

PENETAPAN KADAR FLAVONOID EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) DENGAN MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis

Wa Ode Risma^{1*}, Zainal Abidin², Rahmawati³

¹²³Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Sulawesi Selatan

*Corresponding author : Zainal Abidin

Email : zainal.abidin@umi.ac.id

ABSTRACT

Avocado (*Persea americana* Mill.) is a plant that can thrive in the tropics and its use as a medicinal plant has been widely used. Avocado seeds (*Persea americana* Mill.) are plants that contain flavonoid compounds. This study aims to determine the levels of flavonoids in the ethanol extract of avocado seeds (*Persea americana* Mill.) using the UV-Vis spectrophotometry method. This research was conducted experimentally with qualitative and quantitative methods using UV-Vis spectrophotometry. The results showed that the average flavonoid content of the ethanol extract of avocado seeds was 46.953 mgQE/g extract. From the results of the study it can be concluded that the ethanol extract of avocado seeds (*Persea americana* Mill.) contains flavonoid compounds.

Keywords: *Avocado seeds (Persea americana* Mill.); *Flavonoid; UV-Vis Spectrophotometry.*

ABSTRAK

Alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan tanaman yang dapat tumbuh subur di daerah tropis dan penggunaannya sebagai tanaman obat telah digunakan secara luas. Biji alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan tanaman yang mengandung senyawa flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan metode kualitatif dan kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata kadar flavonoid ekstrak etanol biji alpukat adalah 46,953 mgQE/g ekstrak. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) mengandung senyawa flavonoid.

Kata Kunci : *Biji Alpukat (Persea americana* Mill.); *Flavonoid; Spektrofotometri UV-Vis.*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati. Hingga saat ini, khasiat 7.000 tumbuhan telah didokumentasikan, namun kurang dari 300 tumbuhan yang biasa digunakan sebagai bahan baku industri farmasi [1].

Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang telah dilaporkan memiliki banyak manfaat sebagai obat tradisional. Flavonoid pada tumbuhan terdapat dalam berbagai jenis campuran dengan senyawa lain, dan jarang dalam bentuk tunggal dalam jaringan tumbuhan [2]. Beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak etanol biji alpukat mengandung beberapa metabolit sekunder, yaitu alkaloid, triterpenoid, tanin, flavonoid, dan saponin [3].

Flavonoid adalah senyawa

turunan polifenol yang dapat ditemukan dalam buah-buahan dan sayuran. Struktur kimia flavonoid yaitu terdiri atas 2 cincin aromatik yang dihubungkan oleh 3 jembatan karbon. Flavonoid sendiri terdiri atas beberapa subkelas yaitu flavonol, kalkon, isoflavon, flavon, dan flavanon. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas sebagai antikanker, antiangiogenic, antiinflamasi, antioksidasi, anti alergi, dan antimikroba [4].

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian analisis kadar flavonoid ekstrak etanol biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental di Laboratorium dengan melakukan penentuan kadar senyawa flavonoid dari biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.) secara spektrofotometri UV-Vis. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi, Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia. Populasi yang digunakan adalah biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.) yang bersumber dari Maumere, Nusa Tenggara Timur (NTT) dan sampel yang digunakan adalah ekstrak etanol biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.)

Alat yang digunakan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperangkat alat maserasi, blender, mikropipet, spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific E. 201), rak tabung, rotary evaporator (Ika® RV 10 basic), seperangkat alat gelas (Pyrex), timbangan analitik (AND), dan water bath (memmert).

Bahan yang digunakan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah $AlCl_3$, aquadest, etanol 96%, kalium asetat, kuersetin, dan NaOH.

Analisis Kualitatif

Ekstrak etanol biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.) ditetesi dengan larutan NaOH 10%. Setelah itu dilakukan pengamatan perubahan warna larutan. Perubahan warna menjadi warna kuning menandakan adanya senyawa flavonoid dalam larutan ekstrak tersebut [5].

Analisis Kuantitatif

a. Penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) kuersetin

Sebanyak 10 mg kuersetin ditimbang lalu dilarutkan dengan 10 mL etanol ke dalam labu ukur 10 mL, untuk memperoleh larutan stok 1000 ppm. Dari larutan stok kuersetin 1000

ppm dibuat larutan standar kuersetin 100 ppm. Larutan standar kuersetin 50 ppm dibuat dari larutan stok 100 ppm. Pipet 1 mL larutan (50 ppm) kemudian ditambahkan 1 mL AlCl₃ 2% dan 1 mL kalium asetat 120 mM, diinkubasi selama 30 menit. Kemudian merunning larutan kuersetin tersebut pada range panjang gelombang 400-800 nm. Hasil running menunjukkan panjang gelombang maksimum 430 nm [6].

b. *Pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin*

Sebanyak 10 mg kuersetin ditimbang lalu dilarutkan dengan 10 mL etanol ke dalam labu ukur 10 mL, untuk memperoleh larutan stok 1000 ppm, kemudian siapkan larutan standar kuersetin 100 ppm dari larutan stok kuersetin 1000 ppm. Dari larutan tersebut di pipet 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; dan 3 mL, dicukupkan masing-masing dengan etanol hingga volume 5 mL dan dihomogenkan. Sehingga diperoleh konsentrasi 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm. Dari masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan 1 mL AlCl₃ 2% dan 1 mL kalium asetat 120 mM, setelah itu sampel diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 430 nm [6].

c. *Analisis kadar flavonoid dalam sampel ekstrak etanol biji buah alpukat (Persea americana Mill.)*

Ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) ditimbang sebanyak 10 mg, dan dilarutkan dalam 10 mL etanol hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan tersebut dipipet sebanyak 2 mL dicukupkan dengan 5 mL etanol sehingga dihasilkan konsentrasi 400 ppm. Larutan (400 ppm) dipipet sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan 1 mL AlCl₃ 2% dan 1 mL kalium asetat 120 mM dan sampel diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya diabsorbansi sampel tersebut diukur pada panjang gelombang maksimum 430 nm. Sampel dibuat dalam tiga replikasi [6].

Analisis Data

Konsentrasi flavonoid total dinyatakan sebagai mg ekivalen kuersetin per gram ekstrak dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Total flavonoid} = \frac{C.V.FP}{W}$$

Keterangan :

C = konsentrasi flavonoid (nilai x), V = volume larutan sampel (L), Fp = faktor pengencer, W = berat sampel yang digunakan (g)

HASIL DAN DISKUSI

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa polifenol yang banyak terdapat pada tumbuhan dan memiliki berbagai aktivitas biologis [7]. Struktur kimia flavonoid yaitu terdiri atas 2 cincin aromatik yang dihubungkan oleh 3 jembatan karbon. Flavonoid sendiri terdiri atas beberapa subkelas yaitu flavonol, kalkanon, isoflavon, flavon, dan flavanon. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas sebagai antikanker, antiangiogenik, antiinflamasi, antioksidan, anti alergi, dan antimikroba [4].

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu ekstrak etanol biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.) yang diperoleh dari Maumere, provinsi Nusa Tenggara Timur. Pada biji alpukat ditemukan adanya beberapa metabolit sekunder yaitu alkaloid, triterpenoid, tanin, flavonoid, dan saponin [3].

Biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.) diekstraksi dengan cara meserasi yaitu sebanyak 100 g sampel diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama 3x24 jam, kemudian dilakukan remaserasi dengan menggunakan etanol 96%. Maserasi dipilih karena metode ini dapat digunakan untuk analit baik yang tahan terhadap pemanasan maupun yang tidak tahan terhadap pemanasan [8] dan juga peralatan serta prosedur yang digunakan lebih

sederhana, mudah, dan tanpa pemanasan, karena kandungan flavonoidnya bisa berkurang jika digunakan pemanasan [9].

Ekstraksi menggunakan pelarut etanol karena merupakan cairan penyari yang lebih selektif, tidak beracun, netral, absorbansinya baik, etanol dapat bercampur dengan air, dan proses pemekatan membutuhkan panas yang lebih sedikit [10]. Kemudian ekstrak etanol diuapkan dengan menggunakan alat rotary vacuum evaporator sehingga diperoleh ekstrak etanol kental. Adapun ekstrak etanol kental yang didapatkan dari maserasi biji alpukat (*Persea americana* Mill.) sebesar 11,8702 gram dengan persen rendamen ekstrak yaitu sebesar 11,8702% (b/b) (dapat dilihat pada tabel 1.).

Untuk mengetahui kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak etanol biji buah alpukat yang diperoleh maka dilakukan identifikasi dengan skrining fitokimia dengan menggunakan pereaksi NaOH 10% yang akan membentuk warna kuning apabila mengandung flavonoid. Warna kuning disebabkan karena turunan senyawa flavon/flavonol akan mengalami penguraian basa menjadi molekul seperti asetofenon yang berwarna kuning karena adanya pemutusan ikatan pada struktur isoprene [11]. (dapat dilihat pada tabel 2).

Dalam penentuan kadar flavonoid digunakan larutan standar yaitu kuersetin. Penggunaan kuersetin sebagai larutan standar karena kuersetin merupakan salah satu flavonoid yang biasa digunakan sebagai standar dalam menentukan kadar flavonoid. Kuersetin adalah flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keton C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang berdekatan dengan flavon dan flavonol [12].

Sebelum dilakukan pengukuran, larutan kuersetin terlebih dahulu dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum pada range panjang gelombang 400-800 nm. Hasil dari pengukuran panjang gelombang maksimum ialah pada panjang gelombang 430 nm. Penetapan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk menentukan panjang gelombang yang dibutuhkan larutan kuersetin untuk mencapai serapan maksimum.

Selanjutnya pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin dengan deret konsentrasi 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm. Penggunaan deret konsentrasi bertujuan untuk menentukan kadar flavonoid menggunakan metode persamaan kurva baku untuk mendapatkan persamaan garis linear yang digunakan untuk menghitung konsentrasi flavonoid. Dari variasi konsentrasi tersebut, kemudian ditambahkan 1 mL AlCl₃ 2% yang berfungsi untuk pembentukan senyawa kompleks aluminium sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah *visible* (tampak) yang ditandai dengan larutan berwarna kuning, setelah itu tambahkan 1 mL kalium asetat yang bertujuan untuk mempertahankan panjang gelombang daerah *visible* (tampak). Setelah itu masing-masing konsentrasi tersebut diinkubasi selama 30 menit dimaksudkan agar reaksi berjalan sempurna, sehingga memberikan intensitas warna yang maksimal. Kemudian dilakukan pengukuran pada panjang gelombang maksimum 430 nm. Hasil pengukuran absorbansi deret konsentrasi larutan standar kuersetin dapat dilihat pada tabel 3.

Data absorbansi dari setiap seri konsentrasi yang telah didapatkan, kemudian dimasukkan pada aplikasi Microsoft excel agar didapatkan kurva baku yang sesuai beserta nilai r nya. Dari hasil pengukuran diperoleh nilai absorbansi untuk menghitung persamaan regresi kurva baku yaitu $y = 0,0126x - 0,0394$, dengan nilai koefisien determinasi (R^2) adalah 0,09932 dan koefisien korelasi (r) adalah 0,9966 menunjukkan linearitas yang baik, dimana nilai koefisien korelasi memenuhi syarat apabila $> 0,995$ (dapat dilihat pada gambar 1).

Setelah dilakukan pengukuran standar kuersetin selanjutnya dilakukan pengukuran pada sampel uji dengan konsentrasi 400 ppm yang ditimbang sebanyak 10 mg dibuat sebanyak 3 replikasi, dimana hasil pengukuran sampel uji kemudian akan diplotkan dengan hasil pengukuran standar asam tanat sehingga didapatkan kadar flavonoid dari ekstrak etanol biji

alpukat (*Persea americana* Mill.). Hasil yang diperoleh dari penetapan kadar flavonoid ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) adalah 46,953 mgQE/g ekstrak artinya tiap gram ekstrak etanol mengandung flavonoid sebesar 46,953 g yang setara dengan kuersetin (dapat dilihat pada tabel 4)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) mengandung senyawa flavonoid. Adapun kadar flavonoid pada ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki kadar flavonoid sebesar 46,953 mgQE/g ekstrak.

REFERENSI

- [1] Feliana K. Isolasi dan Elusidasi Senyawa Flavanoid dari Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Indonesia. Journal. 2018.
- [2] Djamil R, Bakriyyah F. Isolasi dan Identifikasi Jenis Senyawa Flavanoid dalam Fase n-Butanol Daun Murbei (*Morus alba* L.) secara Spektrofotometri. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2017 Sep 23;13(2):194-200.
- [3] Zuhida R, Tambunan HS. Pemanfaatan Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Sebagai Bahan Pembuat Pati. AGRIMUM: Jurnal Ilmu Pertanian. 2013;18(2).
- [4] Pujiastuti E, El'Zeba D. Perbandingan Kadar Flavanoid Total Ekstrak Etanol 70% dan 96% Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan Spektrofotometri. Cendekia Journal of Pharmacy. 2021 Jun 1;5(1):28-43.
- [5] Widyasari R, Fadli F, Handayani S. Penetapan Kadar Flavanoid Total Ekstrak Metanol Kulit Jeruk Sambal secara Spektrofotometri UV-Visibel. Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian. 2020 Mar 31;4(2):111-8.
- [6] Arifin B, Ibrahim S. Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavanoid. Jurnal Zarah. 2018 Apr 1;6(1):21-9.
- [7] Vifta RL, Mafitasari D, Rahman E. Skrining Antioksidan dan Aktifitas Antidiabetes Ekstrak Terpurifikasi Etil Asetat Kopi Hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) secara Spektrofotometri UV-Vis. Jurnal Zarah. 2020 Oct 13;8(2):62-8.
- [8] Aminah A, Tomayahu N, Abidin Z. Penetapan Kadar Flavanoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. Jurnal Fitofarmaka
- [9] Indonesia. 2017 SSa'adah H, Nurhasnawati H. Perbandingan Pelarut Etanol dan Air pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. Jurnal Ilmiah Manuntung. 2015;1(2):149-53.ep 7;4(2):226-30.
- [10] Azizah DN, Kumolowati E, Faramayuda F. Penetapan Kadar Flavanoid Metode AlCl₃ pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi. 2014 Dec 1;2(2):45-9.
- [11] Sari DY. R, W., & AN, T.(2021). Penentuan Kadar Flavanoid Total Ekstrak Etanol Jamur Susu Harimau (*Lignosus rhinocerus*). Jurnal Farmasi Udayana.;10(1):23-30.

TABEL

Tabel 1. Hasil perhitungan persen rendamen ekstrak etanol biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.)

Sampel	Berat simplisia kering (g)	Berat ekstrak etanol (g)	% Rendemen
Biji Alpukat	100	11,8702	11,8702

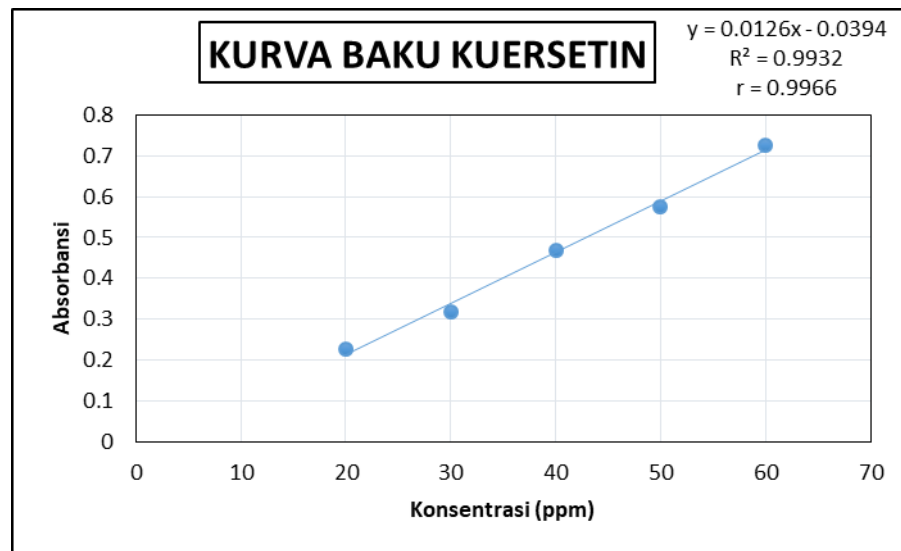
Tabel 2. Hasil uji kualitatif senyawa flavonoid ekstrak etanol biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.)

Sampel	pereaksi	Warna	Hasil pengamatan	Berdasarkan literatur
Ekstrak etanol biji alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	NaOH 10%	Kuning	Positif (+)	Berwarna kuning (Widyasari and Handayani, 2020)

Tabel 3. Hasil pengukuran larutan standar kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
20	0,228
30	0,317
40	0,467
50	0,574
60	0,727

GAMBAR



Gambar 1. Hasil pengukuran kurva baku kuersetin pada panjang gelombang maksimum 430 nm