

**ANALISIS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK
N-HEKSANA DAN ETILASETAT KULIT ALPUKAT
(*Persea ameicana* Mill) MENGGUNAKAN METODE DPPH**

Putri Rahmi^{1*}, Salfauqi Nurman^{1,2}

¹Program studi Farmasi Universitas Ubudiyah Indonesia, Banda aceh

²Program studi Teknologi industri Pertanian, Usm, Banda aceh

*Email: Rama74248@gmail.com, tlpn: 085361126180

ABSTRAK

Antioksidan berperan aktif dalam mengurangi kelebihan radikal bebas yang pada umumnya bekerja sebagai penangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan dapat bersumber dari tanaman seperti alpukat. Tujuan dalam penelitian ini adalah mengetahui antioksidan dari ekstrak n-heksan dan ekstrak etilasetat kulit alpukat menggunakan metode DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil). Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut n-heksan dan etilasetat. Identifikasi senyawa aktif ekstrak senyawa kulit alpukat menggunakan uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan variasi konsentrasi ekstrak 25, 50, 100 ppm. Absorbansi aktivitas antioksidan diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517nm. Rendemen ekstrak n-heksan kulit alpukat 6,66% dan rendemen ekstrak etilasetat yaitu 8,33%. Hasil identifikasi fitokimia ekstrak n-heksan kulit alpukat memiliki senyawa aktif saponin, fenolik/tanin, terpenoid sedangkan ekstrak etilasetat mengandung senyawa aktif alkaloid, flavanoid dan fenolik. Aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan kulit alpukat sangat lemah dengan nilai IC₅₀ 1058,181 ppm sedangkan ekstrak etilasetat kulit alpukat memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC₅₀ 123,72 ppm. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etilasetat memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dibandingkan ekstrak n-heksan.

Kata kunci: Kulit alpukat, n-heksan, etilasetat, antioksidan, DPPH

ABSTRACT

Antioxidants play an active role in reducing excess free radicals that generally work as a free radical catcher radicals and prevent the occurrence of chain reactions. Antioxidants can be sourced from plants such as avocados. The purpose of this research was to know the antioxidant of n-hexan extract and the avocado *etilacetate* extract using DPPH method (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazil). The extraction process uses a maceration method with n-hexane and ethylacetate solvents. Identification of active compound of avocado leaf extract using phytochemical test and antioxidant activity test using DPPH method with variation extract concentration 25, 50, 100 ppm. Absorbance of antioxidant activity was measured using UV-Vis spectrophotometry at 517nm wavelength. The yield content of avocado leaf extract was 6.66% and the yield of ethylacetate extract was 8.33%. the results of phytochemical identification of n-hexan saponin extract, phenolic / tannin, terpenoid while ethylacetate extract containing active compound of alkaloid, flavanoid and phenolic activity of antioxidant n-hexan extract of avocado skin is very weak with the value of IC₅₀ 1058,181 ppm while avocado ethylacetate leaf extract have activity medium antioxidant with IC value₅₀ 123,72 ppm. Based on this research, it can be concluded that ethylacetate extract is greater than n-hexane extract.

Keywords : Avocado skin, n-hexane, ethylacetate, antioxidant, DPPH

I. PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Radikal ini cenderung mengadakan reaksi berantai yang

apabila terjadi di dalam tubuh akan dapat menimbulkan kerusakan-kerusakan yang berlanjut dan terus menerus. Tubuh manusia memiliki sistem pertahanan endogen terhadap serangan radikal bebas terutama terjadi melalui peristiwa metabolisme sel normal dan peradangan (Wahdaningsih, 2011). Jumlah radikal bebas dapat mengalami peningkatan yang diakibatkan

faktor stres, radiasi, asap rokok dan polusi lingkungan menyebabkan sistem pertahanan tubuh yang ada tidak memadai, sehingga senyawa radikal tersebut akan merusak sel dan menyebabkan berbagai penyakit seperti liver, kanker, dan kondisi yang berhubungan dengan umur seperti alzheimer (Hernani, 2006).

Antioksidan berperan aktif dalam menanggulangi kelebihan radikal bebas yang pada umumnya bekerja sebagai penangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi dua yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan alami yang berasal dari dalam tubuh seperti enzim superoksida dismutase, glutathione dan katalase, sedangkan antioksidan alami yang berasal dari luar tubuh seperti vitamin C, vitamin E, β -karoten, xantofil dan flavonoid (Nugraheni, 2007). Antioksidan sintetis seperti butil hidroksil anisol (BHA), butil hidroksil toluen (BHT), propil galat (PG) dan tert-butil hidrokuinon (TBHQ) penggunaannya selain memberikan efek manfaat, ternyata dalam jangka waktu lama dan pemberian yang terus menerus dapat menimbulkan efek samping yang berbahaya, salah satunya yaitu dapat meningkatkan terjadinya karsinogenesis (Amarowicz, dkk 2000). Oleh karena itu diperlukan sumber antioksidan alami yang mudah diperoleh dan ketersediaannya di alam dalam jumlah yang melimpah juga mempunyai efek samping yang rendah dibanding antioksidan sintetis (Nugraheni, 2007). Salah satu sumber antioksidan yang berasal dari alam adalah kulit alpukat (*Persea americana* Mill) (Vinha dkk, 2013).

Kandungan ekstrak kulit alpukat memiliki kandungan karoten, fenolik, dan flavonoid yang lebih tinggi dari pada daging buahnya. Senyawa fenolik yang ditemukan di dalam kulit alpukat menunjukkan adanya aktivitas antioksidan secara in vitro hasil antioksidan yang di peroleh aktivitas antioksidan (43%) dari yang diperoleh dari kulit (35%) dan daging buah (23%) (vinha, 2013). Malanggi, *et al* (2012) Pernah melakukan penelitian penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat dengan metode folin ciocalteau, sedangkan antioksidan di ukur dengan metode DPPH (2-difenil-1,1-pikrilhidrazil)

hasil yang diperoleh menunjukkan total tanin biji 117mg/kg dan hasil antioksidan (92,970%).

II. METODE PENELITIAN

1. Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah kulit alpukat yang di peroleh dari pasar tradisional aceh, n-heksan, etilasetat, metanol p.a, DPPH, reagen Liberman-Bourchard (asam asetat glasial- $H_2SO_4(P)$), reagen Mayer (kalium tetra iodo merkurat), reagen Dragendorf ($Bi(NO_3)_3$) dan reagen Wagner (I2 dalam KI), akuades, fraksi metanol, HCL, etanol 80%.

2. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu blender, erlenmeyer, gelas ukur, labu ukur, gelas kimia, corong pisah, timbangan analitik, tabung reaksi, rak tabung, alat maserasi, perangkat vakum rotary evaporator, oven, Untuk instrument yang digunakan berupa Spektrofotometri UV-Vis (Model UV mini-1240)

3. Analisis Fitokimia

a. Uji saponin

fraksi yang tidak larut di tambahkan air lalu dikocok kuat sampai menghasilkan busa stabil (Ramyasree, dkk 2012).

b. Uji alkaloid

Pertama sekali, diambil sampel segar sebanyak 4 gram, di tambahkan amoniak. Lalu di tambahkan HCL dan kloroform. Ambil bagian atasnya, lalu di uji dengan reagen Dregendroft, meyer dan wagner. Dikatakan positif alkaloid jika pada reagen Dragendroft menghasilkan endapan merah bata, reagen wagner menghasilkan endapan coklat dan reagen mayer menghasilkan endapan putih (Dephour 2009).

c. Uji flavanoid

Diambil sampel 10 gram di ekstraksi dengan metanol lalu di pekatkan dan di partisi dengan heksan. Diperoleh dua fraksi, fraksi metanol dan fraksi heksan. Fraksi metanol di ekstrak dengan 20 mL etanol 80% dan

ditambahkan 0,5 gram serbuk Mg HCL. Dikatakan positif flavanoid jika menghasilkan warna merah muda/ungu (Claudia, 201).

d. Uji antosianin

Ekstrak pekat yang tersisa dari identifikasi antosianin ditambah dengan akuades hingga konsentrasi HCl dalam ekstrak mencapai 2 M. Dipanaskan dalam *waterbath* dalam tabung reaksi untuk menghidrolisis ikatan glikosida dalam antosianin (Wiwit dkk, 2016).

e. Uji terpenoid/steroid

Di ambil sampel sebanyak 4 gram, di haluskan dan diekstraksi dengan metanol lalu di saring, filtrat yang di peroleh diupkan dan di partisi dengan heksan. Di peroleh fraksi yang larut dan fraksi yang tidak larut. Reagen LB (Liebermann Burchard) jika warnanya hujai berarti positif steroid dan jika warnanya merah, berarti positif terpenoid.

f. Uji Fenolik

Larutan ekstrak metanol kulit alpukat di totolkan pada plat KLT dan dielus dengan menggunakan pelarut n-butanol, asam asetat, air, kemudian di semprot dengan reagen $FeCl_3$. Positif mengandung fenol jika noda berwarna haju, merah ungu, biru, atau hitam yang kuat (Harbone, 1987)

4. Uji Aktifitas Antioksidan Dengan Metode DPPH.

1. Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM
Serbuk DPPH (BM 394,32 g/mol) ditimbang dengan teliti sebanyak 7,9 mg, selanjutnya dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu takar 50 mL, segera tutup dengan aluminium foil kemudian dihomogenkan. Simpan larutan dalam botol gelap dan selalu dibuat yang baru setiap akan digunakan.
2. Pembuatan Variasi Larutan Ekstrak
Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak n-heksan dan etilasetat dibuat larutan induk 500 ppm yaitu dengan melarutkan 5 mg total ekstrak kedalam metanol dan dicukupkan 10 mL. Selanjutnya dari larutan induk dibuat lagi variasi konsentrasi larutan 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm untuk diuji aktifitas antioksidan berturut-turut Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Variasi konsentrasi sampel

Konsentrasi ppm	Larutan induk yang di ambil	Larutan DPPH (mL)	Keterangan
25	250 μ L	1	Volume di cukupkan 5mL metanol
50	500 μ L	1	
100	1000 μ L	1	

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji fitokimia merupakan uji kualitatif untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam sampel. Golongan senyawa metabolit sekunder yang di uji berupa alkaloid, flavanoid, saponin, fenolik/tanin, terpenoid. Hasil pengujian fitokimia ekstrak n-heksan kulit alpukat dan ekstrak etilasetat kulit alpukat dapat dilihat pada (Tabel 4.2).

Tabel 4.2 Data hasil uji fitokimia kulit alpukat

No	Jenis Uji	N-heksan	Etilasetat
1	Alkaloid	-	+
2	Flavanoid	-	+
3	Saponin	+	-
4	Fenolik/tanin	+	+
5	Terpenoid	+	-

Dari hasil uji fitokimia yang telah di lakukan Ekstrak n-heksan kulit alpukat memiliki senyawa saponin, fenolik dan terpenoid sedangkan etilasetat kulit alpukat memiliki senyawa alkaloid, flavanoid dan fenolik. Dari hasil tersebut terlihat bahwa ekstrak n-heksan memiliki senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan yaitu terpenoid dan tanin sedang kan ekstrak etilasetat memiliki senyawa yang bersifat antioksidan yaitu tanin.

Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus

hidroksil. Oleh karena itu, umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol. Etanol berfungsi sebagai pembebas flavonoid dari bentuk garamnya. Penambahan asam sulfat 2 N berfungsi untuk protonasi flavonoid hingga terbentuk garam flavonoid. Setelah penambahan bubuk magnesium, hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna larutan menjadi hitam kemerahan. Warna hitam kemerahan yang dihasilkan menandakan adanya flavonoid akibat dari reduksi oleh asam klorida pekat dan magnesium (Harborne, 1987).

Pada hasil uji saponin, masing-masing sampel menunjukkan hasil yang positif yakni memiliki busa yang stabil selama 10 menit. Saponin merupakan bentuk glikosida dari sapogenin sehingga akan bersifat polar. Saponin adalah senyawa yang bersifat aktif permukaan dan dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air (Kristanti dkk, 2008). Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana dkk, 2005).

Tanin Tanin dibagi menjadi dua golongan dan masing-masing golongan memberikan reaksi warna yang berbeda terhadap FeCl_3 1%. Golongan tannin terhidrolisis akan menghasilkan warna biru kehitaman dan tannin kondensasi akan menghasilkan warna hijau kehitaman. Pada saat penambahannya, diperkirakan FeCl_3 bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tannin. Hasil reaksi itulah yang akhirnya menimbulkan warna. Pereaksi FeCl_3 digunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol termasuk tannin. Oleh sebab itu, diduga bahwa hasil positif juga dapat disebabkan oleh adanya senyawa fenolik lain dalam sampel (Harborne, 1987). Menurut Shahidi dan Marian (1995) pengujian total fenol bertujuan untuk menentukan total senyawa fenolik yang terkandung di dalam sampel, sehingga diduga bila kandungan senyawa fenolik di dalam sampel tinggi maka aktivitas antioksidannya akan tinggi.

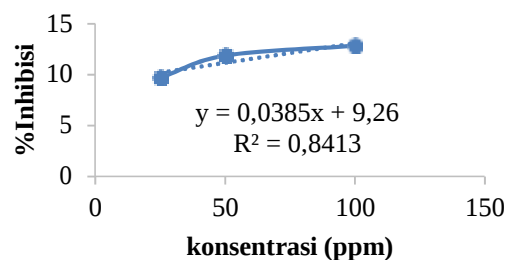
Hasil Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit alpukat dalam penelitian ini dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-

2-pikrilhidrazil). Metode DPPH berperan sebagai radikal bebas akan bereaksi dengan antioksidan membentuk DPPH-H dan radikal antioksidan. Antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal DPPH untuk melengkapi kekurangan elektron dan membentuk radikal antioksidan yang lebih stabil (Ginting, dkk, 2017).

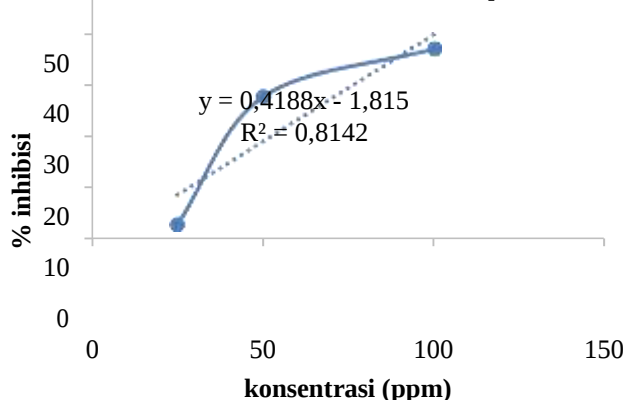
Hasil reaksi antara DPPH dan antioksidan dapat diamati dengan perubahan larutan dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna menunjukkan bahwa DPPH telah tereduksi oleh proses donasi hidrogen atau elektron dari senyawa antioksidan sehingga warnanya berubah dari violet ke kuning dan DPPH tidak memberikan serapan pada panjang gelombang 517 nm Hasil dapat dilihat pada tabel 4.3 dan hubungan konsentrasi inhibisi dapat lihat pada Gambar 4.3 dan 4.4.

Tabel 4.3 Hasil uji antioksidan.

N o	Sa m pel	Abs. Kon trol DP PH	Kon sent rasi (pp m)	Abs orb ansi rata - rata	%i nhi bisi	IC ₅₀ (p pm)
1	Ek str ak he ks an a kul it alp uk at	0,83 1	25	0,75 0	9,7 4	105 8,1 81
			50	0,73 2	11, 91	
			100	0,72 4	12, 87	
2	Ek str ak etil ase tat kul it alp uk at	0,83 1	25	0,80 7	2,8 8	123 ,72
			50	0,60 0	27, 79	
			100	0,52 2	37, 18	



Gambar 4.3 Hubungan konsentrasi dengan % inhibisi Ekstrak n-heksana Kulit Alpukat.



Gambar 4.4 Hubungan konsentrasi dengan % inhibisi Ekstrak Etil Asetat Kulit Alpukat

IV. KESIMPULAN

1. Hasil uji fitokimia n-heksan memiliki senyawa saponin dan terpenoid sedangkan etilasetat memiliki senyawa alkaloid, fenolik dan flavonoid
2. Ekstrak n-heksan kulit alpukat memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 1058,181 ppm dan Ekstrak etilasetat kulit alpukat memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 123,72 ppm.

V. DAFTAR PUSTAKA

Amarowicz, R, Naczki, M, dan Shahidi, T. 2000 *Antioxidant Activity of Crude*

Binawati Ginting, Mustanir, Hira Helwati, Lydia Septa Desiyana, Eralisa1, Rohmat Mujahid. 2107 *antioxidant activity of n-hexane extract of nutmeg plants from south aceh province*.

Dehpour, A.A. Ebrahimzadeh, M.A, Fazel, N.S, dan Mohammad, N.S, 2009, *Farmasi Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta*.

Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*, Penerbit ITB : Bandung.

Hernani dan Raharjo. M. 2006. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*, Penebar Swadaya, Jakarta.

Hidayat.W. 2008. *Manfaat Alpukat (online)* (<http://www.google.com>) diakses 20 Maret 2015. *Farmakope Indonesia*.

Kumalaningsih, S, 2006. *Antioksidan Alami-Penangkal Radikal Bebas*.

Molyneux, P. 2004. *The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl(DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*, Songklanakarin J. Sci. Technol. 26 (2). 211-219

Nugraheni, 2007, *Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (Sunchus arvensis L.) serta Penentuan EC_{50} dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)*, Skripsi, 36-39, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Semarang

Purwaningsih, S. 2102 *Aktivitas antioksidan dan komposisi manusia kimia keong merah ilmu kelautan*.

Wiwit D, F, Taslim E, Kuniyoshi S, Sri F, 2016, *Kegiatan antioksidan Moringa oleifera ekstrak Indones. J. Chem*

Yamlean, Paulina.V.Y dan Widaya A,L. 2016. *Aktivitas Antibakteri Daun Kembang Sepatu (Hibiscus sinensis L.) Terhadap Luka yang Terinfeksi Bakteri Staphylococcus aureus pada Kelinci (Oryctolagus cuniculus)*. Program Studi Farmasi FMIPA UNSART

