PENETAPAN KADAR METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK ETANOL DAUN ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Muthmainah Tuldjanah[1], Giska Refanti Fajarizki[2], Joni Tandi[2] , Magfirah[2]
[1]Program Studi D3 Farmasi, STIFA Pelita Mas Palu
[2]Program Studi S1 Farmasi, STIFA Pelita Mas Palu

Email: giskarefantifajarizki@gmail.com

ABSTRACT

Indonesia is a country with abundant biodiversity. A plant that can be used as amedicine is avocado (Perseaamericana Mill.). This study aims to determine the metabolite compounds contained in avocado leaves and the total levels of secondary metabolites. Avocado leaf extraction used maceration method with 96% ethanol solvent to obtain the filtrate. The filtrate obtained was concentrated using a rotary evaporator at a temperature of 60°C to obtain a concentrated extract. The extract obtained was carried out with a qualitative test for phytochemical screening, positive results containing alkaloids formed orange color, flavonoids formed yellow color, saponins formed foam and tannins formed blackish blue color. While the test for confirmation of phytochemical compounds using thin layer chromatography, positive results contained alkaloids, flavonoids and tannins, each of which had Rf values of 0.6 cm, 0.8 cm and 0.91 cm. Then for the quantitative test of alkaloid compounds using caffeine equivalent test parameters, flavonoids using quercetin equivalent test parameters, saponins using gallic acid equivalent test parameters and tannins using tannic acid equivalents with each test result of 0.187% w/w 2.183 w/w 0.015% w/w and 0.019% w/w using UV-Vis spectrophotometry method.

***Keywords**: Ethanol Extract Avocado Leaves, Qualitative and Quantitative Analysis, Secondary Metabolites, UV-Vis Spectrophotometry*

ABSTRAK

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati yang melimpah. Alpukat merupakan tanaman yang bisa dipakai untuk obat (*Persea americana* Mill.) Penelitian memiliki tujuan agar mengetahui senyawametabolit yang terkandung didalam daun alpukat dan kadar total metabolit sekunder. Metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% untuk mengekstraksi daun alpukat agar memproleh filtrat. Filtrat yang didapatkan dilakukan pemekatan memakai rotary evaporator disuhu 60°C sampai ekstrak pekat didapatkan.Dilakukan uji kualitatif penapisan fitokimia pada ekstrak yang diperoleh, hasil positif mengandung alkaloidmembentuk warna jingga, flavonoidmembentuk warna kuning, saponinterbentuk busa dan tannin terbentuk warna biru kehitaman.Sedangkan uji penegasan senyawa fitokimia menggunakan kromatografi lapis tipis, hasil positif mengandung alkaloid,flavonoid dan tanin yang sendiri-sendirimempunyai nilai Rf sebesar 0,6 cm 0,8 cm dan 0,91cm. Kemudian untuk uji kuantitatif senyawa alkaloid memakai parameter uji ekuivalen kafein, flavonoid memakai parameter uji ekuivalen kuersetin,saponin memakai parameter uji ekuivalen asam galat dan tanin menggunakan ekuivalen asam tanat dengan masing-masing hasil uji sebesar 0,187% b/b 2,183 b/b 0,015% b/b dan 0,019% b/b dengan memakai metode spektrofotometri UV-Vis.

Kata Kunci: Ekstrak Etanol Daun Alpukat, Analisis Kualitatif dan Kuantitatif, Metabolit Sekunder, Spektrofotometri UV-Vis.

PENDAHULUAN

Indonesia ialah negara dengan keanekaragaman hayati yang melimpah. Eksistensi hutan yang luas serta beriklim tropis merupakan penyebab tumbuhnya beraneka ragam flora di indonesia. Dari berbagai flora yang tumbuh di indonesia, ribuanya sudah diketahui masyarakat bermanfaat sebagai obat serta bisa menyembuhkan penyakit (Tandi *et al*., 2020).

Adapun tanaman yang bisa dipergunakan menjadi obat yaitu alpukat. Daun alpukat juga dapat digunakan sebagai obat diantaranya dapat mengobati penyakit seperti batu ginjal, menurunkan tekanan darah, hipertensi dan antibakteri (Rauf *et al*., 2017). Pada daun alpukat tidak hanya mengandung metabolit sekunder flavonoid tetapi juga terdapat alkaloid, saponin dan tanin.

Tidak esensialnya senyawa metabolit terhadap bertumbuhnya makhluk hidup dan dapat dijumpaI dengan wujud yang unik dinamakan metabolit sekunder. Fungsi metabolit sekunder pada tanaman sebagai atrakan, perlindungan dan adaptasi terhadap stress lingkungan, pertahanan terhadap patogen (Anggraito *et al*., 2018).

Penetapan kadar merupakan prosedur pengukuran property atau pun konsentrasi analit. Dimana penelitian ini memiliki hubungan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ada kandungan senyawa flavonoid, saponin, alkaloid serta tanin pada daun alpukat (*Persea americana* Mill.). Peneliti memperoleh kadar total flavonoid berkisar 2,183% b/b, dibanding kandungan penelitian sebelumnya senyawa flavonoid sebagai antioksidan kuat dengan lC_{50} 72,61 mg LG^{1}.Ekstrak daun alpukat dengan senyawa flavonoid dan aktivitas antioksidan yang kuat dapat dimanfaatkan dalam intervensi penyakit yang berhubungan dengan radikal bebas (Nurdin *et al*., 2018).

Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak daun alpukat mengandung zat fitokimia dengan antioksidan yang kuat dengan metode DPPH yang dapat digunakan untuk mencegah dan mengatasi stress oksidatif 72,61 mg LG-1 dan Vitamin C sebagai kontrol positif juga sangat kuat dengan LC50 (mg LG-1) sebesar 23.03. Berdasarkan penelitian tersebut didalam daun alpukat mengandung senyawa fitokimia yang berperan menjadi antioksidan kuat yaitu senyawa flavonoid, dimana senyawa flavonoid memiliki kemampuan untuk mengatur dan meningkatkan status oksidatif, sehingga dapat digunakan dalam pengobatan stress oksidatif, karena flavonoid mampu

memperbaiki kerusakan pada sel dikarenakan radikal bebas (Nurdin *et al*.,2018). Pada penelitian terdahulu memperoleh hasil bahwa ekstrak etanol daun alpukat ini menyatakan bahwasannya daun alpukat digunakan untuk antioksidan melalui akttivitas antiradikal, antioksidan yang tinggi diantaranya total fenol sebesar 23,28 mg/g, total flavonoid 93,97 mg/g dan total tanin 9,47% mg/g (Widarta *et al*., 2018). Penelitian sebelumnya juga menunjukan bahwa daun alpukat mempunyai nilai LC50 24,863 µg/ml sebagai aktivitas antioksidan serta mempunyai kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin serta saponin (Anggorowati *et al*., 2018).

Penelitian ini dapat dijadikan sumber pengetahuan ilmiah mengenai senyawa metabolit sekunder yang ada di dalam daun alpukat (*Persea americana* Mill.) serta menentukan kadar metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) secara spektrofotometri UV-Vis.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Chamber, batang pengaduk, corong kaca, corong pisah, gelas ukur, gelas kimia, kuvet, ayakan nomor 40 mesh, labu takar, Lempeng KLT, magnetic stirer, oven, pipa kapiler, pipet tetes, blender, rak tabung, rotary vacum evaporator, cawan porselin, stopwatch , tabung reaksi , labu ukur, timbangan analitik, wadah maserasi, waterbath dan spektrofotometri UV-Vis.

Bahan

Alkohol, aluminium klorida, aluminium foil, aquades, asam galat, asam klorida 2 N, asam sulfat, dragendorff, etanol 96%, eter, etil asetat, $FeCl_3$ 1%, folin ciocalteu, tisu, kafein, kertas label, kertas saring, metanol, NaCl, n-heksan, natrium asetat, natrium nitrit, natrium hidroksida ,natrium karbonat, quersetin, serbuk magnesium, tannin acid.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Alpukat

Ekstrak etanol daun alpukat agar menjadi serbuk yang dapat diayak maka digunakan metode maserasi, lalu dilakukan ekstraksi selama tiga hari dengan pelarut etanol 96% yang sebelumnya serbuk tersebut telah ditimbang sebanyak 500 gram, etanol 96% yang digunakan sejumlah 2 liter. Untuk memperoleh filtrat, sesudah 3 hari dilakukan penyaringan memakai kertas saring pada ekstrak. Kemudian dilanjutkan remaserasi ulang menggunakan pelarut yang serupa, sekitar 3 kali sehingga diperoleh filtrat dari warna hijau pekat menjadi hijau muda. Filtrat selanjutnya digabung kemudian dievaporasi memakai *Rotary Evaporator* menggunakan suhu 60 °C

serta diuapkan memakai waterbath yang suhunya 60 °C sehingga diperolehnya ekstrak kental. Setelah diperoleh ekstrak, selanjutnya dilakukan perhitungan % rendemen

Analisis Secara Kualitatif

Uji Penapisan Fitokimia

1. Uji Alkaloid

   Ditimbang 0,5 gram ekstrak, kemudian menambahkan asam klorida 2 N sebanyak 5 ml lalu panaskan 2 menit diatas penangas air kemudian 3 tetes pereaksi drgendorff ditambahkan. Apabila terbentuk hasil warna jingga atau endapan maka sampel mengandung alkaloid
2. Uji Flavonoid

   Ditimbang 0,5 gram ekstrak kemudian menambahkan 10 ml aquades kemudian panaskan diatas penangas air setelah itu dilakukan penyaringan, kemudian larutkan pada 1 ml etanol 96% serta serbuk magnesium ditambahkan, lalu larutkan asam klorida pekat sebanyak 10 ml, apabila berubah menjadi warna kuning, maka terdapat flavonoid.
3. Uji Saponin

   Timbang ekstrak 0,5 gram kemudian masukan pada tabung reaksi, kemudian 10 ml ditambahkan aquades panas, biarkan mendingin lalu dikocok, jika terbentuk busa saat ditambah1 tetes asam klorida 2 N maka terdapat saponin.
4. Uji Tanin

   Menimbang ekstrak sejumlah 0,5 gram lalu dimasukkan pada cawan, setelah itu 20 ml aquades panas ditambahkan beserta larutan Nacl 10% 3 tetes. Lalu tambahkan $FeCl_{3.}$ Jika warna biru kehitaman yang terbentuk, maka terdapat tanin (Tanin *et al*.,2020).

Uji Penegasan Senyawa Fitokimia Kromatografi Lapis Tipis

1. Uji Alkaloid

   Uji alkaloid bisa dilaksanakan melalui pendeteksi warna ataupun bercak dibagian lempeng KLT yang sudah ditotolkan ekstrak serta dilakukan elusi menggunakan larutan fase gerak n-heksan : etil asetat menggunakan perbandingan (3:1). Apabila noda pada lempeng KLT tidak jelas maka menyemprotkan reagen dragendorff melalui cara dipanaskan sekitar ±5 menit di suhu 100 °C. Bila pada bercak membentuk warna jingga maka menunjukkan hasil yang positif (Raihan *et al*., 2020).
2. Uji Flavonoid

   Uji flavonoid bisa dilaksanakan melalui pendeteksi warna ataupun bercak dibagian lempeng KLT yang sudah ditotolkan ekstrak serta gunakan larutan fase gerak n-heksan: etil

asetat saat melakukan elusi menggunakan perbandingan (3:1). Apabila noda pada Lempeng KLT tidak jelas maka menyemprotkan pereaksi $AlCl_3$ dengan memanaskan sekitar ±5 menit di suhu 100 °C. Apabila pada bercak membentuk warna kuning dengan jelas maka menunjukkan hasil yang positif (Raihan *et al*., 2020).

3. Uji Tanin

Uji tanin bisa dilaksanakan melalui pendeteksi warna ataupun bercak dibagian Lempeng KLT yang sudah ditotokan ekstrak serta dielusi menggunakan larutan fase gerak metanol : aquades dengan perbandingan (6:4). Apabila noda pada Lempeng KLT tidak jelas maka menyemprotkan pereaksi $FeCl_3$ dengan memanaskan sekitar ±5 menit. Di suhu 100 °C. Apabila pada bercak membentuk warna hijau gelap/ kehitaman dengan jelas maka menunjukkan hasil yang positif (Raihan *et al*., 2020).

Analisis Secara Kuantitatif

1. Penetapan Kadar Alkaloid Total

a. Pembuatan kurva baku standar

Kafein ditimbang dengan seksama dengan banyak 50 mg. Lalu masukkan pada labu takar 100 ml. Lalu gunakan etanol 96% untuk melarutkan hingga tanda batas kemudian lakukan penghomogenan.Encerkan standar mulai dari 4,6,8,10,12 serta 14 ppm yaknimasing-masing dipipet 0,8 1,2 1,6 2, 2,4 dan 2,8 ml dari larutan standar lalu masukkan pada labu takar 10 ml lalu tambahkan menggunakan etanol 96% hingga batas. Baca serapan dipanjang gelombang 275 nm.

b. Penetapan uji total alkaloid

Timbang ekstrak 100 mg lalu masukkan pada labu takar 100 ml, gunakan etanol 96% untuk mengencerkan hingga tanda batas serta lakukan penghomogenan. Selanjutnya dipanjang gelombang 275 nm serapan dapat dibaca.

2. Penetapan Kadar Flavonoid total

a. Pembuatan kurva baku standar

Kuersetin sebagai bahan baku standar ditimbang 10,0 mg lalu sebanyak 0,3 ml natrium nitrat 5% ditambahkan sesudah 5 menit ditambahkan lagi 0,6 ml aluminium chlorida 10%, ditambahkan 2 ml natrium hidroksida 1 ml addkan setelah menunggu 5 menit menggunakan air sampai 10 ml dalam labu takar. Lalu pindah pada kuvet. Encerkan standar mulai dari 0 kemudian 0,1563 3,125 12,5 dan 25 ppm. Absorbansi dibaca dipanjang gelombang 510 nm

b. Penetapan uji total flavonoid

Ekstrak etanol daun alpukat diambil sebanyak 0,10 gram, menambahkan 2 ml HCL 4 N. Sekitar 2 jam dilakukan autoclave pada suhu 110 °C. selanjutnya didinginkan, eter digunakan untuk mengekstraksi, masukkan pada tabung reaksi 10 ml. Eter diuapkan dan keringkan. Natrium nitrit 5% ditambahkan sebanyak 0,3 ml. Sebanyak 0,6 ml aluminium chlorida 10% ditambahkan sesudah 5 menit, selanjutnya menunggu selama 5 menit, kemudian 2 ml natrium hidroksida 1 M ditambahkan. Kemudian gunakan labu takar untuk menambahkan air sampai 10 ml. Pindah pada kuvet, lalu hitung serapan dipanjang gelombang 510 nm.

3. Penetapan Kadar Saponin Total

a. Pembuatan kurva baku standar

Standar saponin sebanyak 10 mg ditimbang lalu tambah aquades 5 ml, lalu diaduk menggunakan magnetic stirer 5 menit. Kemudian sebanyak 50µ anisaldehid ditambah, diamkan sekitar 10 menit sesudah dilakukan pengocokan, lalu sebanyak 2 ml asam sulfat 50% ditambah, dipanaskan pada penangas aquades disuhu 60°C. Sekitar 10 menit, lalu di addkan menggunakan air sampai 10 ml pada labu takar, encerkan standar diawali dari 12,5 25 , 50 serta 100 nm. Baca serapan dipanjang gelombang 435 nm.

b. Penetapan uji total saponin

Dilakukan penimbangan standar saponin sebanyak 100 mg, sebanyak 2 ml H_2SO_4 25% ditambahkan, diautoclave dengan lama 120 menit yang suhunya 110°C, lalu diekstraksi menggunakan eter, filtrat kemudian dikeringkan, sebanyak 1 m aquades l ditambahkan, kemudian diaduk menggunakan magnetic stirer selama 5 menit, *add*kan 50 µ anisaldehid, diamkan sekitar 10 menit setelah dilakukan pengocokan. Menambahkan 2 ml asam sulfat 50% lalu dipanaskan pada penangas aquades disuhu 60 °C sekitar 10 menit. Lalu di addkan dengan aquades sampai 10 ml, baca serapan dipanjang gelombang 435 nm.

4. Penetapan kadar tanin total

a. Pembuatan kurva baku standar

Standar tannin acid sebanyak 10 mg ditimbang seksama, menambahkan dengan 10 ml reagen folin ciocalteu serta diaduk menggunakan magnetic

stirer, menunggu selama 5 menit. Menambahkan larutan natrium carbonat 20%,genapkan hingga volume 100 ml. Encerkan sesuai konsentrasi kurva standar. Encerkan standar dimulai pada 10,15,20,25,30 dan 35 ppm. Baca absorbsi dipanjang gelombang 760 nm.

b. Penetapan uji total tanin

Timbang 100 mg ekstrak, ekstrak menggunakan 10 ml dietil eter dengan lama 20 jam, lalu dilakukan penyaringan. Uapkan sisa dietil eter tambahkan aquades pada ekstrak sampai volume 10 ml. Ambil larutan sampel sebanyak 1 ml ditambah 0,1 ml reagen folin ciocalteu serta di aduk menggunakan magnetic stirer, tunggu 5 menit. Kemudian genapkan dengan aquades hingga volume 10 ml,lakukan pengenceran 5 kali. Baca absorbsi dipanjang gelombang 760 nm sesudah dilakukan inkubasi pada 30 menit di suhu kamar.

ANALISIS DATA

Data yang didapat berupa data primer meliputi absorbansi larutan pembanding standar yang dibuatkan kurva kalibrasi serta didapat persamaan regresi linear, juga absorban larutan sampel yang akan dimasukkan kedalam persamaan regresi linear (y=bx+a), yang mana y = variabel terikat, b= koefisien regresi, x= variabel bebas, a= konstanta, sehingga diperoleh metabolit sekunder.

Hasil Dan Pembahasan

Hasil

Tabel 1. Hasil Uji Secara Kualitatif Ekstrak Etanol Daun Alpukat

No	Kandungan Kimia	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Ket
1	Uji Alkaloid	Dragendorff	Terbentuk warna jingga	+
2	Uji Flavonoid	HCL pekat dan logam Mg	Terbentuk warna kuning	+
3	Uji Saponin	Dikocok + HCL 2 N	Terbentuk busa	+
4	Uji Tanin	$FeCl_3$	Terbentuk warna biru kehitaman	+

Keterangan : (-) Tidak memiliki kandungan golongan senyawa yang diuji
(+) Memiliki kandungan golongan senyawa yang diuji

Tabel 2. Uji Penegasan Senyawa Fitokimia Kromatografi Lapis Tipis

No	Kandungan Kimia	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Jarak tempuh pelarut	Jarak tempuh noda	Nilai Rf
1	Alkaloid n-heksan : etil asetat(3:1)	Dragendorff	Terbentuk warna jingga pada bercak	6 cm	4 cm	0,6 cm
2	Flavonoid n-heksan : etil asetat (3:1)	$AlCl_3$	Terbentuk warna kuning pada bercak	6 cm	5 cm	0,8 cm
3	Tanin Metanol : aquades (6:4)	$FeCl_3$	Bercak kehitaman	6 cm	5,5 cm	0,91 cm

Tabel 3. Hasil Uji Secara Kuantitatif Ekstrak Etanol Daun Alpukat

No	Parameter Uji	Hasil (% b/b)	Persamaan Regresi	Metode
1	Total Alkaloid Ekuivaen Kafein	0,187% b/b	Y = 0,1883x - 0,3226 r^2 = 0,9694	UV-Vis
2	Total Flavonoid Ekuivalen Quaercetin	2,183% b/b	Y = 0,114x + 0,0033 r^2 = 0,9984	UV-Vis
3	Total Saponin Ekuivalen Asam galat	0,015% b/b	Y = 0,0024x + 0,0201 r^2 = 0,9973	UV-Vis
4	Total Tannin Ekuivalen Tannin acid	0,019% b/b	Y = 0,0806 + 0,339 r^2 = 0,9895	UV-Vis

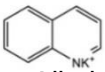
Pembahasan

Analisis secara kualitatif yaitu alkaloid menggunakan pereaksi dragendorff diperoleh positif mengandung alkaloid yang dilihat dari terbentuknya larutan dengan warna jingga atau endapan kalium alkaloid.

$Bi(NO_3) + 3KI \longrightarrow BiI_3 + 3KNO_3$

$BiI_3 + KI \longrightarrow K[BiI_4]$


Kalium tetraiodobismutat

$+ K[BiI_4] \longrightarrow$  $+ [BiI_4]^-$

Kalium – Alkaloid

(Endapan jingga)

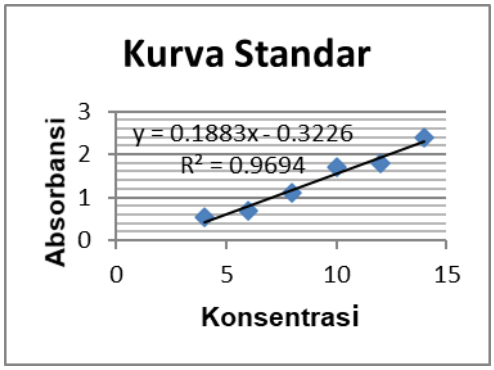
Gambar 1. Reaksi Uji Dragendorff

HCl menjadi pelaruh dalam pembentukan nitrat supaya reaksi hidrolisis dapat dicegah sebab garam-garam bismut gampang terhidrolisis dan terbentuk ion bismut ($BiO^+ + 2H^+$) dengan persamaan reaksi :

$Bi^{3+} + H_2O \rightarrow BiO^+ + 2H^+$

Dilakukan uji penegasan senyawa fitokimia menggunakan kromatografi apis tipis agar supaya hasil dari uji pendahuluan yang diperoleh lebih pasti. Ekstrak etanol daun apukat diuji pendahuluan positif ada kandungan alkaloid, selanjutnya ekstrak diteruskan menggunakan kromatografi lapis tipis

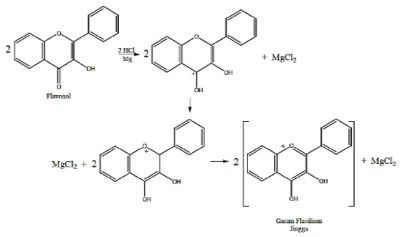
memakai eluen n-heksan : etil asetat menggunakan bandingan 3:1 yang telah dielusi menggunakan kertas saring didapatkan hasil dengan bercak noda warna jingga dibagian lempeng KLT dengan nilai Rf 0,6 cm. Hal tersebut sesuai dengan literatur didapatkan terdapat senyawa alkaloid dilihat dari warna jingga yang terbentuk pada bercak (Raihan *et al*.,2020).



Gambar 2. Kurva Standar Alkaloid

Penggunaan metode spektrofotometri untuk mengetahui penetapan kadar alkaloid total. Penetapan kadar total alkaloid diperolehpersamaan regresi y = 0,1883x – 0,3226 serta koefisien (r^2) = 0,9694. Melakukan perhitungan kadar total alkaloid dari persamaan regresi tersebut. Dilakukan 3 kali replikasi setelah dihitung kadar alkaloid total pada tiap ekstrak. Setelah kadar total alkaloid dilakukan perhitungan didapatkan rata-rata hasil sebesar 0,187% b/b.

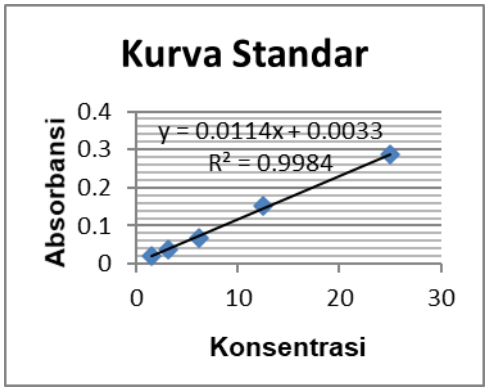
Penentuan flavonoid secara kualitatif memakai pereaksi HCl pekat serta logam Mg didapat adanya flavonoid yang dilihat dari terbentuknya larutan dengan warna kuning.



Gambar 3. Reaksi Flavonoid dengan HCl dan logam Mg

Ditambahkannya logam Mg serta HCl pekat memiliki tujuan yakni agar inti benzopiron yang ada pada strruktur flavonoid tereduksi sehingga membentuk garam flavilium berwarna kuning.

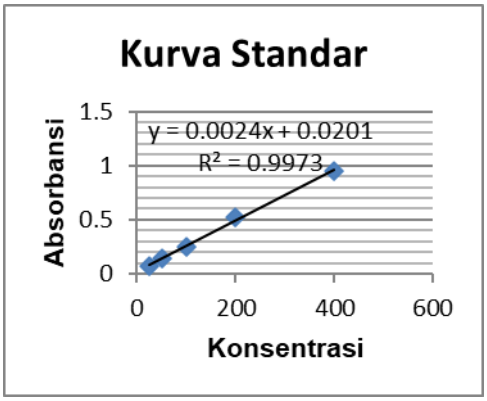
Kromatografi lapis tipis yang dipakai sebagai uji penegasan senyawa fitokimia dilaksanakan agar hasil yang diperoleh dari pengujian pendahuluan lebih pasti lagi. Ekstrak etanol daun alpukat pada uji pendahuluan positif terdapat flavonoid. Kemudian ekstrak dilanjutkan menggunakan kromatografi lapis tipis memakai eluen n-heksan :etil asetat menggunakan bandingannya 3:1 yang telah dielusi menggunakan kertas saring didapatkan hasil dengan bercak noda warna kuning dibagian Lempeng KLT dengan nilai Rf 0,8 cm. Hasil tersebut sesuai dengan literatur didapatkan senyawa flavonoid melalui pembentukan warna kuning di bercak (Raihan *et al*.,2020).



Gambar 4. Kurva Standar Flavonoid

Penggunaan metode spektrofotometri untuk mengetahui penetapan kadar flavonoid total, menggunakan parameter uji yaitu kuersetinn dipergunakan untuk baku standar melalui konsentrasi ppm. Penetapan kadar total flavonoid didapat persamaan regresi y= 0,0114x + 0,0033 serta koefisien korelasi (r^2) = 0,9984. Dari persamaan ini diadakan perhitungan kadar flavonoid total ditiap sampel menggunakan 3 kali replikasi. Kadar total flavonoid menghasilkan rata-rata sebesar 2,183 % b/b.

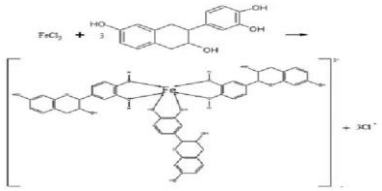
Ekstrak etanol daun alpukat dalam penentuan secara kualitatif terbukti positif mengandung saponin yang dilihat dari adanya busa yang terbentuk pada sampel ketika aquades panas ditambahkan sebanyak 10 ml lalu dikocok, jika belum terbentuk busa ditambahkan HCL 2N kemudian kocok, karena senyawa saponin mempunyai gugus hidrofil yang memiliki kaitan dengan aquades sementara gugus hidrofob memiliki kaitan dengan udara.Tujuan dari ditambahkanya HCL 2 N agar kepolaran bertambah yang menyebabkan gugus hidrofil memiliki kaitan yang lebih stabil serta kestabilan dari busa yang terbentuk.



Gambar 5.Kurva Standar Saponin

Penggunaan metode spektrofotometri untuk mengetahui penetapan kadar saponin total. Penetapan kadar total saponin didapat persamaan regresi y=0,0024x + 0,0201 serta koefisien korelasi (r^2) = 0,9973. Dari persamaan regresi ini dihitung kadar total saponin ditiap sampel 2 kali replikasi. Perhitungan kadar total saponin setelah dilakukan diperoleh hasil sebesar 0,015% b/b.

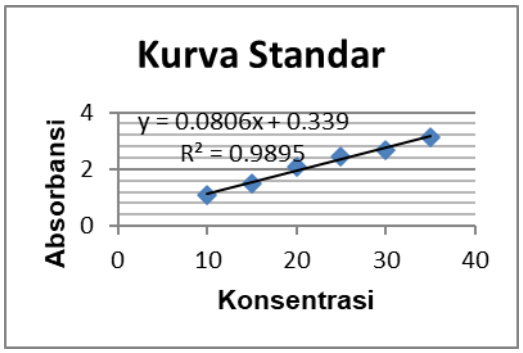
Penentuan secara kualitatif tanin memakai pereaksi $FeCl_3$ diperoleh hasil positif mengandung tanin dilihat dari warna biru kehitaman yang bercak.



Gambar 6. Reaksi Tanin dan $FeCl_3$

Hal ini dikarenakan ada senyawa fenol pada sampel salah satunya ialah tanin, sebab tanin ialah senyawa polifenol dimana senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} akan terbentuk.

Kromatografi lapis tipis yang dilakukan untuk menguji penegasan senyawa fitokimia dilaksanakan agar hasil yang diperoleh dari pengujian pendahuluan lebih pasti. Ekstrak etanol daun alpukat pada uji pendahuluan terbukti positif memiliki kandungan tanin, lalu kromatografi lapis tipis dilanjutkan untuk mengekstrak menggunakan eluen metanol : aquades dengan perbandingan 6 : 4 yang telah dielusi menggunakan kertas saring didapatkan hasil dengan bercak kehitaman pada lempeng KLT dengan nilai Rf 0,91 cm. Sejalan dengan literatur bahwa didapatkan hasil positif adanya senyawa tanin dengan terbentuknya bercak kehitaman secara tampak (Raihan *et al*., 2020).



Gambar7. Kurva Standar Tanin

Didapatkan persamaan regresi yakni y =0,0806x + 0,339 serta koefisien korelasi (r2) = 0,9895 dari penetapan kadar total tanin. Dari persamaan regresi ini dihitung kadar total tanin ditiap sampel menggunakan 3 kali replikasi. Tanin memiliki kadar total dengan rata-rata sebesar 0,019% b/b.

KESIMPULAN

Dari hasil riset yang sudah dilaksanakan, kesimpulannyayakni :

1. Ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) terkandung metabolit sekunder yakni alkaloid, flavonoid, saponin serta tanin.
2. Kadar total metabolit sekunder ekstrak etanol daun alpukat meliputi pengujian senyawa alkaloid sebesar 0,187%, flavonoid sebesar 2,183 % b/b,saponin sebesar 0,015% b/b,serta tanin sebesar 0,019%.

SARAN

Menurut hasil penelitian yang sudah dilaksanakan disarankan agar diadakan penelitian lanjutan mengenai uji aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

Anggorowoti, A., Priandini, G., &Thufail. (2016). Potensi Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Sebagai Minuman Teh Herbal Yang Kaya Antioksidan. 6 (1), 1-7.

Anggraito, Y. U. dkk. (2018) Metabolit Sekunder Dari Tanaman Aplikasi Dan Produksi, semarang: Fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam

Nurdin R, Nikmah., Bohari., (2018). Phytochemical And Antioxidant Activity Of Avocado Leaf Extract (*Persea americana* Mill.). Asian J.Sci.Res., 11: 357-363.

Raihan, M., Taqwa, N., Hanifah, A. R., Lallo, S., Ismail, & Amir, M. N. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Nangka (*Artocarpusheterophyllus*) Dan Aktivitas. Majalah Farmasi Dan Farmakologi (p-ISSN 1410-7031, e-ISSN 2655 6715), 23(3), 101–105.https://doi.org/10.20956/mff.v23i3.9400

Rauf, A., Usman, P.,Dewi, F (2017). Aktivitas Antioksidan Dan Penerimaan Panelis Teh Bubuk Daun Alpukat (Persea americana Mill.) Berdasarkan Letak Daun Pada Ranting. Jurnal Faperta.Vol 4 N0.2. Universitas Riau.

Tandi, J., Melinda, B., Purwantari, A., & Widodo, A. (2020). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Buah Okra (Abelmoschus esculentus L. Moench) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Kovalen: Jurnal Riset kimia.6*(1), 74–80.https://doi.org/10.22487/kovalen.2020.v6.i1.15044

Tandi, J., Tien W., Yulistien., (2020). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Biji Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan Metode Spektrofotometri UV-*Vis*. *Kovalen: Jurnal Riset Kimia*, 6(3), 230238.https://doi.org/10.22487/kovalen.2020.v6.i3.15324

Tandi, J. (2018). Analisis Daun Gedi Merah *(Abelmoschus manihot (L) medik)* sebagai Obat Diabetes Mellitus (pp. 8–16). Buku Kedokteran EGC:Jakarta.

Tandi, J. (2018.). Buku Ajar Obat Tradisional (pp.53-59). Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Pelita Mas, Palu.

Widarta, R. Permana, M. Wiadnyani (2018). Kajian Waktu dan Suhu Pelayuan Daun Alpukat dalam Upaya Pemanfaatannya sebagai Teh Herbal. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan.7(2), 55-61.