Anggun, S. (2021). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Alpukat Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*. Vol 11 (2). Hal 104-110.