

**PENETAPAN BEBERAPA PARAMETER SPESIFIK DAN NON SPESIFIK  
EKSTRAK ETANOL DAUN ALPUKAT  
(*Persea americana* Mill.)**

**RATIH SAFITRI**

**0305250492**



**UNIVERSITAS INDONESIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN FARMASI  
PROGRAM EKSTENSI  
DEPOK  
2008**

**PENETAPAN BEBERAPA PARAMETER SPESIFIK DAN NON SPESIFIK  
EKSTRAK ETANOL DAUN ALPUKAT  
(*Persea americana* Mill.)**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi**

**Oleh:**

**RATIH SAFITRI**

**0305250492**



**UNIVERSITAS INDONESIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN FARMASI  
PROGRAM EKSTENSI  
DEPOK  
2008**

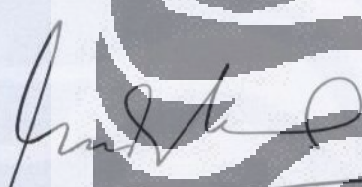
SKRIPSI : PENETAPAN BEBERAPA PARAMETER SPESIFIK DAN  
NON SPESIFIK EKSTRAK ETANOL DAUN ALPUKAT  
(*Persea americana* Mill.)

NAMA : RATIH SAFITRI

NPM : 0305250492

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2008

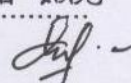
  
Prof. Dr. ENDANG HANANI, MS

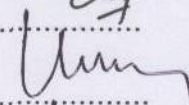
PEMBIMBING I

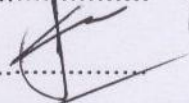
  
Dr. KATRIN, MS

PEMBIMBING II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana: 18 Juli 2008

Penguji I : Dr. Berna Elya, MS.....

Penguji II : Drs. Umar Mansur, MS.....

Penguji III : Dra. Juheini, MS.....

## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT karena atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.

Penulis menyadari skripsi ini tidak dapat diselesaikan tanpa bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Endang Hanani, MS, selaku pembimbing I atas semua diskusi, pengarahan, perhatian dan bimbingan selama penelitian berlangsung hingga skripsi ini tersusun
2. Ibu Dr. Katrin, MS, sebagai pembimbing II yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, pengarahan, serta perhatiannya selama penelitian dan penyusunan skripsi.
3. Ibu Drs. Azizahwati, MS, sebagai pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, dukungan, dan perhatiannya selama perkuliahan.
4. Ibu Dr. Yandiana Harahap, MS, selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian.
5. Bapak Dr. Abdul Mun'im, MS, selaku Ketua Program Ekstensi Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian.
6. Bapak dan Ibu staf pengajar Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan ilmu pengetahuan yang bermanfaat bagi penulis.

7. Seluruh karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu selama perkuliahan dan penelitian.
8. Bapak dan Ibu tersayang, serta adik-adik ku tercinta, terima kasih atas segala doa dan dukungannya selama penelitian sehingga penulis tetap semangat dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi.
9. Teman – teman firdaus yang selalu memberikan semangat, dan doa-nya, teman-teman seperjuangan di lab fito, kimia, yuyun, mbak diah dan mbak mirvat, mbak anung yang telah memberikan masukan dan pengertiannya, dan teman-teman Ekstensi Farmasi 2005 lainnya terima kasih atas persahabatan dan kerja samanya.
10. Mbak Dini dan Mas Agus, atas kesediaannya yang telah membantu selama masa penelitian.

Penulis

2008

## ABSTRAK

Daun alpukat (*Persea americana* Mil) merupakan salah satu tanaman obat dan memiliki khasiat sebagai diuretik, antibiotik, *pyorrhea*, *neuralgia*, antihipertensi, diare, sakit tenggorokan, *hemorrhage*, dan antitusif. Dalam upaya mengembangkan obat tradisional, menjamin mutu dan keamanannya, pada penelitian ini dilakukan penetapan beberapa parameter spesifik dan non spesifik, sehingga didapat parameter yang konstan. Standardisasi dilakukan terhadap ekstrak etanol daun alpukat yang berasal dari Madiun, Bogor, dan Purwokerto. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi, dari hasil penelitian terhadap ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak kental, berwarna hitam-kecoklatan, berbau spesifik, dan rasa pahit. Rendemen ekstrak berkisar antara 28,93 – 29,99%, kadar senyawa terlarut dalam air berkisar antara 40,69 – 61,25%, sedangkan kadar senyawa terlarut dalam etanol berkisar antara 25,09 – 55,70%. Susut pengeringan berkisar antara 11,66 – 13,80% dan kadar air berkisar antara 11,56 – 13,46%. Kadar abu total berkisar antara 3,77 – 5,88%, sedangkan kadar abu tidak larut asam berkisar antara 0,66 – 0,96%, dan sisa pelarut etanol tidak lebih dari 1%. Hasil uji golongan senyawa kimia ekstrak etanol daun alpukat menunjukkan adanya alkaloid, terpen atau steroid, gula, saponin, flavonoid dan tanin. Pola kromatogram ekstrak etanol dari 3 daerah menggunakan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) menunjukkan pola yang sama yang terdiri atas 7 bercak yang berwarna hitam pada sinar UV 254 nm dengan Rf

0,05 0,13, 0,30, 0,34, 0,60, 0,78 dan 0,85. Setelah penyemprotan dengan  $AlCl_3$  dan diamati pada sinar UV 366 nm terlihat 8 bercak yang sama, yaitu : 1 bercak berfluoresensi kuning-kehijauan pada Rf 0,05, 1 bercak berfluoresensi kuning pada Rf 0,13, 1 bercak berfluoresensi kuning-lemah pada Rf 0,34, dan 5 bercak berfluoresensi putih pada Rf 0,45, 0,71, 0,76, 0,78, dan 0,85. Pengamatan dengan densitometer pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm dihasilkan pola spektrum serapan yang sama. Kadar flavonoid total dalam ekstrak berkisar antara 1,29 – 3,44%.

Kata kunci : daun alpukat, kuersetin, standardisasi

xi + 71 hlm.; gbr.; tab.; lamp.

Bibliografi : 25 (1978-2007)

## ABSTRACT

Avocado leaves are one of medicinal plant and have the effects as diuretic, antibiotic, pyorrhoea, neuralgia, antihypertension, diarrhea, ill throat, hemorrhage, and antitusif. As the effect to develop tradisional medicine, ensure quality and safety, there should be a determination of some specific and non specific parameters, to give constant parameters, standardization was done to avocado leaves ethanolic extracts from Madiun, Bogor, and Purwokerto. The extract was made by maceration. The result of research showed that the extract is viscous, tanly, specific smelled, and bitter taste. The value of rendement is between 28.93 – 29.99%, the water soluble extract is 40.69 – 61.25%, while the ethanol soluble extract is 25.09 – 55.76%. The lost of drying is 11.66 – 13.66% and the water content is 11.56 – 13.46%. The total ash content is 3.77 – 5.88%, the acid insoluble ash is 0.66 – 0.96% and the solvent residue is less than 1%. The extract contains alkaloid, terpene (steroid), sugar, flavonoid, saponin, and tannin. The chromatograms profile from three region used mobile phase of chloroform-methanol-water (80:12:2) and showed the same 7-dark spots under UV 254 nm with Rf 0,05 0,13, 0,30, 0,34, 0,60, 0,78 dan 0,85. After sprayed with  $AlCl_3$  and observed under UV 366 nm, it showed 8 same spots of samples from those 3 regions which were 1 greenish yellow spots in Rf 0,05, 1 yellow spot in Rf 0,13, 1 pale yellow spot in Rf 0.34, and 5 white spot in Rf 0,45, 0,71, 0,76, 0,78, dan 0,85. An

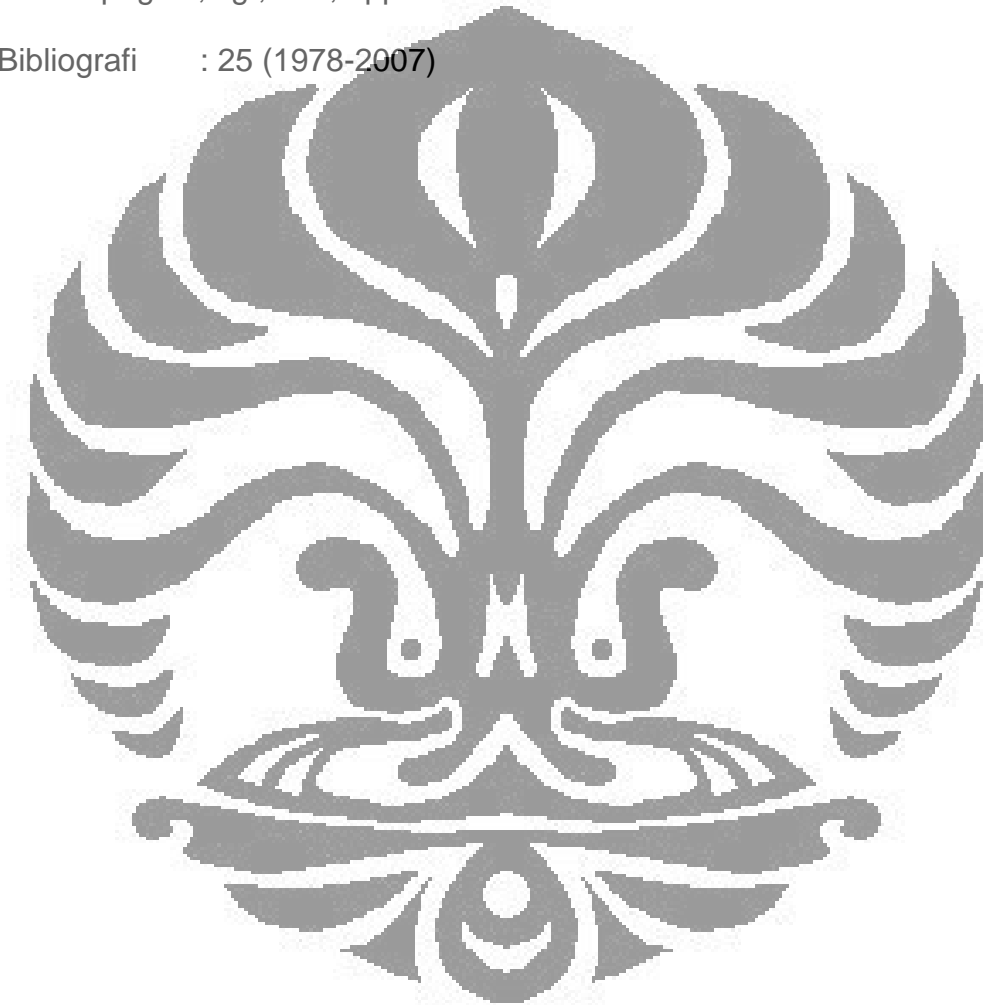


observation using densitometer at 254 nm and 366 nm showed the same absorption spectrum profile. Total flavonoid between 1.29 – 3.44%

Keyword : avocado leaves, quersetin, standardization.

xi + 71 pages.; fig.; tab.; appendix.

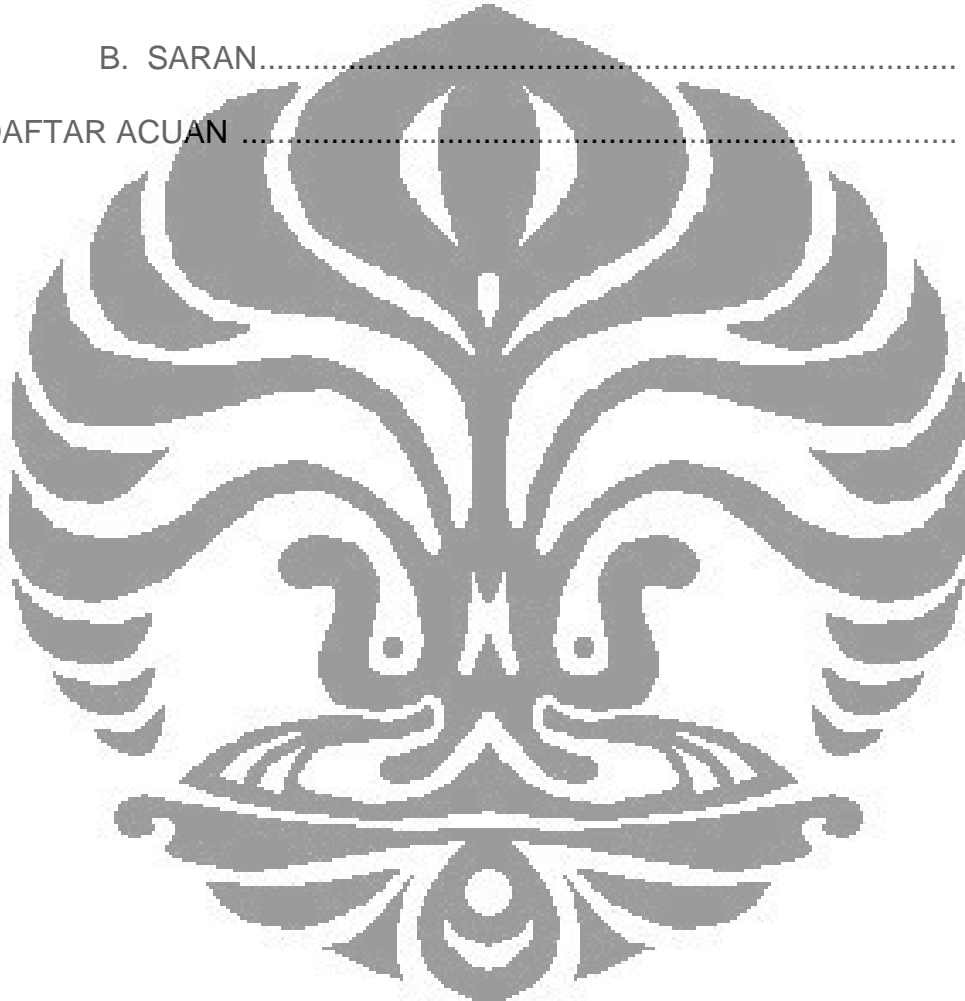
Bibliografi : 25 (1978-2007)



## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR .....	i
ABSTRAK .....	iii
ABSTRACT .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
A. LATAR BELAKANG .....	1
B. TUJUAN PENELITIAN.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
A. STANDARDISASI.....	5
B. OBAT BAHAN ALAM.....	6
C. EKSTRAK .....	7
D. DAUN ALPUKAT.....	7
E. KROMATOGRAFI.....	11
BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA .....	14
A. BAHAN.....	14
B. ALAT .....	15
C. CARA KERJA .....	16

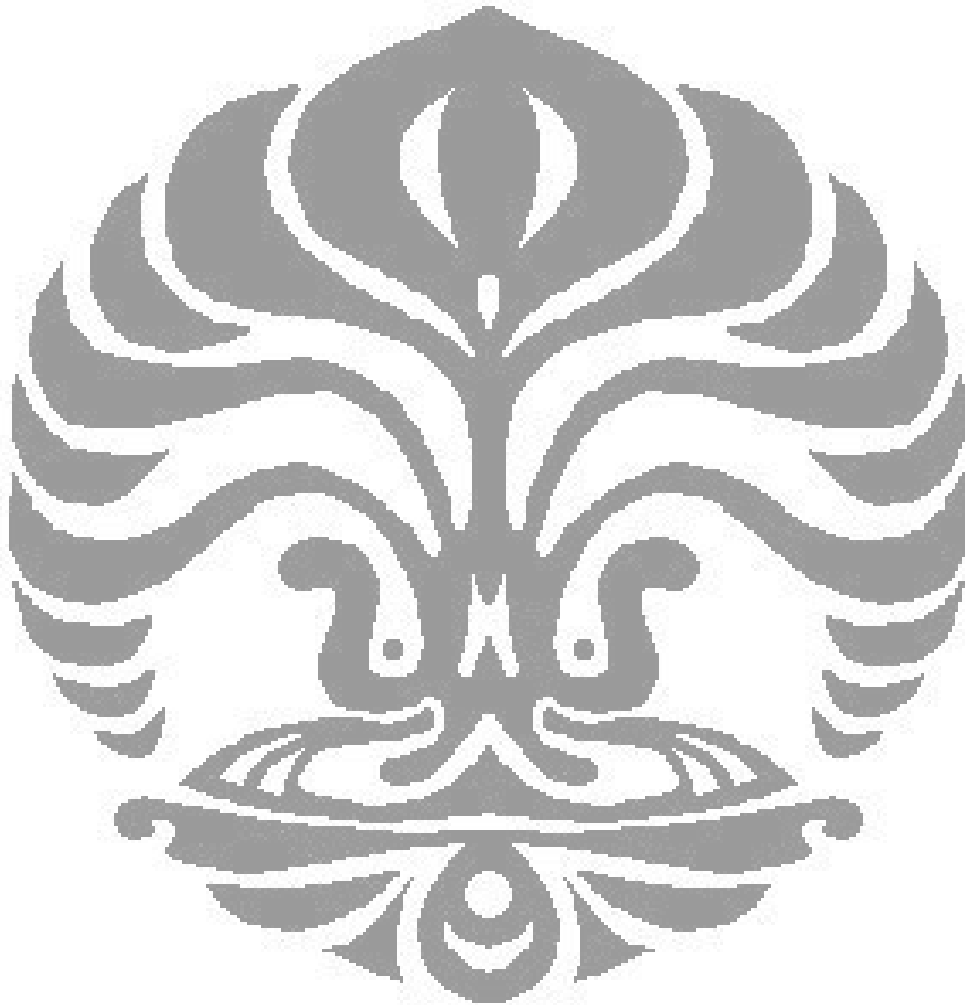
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	28
A. HASIL .....	28
B. PEMBAHASAN .....	33
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	43
A. KESIMPULAN .....	43
B. SARAN.....	44
DAFTAR ACUAN .....	45



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur kimia kuersetin.....	10
2. Reaksi pembentukan senyawa kompleks pada penambahan larutan alumunium (III) klorida.....	41
3. Tumbuhan alpukat ( <i>Persea americana</i> Mill.) .....	48
4. Daun alpukat ( <i>Persea americana</i> Mill.) .....	49
5. Kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform-metanol-air(80:12:2) pada sinar tampak.....	50
6. Kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform-metanol-air(80:12:2) pada UV 254 nm.....	51
7. Perbandingan kurva densitas ekstrak etanol daun alpukat dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) pada panjang gelombang 254 nm .....	52
8. Kromatografi lapis tipis pada fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) setelah disemprot dengan $AlCl_3$ 5% dalam metanol pada sinar tampak .....	53
9. Kromatografi lapis tipis pada fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) setelah disemprot dengan $AlCl_3$ 5% dalam metanol pada UV 366 nm .....	54
10. Perbandingan kurva densitas ekstrak etanol daun alpukat dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) setelah disemprot dengan $AlCl_3$ 5% dalam metanol pada panjang gelombang 366 nm .....	55
11. Kurva kalibrasi kuersetin standar .....	56
12. Spektrum serapan kuersetin standar konsentrasi 10 ppm.....	57
13. Kurva pergeseran panjang gelombang terhadap waktu pada konsentrasi 10 ppm.....	58

14. Kurva serapan terhadap waktu pada konsentrasi 10 ppm..... 59

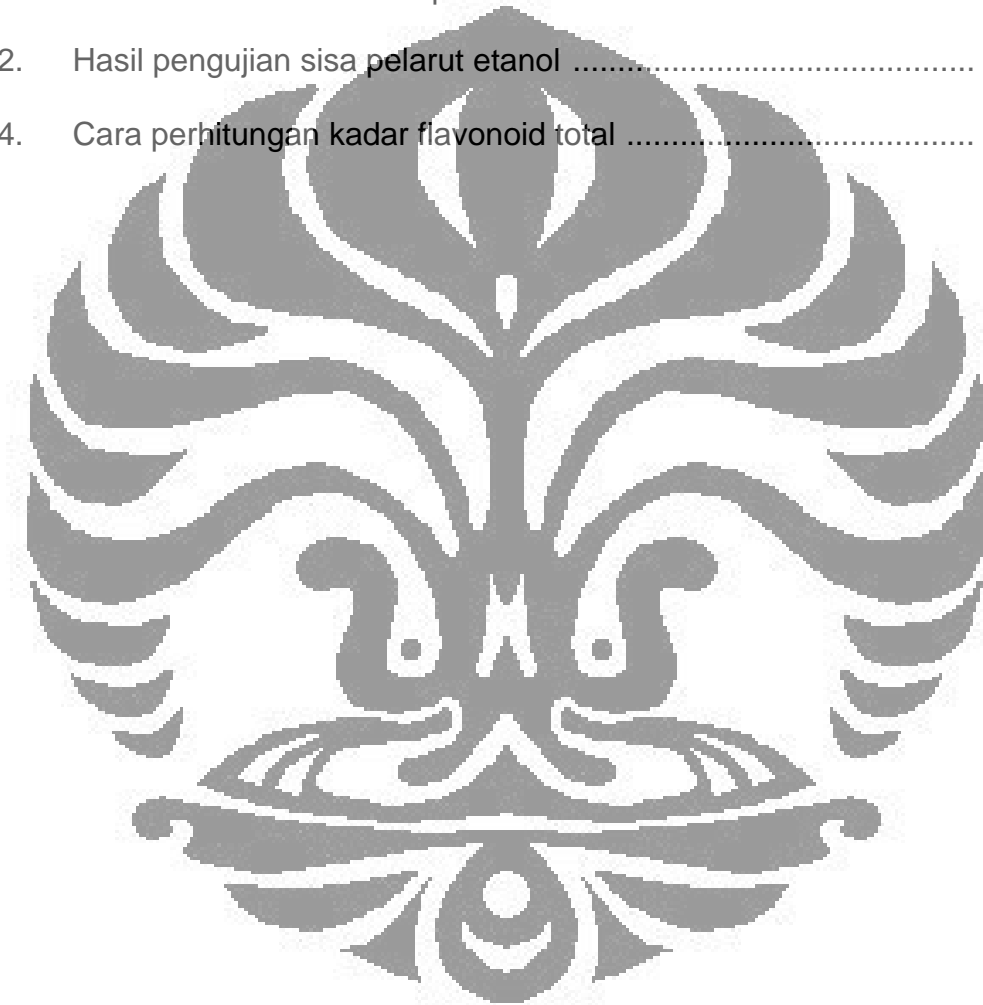


## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rendemen ekstrak etanol daun alpukat .....	60
2. Pemeriksaan organoleptik ekstrak daun alpukat .....	61
3. Kadar senyawa larut air ekstrak etanol daun alpukat .....	62
4. Kadar senyawa larut etanol ekstrak etanol daun alpukat .....	63
5. Susut pengeringan ekstrak etanol daun alpukat.....	64
6. Kadar air ekstrak etanol daun alpukat .....	65
7. Kadar abu total ekstrak etanol daun alpukat .....	66
8. Kadar abu tidak larut asam ekstrak etanol daun alpukat.....	67
9. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun alpukat.....	68
10. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol daun alpukat .....	69
11. Data pergeseran panjang gelombang terhadap waktu pada Konsentrasi 10 ppm.....	70
12. Data serapan terhadap waktu pada konsentrasi 10 ppm.....	70
13. Data uji pendahuluan (pemilihan pelarut yang tepat).....	71

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil determinasi daun alpukat .....	72
2. Hasil pengujian sisa pelarut etanol .....	73
4. Cara perhitungan kadar flavonoid total .....	74



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. LATAR BELAKANG**

Sumber daya alam hayati (SDHA) menjadi semakin menarik ketika mendapat pengakuan masyarakat dan dunia sebagai bahan baku obat-obatan tradisional (jamu) (1). Perkembangan yang cukup pesat ini perlu didukung oleh pembuktian secara ilmiah, terutama mengenai mutu, keamanan, dan kemanfaatan obat tradisional tersebut.

Pemakaian obat tradisional untuk pengobatan telah lama dilakukan oleh masyarakat Indonesia. Hasil dan manfaatnya telah dirasakan secara langsung, sehingga penggunaan obat tradisional ini ada kecenderungan semakin meningkat. Hal ini tampak dengan semakin meningkatnya pemakaian jamu dan industri obat tradisional yang terus berkembang dari tahun ke tahun. Pada saat ini, dorongan kembali ke alam semakin menguasai masyarakat. Pengobatan secara sintetis dirasakan terlalu mahal dengan efek samping yang cukup serius. Disamping itu, krisis moneter yang melanda Indonesia sejak pertengahan tahun 1997, telah menyebabkan harga obat-obatan meningkat dengan pesat sehingga tidak terjangkau oleh masyarakat (2).

Dalam upaya pengembangan obat tradisional, ketersediaan bahan baku, ketersediaan obat dalam jenis dan jumlah yang cukup, keterjaminan kebenaran khasiat, mutu dan keabsahan obat yang beredar, serta



perlindungan masyarakat dari penyalahgunaan obat yang dapat merugikan dan membahayakan masyarakat merupakan faktor yang menentukan keberhasilan pengembangan. Dalam kondisi seperti ini, upaya yang paling tepat adalah mendorong pengembangan obat tradisional ke arah fitofarmaka, dengan harapan dapat mengurangi ketergantungan terhadap obat modern yang bahan bakunya masih diimpor (2).

Pengembangan obat tradisional menjadi fitofarmaka memerlukan penanganan yang cukup serius, karena masih banyak permasalahan yang dihadapi, mulai dari sumber daya alam, sumber daya manusia (SDM), pengolahan dan modal. Meningkatnya pemakaian obat tradisional mengakibatkan peningkatan penggunaan tanaman obat, namun hal ini tidak diimbangi dengan pembudidayaan dan pelestarian plasma nutfahnya. Sampai saat ini, bahan baku obat tradisional masih berasal dari tumbuhan liar atau dari petani kecil. Umumnya tanaman obat belum dibudidayakan dengan baik, sehingga kualitas simplisia yang dihasilkan tidak seragam. Keterbatasan kemampuan para petani dan pengumpul dalam menangani simplisia juga menyebabkan simplisia yang dihasilkan bermutu rendah. Kegiatan yang berkaitan dengan upaya pengembangan tanaman obat meliputi: 1) pemetaan ekonomis flora alami, 2) seleksi dan pembuktian keaslian spesies tanaman, 3) pengumpulan data etnobotanik, 4) percobaan pemuliaan untuk pengembangan varietas dengan hasil tinggi, 5) budi daya tanaman skala menengah, 6) penelitian kimia kandungan bahan aktif, 8) penelitian farmakologi dan toksikologi, 9) pembuatan ekstrak tanaman skala

pilot plan, 10) standardisasi ekstrak, 11) formulasi ekstrak ke bentuk sediaan tablet, 12) penelitian toksisitas terhadap formulasi, 13) penelitian analitis produk formulasi (2).

Alpukat telah dimanfaatkan sebagai salah satu obat tradisional. Tanaman alpukat berasal dari Amerika Tengah, tumbuh di daerah yang banyak curah hujan, dengan ketinggian 200-1000 m dpl, di pulau jawa ditanam sebagai tanaman buah (3).

Kandungan kimia yang terdapat dalam daun alpukat antara lain saponin, tanin, alkaloid (4), minyak atsiri dengan kadar 0.5% (5), dan flavonoid (6)

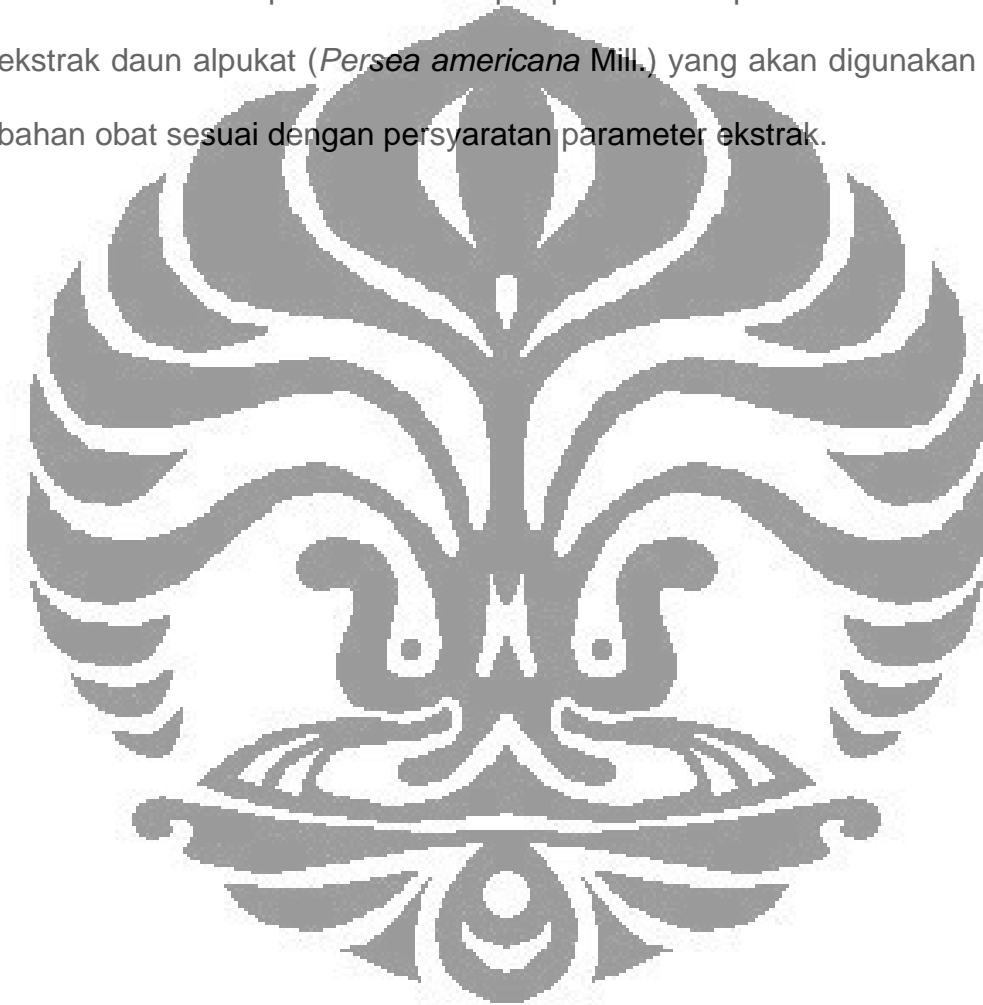
Daun alpukat dapat digunakan untuk mengobati *emmenagogue*, mempunyai aktivitas antibiotik, mengatasi diare, batuk, *amenorrhoea* (5), dan dapat digunakan sebagai antikolesterol, antidiabetes (7), serta menghambat virus herpes simplex (8).

Berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan RI No : 55/Menkes/SK/1/2000, obat tradisional yang beredar di Indonesia harus memenuhi persyaratan mutu, keamanan, dan kemanfaatannya (9), dan Undang-undang kesehatan mengamanatkan bahwa pengobatan tradisional yang sudah dapat dipertanggungjawabkan manfaat dan keamanannya perlu terus ditingkatkan dan dikembangkan, untuk digunakan dalam mewujudkan derajat kesehatan yang optimal bagi masyarakat (1). Dalam upaya standarisasi ekstrak, maka pada penelitian ini daun alpukat (*Persea americana* Mill) yang berasal dari

beberapa daerah di Indonesia dilakukan uji parameter spesifik dan non spesifik agar memenuhi persyaratan mutu yang diinginkan.

## **B. TUJUAN PENELITIAN**

Untuk memperoleh beberapa parameter spesifik dan non spesifik ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.) yang akan digunakan sebagai bahan obat sesuai dengan persyaratan parameter ekstrak.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. STANDARDISASI

Standarisasi adalah serangkaian parameter, prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur – unsur terkait paradigma untuk kefarmasian, mutu dalam artian memenuhi syarat standar (kimia, biologi dan farmasi), termasuk jaminan (batas – batas) stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya. Persyaratan mutu ekstrak terdiri dari berbagai parameter standar umum dan parameter standar spesifik. Pemerintah melakukan fungsi pembinaan dan pengawasan serta melindungi konsumen untuk tegaknya trilogi "mutu-keamanan-manfaat". Pengertian standarisasi juga berarti proses menjamin bahwa produk akhir (obat, ekstrak atau produk ekstrak) mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan (ajeg) dan ditetapkan (dirancang dalam formula) terlebih dahulu (9).

Standarisasi adalah prasyarat dasar untuk menjaga mutu yang tetap dari produk tanaman obat. Setiap proses produksi tanaman obat harus mengacu kepada standarisasi, yang berhubungan dengan (10) :

- a. Tanaman obat (memiliki spesifikasi yang jelas)
- b. Pelarut untuk ekstraksi (jenis dan konsentrasi)
- c. Pengendalian mutu
- d. Preparasi tanaman obat (menyusun spesifikasi)

Dalam bentuk bahan dan produk kefarmasian baru, yaitu ekstrak, maka selain persyaratan monografi bahan baku (simplisia), juga diperlukan persyaratan parameter standar umum dan spesifik. Parameter spesifik ekstrak yang sebagian besar berupa analisis kimia yang memberikan informasi komposisi senyawa kandungan (jenis dan kadar) nantinya lebih banyak tercantum di buku khusus monografi ekstrak tumbuhan obat (9).

## **B. OBAT BAHAN ALAM (11)**

Obat bahan alam dapat digolongkan menjadi beberapa tipe, yaitu :

### **1. Fitofarmaka**

Fitofarmaka adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara alamiah dengan uji klinik dan praklinik, bahan baku dan produk jadinya telah distandarisasi.

### **2. Obat herbal terstandar**

Obat herbal terstandar adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara alamiah dengan uji praklinik dan bahan bakunya telah distandarisasi.

### **3. Jamu**

Jamu adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan galenik atau campuran dari bahan – bahan tersebut, yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman.

### C. EKSTRAK

Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (12).

Dilihat secara fisik ekstrak dapat dibedakan menjadi 3 tipe, yaitu : Ekstrak cair adalah sediaan cair simplisia nabati, yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet atau sebagai pelarut dan pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi, tiap ml ekstrak mengandung bahan aktif dari 1 g simplisia yang memenuhi syarat (12). Ekstrak kental adalah yaitu sediaan semi solid yang diperoleh dengan cara menguapkan sebagian atau seluruh pelarut yang digunakan, dan ekstrak kering adalah sediaan kering yang diperoleh dengan menguapkan pelarut yang digunakan, ekstrak kering biasanya memiliki nilai susut pengeringan atau kadar air tidak lebih dari 5% b/b (10).

### D. DAUN ALPUKAT

#### 1. Klasifikasi tanaman alpukat secara lengkap (13),(14),(15)

Dunia : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Magnoliopsida ( Dicotyledoneae )

Sub Kelas : Magnolidae  
Bangsa : Laurales  
Suku : Lauraceae  
Sub suku : Lauroideae  
Marga : Persea  
Jenis : *Persea americana* Mill  
Sinonim : *Persea gratissima* Gaertn. f.

## 2. Nama Lain

Pada beberapa daerah di Indonesia, alpukat dikenal dengan nama apuket (Jawa) (14). Beberapa nama asing untuk alpukat diantaranya abacateiro (Brazil), aguacate (Mexico), avocado (Australia), butter pear (Nicaragua), zaboka (Haiti) (5).

## 3. Morfologi (16)

Tanaman alpukat merupakan tanaman buah berupa pohon tinggi 3 hingga 10 m, ranting teguh berambut halus. Daun tunggal, bentuk jorong sampai bulat telur memanjang, panjang helaian daun 10 cm sampai 20 cm, lebar 3 cm sampai 10 cm, pangkal daun dan ujung daun meruncing, pinggir daun rata, permukaan daun licin, warna hijau sampai hijau kecoklatan atau coklat keunguan, berpenulang menyirip, panjang tangkai daun 1,5 cm sampai 5 cm. Perbungaan berupa malai terletak dekat dengan ujung ranting berbunga banyak. Tenda bunga berbaris tengah 1 hingga 1,5 cm, luruh,

warna putih kekuningan, berambut halus. Benang sari 12, dalam 4 karangan, yang paling dalam tidak berfungsi dan berwarna jingga sampai coklat. Buah berbentuk bola lampu sampai berbentuk bulat telur, panjang 5 hingga 20 cm, lebar 5 hingga 10 cm, tanpa sisa bunga, warna hijau atau kuning kehijauan, berbintik-bintik ungu atau ungu sama sekali, gundul, harum, berbiji satu berbentuk bola, garis tengah 2,5 hingga 5 cm.

#### **4. Ekologi dan penyebaran (16)**

Berasal dari Amerika Tengah. Tumbuh di daerah tropik dan subtropik. Pada umumnya tumbuhan ini cocok dengan iklim yang sejuk dan basah. Tumbuhan tidak tahan terhadap suhu rendah maupun tinggi, kelembapan rendah pada saat berbunga dan pada saat pembentukan buah serta angin yang keras.

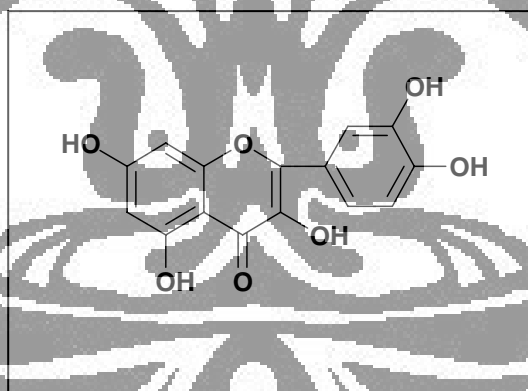
#### **5. Budidaya (16)**

Tanaman alpukat dapat diperbanyak dengan cara biji, okulasi, dan dengan cara enten. Persyaratan yang dikehendaki adalah lapisan tanah yang gembur dan subur. Tanah lempung yang dapat menimbulkan genangan air pada waktu hujan tidak cocok untuk menanam pohon ini. Biji yang akan dikecambahkan dipilih dari buah yang cukup masak dari pohon yang sehat dan kuat tumbuhnya.



## 6. Kandungan kimia

Daun alpukat mengandung saponin, alkaloid (4), tanin 4,7%,  $\alpha$ -kubeben,  $\alpha$ -pelandren,  $\alpha$ -pinen,  $\alpha$ -terpinen, apigenin, astragalol,  $\beta$ -mircen,  $\beta$ -ocimen,  $\beta$ -pinen,  $\beta$ -sitosterol, champen, karvon, sineol, sianidin, sianorosid, D-limonen, decan-1-ol acetate, dimetil-sciadinonat, estragol, hex-cis-3-en-1-ol, hexan-1-al, luteolin, N-oktan, nerol-asetat, oktan-1-ol, prosianidin, asam sciadinonik dimetil ester, skopoletin, minyak atsiri dengan kadar 0,5%, metil-chavicol, pinen, dan parafin (5). Serta flavonoid seperti: kemferol, kuersetin 3-O- $\alpha$ -D arabinopiranosid, kuersetin 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopiranosid (kuersitrin), kuersetin 3-O- $\beta$ -glukopiranosid, kuersetin, kuersetin 3-O- $\beta$ -galactopiranosid (8).



Gambar 1. Struktur kimia kuersetin

## 7. Khasiat dan kegunaan

Daun alpukat banyak digunakan sebagai diuretik (16), mengobati *emmenagogue*, mempunyai aktivitas antibiotik, mengatasi diare, batuk, *amenorrhea* (5) , antidiabetes, antikolesterol (7) dan menghambat virus herpes simpleks (8).

### D. KROMATOGRAFI

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi deferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih, salah satu diantaranya bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan di dalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan dalam absorpsi, partisi, dan kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion (12).

Jenis-jenis kromatografi yang bermanfaat dalam analisis kualitatif dan kuantitatif yang digunakan dalam penetapan kadar dan pengujian Farmakope Indonesia adalah kromatografi kolom, kromatografi gas, kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, dan kromatografi cair kinerja tinggi. Kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis umumnya lebih bermanfaat untuk tujuan identifikasi (12).

#### **Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi lapis tipis (KLT) dikembangkan oleh Izmailoff dan Schaiber pada tahun 1938. KLT merupakan bentuk kromatografi planar,

selain kromatografi kertas. Berbeda dengan kromatografi kolom yang mana fase diamnya diisikan atau dikemas di dalamnya, pada kromatografi lapis tipis, fase diamnya merupakan lapisan yang seragam (uniform) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik (17).

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penyerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30  $\mu\text{m}$ . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensinya dan resolusinya. Penyerap yang paling sering digunakan adalah silika dan serbuk selulosa, sementara mekanisme sorpsi yang utama pada KLT adalah partisi dan adsorpsi (17).

Fase gerak dalam KLT dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering dengan mencoba-coba karena waktu yang diperlukan hanya sebentar. Sistem yang paling sederhana adalah campuran dua pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal. Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif. Daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga  $R_f$  terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan (17).

Penyiapan bejana kromatografi sebaiknya dilakukan sebelum membuat sari simplisia atau sekurang-kurangnya sebelum memulai menutulkan sari pada lempeng. Maksudnya agar ada tempo cukup lama

untuk menjenuhkan ruang bejana dengan uap dari cairan rambat (18).

Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan harga Rf atau hRf.

$$R_f = \frac{\text{Jarak titik tengah noda dari titik awal}}{\text{Jarak tepi muka pelarut dari titik awal}}$$

Angka Rf berjangka antara 0,00 dan 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal. hRf ialah angka Rf dikalikan faktor 100 (h), menghasilkan nilai berjangka 0 sampai 100. Jika dipilih 10 cm sebagai jarak pengembangan, maka jarak rambat suatu senyawa (titik awal – pusat bercak dalam cm) x 10 menghasilkan angka hRf (19).

Analisis kualitatif dapat juga dilakukan dengan membandingkan spektrum serapan bercak yang mempunyai Rf yang sama. Hal ini dapat dilakukan dengan menggunakan alat Kromatografi Lapis Tipis densitometer. Prinsip dasar densitometer adalah berkas sinar yang dijatuhkan pada lapis tipis sebagian diabsorpsi oleh bercak senyawa dan sebagian lagi dihamburkan oleh medium penghambur yang terdapat dalam lapis tipis, kemudian sisanya dipantulkan ke detektor (20).

## BAB III

### BAHAN DAN CARA KERJA

#### A. BAHAN

##### 1. Simplisia

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun alpukat (*Persea americana* Mill.) yang berasal dari tiga daerah yaitu Bogor, Purwokerto, Madiun. Simplisia telah dideterminasi terlebih dahulu di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong.

##### 2. Bahan Kimia

Pelarut dan bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini : etanol teknis 96% yang telah didestilasi, aquades, asam klorida (Mallinckrodt), metanol (Merk), etanol (95%) (Merk), etil asetat (Merk), aseton (Mallinckrodt), asam sulfat (Merk), asam asetat glasial (Merk), aluminium (III) klorida (Merk), asam asetat anhidrat P, serbuk seng P, serbuk magnesium P, serbuk asam oksalat P, eter P, besi(III)klorida 0,3 M, heksametilentetramina.

##### 3. Pembuatan Reagen

a. **Air – kloroform LP** : Dicampur 2,5 ml kloroform dengan air secukupnya hingga 1000 ml, kocok hingga larut.

- b. Baljet LP** : Campuran yang terdiri dari 95 ml larutan asam nitrat P 1% b/v dan 5 ml larutan natrium hidroksida P 10% b/v
- c. Kedde LP** : Dilarutkan 3 gram asam dinitrobenzoat P dalam 100 ml etanol (95%) P, kemudian dicampur dengan 100 ml Kalium Hidroksida 2 N dalam etanol (95%) P
- d. Lieberman Buchard** : 5 bagian volume asam sulfat P dengan 50 ml bagian volume etanol 95 % ditambah 5 bagian volume asam asetat anhidrat.
- e. Natrium klorida-gelatin LP** : dicampur natrium klorida 10% b/v dengan gelatin 1% b/v, campur sama banyak.

## **B. ALAT**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : *shaker*, *rotary evaporator*, neraca analitik, penangas air (LAB-LINE), tanur (Termolyne), oven (Jumo), bejana kromatografi, desikator, lempeng silica gel GF<sub>254</sub>, TLC Scanner 3 (Camag), dan Spektrofotometer UV -Vis (UV 1601 Shimadzu). Dan alat gelas seperti : erlenmeyer, labu bersumbat, botol timbang tertutup, corong pisah, cawan penguap, krus silikat.

## C. CARA KERJA

### 1. Pembuatan serbuk simplisia

Simplisia yang digunakan adalah daun yang telah dikeringkan dari tiga daerah yang berbeda dan telah di determinasi. Simplisia dibersihkan dari kotoran dan tanah yang menempel. Simplisia tersebut kemudian digiling menjadi serbuk dengan alat penggiling yang ada di Laboratorium Penelitian Fitokimia Departemen Farmasi FMIPA-UI.

### 2. Uji pendahuluan (pemilihan pelarut yang tepat)

Pembuatan ekstrak diawali dengan mencari pelarut yang tepat melalui maserasi serbuk kering daun alpukat dengan menggunakan air suling, etanol 60%, 80%, 70%, 90%, dan 96%.

### 3. Pembuatan ekstrak daun alpukat

Pembuatan ekstrak dilakukan secara maserasi. Serbuk simplisia dari masing-masing daerah ditimbang sebanyak 300 g (satu bagian), penimbangan dilakukan sebanyak tiga kali untuk masing-masing daerah dan dimasukkan dalam botol coklat. kemudian ditambahkan 10 bagian pelarut terbaik dari hasil uji pendahuluan, direndam selama 3 jam dengan beberapa kali pengocokkan. Setelah itu didiamkan selama 21 jam hasil maserasi disaring dan proses diulangi enam kali dengan jenis dan pelarut yang sama. Filtrat dikumpulkan dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu tidak lebih dari 50° C hingga diperoleh ekstrak kental yang masih

bisa dituang. Selanjutnya ekstrak dipindahkan ke dalam cawan penguap dan pemekatan dilanjutkan di atas penangas air pada suhu tidak lebih dari  $50^{\circ}\text{C}$  hingga diperoleh ekstrak kental. Setelah dingin ditimbang. Rendeman ekstrak dihitung terhadap banyaknya serbuk simplisia yang digunakan

#### **4. Pengujian terhadap ekstrak daun alpukat**

##### **a. Parameter spesifik(9)**

##### **1) Organoleptik**

Organoleptik ekstrak mendiskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa.

##### **2) Kadar senyawa larut dalam air**

Maserasi 5,0 gram ekstrak selama 24 jam dengan 100 ml air - kloroform LP menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam kemudian saring, uapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, panaskan residu pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air, dihitung terhadap ekstrak awal.

##### **3) Kadar senyawa larut dalam etanol**

Maserasi sejumlah 5,0 gram ekstrak selama 24 jam dengan 100 ml etanol (95 %). Menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok



selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Saring cepat dengan menghindarkan penguapan etanol, kemudian uapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, panaskan residu pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam etanol (95%), dihitung terhadap ekstrak awal.

## **b. Parameter non spesifik(9)**

### **1) Susut pengeringan**

Ekstrak ditimbang secara seksama sebanyak 1g sampai 2 g, dan dimasukkan dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang, ekstrak diratakan dalam botol timbang, dengan menggoyangkan botol, hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 sampai 10 mm. Jika ekstrak yang diuji berupa ekstrak kental, ratakan dengan batang pengaduk. Kemudian dimasukkan ke dalam ruang pengering, buka tutupnya, keringkan pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, biarkan botol dalam keadaan tertutup mendingin dalam eksikator hingga suhu kamar.

### **2) Kadar air**

Masukkan lebih kurang 10 gram dan ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Keringkan pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 5 jam dan ditimbang.

Lanjutkan pengeringan dan ditimbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25%.

### **3) Kadar abu**

#### **a) Penetapan kadar abu total**

Lebih kurang 2 g sampai 3 g ekstrak yang telah digerus dan ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, ratakan. Pijarkan perlahan-lahan hingga arang abis, dinginkan, timbang. Jika cara ini arang tidak dapat dihilangkan, tambahkan air panas, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan sisa kertas dan kertas saring dalam krus yang sama. Masukkan filtrat ke dalam krus, uapkan, pijarkan hingga bobot tetap, timbang. Hitung kadar abu terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

#### **b) Penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam**

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, dididihkan dengan 25 ml asam sulfat encer P selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, saring melalui krus kaca masir atau kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas, pijarkan hingga bobot tetap, timbang. Hitung kadar abu yang tidak larut dalam asam terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

#### 4) Sisa pelarut

##### a) Pembuatan larutan etanol 1%

Larutan standar etanol dibuat dengan melarutkan etanol absolut dalam air hingga didapat konsentrasi 1%. Larutan ini disuntikan pada alat kromatografi gas dengan volume dan kondisi yang sama dengan sampel.

##### b) Pengukuran sisa pelarut dari sampel

1 gram ekstrak kental dilarutkan dengan 10 ml aquades. Hasil ekstraksi disaring kemudian disuntikan sebanyak 1  $\mu$ l pada alat kromatografi gas dengan kondisi pengukuran sebagai berikut:

Kolom	: PEG
Diameter kolom	: 0,3 cm
Panjang kolom	: 3 m
Suhu kolom	: 60°C - 100°C
Suhu injector	: 120°C
Suhu detector	: 120°C
Gas pembawa	: nitrogen
Detektor	: FID ( <i>Flame Ionization Detector</i> )
Kecepatan alir gas pembawa	: 40 ml/menit

### c. Uji kandungan kimia

#### 1) Identifikasi kandungan kimia

##### a) Identifikasi alkaloid

Timbang 1 gram ekstrak, tambahkan 1 ml asam klorida 2 N , kemudian disaring. Filtrat dibagi menjadi lima bagian pada kaca arloji dan ditambahkan pereaksi Mayer LP, Bouchardat LP, Dragendorff LP, dan solutio iodii LP. Jika dengan Mayer LP terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning yang larut dalam metanol P dan dengan Bouchardat LP terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, maka ada kemungkinan terdapat alkaloid. Penambahan Dragendorff LP memberikan hasil positif jika terbentuk endapan merah bata, sedangkan dengan solution Iodii LP, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan coklat (21).

##### b) Identifikasi glikosida

###### (1) Larutan percobaan

Sari 3 g ekstrak dengan 30 ml campuran 7 bagian volume etanol (95%) P dan 3 bagian volume air, dalam alat pendingin alir balik selama 10 menit, dinginkan, saring. Pada 20 ml filtrat tambahkan 25 ml air dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M, kocok, diamkan selama 5 menit, saring. Sari filtrat 3 kali, tiap kali dengan 20 ml campuran 3 bagian volume kloroform P dan 2 bagian volume isopropanol P. Pada kumpulan sari tambahkan natrium sulfat

anhidrat P, saring, dan uapkan pada suhu tidak lebih dari 50°C. Larutkan sisa dengan 2 ml metanol P (21).

## **(2) Percobaan umum terhadap glikosida**

0,5 gram ekstrak dilarutkan dalam 10 ml heksan kemudian disaring, larutkan filtrat dalam 5 ml asam asetat anhidrat P. Tambahkan 10 tetes asam sulfat P; terjadi warna biru atau hijau, menunjukkan adanya glikosida (reaksi Liebermann-Burchard) (21)

Masukkan 0,1 ml larutan percobaan dalam tabung reaksi, uapkan di atas tangas air. Pada sisa tambahkan 2 ml air dan 5 tetes Molish LP. Tambahkan hati-hati 2 ml asam sulfat P; terbentuk cincin berwarna ungu pada batas cairan, menunjukkan adanya ikatan gula (reaksi Molish ) (21).

## **(3) Percobaan terhadap glikosida jantung**

Ecerkan 0,1 ml larutan dengan 2,9 ml metanol P, tambahkan Baljet LP, terjadi warna jingga setelah beberapa menit, menunjukkan adanya glikosida dan aglikon kardenolida (21).

Pada 0,1 ml larutan percobaan tambahkan 2 ml Kedde LP dan 2 ml kalium hidroksida 1 N, terjadi warna merah ungu sampai biru ungu dan dalam beberapa menit, menunjukkan adanya glikosida dan aglikon kardenolida (21).

Uapkan 0,2 ml larutan percobaan di atas tangas air. Larutkan sisa dengan 3 ml asam asetat P dengan sedikit pemanasan, dinginkan. Teteskan besi (III) klorida 0,3 M, terbentuk cincin berwarna merah coklat pada batas

cairan, setelah beberapa menit di atas cincin berwarna biru hijau, menunjukkan adanya glikosida dan glikon 2-desoksigula (reaksi Keller-kiliani). Dari keempat percobaan di atas, serbuk mengandung glikosida jantung jika paling kurang reaksi menunjukkan adanya aglikon kardenolida dan glikon 2-desoksigula (21).

#### **(4) Percobaan terhadap glikosida antrakinon**

1 ml larutan percobaan, ditambahkan 10 ml benzena P, kocok, diamkan. Pisahkan lapisan benzena, saring; filtrat berwarna kuning, menunjukkan adanya antrakinon. Kocok lapisan benzena dengan 1 ml sampai 2 ml natrium hidroksida 2 N, diamkan; lapisan air berwarna merah intensif dan lapisan benzena tidak berwarna (21).

#### **c) Identifikasi flavonoid**

Sebanyak 1 g ekstrak dilarutkan dalam 1 ml sampai 2 ml etanol 95% P kemudian ditambahkan 0,5 g serbuk seng P dan 2 ml asam klorida 2 N, didiamkan selama 1 menit lalu ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat P. Jika dalam waktu 2 sampai 5 menit terjadi warna merah intensif, menunjukkan adanya flavonoid (glikosida-3-flavonol) (21).

Sebanyak 1 g ekstrak dilarutkan dalam 1 ml etanol 95% lalu ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium P dan 10 tetes asam klorida pekat P. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu, menunjukkan adanya

flavonoid. Jika terjadi warna kuning jingga, menunjukkan adanya flavon, kalkon, dan auron) (21).

Sebanyak 1 g ekstrak dibasahkan dengan aseton P, ditambahkan sedikit serbuk halus asam borat P dan asam oksalat P. Secara hati-hati dipanaskan di atas penangas air dan dihindari pemanasan yang berlebihan. Sisa yang diperoleh dicampur dengan 10 ml eter P. Perubahan warna diamati dengan sinar UV 366 nm. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan fluoresensi kuning intensif (21).

#### **d) Identifikasi saponin**

Masukkan 1 g ekstrak yang diperiksa ke dalam tabung reaksi, tambahkan 10 ml air panas, dinginkan dan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik. (Jika zat yang diperiksa berupa sediaan cair, encerkan 1 ml sediaan yang diperiksa dengan 10 ml air dan kocok kuat-kuat selama 10 menit); terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N, buih tidak hilang (21).

#### **e) Identifikasi tanin**

Sebanyak 200 mg ekstrak dilarutkan dengan 20 ml air suling panas lalu dikocok hingga homogen (larutan tanin 1%). Setelah dingin disentrifuge dan cairan diatasnya didekantasi. Filtrat dibagi menjadi 2 bagian, yang pertama ditambahkan larutan natrium klorida 10% dalam larutan gelatin 1%,

endapan yang terjadi diamati. Kedua ditambah besi (III) klorida 3%, menunjukkan hasil positif jika terbentuk larutan biru-kehitaman atau hijau-kecoklatan (22).

## 2) Pola kromatogram

Pola kromatogram dari ekstrak daun alpukat dapat diperoleh melalui kromatografi lapis tipis menggunakan berbagai fase gerak yang sesuai dengan kandungan kimia yang dianalisis.

### a) Pembuatan larutan uji

Sebanyak 2 g ekstrak dilarutkan dalam 30 ml air suling panas, kemudian disaring. Filtrat disari dengan 10 ml etil asetat P, lapisan etil asetat diambil dan diuapkan diatas penangas air, sisanya dilarutkan dengan metanol P. Larutan yang diperoleh merupakan larutan uji.

### b) Kromatografi lapis tipis

Sebanyak 10  $\mu$ l larutan uji ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis GF<sub>254</sub> kemudian dicoba dengan berbagai fase gerak antara lain n-butanol-asam asetat glasial-air (4:1:5), toluen-etil asetat (7:3), kloroform-metanol (5:1), kloroform-metanol-air (80:12:2), etil asetat-asam formiat-air (10:2:3), aseton-etil asetat (1:1), kloroform-etil asetat (1:1). Hasil elusi dengan diamati dengan sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan



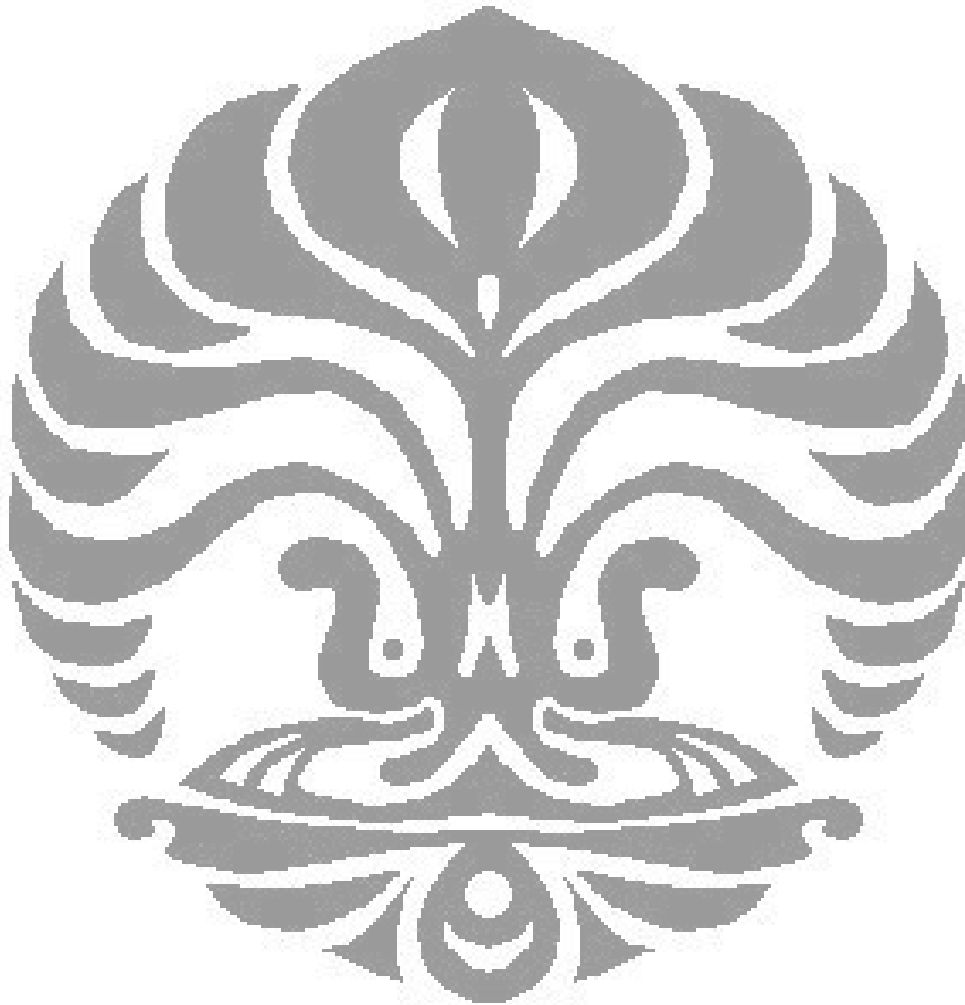
366 nm kemudian lempeng kromatografi disemprotkan dengan larutan penampak noda  $\text{AlCl}_3$  5% dalam metanol, dan diamati di bawah sinar ultraviolet pada panjang gelombang 366 nm dan 254 nm. Fase gerak yang memberikan pemisahan yang paling baik digunakan untuk percobaan selanjutnya.

### 3) Penetapan kadar flavonoid total

Timbang seksama ekstrak yang setara 200 mg simplisia dan masukkan ke dalam labu alas bulat. Tambahkan sistem hidrolisis yaitu 1,0 ml larutan 0,5% b/v heksametilentetramina, 20,0 ml aseton dan 2,0 ml larutan 25% HCL dalam air. Lakukan hidrolisis dengan pemanasan sampai mendidih (gunakan pendingin air / "refluk") selama 30 menit. Campuran hasil hidrolisis disaring menggunakan kapas ke dalam labu ukur 100,0 ml. Residu hidrolisis ditambah 20 ml aseton untuk dididihkan kembali selama 30 menit, lakukan dua kali dan filtrat dikumpulkan semua ke dalam labu ukur. Setelah labu ukur dingin, volume ditepatkan sampai 100,0 ml, kocok rata. Pipet 20 ml filtrat hidrolisa dimasukkan corong pisah, dan tambahkan 20 ml  $\text{H}_2\text{O}$ . Selanjutnya lakukan ekstraksi dengan cara pengocokan, pertama dengan 15 ml etilasetat, kemudian dua kali dengan 10 ml etilasetat kedalam labu ukur 50,0 ml, akhirnya tambahkan etilasetat hingga tepat 50,0 ml.

Masukkan 10 ml larutan fraksi etilasetat (hidrolisa) kedalam labu ukur 25,0 ml, lalu tambahkan 1 ml larutan alumunium (III) klorida (2 g alumunium (III) klorida dalam 100 ml larutan asam asetat glasial 5% v/v dalam metanol).

Volume dicukupkan dengan larutan asam asetat glasial 5 % v/v (dalam metanol) sampai tepat 25,0 ml. Hasil reaksi siap diukur pada spektrofotometer setelah 30 menit berikutnya pada panjang gelombang maksimum dengan pembanding kuersetin (9).



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. HASIL

##### 1. Pembuatan serbuk simplisia

Simplisia yang digunakan adalah daun alpukat yang berasal dari tiga daerah yaitu Bogor (kode EDAB), Madiun (EDAM), dan Purwokerto (EDAP). Dengan bahan yang digunakan untuk masing-masing daerah sebesar 300 g dan ukuran serbuk 100 mesh.

##### 2. Uji pendahuluan (pemilihan pelarut yang tepat)

Uji pendahuluan yang dilakukan dengan mengekstraksi serbuk daun alpukat menggunakan pelarut air, etanol 60%, 70%, 80%, 90%, dan 96%, memberikan nilai rendemen berturut-turut yaitu: 36,3%, 37%, 37%, 35,64%, 37%, dan 31%. Pelarut yang dipilih untuk pembuatan ekstrak yaitu etanol 70%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 13.

##### 3. Pengujian terhadap ekstrak daun alpukat

###### a. Rendeman

Ekstrak yang telah dipekatkan dengan *rotary evaporator* dituang ke dalam cawan yang telah ditara, kemudian diuapkan dalam penangas air pada suhu tidak lebih dari 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Rendeman

ekstrak dihitung dengan membandingkan berat ekstrak kental yang diperoleh terhadap jumlah serbuk simplisia yang digunakan pada proses ekstraksi. Rendeman ekstrak etanol daun alpukat yang diperoleh untuk daerah Bogor sebesar 29,87%, Madiun 29,99%, dan Purwokerto 28,93%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1.

## **b. Parameter spesifik**

### **1. Organoleptik**

Hasil pengamatan terhadap ekstrak etanol daun alpukat :

Bentuk : ekstrak kental

Warna : hitam - kecoklatan

Bau : spesifik

Rasa : pahit

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

### **2. Kadar senyawa larut air**

Berdasarkan percobaan senyawa larut air yang dilakukan terhadap ekstrak etanol daun alpukat dari 3 daerah, diperoleh kadar pada kisaran 40,69 – 61,25%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 3.

### 3. Kadar senyawa larut etanol

Berdasarkan percobaan senyawa larut etanol yang dilakukan terhadap ekstrak etanol daun alpukat, diperoleh kadar pada kisaran 25,09 – 55,70%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.

#### c. Parameter non spesifik

##### 1. Susut pengeringan

Berdasarkan hasil percobaan terhadap ekstrak daun alpukat, diperoleh susut pengeringan pada kisaran 11,66 – 13,80%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5.

##### 2. Kadar air

Berdasarkan hasil percobaan terhadap ekstrak daun alpukat, diperoleh kadar air pada kisaran 11,56 – 13,46%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 6.

##### 3. Kadar abu

###### a) Penetapan kadar abu total

Berdasarkan hasil percobaan terhadap ekstrak etanol daun alpukat, diperoleh kadar abu pada kisaran 3,77 – 5,88%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 7.

## **b) Penetapan kadar abu yang tidak larut asam**

Kadar abu yang tidak larut asam ekstrak etanol daun alpukat barada pada kisaran 0,66 – 0,96%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 8.

## **c) Sisa pelarut**

Berdasarkan hasil pengukuran dengan alat kromatografi gas di laboratorium Afiliasi Kimia UI diketahui kadar sisa pelarut etanol di dalam ekstrak etanol daun alpukat dari daerah Bogor 0,037%, Madiun 0,058%, Purwokerto 0,004%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran .

## **d. Uji kandungan kimia**

### **1. Identifikasi kandungan kimia**

Pada identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun alpukat menunjukkan bahwa ekstrak mengandung alkaloid dengan terbentuknya endapan putih yang larut saat penambahan metanol P pada penambahan pereaksi Mayer LP, terbentuknya kompleks yang mengendap berwarna coklat pada penambahan pereaksi Bouchardat LP, endapan merah bata dengan pereaksi Dragendorff LP, dan endapan coklat dengan pereaksi solutio iodii LP. Memberikan hasil negatif pada identifikasi glikosida, tetapi hasil positif didapatkan pada identifikasi ikatan gula menggunakan pereaksi Molish LP ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas cairan. Mengandung flavonoid, pada percobaan reduksi menggunakan

serbuk Zn dan Mg dihasilkan warna merah dan merah ungu yang menunjukkan hasil positif. Pada penambahan serbuk asam borat dan oksalat dihasilkan fluorescensi kuning pada UV 366 nm. Terbentuk busa yang mantap setelah dilakukan pengocokkan terhadap ekstrak daun alpukat, menunjukkan adanya senyawa golongan saponin. Dengan penambahan natrium klorida-gelatin dihasilkan endapan warna putih kecoklatan. Pada penambahan besi (III) klorida dihasilkan larutan yang berwarna hijau kehitaman, dari hasil tersebut menunjukkan bahwa sampel ekstrak mengandung tanin.

## 2. Pola kromatogram

Pola kromatogram yang diperoleh menggunakan kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform-methanol-air (80:12:2) dan diamati sebelum dan sesudah lempeng disemprot dengan penampak bercak  $\text{AlCl}_3$  5 % dalam metanol pada sinar UV 254 nm dan 366 nm, Pola kromatogram kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun alpukat yang berasal dari daerah Bogor, Purwokerto, Madiun sebelum disemprot dengan penampak bercak menunjukkan 7 bercak berwarna hitam pada sinar UV 254 nm dengan Rf 0,05 0,13, 0,30, 0,34, 0,60, 0,78 dan 0,85 (Gambar 5). Setelah penyemprotan dengan  $\text{AlCl}_3$  5% dalam metanol dan diamati pada sinar UV 366 nm terlihat 8 bercak yang sama, 1 bercak berfluoresensi kuning-kehijauan pada Rf 0,05, dan 1 bercak berfluoresensi kuning pada Rf 0,13, 1 bercak berfluoresensi kuning-lemah pada Rf 0,34, dan 5 bercak berfluoresensi putih pada Rf 0,45,

0,71, 0,76, 0,78, dan 0,85 (Gambar 8). Dari hasil pengukuran dengan densitometer di dapat bahwa ekstrak etanol daun alpukat dari ketiga daerah yaitu Madiun, Purwokerto, dan Bogor memiliki pola spektrum serapan yang hampir sama (Gambar 6 dan 9)

### **3. Penetapan kadar flavonoid total**

Dari hasil pengukuran dengan spektrofotometer UV-VIS, diperoleh kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol daun alpukat dari daerah Madiun 3,44 %, Purwokerto 2,18 %, dan Bogor 1, 29 %. Hasil selengkapnya dapat dilihat di tabel 10.

## **B. PEMBAHASAN**

Sesuai ketentuan perundang-undangan yang berlaku obat tradisional yang beredar harus memenuhi persyaratan mutu, keamanan dan kemanfaatan. Ekstrak tumbuhan obat yang merupakan salah satu bentuk bahan penyusun obat tradisional sangat menentukan mutu, keamanan, dan kemanfaatan obat tradisional (9).

Pada penelitian ini digunakan daun alpukat dari tiga daerah, yaitu Bogor, Purwokerto dan Madiun yang merupakan daerah penghasil alpukat, sehingga diharapkan pengambilan contoh tanaman yang akan distandardisasi dapat mewakili seluruh daerah di Indonesia. Sebelum digunakan daun alpukat di determinasi terlebih dahulu di Hebarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia,



Cibinong. Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1, determinasi dilakukan untuk mengetahui keaslian dari daun alpukat.

Daun alpukat yang diperoleh dari Bogor, Madiun, dan Purwokerto sudah dalam bentuk kering. Kemudian dibersihkan dari kotoran dan tanah yang menempel serta dilakukan pemilihan terhadap daun yang akan dipakai, hindari penggunaan daun yang rusak akibat jamur. Simplisia dibuat menjadi serbuk dengan menggunakan mesin penyerbuk, setelah itu diayak dengan ukuran 100 mesh.

Ekstrak kental daun alpukat dibuat secara maserasi dengan etanol yang didestilasi, cara ini dipilih karena pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena etanol lebih selektif dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih rendah (23). Pada penelitian ini digunakan etanol 70 % karena sesuai dengan uji pendahuluan menggunakan air, etanol 60%, 70%, 80%, 90%, dan 96% yang telah dilakukan diperoleh nilai rendemen terbesar adalah 37% terdapat pada etanol 60%, 70%, dan 90%. Pada etanol 90% klorofil lebih banyak terbawa bila dibandingkan dengan etanol 70% dan 60%, sehingga akan mengganggu pengamatan saat melakukan kromatografi, sedangkan etanol 60% lebih banyak mengandung air sehingga proses penguapan akan lebih lama bila dibandingkan dengan etanol 70%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 13

Simplisia yang digunakan sebanyak 300 g, maserasi dilakukan sebanyak enam kali. Dengan dilakukannya maserasi berulang diharapkan

semua senyawa yang terkandung dalam simplisia terekstraksi dengan sempurna. Ekstrak cair yang dihasilkan kemudian dikumpulkan dan dipekatkan dengan menggunakan *vakum rotary evaporator* dan penangas air dengan suhu tidak lebih 50°C hingga dihasilkan ekstrak kental, digunakan *Vakum rotary evaporator* agar dapat menghemat pelarut yang digunakan dan mempercepat penguapan.

Parameter pertama yang ditetapkan adalah organoleptik yaitu penggunaan pancaindra untuk mendeskripsikan bentuk, warna, dan bau. Dari ketiga tempat ternyata memiliki kesamaan yaitu diperoleh ekstrak kental, berwarna hitam-kecoklatan, berbau khas, dan mempunyai rasa yang pahit. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Parameter senyawa terlarut dalam air dan etanol bertujuan untuk mengetahui jumlah senyawa yang terlarut dalam air dan etanol. Dari hasil yang didapat ternyata senyawa yang terlarut dalam air lebih besar dibandingkan senyawa yang terlarut dalam etanol. Hal ini disebabkan proses ekstraksi menggunakan etanol 70% dimana tingkat kepolarannya mendekati air, sehingga jumlah senyawa yang terlarut air seperti glikosida, dan tanin 4,7% yang merupakan kandungan dari daun alpukat lebih banyak, dibandingkan senyawa yang terlarut dalam pelarut etanol (23).

Pada pengujian kadar senyawa terlarut dalam etanol, hasil menunjukkan bahwa kadar senyawa terlarut etanol ekstrak etanol daun alpukat berbeda-beda. Hal ini mungkin dipengaruhi oleh tinggi tempat, keadaan tanah dan cuaca dari tempat tumbuh daun alpukat tersebut (24).

Penetapan susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Dalam hal khusus (jika bahan tidak mengandung minyak menguap/atsiri dan sisa pelarut organik menguap) identik dengan kadar air. Susut pengeringan ekstrak etanol daun alpukat memiliki nilai yang tidak berbeda jauh. Kisaran susut pengeringan ekstrak etanol daun alpukat 11,66 – 13,80% (Tabel 5).

Penetapan kadar air bertujuan memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam bahan. Nilai kadar air pada ekstrak etanol daun alpukat dari masing-masing daerah tidak berbeda jauh. Hal ini memperlihatkan kekentalan ekstrak dari masing-masing daerah hampir sama. Nilai kadar air berkisar antara 11,56 – 13,46% (Tabel 6)

Penetapan kadar abu dengan cara ekstrak kental dipanaskan pada temperatur  $800 \pm 25$  °C dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik, tujuannya untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuk ekstrak. Kisaran kadar abu total adalah 3,77 – 5,88% (Tabel 7), sedangkan kisaran kadar abu yang tidak terlarut dalam asam adalah 0,66 – 0,96% (Tabel 8). Kadar abu dari Bogor dan Purwokerto memiliki kadar yang tinggi bila dibandingkan dengan kadar abu dari Madiun, hal ini dapat disebabkan adanya pengaruh dari tempat tumbuh yang berbeda.

Sesuai dengan aturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan bahwa sisa pelarut yang diperbolehkan dalam ekstrak tidak lebih besar dari 1% (11). Penetapan sisa pelarut dilakukan di laboratorium Afiliasi Departemen Kimia FMIPA UI dengan menggunakan alat kromatografi gas. Kadar sisa pelarut ekstrak etanol daun alpukat daerah Madiun 0,058%, Bogor 0,037%, Purwokerto 0,004%. Dari hasil yang diperoleh ekstrak kental masih memenuhi persyaratan dan boleh digunakan sebagai bahan obat tradisional.

Uji kandungan kimia terhadap ekstrak kental daun alpukat dilakukan untuk mengidentifikasi adanya kandungan kimia di dalam daun tanaman alpukat. Uji kandungan secara kimia memperlihatkan hasil yang negatif terhadap glikosida jantung dan glikosida antrakinon.

Identifikasi adanya alkaloid berdasarkan sifat kabasaannya, penambahan asam klorida 2N untuk melarutkan alkaloid sebagai garam dan akan membentuk endapan dengan pereaksi Mayer, Bouchardat, Dragendorf, dan Solutio Iodii. Hasil positif dengan pereaksi Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih, dengan Bouchardat membentuk kompleks yang mengendap berwarna coklat, Dragendorf memberikan endapan merah-bata, dengan Solutio Iodii membentuk endapan coklat. Adanya terpen atau sterol ditunjukkan dengan reaksi positif pada pereaksi Liebermann-Burchard yaitu dengan terbentuknya warna hijau. Adanya gula ditunjukkan oleh terbentuknya cincin ungu pada batas cairan dengan pereaksi Molish.

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 10 ml air panas, dinginkan dan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik. terbentuk

buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N, buih tidak hilang, cara ini dilakukan untuk mengetahui adanya saponin dalam ekstrak, pada ekstrak dari Madiun terbentuk buih setinggi 0,9 cm, Purwokerto 1,7 cm, Bogor 1,3 cm dan mantap lebih dari 10 menit, pada penambahan 1 tetes HCl 2N, buih tidak hilang.

Adanya tanin diidentifikasi dengan cara melarutkan ekstrak dalam air panas kemudian disentrifuge dan diambil larutan atasnya dijadikan larutan uji. Pertama, larutan uji dimasukkan tabung reaksi dan ditambahkan larutan NaCl-gelatin, terbentuk endapan berwarna coklat-keputihan setelah disentrifuge, menunjukkan ekstrak etanol daun alpukat mengandung tanin. Kedua, larutan uji ditambahkan besi (III) klorida 3 % menunjukkan hasil positif dengan terbentuk larutan hijau – kecoklatan. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa dalam ekstrak daun alpukat mengandung tanin kondensasi atau tanin katekin.

Ekstrak juga menunjukkan hasil positif terhadap adanya flavonoid golongan glikosida-3-flavonol, yaitu terjadi reaksi reduksi dengan serbuk Zn, dan hasil positif adanya flavonol, flavanon, atau xanton, yaitu terjadi reaksi reduksi magnesium dan asam klorida pekat menghasilkan warna merah ungu, Serta berfluoresensi kuning-kehijauan pada sinar UV 366 nm akibat terbentuknya senyawa kompleks dengan asam borat dan asam oksalat.

Dari pengujian kandungan kimia ekstrak yang dilakukan terhadap ekstrak daun alpukat diperoleh gambaran awal tentang komposisi kandungan

kimia ekstrak. Berdasarkan penelusuran pustaka yang dilakukan diperoleh bahwa daun alpukat mengandung flavonoid golongan flavonol yaitu kuersetin dan kemferol, oleh karena itu dalam penelitian ini dilakukan identifikasi secara kromatografi lapis tipis (KLT) untuk menunjukkan adanya flavonoid golongan flavonol dan mencari pemisahan yang baik dalam ekstrak etanol daun alpukat. Untuk mencari pemisahan yang baik, maka digunakan beberapa kombinasi fase gerak n-butanol-asam asetat glasial-air (4:1:5), toluen-etil asetat (7:3), kloroform-metanol (5:1), kloroform-metanol-air (80:12: 2), etil asetat-asam formiat-air (10:2:3), aseton-etil asetat (1:1), kloroform-etil asetat (1:1). Pemilihan fase gerak ini berdasarkan pada adanya senyawa flavonoid. Untuk menunjukkan adanya flavonoid golongan flavonol digunakan larutan standar kuersetin. Identifikasi dapat dilakukan dengan adanya bercak pada sampel yang memiliki  $R_f$  yang sama dengan nilai  $R_f$  zat standar dan warna bercak. Larutan uji dibuat dengan cara melarutkan ekstrak dengan air suling panas bertujuan agar lemak dan klorofil tidak ikut tersari, kemudian disaring. Filtrat diekstraksi dengan etil asetat, untuk memisahkan senyawa yang lebih polar dari flavonoid, seperti karbohidrat. Kemudian fraksi etil asetat di uapkan pada suhu tidak lebih dari  $50^{\circ}\text{C}$ , sisanya dilarutkan dalam metanol, larutan ini yang dijadikan sebagai larutan uji. Pemilihan komposisi fase gerak dilakukan dengan memperhitungkan kepolaran campuran fase gerak sehingga dengan kepolaran yang sesuai dengan golongan senyawa yang akan diidentifikasi yaitu flavonoid golongan flavonol. Dari hasil percobaan dengan berbagai fase gerak, yang menghasilkan

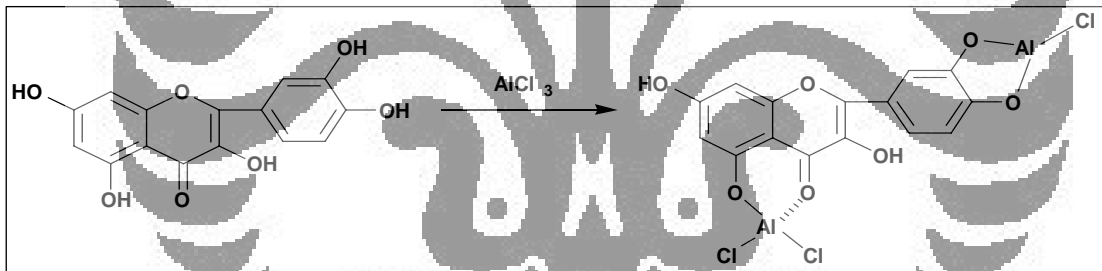
pemisahan yang paling baik adalah campuran kloroform-metanol-air (80:12:2). Pada pengamatan dengan UV 254 nm diperoleh bercak gelap, pada Rf 0,34 dan standar kuersetin Rf 0,32. Setelah disemprot dengan alumunium (III) klorida 5% dalam metanol, diperoleh bercak yang berfluoresensi kuning-lemah pada Rf 0,34 dan standar kuersetin berfluoresensi kuning pada Rf 0,32. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun alpukat dari 3 daerah mengandung flavonoid golongan flavonol dengan membandingkan warna bercak dan Rf yang sama dengan standar kuersetin.

Dilakukan pula pengamatan pola kromatogram dari ekstrak Madiun, Bogor, dan Purwokerto pada sinar UV 254 nm dan 366 nm. Pertama, sebelum lempeng disemprot dengan penampak bercak alumunium (III) klorida 5 % dalam metanol terlihat 7 bercak hitam yang memiliki nilai Rf yang sama pada pengamatan di bawah sinar UV 254 nm dengan intensitas yang berbeda-beda. Kedua, setelah lempeng disemprot dengan penampak bercak alumunium (III) klorida 5 % dalam metanol pada pengamatan di bawah sinar UV 366 nm terlihat 8 bercak yang sama pada ekstrak Madiun dan Purwokerto Bogor dengan fluoresensi kuning hingga putih dan dengan intensitas yang berbeda-beda, yang membedakan kadar komponen kimia ini adalah faktor lingkungan tempat simplisia tersebut tumbuh.

Pola kromatogram juga diperoleh dengan melihat spektrum serapan dengan densitometer pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Hasil

pengukuran densitometer menunjukkan bahwa ekstrak dari tiga daerah memiliki pola spektrum serapan yang sama dengan intensitas yang berbeda-beda. Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan tempat tumbuh, pemupukan, pengolahan tanah, dan bibit yang berbeda (24).

Untuk mengetahui kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol daun alpukat dilakukan penetapan kadar secara spektrofotometer. Pada pengukuran digunakan pereaksi geser alumunium (III) klorida, karena pereaksi ini membentuk kompleks tahan asam antara gugus hidroksil dan keton yang bertetangga dan membentuk kompleks yang tak tahan asam antara gugus orto-dihidroksi.



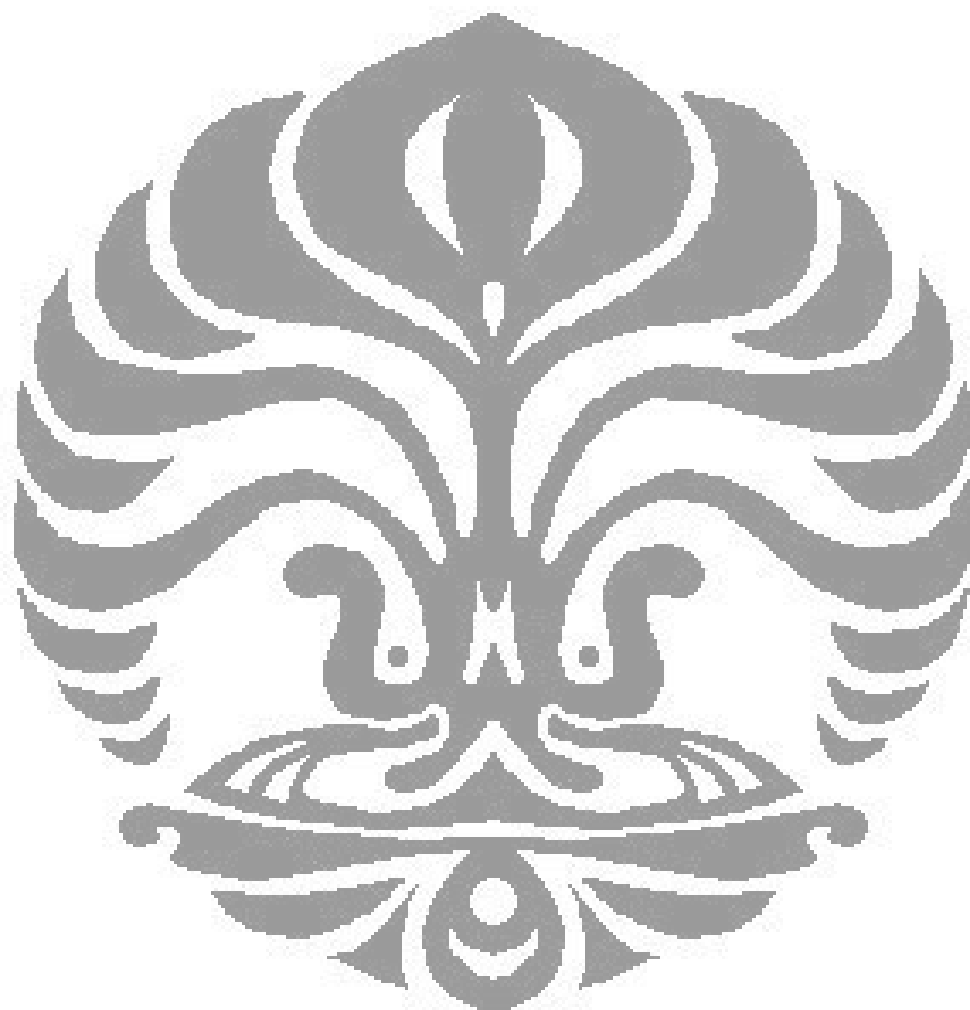
Gambar 2. Reaksi pembentukan senyawa kompleks pada penambahan larutan alumunium (III) klorida (25)

Dilakukan pengukuran standar kuersetin pada konsentrasi 10 ppm adalah 256,90 nm (pita II) dan 370,80 nm (pita I). Setelah penambahan larutan alumunium (III) klorida dilakukan pengukuran pada menit ke-10, 20, 30, dan 40 yang memberikan pergeseran panjang gelombang pada pita I, yaitu 429,8 nm (A:0,7520), 428,6 nm (A:0,7391), 427,2 nm (A:0,7267), 427,2 nm (A:0,7268). Berdasarkan data tersebut dapat dilihat bahwa pada



menit ke-10 terjadi pergeseran batokromik, tetapi pada menit ke-20 pergeseran panjang gelombang menjadi hipsokromik, sedangkan pada menit ke-30 dan 40, tidak terjadi perubahan panjang gelombang, Berdasarkan kurva waktu pengukuran dan serapan, pengukuran pada menit ke-10 dan 20, terjadi penurunan serapan, tetapi menit ke-30 dan 40 waktu pengukuran telah stabil, sehingga diharapkan pengukuran akan optimal. Oleh karena itu, peneliti melakukan pengukuran sampel ekstrak etanol daun alpukat pada menit ke-30. Penetapan kadar dihitung berdasarkan kurva kalibrasi dari tujuh konsentrasi yang berbeda yang diukur pada panjang gelombang maksimum 427,2 nm. Persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh adalah  $y = 0.0079035 + 0.0704x$ , dengan  $(r) = 0,9999522$ .

Pada penetapan kadar flavonoid total dilakukan hidrolisis terlebih dahulu, yaitu dengan penambahan asam klorida 25% dan pemanasan dengan refluks. Hal ini bertujuan untuk melepaskan gugus gula dari ikatan glikosidanya, sehingga flavonoid ditetapkan kadarnya sebagai aglikon (9). Hasil hidrolisis di ekstraksi dengan etil asetat. Kemudian direaksikan dengan aluminium (III) klorida. Saat direaksikan akan terjadi perubahan warna larutan menjadi kuning, karena terbentuk senyawa kompleks, dan pengukuran dilakukan pada menit ke-30 pada panjang gelombang 427,2 nm. Dari hasil penelitian didapat kadar flavonoid total dengan kisaran 1,29% – 3,44%.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak etanol daun alpukat, maka dapat diambil kesimpulan :

1. Nilai rendemen ekstrak yang diperoleh berada pada kisaran 28,93% sampai dengan 29,99%.
2. Parameter spesifik, ekstrak yang dihasilkan merupakan ekstrak kental, yang memiliki warna hitam-kecoklatan, berbau spesifik, dan memiliki rasa pahit; kadar senyawa larut air berada pada kisaran 40,69% sampai dengan 61,25%; dan kadar senyawa larut dalam etanol berada pada kisaran 25,09% sampai dengan 55,70%.
3. Parameter non spesifik, terdiri dari susut pengeringan berkisar antara 11,66% sampai dengan 13,80%; kadar air berkisar antara 11,56% sampai dengan 13,46%; kadar abu total berkisar antara 3,77% sampai dengan 5,88% sedangkan kadar abu tidak larut dalam asam berkisar antara 0,66% sampai 0,96%; dan kadar sisa pelarut etanol kurang dari 0,1%.
4. Ekstrak etanol daun alpukat dari Purwokerto, Madiun, dan Bogor mengandung alkaloid, terpen atau sterol, gula, flavonoid, saponin, dan tanin. Pola kromatogram diperoleh dengan menggunakan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) dan penampak bercak  $\text{AlCl}_3$  5% dalam

metanol, terlihat 7 bercak berwarna gelap pada sinar UV 254 nm dan 8 bercak berfluoresensi kuning-kehijauan hingga putih pada sinar UV 366 nm. Pengamatan dengan alat densitometer pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm dihasilkan pola spektrum serapan yang hampir sama dengan intensitas yang berbeda-beda.

## **B. SARAN**

Dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap parameter spesifik dan non spesifik lainnya seperti senyawa identitas, residu pestisida, cemaran mikroba, kapang, khamir dan alfatoksin.

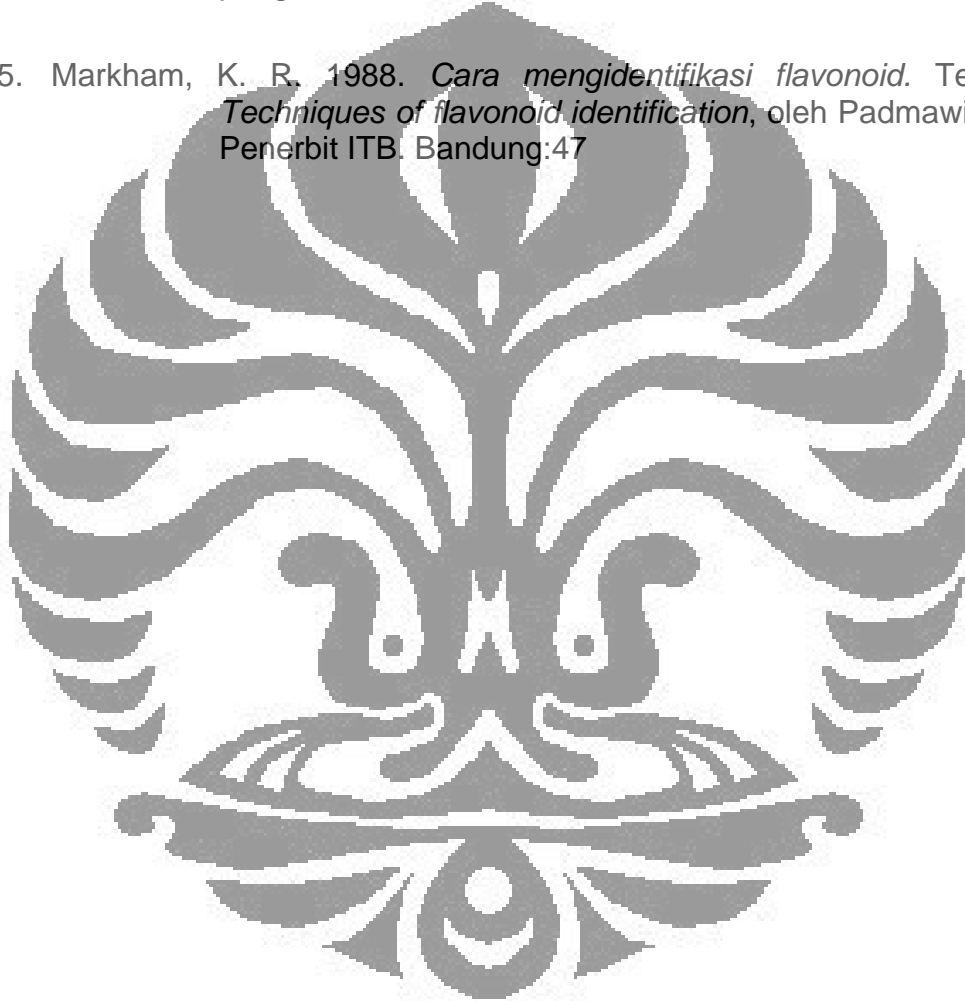


## DAFTAR ACUAN

1. Sukara, E. 2002. Sumber daya alam hayati dan pencarian bahan baku obat (bioprospecting). *Prosiding simposium nasional II tumbuhan obat dan aromatik*.
2. Yuliani, S. 2001. Prospek pengembangan obat tradisional menjadi obat fitofarmaka. *J. Litbang Pertanian*. **20**(3): 103-104
3. Sudarsono, A. gunawan, S. wahyuono, I. A. Donatus, purnomo. 2002. *Tumbuhan obat II (hasil penelitian, sifat-sifat, dan penggunaan)*. Pusat studi obat tradisional-universitas gadjah mada. Yogyakarta: 145
4. Muchandi, I.S. 2005. Hypoglycemic activity of aqueous leaf extract of *Persea americana* Mill. *Indian J Pharmacol*. **37**(5) : 325
5. Ross, I.A. 1999. *Medical plants of the world chemical constituents traditional and modern medicinal uses*. Humana press. Totowa-New jersey : 243
6. Anonim. 1989. *Vademekum bahan obat alam*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta : 10-12
7. Bartholomew I. C. B, A. A. Odetola, P. U. Agomo. Hypoglycemic and hypocholesterolemic potential of *Persea americana* leaf extracts. *J. of medicinal food*. **10**(2) : 356-360
8. Almeida, A. P., M.M.F.S. Miranda, I.C. Simoni, M.D. Wigg, M.H.C. Lagrota, S.S. Costa. Flavonol monoglycoside isolated from the antiviral fractions of *Persea Americana* Mill (Lauraceae) leaf infusion. *Phytotherapy research*. **12**(8) : 562 – 567.
9. Anonim. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat cetakan pertama*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: 2, 13, 17, 21, 35 – 36.

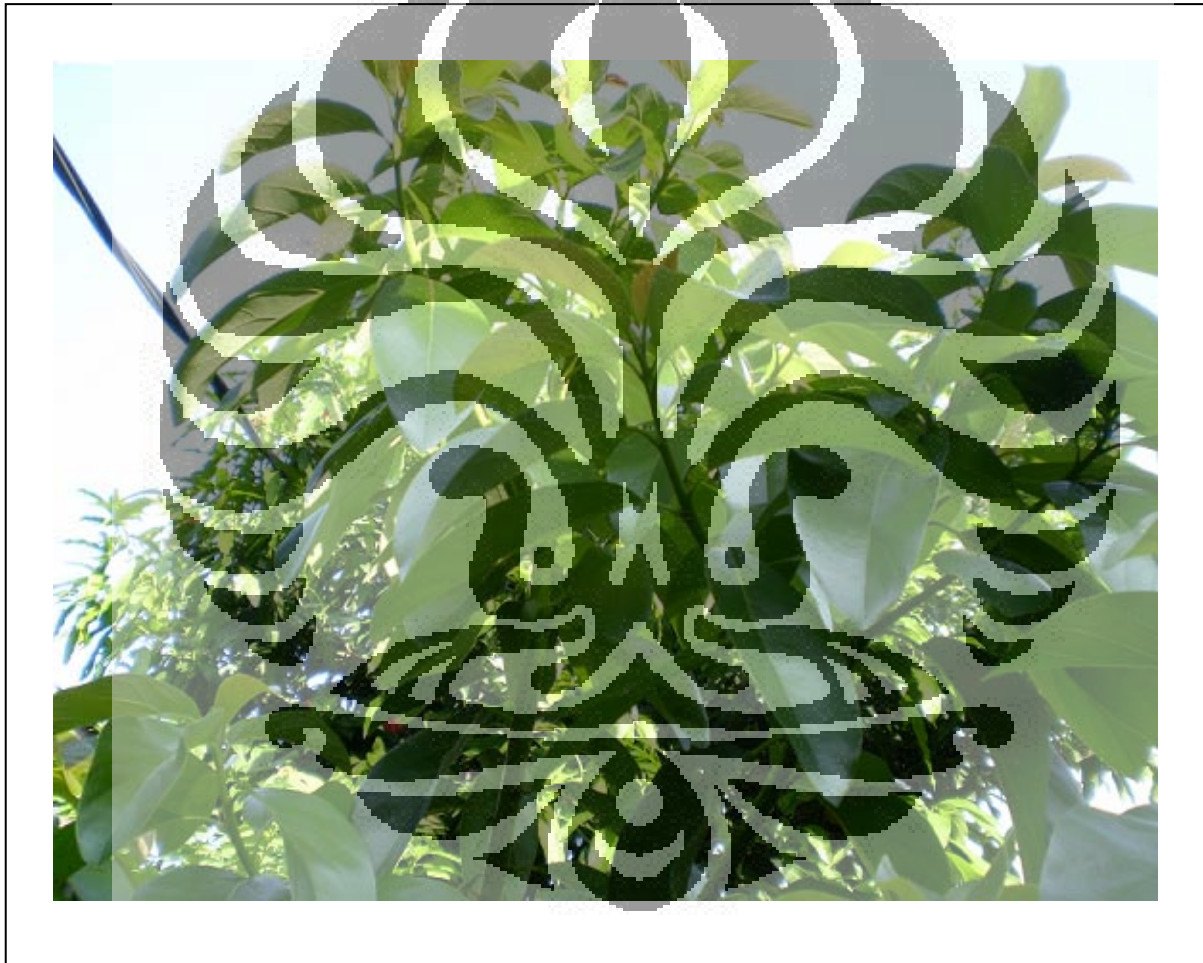
10. Gaedcke, f, S. Barbara, B. Helga. 2003. *Herbal medicinal products*. Medpharm Scientific Publisher. Stutgard : 4
11. Anonim. 2005. *Kriteria dan tata laksana pendaftaran obat tradisional, obat herbal terstandar dan fitofarmaka*. Badan pengawasan obat dan makanan Republik Indonesia. Jakarta: 2,13
12. Anonim. 1995. *Farmakope indonesia edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: 7
13. Jones, S. B. dan A. E. Luchsinger. 1987. *Plant systematics*, 2<sup>nd</sup> edition. McGraw-hill book company. Singapore:302
14. Heyne, K. 1987. *Tumbuhan berguna indonesia*. Jilid I. Terj. Dari *De nuttige planten van indonesia*, oleh Badan LITBANG Kehutanan. Yayasan Sarana Wanajaya. Jakarta : 807 – 808
15. Anonim. 1986. *Medical herbs in Indonesia*. 2<sup>nd</sup> edition. PT. EISAI Indonesia Jakarta
16. Anonim. 1978. *Materi medika indonesia jilid II*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta :70-71, 76
17. Gandjar, I.G, A. Rohman. 2007. *Kimia farmasi analisis*. Pustaka pelajar. Yogyakarta.
18. Sutrisno, B. 1986. *Reverse approach*. Edisi I. Fakultas farmasi universitas pancasila. Jakarta
19. Stahl, E. 1985. *Analisis obat secara kromatografi dan mikroskopi*. ITB. Bandung : 16 -17
20. Touchstone, J. C. & M. F. Dobbins. 1983. *Practise of thin layer chromatography*, 2<sup>nd</sup> ed. New York : John Wiley & Sons Inc
21. Anonim. 1995. *Materi medika indonesia jilid VI*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta : 549 – 553

22. Evans, W.C. 2002. *Trease and evans pharmacognosy 15<sup>th</sup>*, W. B. saunders. London: 223-224
23. Anonim. 1986. *Sediaan galenik*. Direktorat jenderal pengawasan obat dan makanan. Jakarta : 6
24. Anonim. 1985. *Cara pembuatan simplisia*. Direktorat jenderal pengawasan obat dan makanan. Jakarta : 3
25. Markham, K. R. 1988. *Cara mengidentifikasi flavonoid*. Terj. Dari *Techniques of flavonoid identification*, oleh Padmawinata, K. Penerbit ITB. Bandung:47









**Gambar 3. Tumbuhan alpukat (*Persea Americana* Mill.)**

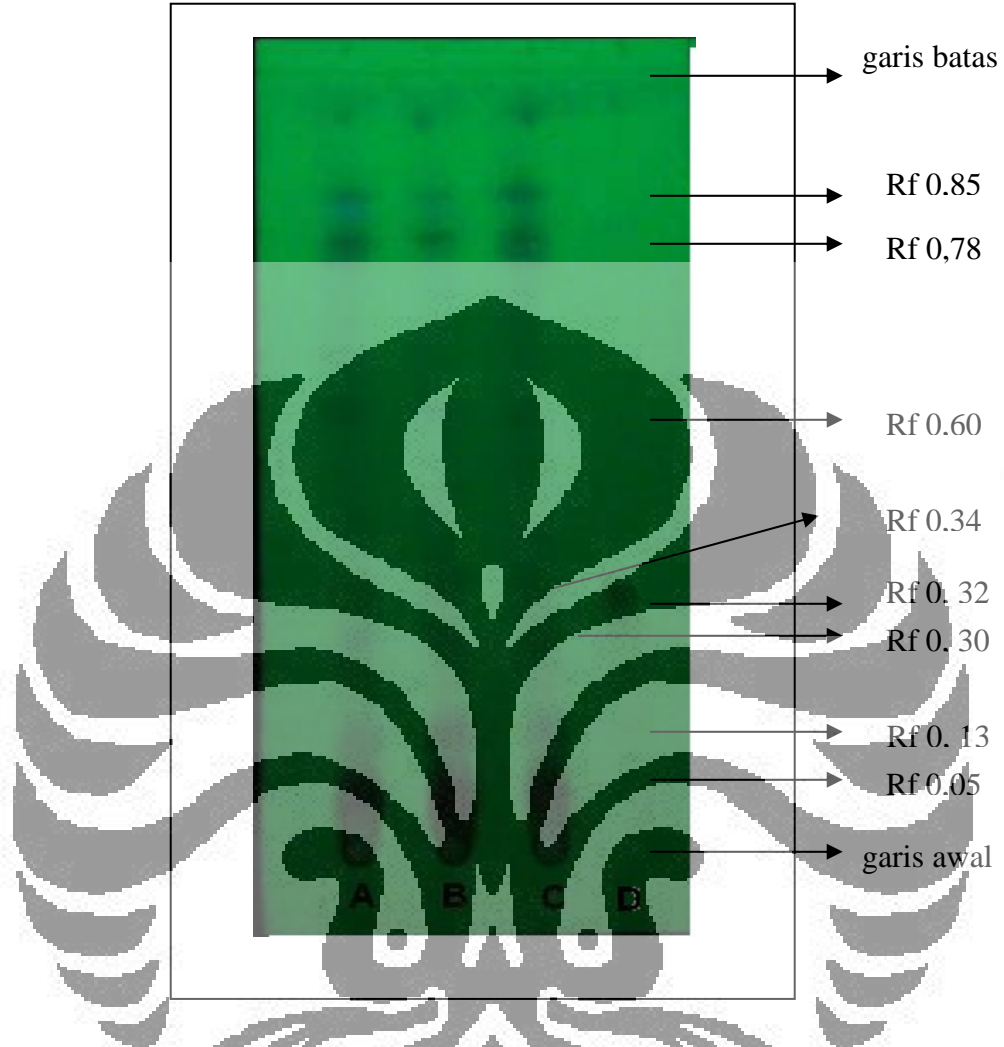


**Gambar 4. Daun alpukat (*Persea americana* Mill.)**



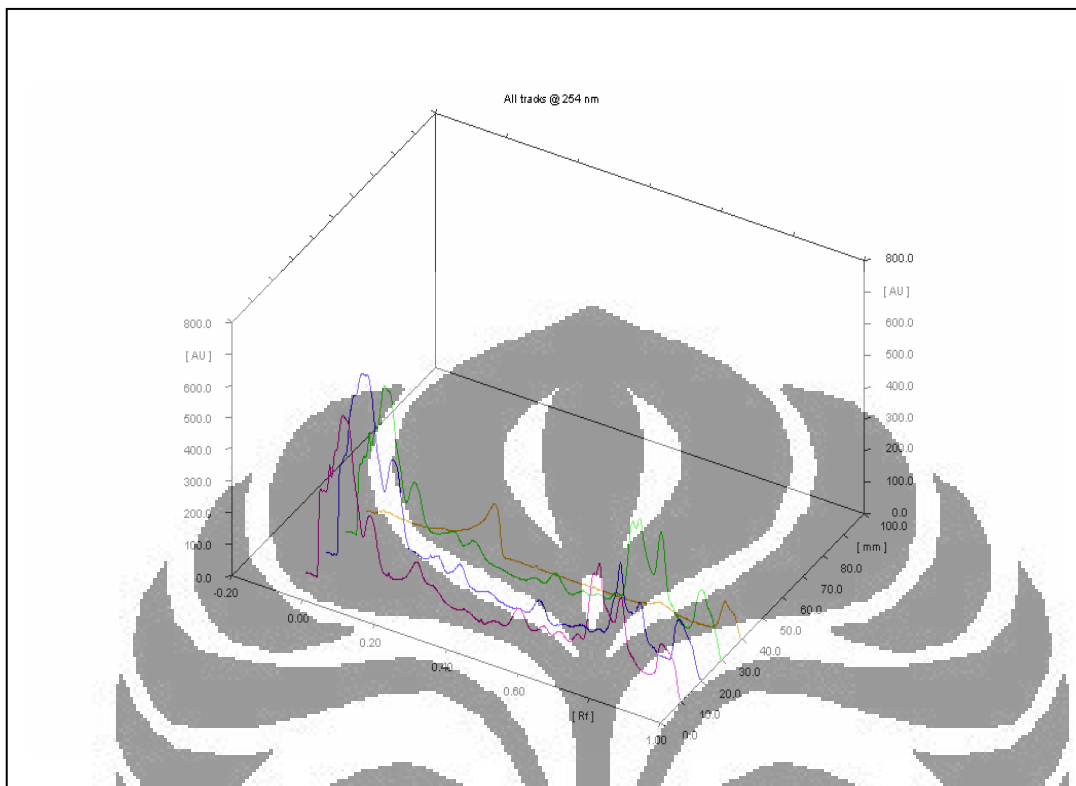
**Gambar 5. Kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) pada sinar tampak**

- Keterangan :**
- A. EDAP = ekstrak etanol dari Purwokerto
  - B. EDAM = ekstrak etanol dari Madiun
  - C. EDAB = ekstrak etanol dari Bogor
  - D. Pembanding (kuersetin)



**Gambar 6. Kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) pada UV 254 nm**

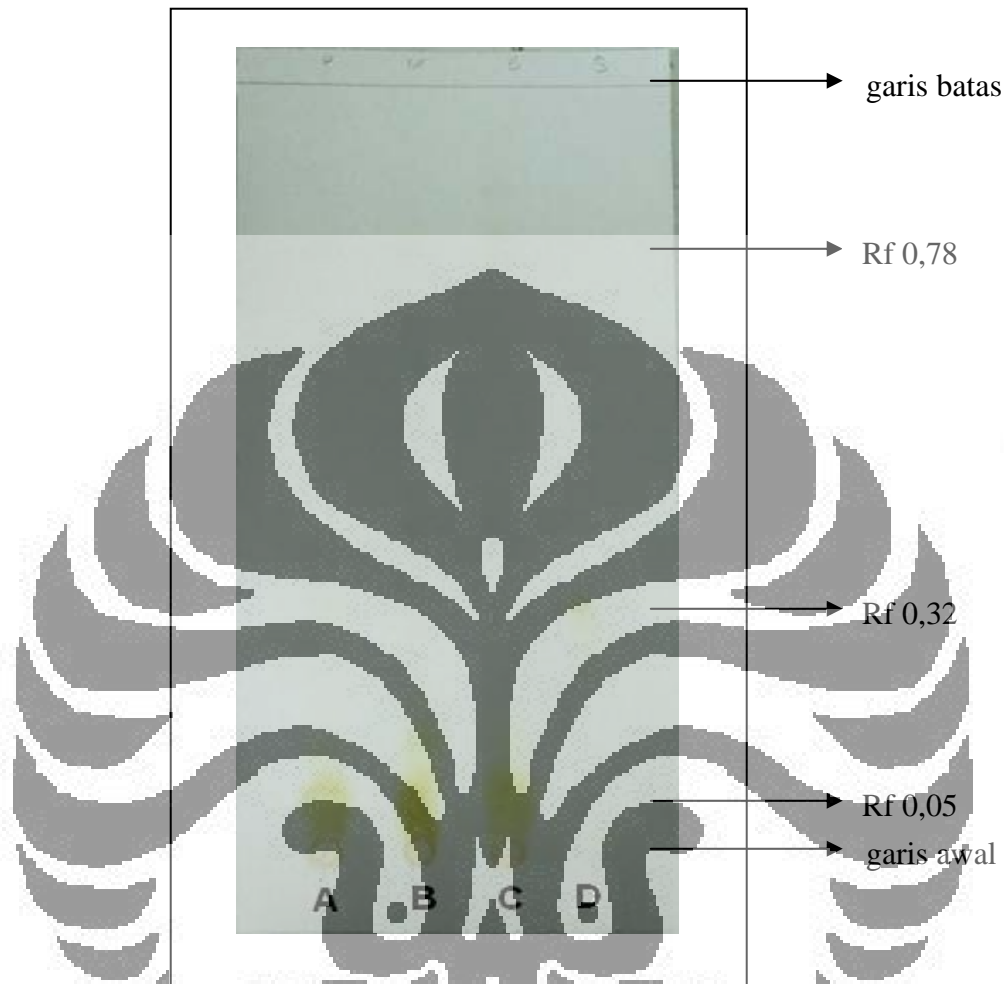
**Keterangan :** A. EDAP = ekstrak etanol dari Purwokerto  
 B. EDAM = ekstrak etanol dari Madiun  
 C. EDAB = ekstrak etanol dari Bogor  
 D. Pemanding (kuersetin)



**Gambar 7. Perbandingan kurva densitas ekstrak etanol daun alpukat dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) pada panjang gelombang 254 nm**

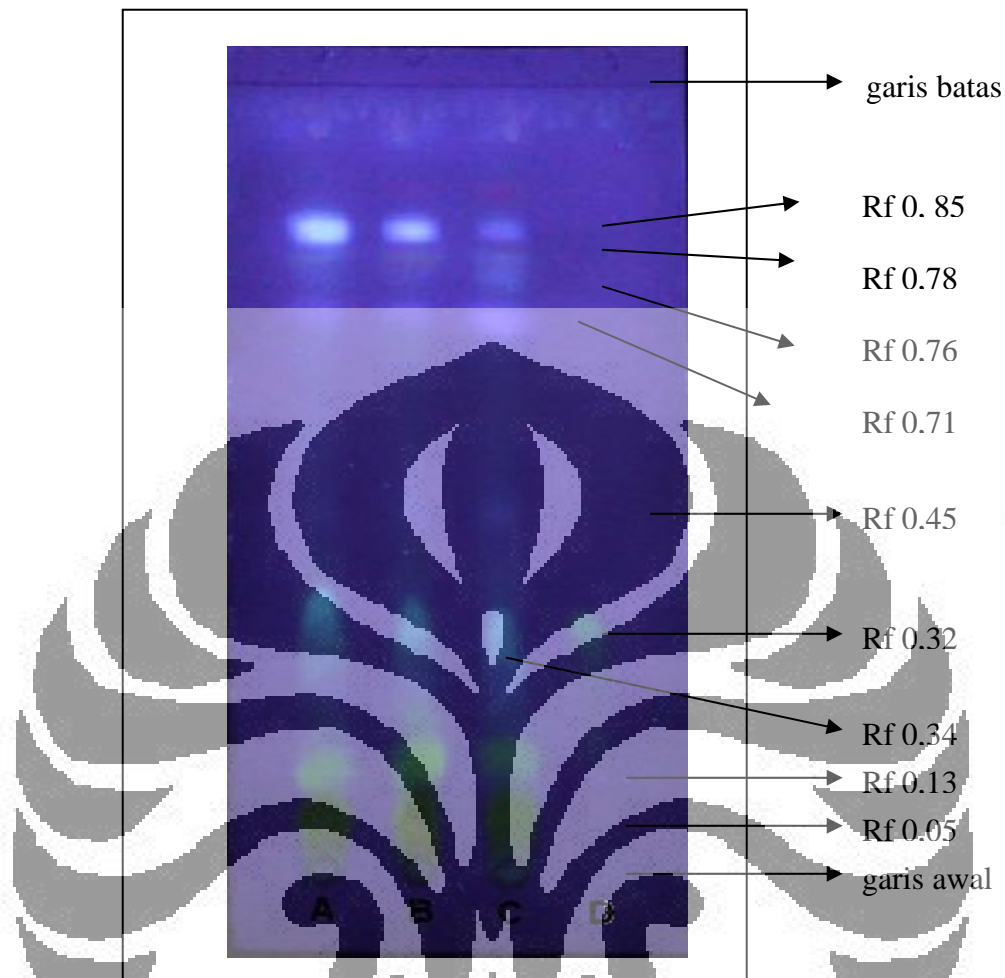
**Keterangan :**

- = ekstrak etanol dari Bogor
- = ekstrak etanol dari Madiun
- = ekstrak etanol dari Purwokerto
- = Perbandingan (kuersetin)



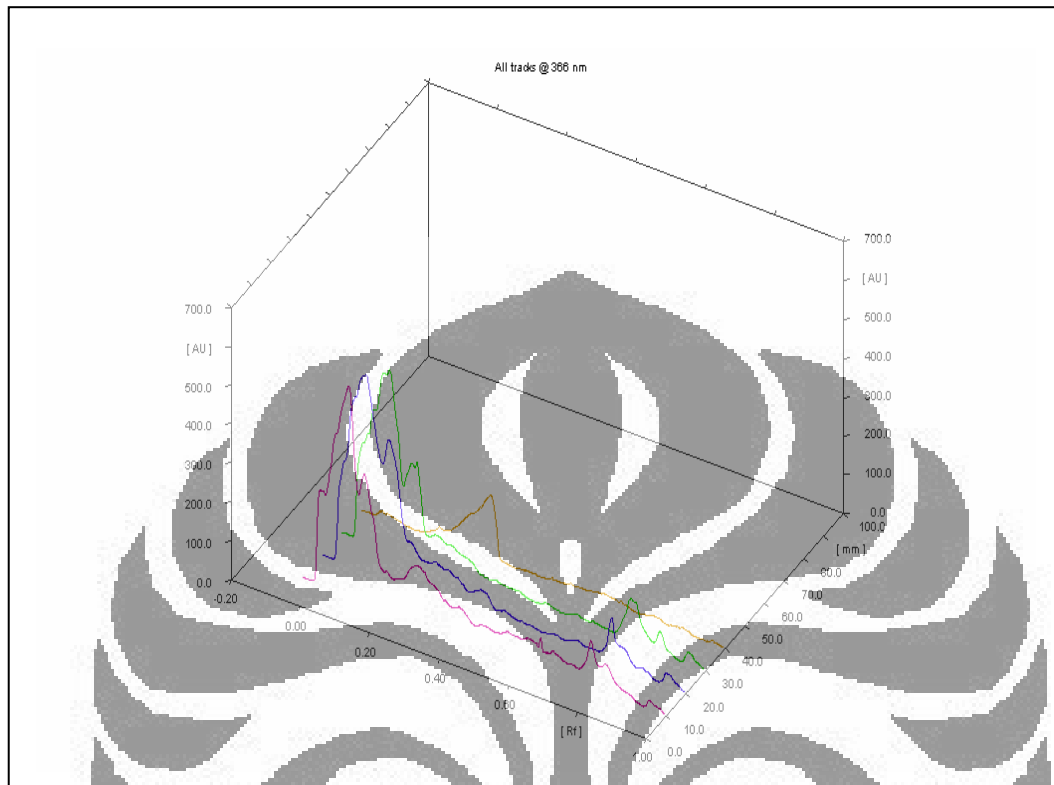
**Gambar 8.** Kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) setelah disemprot dengan  $\text{AlCl}_3$  5% dalam metanol pada sinar tampak

**Keterangan :** A. EDAP = ekstrak etanol dari Purwokerto  
 B. EDAM = ekstrak etanol dari Madiun  
 C. EDAB = ekstrak etanol dari Bogor  
 D. Pembanding (kuersetin)



**Gambar 9.** Kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) setelah disemprot dengan  $\text{AlCl}_3$  5% dalam metanol pada UV 366 nm

**Keterangan :** A. EDAP = ekstrak etanol dari Purwokerto  
 B. EDAM = ekstrak etanol dari Madiun  
 C. EDAB = ekstrak etanol dari Bogor  
 D. Pemanding (kuersetin)

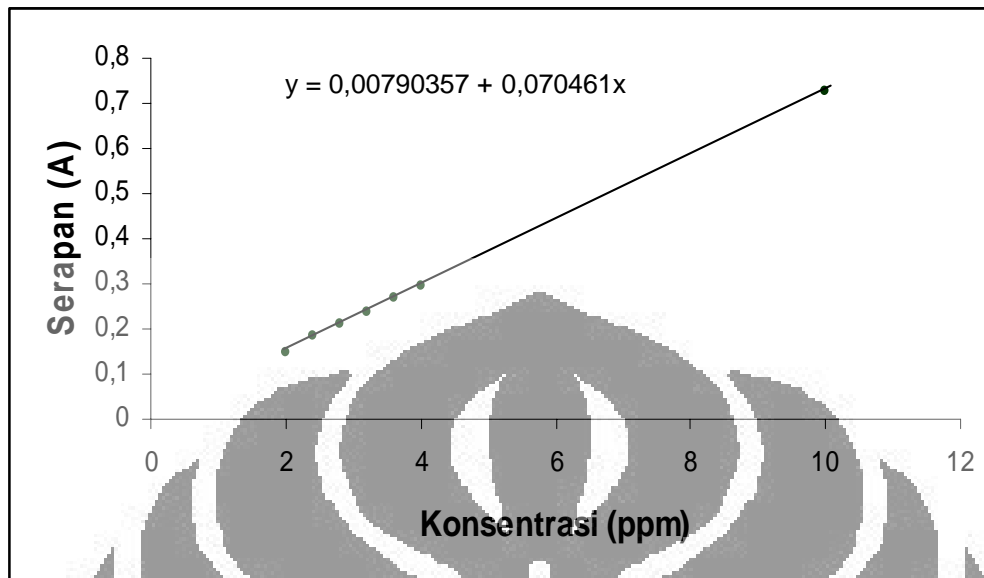


**Gambar 10. Perbandingan kurva densitas ekstrak etanol daun alpukat dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) setelah disemprot dengan  $AlCl_3$  5% dalam metanol pada panjang gelombang 366 nm**

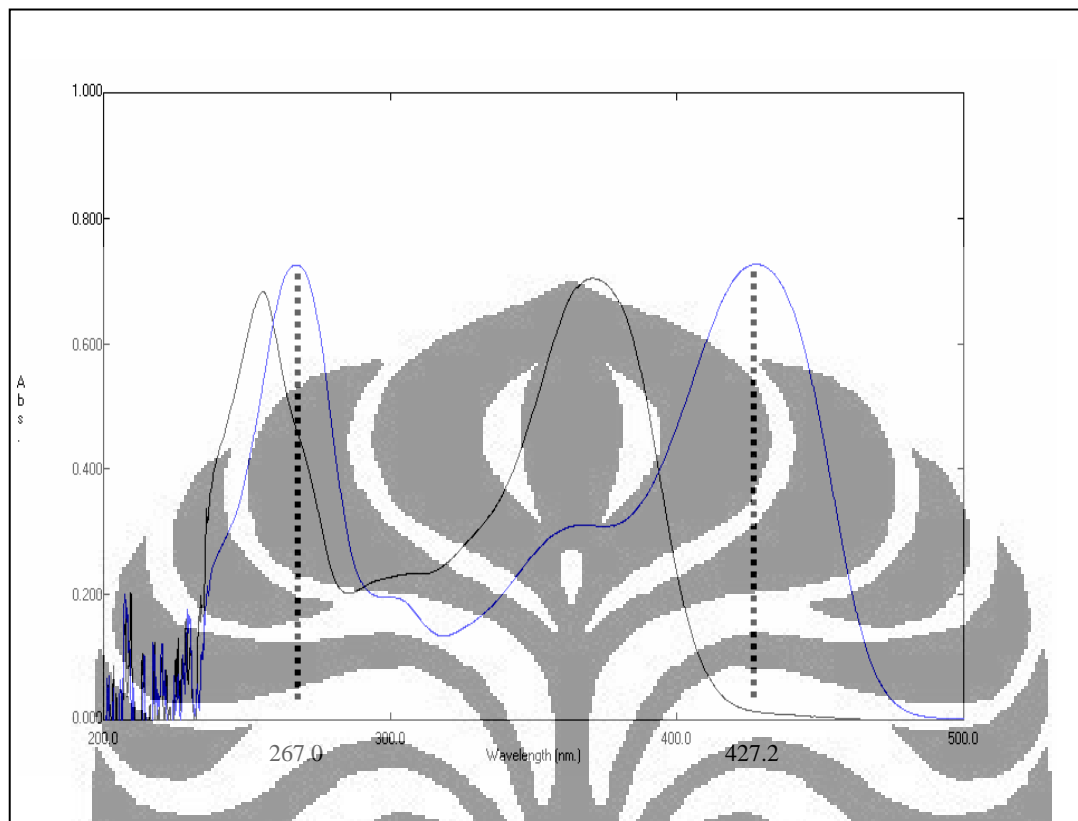
**Keterangan :**

- = ekstrak etanol dari Bogor
- = ekstrak etanol dari Madiun
- = ekstrak etanol dari Purwokerto
- = Pembanding (kuersetin)



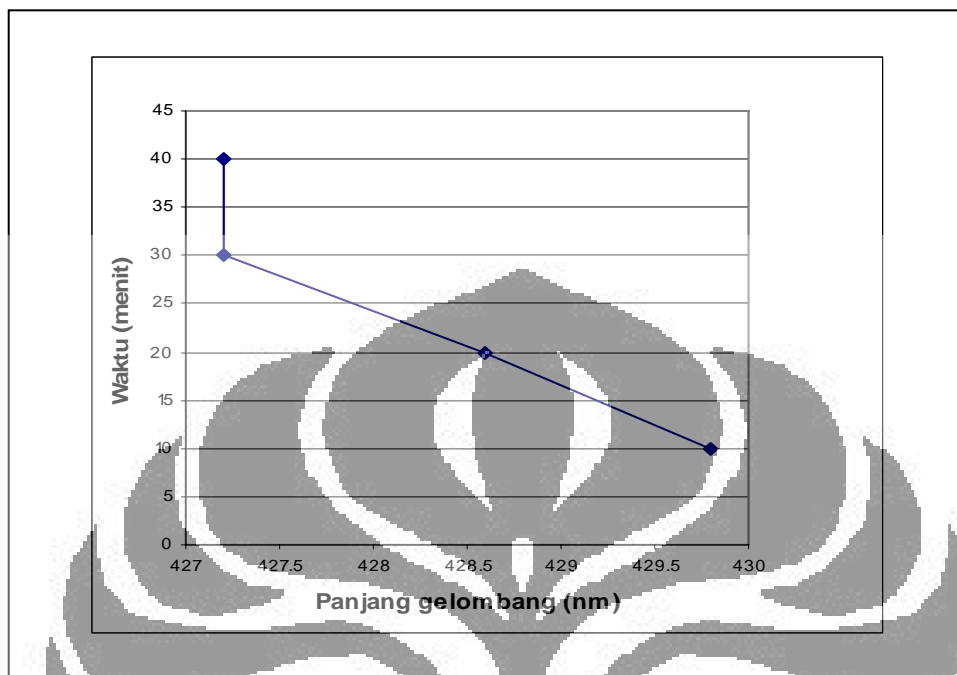


**Gambar 11. Kurva kalibrasi kuersetin standar**

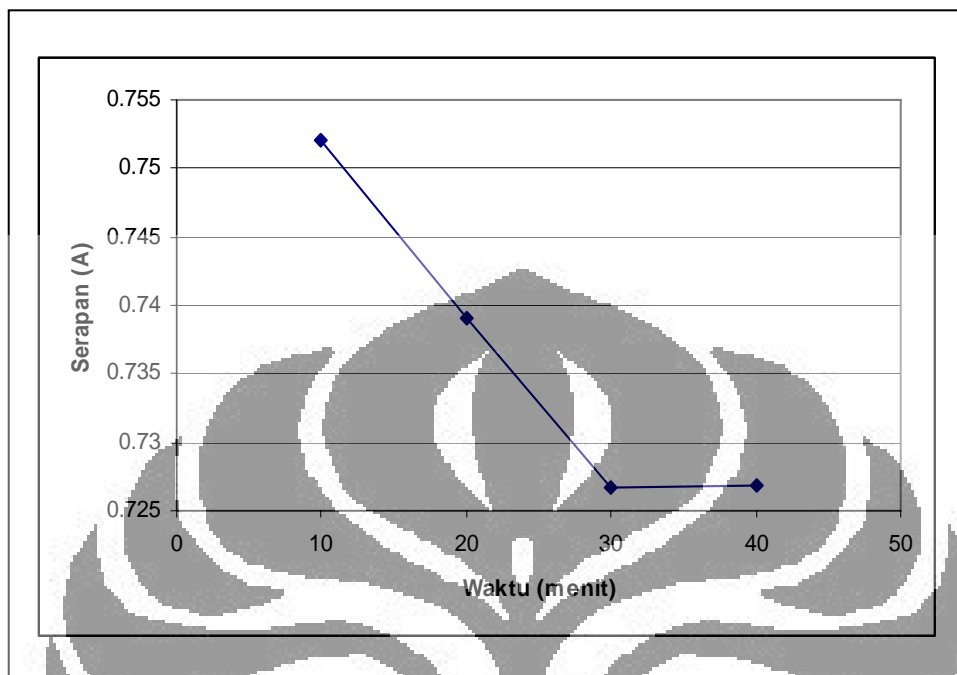


**Gambar 12.** Spektrum serapan kuersetin standar konsentrasi 10 ppm

**Keterangan :** — : metanol  
 — : metanol + AlCl<sub>3</sub>



**Gambar 13. Kurva pergeseran panjang gelombang terhadap waktu pada konsentrasi 10 ppm**



**Gambar 14.** Kurva serapan terhadap waktu pada konsentrasi 10 ppm



**Tabel 1**  
**Rendemen ekstrak etanol daun alpukat**

Kode Ekstrak	Berat serbuk (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)	Rendemen Rata-rata (%)
EDAM-1	300,1	84,1	28,02	29,99
EDAM-2	300,1	83,9	27,95	
EDAM-3	300,1	84,0	27,99	
EDAB-1	300,1	89,0	29,65	29,87
EDAB-2	300,2	90,0	29,98	
EDAB-3	300,1	90,0	29,99	
EDAP-1	300,3	84,8	28,23	28,93
EDAP-2	300,2	87,6	29,80	
EDAP-3	300,4	88,3	29,90	
Kisaran rendemen ekstrak kental = 28,93% - 29,99%				

Keterangan : EDAM = ekstrak etanol dari Madiun  
 EDAB = ekstrak etanol dari Bogor  
 EDAP = ekstrak etanol dari Purwokerto

**Tabel 2**  
**Organoleptik ekstrak etanol daun alpukat**

<b>Kode Ekstrak</b>	<b>Bentuk</b>	<b>Warna</b>	<b>Bau</b>	<b>Rasa</b>
EDAM-1	Ekstrak kental	Hitam-kecoklatan	Spesifik	Pahit
EDAB-1	Ekstrak kental	Hitam-kecoklatan	Spesifik	Pahit
EDAP-3	Ekstrak kental	Hitam-kecoklatan	spesifik	Pahit

Keterangan : EDAM = ekstrak etanol dari Madiun  
 EDAB = ekstrak etanol dari Bogor  
 EDAP = ekstrak etanol dari Purwokerto

Tabel 3

## Kadar senyawa terlarut dalam air ekstrak etanol daun alpukat

Kode Ekstrak	Berat Ekstrak Awal (g)	Berat Ekstrak Akhir (g)	Kadar Senyawa Larut dalam Air (%)	Kadar Senyawa Larut dalam Air Rata-rata (%)
EDAM-1	5,0179	3,0215	60,21	60,53
EDAM-2	5,0068	3,0340	60,59	
EDAM-3	5,0037	3,0430	60,81	
EDAB-1	5,0076	3,0830	61,57	61,25
EDAB-2	5,0177	3,0630	61,04	
EDAB-3	5,0308	3,0760	61,14	
EDAP-1	5,0108	2,0885	41,68	40,69
EDAP-2	5,0055	2,0060	40,08	
EDAP-3	5,0312	2,0290	40,32	
Kisaran kadar senyawa larut dalam air = 40,69 – 61,25 %				

Keterangan : EDAM = ekstrak etanol dari Madiun  
 EDAB = ekstrak etanol dari Bogor  
 EDAP = ekstrak etanol dari Purwokerto



Tabel 4

## Kadar senyawa terlarut dalam etanol ekstrak etanol daun alpukat

Kode Ekstrak	Berat Ekstrak Awal (g)	Berat Ekstrak Akhir (g)	Kadar Senyawa Larut dalam etanol (%)	Kadar Senyawa Larut dalam etanol Rata-rata (%)
EDAM-1	5,0063	2,7950	55,83	55,70
EDAM-2	5,0222	2,7955	55,66	
EDAM-3	5,0148	2,7885	55,61	
EDAB-1	5,0210	1,2790	25,47	25,09
EDAB-2	5,0158	1,2825	25,57	
EDAB-3	5,0308	1,2200	24,25	
EDAP-1	5,0020	1,6155	32,30	32,25
EDAP-2	5,0050	1,6025	32,02	
EDAP-3	5,0015	1,6220	32,43	
Kisaran kadar senyawa larut dalam etanol = 25,09 – 55,70%				

Keterangan : EDAM = ekstrak etanol dari Madiun  
 EDAB = ekstrak etanol dari Bogor  
 EDAP = ekstrak etanol dari Purwokerto

Tabel 5

## Susut pengeringan ekstrak etanol daun alpukat

Kode Ekstrak	Berat Ekstrak Awal (g)	Berat susut Ekstrak (g)	Persen Susut Pengeringan (%)	Persen Susut Pengeringan Rata-rata (%)
EDAM-1	2,0076	0,2311	11,51	11,66
EDAM-2	2,0034	0,2554	11,61	
EDAM-3	2,0024	0,2374	11,85	
EDAB-1	2,0016	0,2483	12,41	12,50
EDAB-2	2,0019	0,2512	12,54	
EDAB-3	2,0064	0,2521	12,56	
EDAP-1	2,0024	0,2724	13,60	13,80
EDAP-2	2,0033	0,2808	14,02	
EDAP-3	2,0069	0,2768	13,79	
Kisaran susut pengeringan = 11,66 – 13,80%				

Keterangan : EDAM = ekstrak etanol dari Madiun  
 EDAB = ekstrak etanol dari Bogor  
 EDAP = ekstrak etanol dari Purwokerto

**Tabel 6**  
**Kadar air ekstrak etanol daun alpukat**

Kode Ekstrak	Berat Ekstrak Awal (g)	Berat Susut Ekstrak (g)	Kadar Air (%)	Kadar Air Rata-rata (%)
EDAM-1	10,0289	1,1531	11,49	11,56
EDAM-2	10,0296	1,1441	11,42	
EDAM-3	10,0153	1,1791	11,37	
EDAB-1	10,0010	1,2966	12,96	12,37
EDAB-2	10,0128	1,2133	12,11	
EDAB-3	10,0145	1,2072	12,05	
EDAP-1	10,0282	1,3700	13,66	13,46
EDAP-2	10,0258	1,3369	13,33	
EDAP-3	10,0216	1,3422	13,39	
Kisaran kadar air = 11,56 – 13,46%				

Keterangan : EDAM = ekstrak etanol dari Madiun  
 EDAB = ekstrak etanol dari Bogor  
 EDAP = ekstrak etanol dari Purwokerto

**Tabel 7**  
**Kadar abu total ekstrak etanol daun alpukat**

Kode Ekstrak	Berat Ekstrak Awal (g)	Berat Abu (g)	Kadar Abu Total (%)	Kadar Abu Total Rata-rata (%)
EDAM-1	2,0041	0,0772	3,85	3,77
EDAM-2	2,0109	0,0751	3,73	
EDAM-3	2,0044	0,0743	3,73	
EDAB-1	2,0060	0,1076	5,36	5,27
EDAB-2	2,0064	0,1116	5,56	
EDAB-3	2,0084	0,0985	4,90	
EDAP-1	2,0096	0,1191	5,93	5,88
EDAP-2	2,0102	0,1191	5,92	
EDAP-3	2,0085	0,1167	5,81	
Kisaran kadar abu total = 3,77 – 5,88%				

Keterangan : EDAM = ekstrak etanol dari Madiun  
 EDAB = ekstrak etanol dari Bogor  
 EDAP = ekstrak etanol dari Purwokerto

Tabel 8

## Kadar abu tidak larut asam ekstrak etanol daun alpukat

Kode Ekstrak	Berat Ekstrak Awal (g)	Berat Abu (g)	Kadar Abu Tidak Larut Asam (%)	Kadar Abu Tidak Larut Asam Rata-rata(%)
EDAM-1	2,0041	0,0172	0,86	0,90
EDAM-2	2,0109	0,0188	0,93	
EDAM-3	2,0044	0,0185	0,92	
EDAB-1	2,0060	0,0259	0,16	0,66
EDAB-2	2,0064	0,0167	0,83	
EDAB-3	2,0084	0,0198	0,98	
EDAP-1	2,0096	0,0192	0,96	0,96
EDAP-2	2,0102	0,0209	1,04	
EDAP-3	2,0085	0,0181	0,90	
Kisaran kadar abu tidak larut dalam asam = 0,66 – 0,96%				

Keterangan : EDAM = ekstrak etanol dari Madiun  
 EDAB = ekstrak etanol dari Bogor  
 EDAP = ekstrak etanol dari Purwokerto

Tabel 9

## Identifikasi Kandungan Kimia ekstrak etanol daun alpukat

No	Identifikasi	EDAM	ADAP	EDAB
1.	<b>Alkaloid</b>			
	Mayer LP	+	+	+
	Bouchardat LP	+	+	+
	Dragendorff LP	+	+	+
	Solutio Iodii LP	+	+	+
2.	<b>Glikosida</b>			
	Lieberman-Burchard LP	+	+	+
	Molisch LP	+	+	+
3.	<b>Glikosida jantung</b>			
	Baljet LP	-	-	-
	Kedde LP	-	-	-
	Keller-Killiani LP	-	-	-
4.	<b>Glikosida antrakinon</b>	-	-	-
5.	<b>Flavonoid</b>			
	Reduksi Zn-HCl	+	+	+
	Reduksi Mg-HCl	+	+	+
	Fluoresensi asam	+	+	+
	Borat-asam oksalat	+	+	+
6.	<b>Saponin</b>	+	+	+
7.	<b>Tanin</b>			
	NaCl-Gelatin	+	+	+
	FeCl <sub>3</sub>	+	+	+

Keterangan : ( + ) = mengandung senyawa yang diidentifikasi  
 ( - ) = tidak mengandung senyawa yang diidentifikasi

EDAM = ekstrak etanol dari Madiun  
 EDAB = ekstrak etanol dari Bogor  
 EDAP = ekstrak etanol dari Purwokerto

Tabel 10

## Kadar flavonoid total ekstrak etanol daun alpukat

Kode ekstrak	Berat ekstrak (g)	Serapan (A)	Kadar (%)	Rata-rata (%)
EDAP-1	0,0565	0,145	2,15	2,18
EDAP-2	0,0567	0,147	2,18	
EDAP-3	0,0587	0,155	2,22	
EDAM-1	0,0556	0,218	3,35	3,44
EDAM-2	0,0571	0,231	3,46	
EDAM-3	0,0572	0,235	3,52	
EDAB-1	0,0602	0,091	1,22	1,29
EDAB-2	0,0607	0,094	1,26	
EDAB-3	0,0600	0,103	1,41	
Kisaran kadar flavonoid total = 1,29% – 3,44%				

Keterangan : EDAM = ekstrak etanol dari Madiun  
 EDAB = ekstrak etanol dari Bogor  
 EDAP = ekstrak etanol dari Purwokerto

Tabel 11

Data pergeseran panjang gelombang terhadap waktu pada konsentrasi 10 ppm

Panjang gelombang (nm)	Waktu (menit)
429,8	10
428,6	20
427,2	30
427,2	40

Tabel 12

Data serapan terhadap waktu pada konsentrasi 10 ppm

Serapan (A)	Waktu (menit)
0,7520	10
0,7391	20
0,7267	30
0,7268	40



Tabel 13


Data uji pendahuluan (pemilihan pelarut yang tepat)

Pelarut	Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
Air	10,2	3,7	36,3
Etanol 60%	10,0	3,7	37
Etanol 70%	10,0	3,7	37
Etanol 80%	10,1	3,6	35,64
Etanol 90%	10,0	3,7	37
Etanol 96%	10,0	3,1	31



## Lampiran 1

## Hasil determinasi daun alpukat



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA**  
( Indonesian Institute of Sciences )  
**PUSAT PENELITIAN BIOLOGI**  
( Research Center for Biology )  
Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong  
Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax: 87907612

---

Bogor, 14 Februari 2008

Nomor : 01/1PH.1.02/If.8/2008  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan


Kepada Yth.  
Bpk./Ibu/Sdr/ni Ratih Safitri  
Universitas Indonesia  
DEPOK


Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1		<i>Persea americana</i> W. Mill.	Lauraceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani  
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,  
  
Dr. Eko Baroto Walujo, APU  
NIP. 320001330

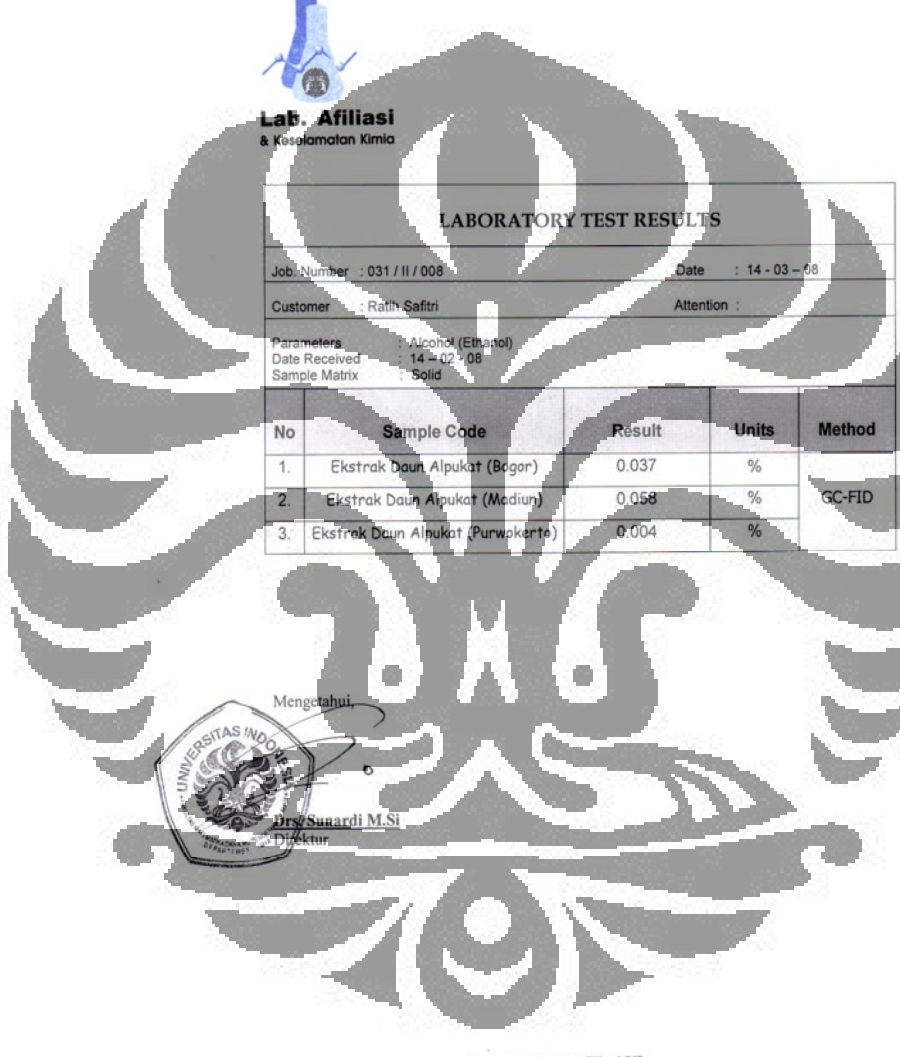


D:\Ident 2008\Ratih Safitri.doc\JJA-NU

Page 1 of 1

## Lampiran 2

## Hasil pengujian sisa pelarut etanol




**LAB. Afiliasi**  
& Keselamatan Kimia

**LABORATORY TEST RESULTS**

Job Number : 031 / II / 008		Date : 14 - 03 - 08	
Customer : Ratih Safitri		Attention :	
Parameters : Alcohol (Ethanol)		Date Received : 14 - 02 - 08	
Date Received : 14 - 02 - 08		Sample Matrix : Solid	

No	Sample Code	Result	Units	Method
1.	Ekstrak Daun Alpukat (Bogor)	0.037	%	GC-FID
2.	Ekstrak Daun Alpukat (Mediun)	0.058	%	
3.	Ekstrak Daun Alpukat (Purwokerto)	0.004	%	

Mengetahui,



**Drs. Sunardi M. Si**  
Direktur

Laboratorium Afiliasi UI  
Departemen Kimia, FMIPA UI, Kampus UI Depok 16424  
Telp. 021-7872720, Faks 021-7863432

### Lampiran 3

#### Cara perhitungan kadar flavonoid total

Data kurva kalibrasi pada panjang gelombang 427,20 nm

Konsentrasi (ppm)	Serapan (A)
2,04	0,150
2,448	0,183
2,856	0,211
3,264	0,235
3,672	0,266
4,08	0,296
10,2	0,7267

$$y = a + bx$$

$$y = 0,00790357 + 0,070461x$$

$$r = 0,999952257$$

Cara perhitungan:

EDAP-1 (A = 0,145, berat ekstrak 56,5mg)

$$y = 0,00790357 + 0,070461x$$

$$0,145 = 0,00790357 + 0,070461x$$

$$x = 1,9457 \text{ ppm}$$

Faktor pengenceran:

$$1,9457 \text{ } \mu\text{g/ml} \times 25,0 \text{ ml} \times \frac{50,0}{10,0} \times \frac{100,0}{20,0} = 1216,1 \text{ } \mu\text{g}$$

Kadar ekstrak:

$$\frac{1216,1 \text{ } \mu\text{g}}{56500 \text{ mg}} \times 100\% = 2,15\%$$