

## UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI EKSTRAK TANAMAN DAUN ALPUKAT (*Persea Americana miller*) DAN DAUN PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium Walp*) DAN PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK TUNGGAL

### ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST COMBINATION EXTRACT AVOCADO LEAVES (*Persea americana* Miller) AND RED SHOOT LEAVES (*Syzygium myrtifolium* Walp) AND DETERMINATION TOTAL FLAVONOID CONTENT IN SINGLE EXTRACTS USING UV-Vis SPECTROPHOTOMETRY METHOD

Mei Adelia Sabrina<sup>1\*</sup>, Nuraini Harmastuti<sup>1</sup>, Ghani Nurfana Fadma Sari<sup>1</sup>

Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta, Indonesia

#### Article Info

#### ABSTRAK

#### Article history:

Received 03,11, 2025

Revised 04,22, 2025

Accepted 05,29, 2025

#### Kata kunci

Antioksidan  
Daun alpukat  
Daun pucuk merah  
Flavonoid total  
DPPH

#### Keywords:

Antioxidants  
Avocado Leaf  
Red Pucuk Leaf  
Total Flavonoids  
DPPH

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal radikal bebas. Penelitian ini bertujuan menguji aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) serta menentukan kadar flavonoid total dari masing-masing ekstrak tunggal. Ekstraksi dengan etanol 96% menggunakan metode maserasi. Uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun alpukat dan pucuk merah variasi (1:3, 2:2, dan 3:1) dan uji penetapan kadar flavonoid total dari masing-masing ekstrak dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil analisis diuji statistik menggunakan SPSS. Hasil kadar flavonoid total ekstrak daun alpukat dan pucuk merah yaitu 45,20 dan 14,46 mgQE/g. Kombinasi ekstrak daun alpukat dan pucuk merah memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Perbandingan ekstrak 3:1 menunjukkan aktivitas antioksidan yang paling tinggi

#### ABSTRACT

Antioxidants are compounds that can neutralize free radicals. This study aims to test the antioxidant activity of a combination of avocado leaf extract (*Persea americana* Mill.) and red tip extract (*Syzygium myrtifolium* Walp.) and to determine the total flavonoid content of each individual extract. Extraction was performed using 96% ethanol via the maceration method. The antioxidant activity of the combination of avocado leaf and red tip extracts at various ratios (1:3, 2:2, and 3:1) and the determination of the total flavonoid content of each extract were performed using UV-Vis spectrophotometry. The results were statistically analyzed using SPSS. The total flavonoid content of avocado leaf and red shoot extracts was 45.20 and 14.46 mgQE/g, respectively. The combination of avocado leaf and red shoot extracts exhibited strong antioxidant activity. The 3:1 extract ratio showed the highest antioxidant activity.

## 1. PENDAHULUAN

#### Corresponding Author:

Mei Adelia Sabrina

Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta, Indonesia

Jl. Letjen Sutoyo, Mojosongo, Kec. Jebres, Kota Surakarta, Jawa Tengah 57127

email: [meiadeliabrasina26@gmail.com](mailto:meiadeliabrasina26@gmail.com)

This is an open-access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Radikal bebas didefinisikan sebagai molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri dan mengandung elektron tidak berpasangan pada orbital atomnya. Kehadiran elektron yang tidak berpasangan menimbulkan sifat umum tertentu yang dimiliki oleh sebagian besar radikal. Banyak radikal yang tidak stabil sehingga sangat reaktif. Dapat menerima elektron dari molekul lain atau menyumbangkan elektron ke molekul lain[1]

Antioksidan merupakan zat yang dapat melawan efek berbahaya dari radikal bebas dari metabolisme oksidatif, reaksi kimia dan proses metabolisme yang terjadi di dalam tubuh. Antioksidan dapat berfungsi mengatasi dampak kerusakan pada kulit manusia akibat radikal bebas yang merupakan penyebab utama proses penuaan (*aging*) dan kerusakan jaringan kulit[2]. Flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan karena gugus hidroksil yang terdapat pada strukturnya dapat terhubung dengan cincin aromatik. Hal ini menyebabkan kemampuan untuk menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari proses oksidasi lemak. Flavonoid kemudian dapat menyumbangkan atom hidrogen untuk menstabilkan radikal peroksil yang terbentuk dari oksidasi lemak[3].

Daun alpukat dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Daun alpukat mengandung komponen bioaktif seperti flavonoid, fenol, saponin, tanin, dan alkaloid. Senyawa tertinggi yang terdapat pada daun alpukat adalah senyawa yang digunakan sebagai antioksidan. Ekstrak daun alpukat menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 9,244 µg/m [4]. Tanaman pucuk merah juga mengandung senyawa bermanfaat seperti metabolit sekunder. Manfaat senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada beberapa bagian daun pucuk merah yaitu sebagai pewarna alami, antioksidan, agen sitotoksik dan antikanker. Daun pucuk merah mengandung alkaloid, tripernoid, steroid, saponin, flavonoid, dan fenol[5].

penelitian sebelumnya tentang uji aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun pepaya menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak tunggal daun sirsak sangat kuat, dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 11,484 µg/ml sedangkan ekstrak tunggal daun pepaya kuat, dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 53,886 µg/ml[6]. Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian terhadap aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun alpukat dan ekstrak daun pucuk merah serta penetapan flavonoid total ekstrak tunggal dengan metode spektrometri UV-Vis.

## **2. METODE**

### **Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan melibatkan sejumlah peralatan laboratorium, wadah tempat serbuk simplisa, beaker glass, erlenmeyer, gelas ukur, batang pengaduk, cawan perselin, timbangan analitik, labu terukur, pipet volume, pipet volume, tisu, sudip, spatula, aluminium foil, rotary evaporator, objek glass, penggaris berskala dan blender.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun alpukat, daun pucuk merah, aquadest, etanol 96%, etanol *pa*, aluminium klorida (AlCl<sub>3</sub>), amil alkohol, asam asetat anhidrida, asam klorida, asam sulfat, DPPH, HCl 10%, HCl 0,1 N, methanol, dan kuersetin.

### **Determinasi Tanaman**



Determinasi tanaman alpukat dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu Malang dan tanaman pucuk merah dideterminasi di RS Sardjito Yogyakarta.

### **Pembuatan Serbuk Simplisia**

#### **Serbuk daun alpukat**

Daun alpukat (*Persea americana* Mill.) sebanyak 5.000 g dengan air mengalir, ditiriskan, dan diletakkan di atas kertas untuk menyerap air. Daun biarkan utuh dan keringkan di ruangan tanpa sinar matahari langsung. Daun diblender dan disaring dengan saringan 60 mesh.

#### **Serbuk daun pucuk merah**

Daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium.*) sebanyak 6.000 g dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan diangin-anginkan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari. Kemudian disortasi kembali dan dibuat serbuk dengan ayakan nomor 40 Mesh.

### **Susut pengeringan**

1-2 g simplisia dimasukkan kedalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan. Ratakan bahan dalam botol sampai lapisan setebal 5 sampai 10 mm, di masukkan dalam ruang pengering, buka tutupnya, di keringkan pada suhu penetapan hingga bobot tetap. Setiap pengeringan, biarkan botol tertutup mendingin dalam eksikator hingga suhu ruang[7]

### **Pembuatan Ekstrak**

Ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. 500 g daun alpukat dan daun pucuk merah dimasukan dalam maserator terpisah, masing-masing serbuk di tambahkan 10 bagian pelarut. Direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, diamkan selama 18 jam. Di pisahkan maserat dengan cara sentrifugasi, dekantasi atau filtrasi. Dilakukan remaserasi dengan jenis pelarut yang sama dan volume pelarut setengah kali volume pelarut pertama. Semua maserat masing-masing diuapkan dengan *rotary rotavapor*[7].

### **Skrining Fitokimia Ekstrak**

#### **Identifikasi alkaloid**

Ekstrak daun alpukat dan daun pucuk merah sebanyak 5 ml masing-masing dilarutkan dalam pelarut etanol, kemudian disaring untuk memperoleh filtrat sebanyak 5 ml ditambahkan pereaksi *Dragendorff*. Positif alkaloid jika terbentuk endapan jingga. [8].

#### **Identifikasi saponin**

Ekstrak 4 ml ditambahkan 10 ml air panas sambil dikocok dengan kuat. Jika terdapat buih, diamkan selama 10 menit dan ditambahkan HCl 2N, jika buih tersebut tidak hilang, maka sampel positif mengandung saponin[8].

#### **Identifikasi fenolik**

Sebanyak 5 mL ekstrak dilarutkan dalam etanol direaksikan dengan  $FeCl_3$ . Jika terjadi warna biru atau hijau kehitaman, maka positif mengandung senyawa fenolik[8].

#### **Identifikasi terpenoid**



5 mL ekstrak dilarutkan dengan kloroform, ditambahkan asam asetat anhidrat 0,5 ml, selanjutnya ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat. Jika positif terpenoid ditandai cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan[9].

#### **Identifikasi steroid**

5 mL ekstrak dilarutkan dengan kloroform, ditambahkan asam asetat anhidrat 0,5 ml, selanjutnya ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat. , jika positif steroid ditandai dengan terbentuknya cincin biru kehijauan [10].

#### **Identifikasi antosianin**

Ekstrak sebanyak 5 ml ditambahkan HCl 2M dan dipanaskan, positif antosianin menunjukkan adanya warna merah konstan. NaOH 2M diteteskan sedikit demi sedikit, antosianin menunjukkan apabila warna perlahan memudar (Angggraeni, 2017)

#### **Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan KLT**

Larutan ekstrak etanol daun alpukat dan daun pucuk merah ditotolkan pada lempeng KLT GF 254 dan dielus menggunakan kloroform : metanol : etil asetat : air (80 : 12 : 6 : 2). Kemudian diamati bercak pada lampu UV 254 dan 366 nm setelah itu disemprot dengan pereaksi FeCl<sub>3</sub> yang akan menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam menandakan hasil positif dan berwarna kekuningan pada pereaksi AlCl<sub>3</sub>[11].

#### **Analisis Kuantitatif Senyawa Flavonoid**

##### **Pembuatan larutan baku kuersetin**

Kuersetin dibuat dengan melarutkan 10 mg serbuk kuersetin dalam 100 ml etanol p.a hingga diperoleh konsentrasi larutan baku 1000 ppm.

##### **Pembuatan seri konsentrasi larutan**

Menghasilkan konsentrasi berturut-turut 20 ppm, 30ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm. Masing-masing diambil 1 ml dicampurkan 1 ml AlCl<sub>3</sub> 10% dan 8 ml asam asetat 5%. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan[12].

##### **Penentuan panjang gelombang maksimum**

Sebanyak 10 mg kuersetin dilarutkan 10 mL etanol, membentuk larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan diencerkan menjadi 60 ppm. 1 mL larutan dicampur 1 mL AlCl<sub>3</sub> 2% serta 8 mL asam asetat 5% [13]. Campuran di inkubasi 30 menit, diukur absorbansi pada panjang gelombang 400-500 nm [14]

##### **Penentuan OT**

1 mL larutan kuersetin 100 ppm dicampur 1 mL AlCl<sub>3</sub> 10% dan 8 mL asam asetat 5%, diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum 426 nm[15].

##### **Penentuan kurva baku kuersetin**

Larutan seri 20, 30, 40, 50, 60 ppm masing-masing dimasukan labu 10 ml, etanol p.a. sampai 10 ml. 1 ml dari masing-masing larutan dalam seri dicampurkan 3 ml etanol p.a. Reaksi dilakukan dengan menambahkan 0,2 ml AlCl<sub>3</sub>, 0,2 ml CH<sub>3</sub>COOH, dan 5,6 ml aquades ke dalam setiap konsentrasi larutan. Campuran diaduk hingga homogen.



### **Penentuan kadar flavonoid ekstrak**

Masing-masing 1 gram ekstrak diencerkan dalam 10 mL etanol, diaduk dengan *magnetic stirrer* kecepatan 300 rpm. Etanol ditambahkan hingga volume 50 mL, dengan konsentrasi 500 ppm. 1 mL sampel dicampur dengan 1 mL AlCl<sub>3</sub> 10% dan 8 mL asam asetat 5%. diukur absorbansi pada panjang gelombang 426 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis[13].

### **Pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH**

#### **Pembuatan larutan DPPH**

15,8 mg serbuk DPPH dimasukkan dilarutkan etanol *p.a* 100 mL, dikocok hingga homogen dan diperoleh konsentrasi 0,4 mM[16].

#### **Pembuatan larutan sampel**

Masing-masing ekstrak daun alpukat dan pucuk merah ditimbang sebanyak 10 g dengan perbandingan (1: 3); (2:2); (3: 1), dilarutkan dengan etanol *p.a* 100 mL dan didapatkan kadar 1000 mg/L, kemudian pengenceran 100 mg/ L, dan sari konsentrasi 10; 20; 30; 40; 50 mg/L sebanyak 10ml[17].

#### **Pembuatan pembanding quersetin**

Kuersetin 10 mg dilarutkan etanol *p.a* 100 ml hingga menjadi konsentrasi 100 ppm, kemudian membuat seri konsentrasi 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm [18]

#### **Penentuan panjang gelombang maksimum**

1 mL larutan DPPH dimasukan dalam labu 5 mL dan ditambah etanol *p.a* sebanyak sampai tanda batas. Serapan larutan diukur dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm [16].

#### **Operating time**

1 ml larutan DPPH ditambahkan larutan kuersetin sebanyak 1 ml dan dilarutkan etanol *p.a* dalam labu 5 mL sampai tanda batas. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum yang telah ditetapkan pada menit ke-0 sampai mencapai absorbansi yang stabil [18].

#### **Pembuatan larutan blanko DPPH**

1 ml larutan DPPH ditambah etanol *p.a* sampai 5 ml dan dibiarkan dalam di tempat gelap [16].

#### **Uji aktivitas antioksidan kuersetin**

Masing-masing konsentrasi dipipet 1 ml, ditambahkan 1 ml larutan DPPH, dimasukan dalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan etanol *pa* sampai tanda batas. Inkubasi pada suhu ruang dan gelap selama waktu OT. Uji larutan kontrol kuersetin dengan panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan [18].

#### **Uji aktivitas antioksidan sampel metode DPPH**

1 mL larutan ekstrak kombinasi perbandingan (1:3, 2:2 dan 3:1) dengan konsentrasi 10 mg/L, 20 mg/L, 30 mg/L, 40 mg/L, dan 50mg/L ditambahkan 1 mL larutan DPPH. Larutan di inkubasi selama waktu OT dengan suhu 37°C. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan menggunakan spektrofotometri UV-Vis [16].



### Penentuan IC<sub>50</sub>

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan nilai IC<sub>50</sub> yang dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{absorbansi kontrol}-\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi sampel}} \times 100\%$$

### Analisis data

Hasil pengujian dilakukan uji statistik menggunakan SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) dengan uji *Shapiro-Wilk*, jika data terdistribusi normal, maka dilakukan uji one-way ANOVA. Jika tidak berdistribusi normal, maka dilakukan uji *Kruskal-Wallis*.

## 3. HASIL

### Determinasi Tanaman

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill) di determinasi di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu dengan nomor 000.9.3/7559/ 102.20/ 2024, tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah tanaman alpukat (*Persea Americana* Mill).

Tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) di identifikasi di Balai RS Sardjito Yogyakarta dengan hasil nomor TL.02.04/D.XI.6/24934.1199/2024 menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp).

### Pembuatan serbuk simplisia

Hasil perhitungan rendemen sebesar 85,71% dan daun pucuk merah yang diperoleh sebesar 79,48%.

### Penetapan Kadar Susut Pengerinan

Hasil susut pengeringan ekstrak daun alpukat diperoleh 8,76% dan ekstrak daun pucuk merah sebesar 8,90%. Susut pengeringan ekstrak memenuhi persyaratan <10% [7].

### Ekstraksi Daun Alpukat dan Daun Pucuk Merah

#### Penetapan Kadar Air Ekstrak

Ekstrak daun Hasil parameter kadar air ekstrak daun alpukat 8,95% dan ekstrak daun pucuk merah 9,08%. Ekstrak daun alpukat sebanyak 365 g dan nilai rendemen 27,11% sehingga memenuhi persyaratan tidak kurang dari 26,0% [7]. Ekstrak daun pucuk merah diperoleh 542 g dan nilai rendemen sebesar 36,13%, sehingga memenuhi persyaratan yaitu lebih dari 10% [7].

### Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Alpukat dan Daun Pucuk Merah

Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun alpukat dan daun pucuk merah bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak dengan menggunakan metode uji tabung.

Tabel 1. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia

Kandungan kimia	Pustaka	Pereaksi kimia	Pengamatan	
			Ekstrak Daun Alpukat	Ekstrak Daun pucuk merah
Flavonoid	Terbentuknya perubahan warna menjadi jingga atau merah[19]	Mg+H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	(+) jingga	(+) jingga
Alkaloid		Mayer	(+)	(+)



	Mayer terbentuknya endapan putih, Dragendorff endapan merah, endapan merah kecoklatan untuk Wagner [20]		endapan putih (+) endapan jingga	endapan putih (+) endapan jingga
		Dragendorff	(+) endapan jingga	(+) endapan jingga
		Wagner	(+) Coklat	(+) coklat
Saponin	Terbentuknya busa stabil [20]	HCl	(+) berbusa	(+) berbusa
Tanin	Terbentuknya biru kehitaman [20]	FeCl3	(+) biru	(+) biru
Fenolik	biru kehitaman [20]	FeCl3	(+) biru kehitaman	(+) biru kehitaman
Terpenoid	warna merah kecoklatan pada antarmuka [20]	Kloroform + asam asetat + H2SO4	(+) jingga kecoklatan	(+) jingga kecoklatan
Steroid	warna dari ungu ke biru atau hijau [20]	Asam asetat anhidrat + H2SO4	(+) terdapat cincin hijau kebiruan	(+) terdapat cincin hijau kebiruan
Antosianin	merah dalam kondisi asam dan biru/hijau dalam kondisi basa. [20].	1. HCl 2. NaOH	(-) 1.coklat 2. coklat tua	(+) 1. Jingga 2. Biru

### Hasil Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan KLT

Pengujian menggunakan silica gel GF 254 sebagai fase diam, sedangkan fase gerak menggunakan kloroform : methanol (9:1) yang telah dijenuhkan.

Tabel 2. Hasil identifikasi senyawa flavonoid metode KLT

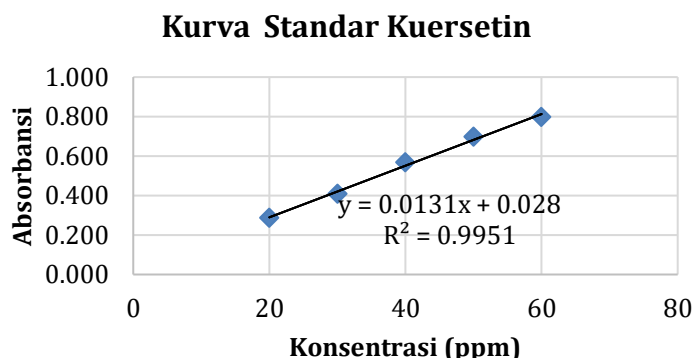
Ekstrak	Rf		Sinar tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	Ket
	Baku	Sampel				
Daun Alpukat	0,377	0,283	Semua bercak berwarna kuning	Semua bercak dapat meredam	Semua bercak berfluoresensi	+
		0,434				
		0,603				
		0,774				
		0,943				
Daun Pucuk Merah	0,339	0,264	Semua bercak berwarna kuning	Semua bercak dapat meredam	Semua bercak berfluoresensi	+
		0,528				
		0,716				
		0,811				

### Hasil Analisis Kuantitatif Senyawa Flavonoid Total

#### Penetapan kpanjang gelombang maksimum

Hasil lamda maksimum yang diperoleh sebesar 426 nm. Hasil uji menunjukkan bahwa OT kuersetin berada pada rentang 24-30 menit.





Gambar 1. Kurva baku kuersetin

### Penetapan kadar flavonoid total

Hasil pengujian menunjukkan bahwa kandungan ekstrak daun alpukat jauh lebih tinggi dibandingkan ekstrak daun pucuk merah.

Tabel 3. Hasil uji kadar flavonoid total

Sampel	Kadar±SD (mgQE/g)
Ekstrak daun alpukat	45,20±0,55*
Ekstrak daun pucuk merah	14,46±1,13*

### Hasil Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

#### *operating time*

Penentuan *operating time* dilakukan menggunakan larutan DPPH dengan panjang gelombang 516 nm selama 60 menit.

Tabel 4. Hasil *operating time*

Sampel	Waktu (menit)
Ekstrak Daun Alpukat	38 - 42
Ekstrak Daun Pucuk Merah	24 - 50
Ekstrak Perbandingan 1:3	15 - 60
Ekstrak Perbandingan 2:2	45 - 60
Ekstrak Perbandingan 3:1	49 - 55
Kuersetin	35 - 43

### Aktivitas antioksidan

Hasil data yang diperoleh pada semua perbandingan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dari senyawa tunggal-tunggalnya, nilai IC<sub>50</sub> semua perbandingan lebih rendah dari yang tunggalnya.

Tabel 5. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan

Sampel	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak Daun Alpukat	12,16 <sup>acdef</sup>
Ekstrak Daun pucuk merah	18,78 <sup>abdef</sup>
Perbandingan ekstrak daun alpukat dan ekstrak daun pucuk merah (1:3)	16,53 <sup>abcf</sup>
Perbandingan ekstrak daun alpukat dan ekstrak daun pucuk merah (2:2)	15,50 <sup>abcf</sup>
Perbandingan ekstrak daun alpukat dan ekstrak daun pucuk merah (3:1)	10,49 <sup>abcde</sup>
Kuersetin	8,58 <sup>bcdef</sup>



#### 4. PEMBAHASAN

##### Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan untuk mendapatkan kebenaran mengenai identitas dari tanaman yang akan digunakan dalam penelitian sehingga dapat menghindari kesalahan dalam pengumpulan sampel. Determinasi dilakukan dengan memeriksa kesamaan morfologi tanaman yang akan diteliti dengan kunci determinasi. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar tanaman alpukat (*Persea americana* Mill).

Identifikasi dilakukan dengan memeriksa kesamaan morfologi tanaman yang akan diteliti dengan kunci determinasi. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp).

##### Penetapan susut pengeringan serbuk

Menentukan jumlah maksimum senyawa yang hilang selama proses pengeringan merupakan tujuan perhitungan kehilangan akibat pengeringan untuk bubuk sederhana atau halus. Serbuk daun alpukat diperoleh hasil 8,76% dan serbuk pucuk merah 8,90% menunjukkan bahwa kedua serbuk telah memenuhi ambang batas <10%

##### Penetapan Kadar Air

Kadar air memiliki persyaratan standar parameter yang berlaku yaitu tidak lebih dari 10 %. Hasil parameter yang diperoleh dari ekstrak daun alpukat dan ekstrak daun pucuk merah menunjukkan bahwa ekstrak telah memenuhi syarat standar kadar air. Metode oven yang digunakan memiliki kelebihan seperti akurat dan presisi tinggi, mudah diterapkan dengan biaya lebih rendah. Metode ini membantu mencegah pertumbuhan mikroorganisme dan menjaga stabilitas senyawa aktif dalam ekstrak, serta hasil yang diperoleh sesuai dengan standar Farmakope Herbal Indonesia.

##### Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan KLT

Kromatografi lapis tipis adalah teknik pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolarannya. Pemilihan eluen berdasarkan sifat kepolaran pelarut yang mana senyawa aktif yang bersifat polar akan lebih mudah terelusi oleh fase gerak yang bersifat polar daripada fase gerak yang bersifat non polar. Sebaliknya, senyawa non-polar akan mudah terelusi oleh fase gerak non-polar dibandingkan bersifat polar [21].

Hasil analisis dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak daun alpukat (*Persea americana*) dan daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium*). Identifikasi dilakukan dengan membandingkan nilai Rf bercak sampel terhadap standar baku flavonoid. Standar yang digunakan dalam penelitian ini memiliki nilai Rf sebesar 0,377 untuk daun alpukat dan 0,339 untuk daun pucuk merah[22].

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan pereaksi semprot sitroborat yang hasilnya muncul bercak berwarna berfluoresensi kuning kehijauan pada sinar UV366 sama seperti kontrol positif (kuersetin), sehingga kemungkinan ekstrak mengandung senyawa flavonoid[23]. Bercak setelah disemprot tidak mengalami pemisahan, sehingga dimungkinkan golongan senyawa bersifat polar

##### Uji Analisis Kuantitatif Senyawa Flavonoid Total

##### Penetapan kurva baku kuersetin



Penetapan kurva baku kuersetin dimulai dengan pengujian lamda maksimum kuersetin guna memperoleh panjang gelombang yang mampu memberikan kemampuan absorpsi sampel paling maksimum. Hasil menunjukkan adanya kelinieran dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa lamda maksimum kuersetin berada pada lebih kurang 430 nm[24]. Hasil ini menandakan bahwa sampel yang digunakan adalah benar kuersetin, sebab memiliki hasil yang identik. Dalam penentuan kadar, kurva baku yang valid memiliki koefisien korelasi lebih besar atau sama dengan 0,997 dan nilai koefisien determinan mendekati 1.

Pengujian dilanjutkan dengan mencari nilai *operating time* (OT) untuk mengetahui waktu teroptimal untuk melakukan pembacaan absorbansi yang diamati dari waktu pada absorbansi paling stabil[25]. Hasil uji menunjukkan bahwa OT kuersetin berada pada rentang 24-30 menit. Berdasarkan data yang telah didapatkan, maka dapat dilakukan uji penetapan kadar kuersetin sebagai baku pembanding dalam uji flavonoid total, sebab kuersetin merupakan golongan flavonoid yang cukup sering ditemui dalam suatu tanaman herbal Indonesia. Penetapan kurva baku kuersetin diperoleh hasil persamaan  $y = 0,0131X + 0,028$  dan nilai  $R^2 = 0,9951$ . Nilai  $R^2$  mendekati nilai 1 yang berarti hasil kurva baku mendekati nilai sempurna, semakin nilai tersebut mendekati nilai 1, maka hasil menunjukkan semakin linier [26].

#### Penetapan kadar flavonoid

Kandungan total flavonoid ditentukan menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis karena flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak [27]. Prinsip uji flavonoid total ini, yaitu pembentukan kompleks stabil dengan C-4 gugus keto, serta pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Penambahan reagen  $AlCl_3$  membantu pembentukan kompleks asam yang stabil dengan gugus ortohidroksil pada cincin A- atau B- dari senyawa flavonoid[28]. Baku standar kuersetin dipilih sebagai larutan standar karena merupakan salah satu senyawa golongan flavonoid (flavonol) yang dapat bereaksi dengan  $AlCl_3$  membentuk kompleks.

Daun alpukat dan daun pucuk merah dipercaya secara empiris memiliki senyawa flavonoid yang tinggi. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak daun alpukat dan ekstrak pucuk merah mengandung flavonoid. Hasil kandungan ekstrak daun alpukat jauh lebih tinggi dibandingkan ekstrak daun pucuk merah. Perbedaan antara kedua sampel tersebut dinyatakan signifikan berdasarkan uji *one way anova* (Sig. <0,05), uji ini dipilih setelah data dari kadar flavonoid total ekstrak daun alpukat dan ekstrak daun pucuk merah terbukti terdistribusi secara normal dan homogen (Sig. >0,05).

Perbedaan kadar flavonoid yang signifikan disebabkan karena tanaman memiliki persamaan klasifikasi yang cukup tinggi, yaitu terletak pada sub kingdom, yaitu *Tracheobiota*. Perbedaan klasifikasi ini dapat mempengaruhi perbedaan senyawa yang dikandung tanaman tersebut. Ekstrak daun pucuk merah memiliki hasil kadar flavonoid total yang lebih rendah dapat disebabkan karena adanya degradasi dan kekurangsesuaian dalam pengkondisian pH yang menyebabkan senyawa flavonoid, misal seperti antosianin yang cukup tinggi terkandung dalam daun pucuk merah menjadi rusak. Senyawa antosianin cukup sensitif terhadap temperatur dan pH [29]. Berbeda dengan ekstrak daun alpukat, ekstrak daun



alpukat tidak mengandung senyawa antosianin, sehingga memiliki potensi terdegradasi lebih kecil.

Kandungan flavonoid total yang relatif tinggi pada ekstrak daun alpukat dan ekstrak daun pucuk merah sangat menjanjikan untuk dapat digunakan sebagai agen terapi pengobatan. Senyawa flavonoid dipercaya dapat mengatasi berbagai masalah, misal meredam ROS di dalam tubuh yang terlalu tinggi, menurunkan nilai kadar gula darah, mengatasi depresi, mampu dijadikan sebagai anti-bakteri, dan lain sebagainya.

### Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

#### Panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH dilakukan ditujukan untuk mengidentifikasi daerah serapan yang diperoleh berupa nilai absorbansi. Panjang gelombang maksimum digunakan sebagai fundamental dalam pengukuran absorbansi dari aktivitas antioksidan. Kurva absorbansi datar di sekitar panjang gelombang maksimum terbentuk jika hukum *Lamber-Beer* terpenuhi. Kurva ini berpotensi meminimalisir terjadinya kesalahan dalam pengukuran saat melakukan replikasi[30]. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum diperoleh 516 nm. Penelitian sebelumnya oleh Hasanah *et al*, (2017) terhadap uji aktivitas antioksidan diperoleh hasil panjang gelombang maksimum DPPH sebesar 516,8 nm. Aktivitas antioksidan terlihat dari penurunan serapan larutan DPPH akibat adanya penambahan sampel[31].

#### Uji aktivitas antioksidan

Hasil data yang diperoleh pada penelitian ini pada semua perbandingan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dari senyawa tunggalnya. Kombinasi pada perbandingan 3:1 memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat dibandingkan dengan kombinasi lainnya, karena lebih banyak ekstrak daun alpukat dari pada ekstrak daun pucuk merah, sehingga ketika dikombinasikan memiliki aktivitas yang sangat kuat, tetapi pada perbandingan 1:3 dan 2:2 memiliki nilai  $IC_{50}$  dengan selisih yang tidak jauh beda, hal ini karena terjadi kesalahan dalam proses penelitian yaitu saat pemipetan masih kurang akurat, kekurangan ataupun kelebihan, sehingga nilai  $IC_{50}$  pada perbandingan 1:3 dan 2:2 memiliki selisih yang sedikit dan semua dinyatakan aktivitasnya sangat kuat.

Hasil pengujian statistik menunjukkan hasil bahwa data terdistribusi secara normal dan homogen (Sig. >0,05). Hasil *one way anova* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan (Sig. <0,05) dan dilanjutkan *post hoc tukey* guna mengetahui spesifikasi perbedaan tersebut. Sampel uji ekstrak daun alpukat:ekstrak daun pucuk merah dengan perbandingan 3:1 menunjukkan hasil  $IC_{50}$  terbaik, yaitu sebesar 10,49 ppm dengan kategori yang sangat kuat.

Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh kadar flavonoid dari masing-masing sampel uji. Kadar flavonoid dari daun alpukat lebih tinggi daripada daun pucuk merah. Ketika dilakukan pengujian menunjukkan bahwa kombinasi dari kedua sampel memberikan efek yang sinergis. Tingginya kadar flavonoid total pada daun alpukat serta adanya kandungan antosianin pada daun pucuk merah yang potensial dalam meredam ROS dapat mengoptimalkan peredaman DPPH sebagai agen radikal bebas. Kandungan antosianin pada daun pucuk merah cukup tinggi, yaitu 257,83 mg/l [29]. Antosianin memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang berfungsi sebagai



senyawa penghancur dan penangkal radikal bebas alami. Semakin banyak gugus hidroksil fenolik dalam struktur antosianin dapat meningkatkan fungsi antioksidannya [32]. Sifatnya yang sensitif rentan mengalami kerusakan ketika dilakukan pengolahan tidak seperti ekstrak daun alpukat yang cenderung lebih stabil.

## 5. KESIMPULAN

Kadar flavonoid total ekstrak daun alpukat dan daun pucuk merah yaitu  $45,20 \pm 0,55$  mgQE/g dan  $14,46 \pm 1,13$  mgQE/g. Nilai  $IC_{50}$  ekstrak daun alpukat 12,53 ppm, ekstrak pucuk merah 18,69 ppm, perbandingan 1:3 sebesar 16,30 ppm, 2:2 sebesar 15,43 ppm, dan 3:1 sebesar 10,50 ppm yang merupakan antioksidan yang paling kuat.

## REFERENCES

- [1] M. Ibroham, S. Jamilatun, and D. K. Ika, "A Review: Potensi Tumbuhan-Tumbuhan Di Indonesia Sebagai Antioksidan Alami," *Semin. Nas. Penelit. LPPM UMJ*, pp. 1–13, 2022, [Online]. Available: <http://jurnal.umj.ac.id/index.php/semnaslit>
- [2] C. Castaño Amores and P. J. Hernández Benavides, "Activos antioxidantes en la formulación de productos cosméticos anti envejecimiento," *Ars Pharm.*, vol. 59, no. 2, pp. 77–84, 2018, doi: 10.30827/ars.v59i2.7218.
- [3] C. Rodríguez-García, C. Sánchez-Quesada, J. J. Gaforio, and J. J. Gaforio, "Dietary flavonoids as cancer chemopreventive agents: An updated review of human studies," *Antioxidants*, vol. 8, no. 5, pp. 1–23, 2019, doi: 10.3390/antiox8050137.
- [4] Nofita, Y. Nasution, and A. M. Ulfa, "Formulasi Sediaan Masker Gel Peel Off Dari Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dengan Kombinasi Basis PVA Dan HPMC Sebagai Antioksidan," *J. Anal. Farm.*, vol. 8, no. 2, pp. 264–278, 2023.
- [5] M. Grau, B. Bölck, D. A. Bizjak, C. J. A. Stabenow, and W. Bloch, "The red-vine-leaf extract AS195 increases nitric oxide synthase-dependent nitric oxide generation and decreases oxidative stress in endothelial and red blood cells," *Pharmacol. Res. Perspect.*, vol. 4, no. 1, pp. 1–13, 2016, doi: 10.1002/prp2.213.
- [6] F. S. Rikantara, M. R. Utami, and A. Kasasiah, "Aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan metode DPPH," *Lambung Farm.*, vol. 3, no. 2, pp. 124–133, 2022.
- [7] Kemenkes RI, *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017.
- [8] R. Novriyanti, N. E. K. Putri, and L. Rijai, "Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Menggunakan Metode DPPH," *Proceeding Mulawarman Pharm. Conf.*, 2021.
- [9] A. M. Sukiman, R., A. Ali., "Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Bulu Babi (*Diadema setosum*). Jurusan Biologi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Makassar. halaman 633-634. Prosiding Seminar Nasional Biologi VI," *Pros. Semin. Nasioal Biol. VI*, no. 1, pp. 631–635, 2015.



- [10] S. Y. Anggraeni, "Pengaruh Kopigmentasi Quercetin terhadap Stabilitas Panas Antosianin Daun Miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth) Var. Crispa = Copigmentation Effect of Quercetin on Temperature Stability of Anthocyanin Extract of (*Coleus scutellarioides* L. Benth) Var. Cr," Universitas Kristen Satya Wacana, 2017.
- [11] E. Y. Nurmalasari, S. Luliana, and S. Wahdaningsih, "Identifikasi Senyawa Fenol dan Flavonoid dari Berbagai Bagian Tanaman Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis," *J. Mhs. Farm.*, vol. 4, pp. 1–5, 2019.
- [12] E. D. Wulandari *et al.*, "Analisis Kadar Vitamin C pada Minuman Kemasan dengan Metode Spektrofotometri UV - Vis," *J. Ilm. Farm. Simplisia*, vol. 4, no. 1, pp. 35–42, 2024.
- [13] W. O. Risma, Z. Abidin, and Rahmawati, "Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis," *Pharm. Sci. J.*, vol. 1, no. 3, pp. 216–223, 2023.
- [14] E. N. Qomaliyah, N. Indriani, A. Rohma, and R. Islamiyati, "Skrining Fitokimia, Kadar Total Flavonoid dan Antioksidan Daun Cocor Bebek Phytochemical Screening, Total Flavonoids and Antioxidants of *Kalanchoe Pinnata* Linn. Leaves," *Curr. Biochem.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–10, 2023.
- [15] Y. Sari, "Pengaruh Variasi Waktu Panen Terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon Aristatus* (Blume) Miq.)," Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda, 2023.
- [16] D. Susiloningrum and D. E. M. Sari, "Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Temu Mangga ( *Curcuma Mangga* Valetton & Zijp ) Dengan Variasi Konsentrasi Pelarut," *Cendekia J. Pharm.*, vol. 5, no. 2, pp. 117–127, 2021, doi: 10.31596/cjp.v5i2.148.
- [17] I. M. G. A. Kusuma and K. W. Astuti, "Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Daun Sambiloto dan Ekstrak Daun Pisang Batu Melalui Metode DPPH," *Pros. Work. dan Semin. Nas. Farm.*, vol. 2, 2023, doi: 10.24843/wsnf.2022.v02.p51.
- [18] D. S. Aiyuba, A. N. Rakhmatullah, and R. Restapaty, "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun *Ramania* (*Bouea macrophylla* Griffith.) Menggunakan Metode DPPH," *J. Surya Med.*, vol. 9, no. 1, pp. 81–87, 2023, doi: 10.33084/jsm.v9i1.5150.
- [19] Pinta, W. A. Lolo, and P. V. Y. Yamlean, "Identifikasi Kandungan Fitokimia dan Uji Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum Ekstrak Etanol Daun Pangi (*Pangium edule* Reinw. ex Blume) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Eschericia Coli*," *Pharmacon J. Ilm. Farm.*, vol. 6, no. 3, pp. 260–267, 2017.
- [20] Widiawati and U. L. Qodri, "Analisis Fitokimia Dan Penentuan Kadar Fenolik Total Pada Ekstrak Etanol Tebu Merah Dan Tebu Hijau (*Saccharum Officinarum* L.) Phytochemical Analysis and Determination of Total Phenolic Content in Ethanol Extract of Red Sugar Cane and Green Sugar Cane (Sac," *J. Farm. Tinctura*, vol. 4, no. 2, pp. 91–102, 2023.
- [21] R. T. Prameswari, "Perbandingan Golongan Senyawa Kimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Putri Malu (*Mimosa Pudica*) Yang Diisolasi Dengan Metode Maserasi Dan Soxhletasi," Universitas Pendidikan Ganesha,



- 2023.
- [22] S. I. Lestari and B. Santoso, "ANALISIS KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) DAN AKTIVITAS PENANGKAPAN RADIKAL BEBAS (PRB) EKSTRAK ETANOL LEMPUYANG EMPRIT (*Zingiber americans*) HASIL MASERASI SEKALI DAN MASERASI BERULANG," *Biomedika*, vol. 13, no. 1, pp. 76–82, 2021, doi: 10.23917/biomedika.v13i1.11439.
- [23] G. Li *et al.*, "Extraction of flavonoids from Citri Reticulatae Pericarpium Viride using a deep eutectic solvent," *RSC Adv.*, vol. 12, no. 41, pp. 26975–26988, 2022, doi: 10.1039/d2ra04276b.
- [24] V. S. Putri, "Validation of Uv-Vis Spectrophotometric Method To Determine Drug Release of Quercetin Loaded-Nanoemulsion," *Indones. J. Pharm.*, vol. 34, no. 2, pp. 272–279, 2022, doi: 10.22146/ijp.4454.
- [25] C. Van Tran and J. R. Vargas, "Determination of specific absorbance ( $A_{\lambda}$ ) for six psychoactive drugs encountered in forensic toxicology," *J. Anal. Toxicol.*, vol. 44, no. 6, pp. 531–540, 2021, doi: 10.1093/JAT/BKZ091.
- [26] N. Hasibuan, Y. Yurmaini, and E. Erliyanti, "Pengaruh Perubahan Lingkungan Terhadap Kinerja Karyawan Pada Bank Syariah Indonesia," *Expens. J. Akunt. dan Keuang.*, vol. 2, no. 1, pp. 136–148, 2023, doi: 10.24127/exclusive.v2i1.3697.
- [27] Harborne, *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Edisi I. Bandung: ITB, 1987.
- [28] A. M. Arnold, Z. C. Kennedy, and J. R. Hutchison, "A simple, cost-effective colorimetric assay for aluminum ions via complexation with the flavonoid rutin," *PeerJ Anal. Chem.*, vol. 4, p. e19, 2022, doi: 10.7717/peerj-achem.19.
- [29] O. N. E. Putri, "ANALISIS KANDUNGAN KLOROFIL DAN SENYAWA ANTOSIANIN DAUN PUCUK MERAH (*Syzygium oleana*) BERDASARKAN TINGKAT PERKEMBANGAN DAUN YANG BERBEDA (Sebagai Bahan Penuntun Praktikum Biologi Materi Metabolisme pada Peserta Didik SMA Kelas XII Semester Ganjil)," pp. 1–139, 2019.
- [30] M. Mamouei, K. Budidha, N. Baishya, M. Qassem, and P. A. Kyriacou, "An empirical investigation of deviations from the Beer–Lambert law in optical estimation of lactate," *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 1, pp. 1–9, 2021, doi: 10.1038/s41598-021-92850-4.
- [31] M. Hasanah, B. Maharani, and E. Munarsih, "Daya Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea Robusta*) Terhadap Pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)," *Indones. J. Pharm. Sci. Technol.*, vol. 4, no. 2, p. 42, 2017, doi: 10.15416/ijpst.v4i2.10456.
- [32] M. Priska, N. Peni, L. Carvallo, and Y. D. Ngapa, "Review: Antosianin dan Pemanfaatannya," *Cakra Kim. (Indonesian E-Journal Appl. Chem.)*, vol. 6, no. 2, pp. 79–97, 2018.

