

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT,
n-BUTANOL, AIR DARI EKSTRAK ETANOL 96% BIJI ALPUKAT
MENTEGA (*Persea americana* Mill.) MENGGUNAKAN METODE
DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*)**



**Oleh :
Ilalang Siwi Pertiwi
26206097A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2024**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT,
n-BUTANOL, AIR DARI EKSTRAK ETANOL 96% BIJI ALPUKAT
MENTEGA (*Persea americana* Mill.) MENGGUNAKAN METODE
DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*)**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat sarjana Farmasi (S.Farm.)
Program Studi S1 Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

**Oleh :
Ilalang Siwi Pertiwi
26206097A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2024**

PENGESAHAN SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, *n*-BUTANOL, AIR DARI EKSTRAK ETANOL 96% BIJI ALPUKAT MENTEGA (*Persea americana* Mill.) MENGGUNAKAN METODE DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

Oleh :
Ilalang Siwi Pertiwi
26206097A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal 16 Juli 2024



Mengetahui,
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Dr. apt. Iswandi, S.Si., M.Farm

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

apt. Mamik Ponco Rahayu, Msi

apt. Ismi Puspitasari, M.Farm

Penguji:

1. Dr. Supriyadi, M.si

1.....

2. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc.

2.....

3. apt. Fitri Kurniasari, M.Farm

3.....

4. apt. Mamik Ponco Rahayu, Msi

4.....

PERNYATAAN

Dengan disertai lembar pernyataan ini, dengan sepenuh hati saya nyatakan bahwasanya naskah skripsi ini murni hasil dari pekerjaan saya tanpa adanya kesamaan secara menyeluruh dengan karya manapun yang sudah pernah digunakan dalam mendapatkan gelar sarjana di Perguruan Tinggi serta sejauh pengetahuan saya belum ada karya yang diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang sudah tertulis dan dijadikan acuan dalam naskah ini dan telah tercantum di dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini ditemukan kesamaan secara menyeluruh dengan penelitian/karya ilmiah/skripsi milik orang lain, saya menyatakan bahwa saya siap menerima sanksi secara hukum maupun akademis.

Surakarta, 28 Mei 2024



Ilalang Siwi Pertiwi

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrohmanirohim, naskah skripsi ini akan saya persembahkan kepada :

Allah SWT, saya sampaikan rasa terima kasih paling tulus dengan penuh rasa syukur atas seluruh rahmat, hidayah serta campur tangan-Nya sehingga kini hamba dapat menuntaskan skripsi ini dengan lancar dan baik.

Kepada kedua orang tua saya yang semoga selalu dalam lindungan Allah SWT, Bapak Muhari (Ayah), Ibu Puji Ariyanti (Ibu), adik tersayang saya Egga Krida Laksana serta tak lupa segenap keluarga besar saya di Jawa Timur yang selalu memberikan dukungan yang tak terhingga dan doa sepenuh hati untuk saya. Naskah skripsi ini saya persembahkan sebagai wujud cinta kasih sayang serta bentuk terima kasih saya atas segala yang sudah saya terima selama ini.

Ilalang Siwi Pertiwi, selamat karena telah mampu menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik, selanjutnya masih ada banyak pendidikan yang harus ditempuh, semoga sukses dan selalu dalam lindungan Allah SWT.

Ibu Mamik dan Ibu Ismi, selaku dosen pembimbing yang terlampau banyak memberikan arahan, ilmu, perhatian dan dengan suka rela mendampingi saya selama menyusun skripsi ini mulai dari membuat judul hingga sekarang.

Seluruh teman dekat yang sudah sangat banyak memberikan bantuan baik dalam bentuk waktu, tenaga, dukungan mental dan lainnya.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang selalu memberikan perlindungan, rahmat dan nikmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, *n*-BUTANOL, AIR DARI EKSTRAK ETANOL 96% BIJI ALPUKAT MENTEGA (*Persea americana* Mill.) MENGGUNAKAN METODE DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*)”**. Naskah skripsi disusun oleh penulis sebagai syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Selama penyusunan skripsi ini tentu saja tidak terlepas dari segala bimbingan, arahan, panduan, perhatian dan bantuan dari berbagai pihak, maka dari itu penulis mengucapkan terimakasih banyak dengan segenap ketulusan kepada :

1. Allah subhanahu wa ta'ala yang senantiasa memberikan Anugerah nikmat serta petunjuk di setiap langkah yang saya tempuh.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku rektor Universitas Setia Budi.
3. Dr. apt. Iswandi, S.Si., M.Farm, selaku dekan fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
4. apt. Mamik Ponco Rahayu, M.si, selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan ilmu masukan saran arahan dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.
5. apt. Ismi Puspitasari, M.Farm, selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan ilmu masukan arahan dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.
6. Seluruh dosen dan laporan yang telah memberikan banyak bantuan serta kerjasama selama penyusunan penelitian skripsi ini.
7. Orang tua, keluarga besar, partner dan teman-teman yang telah banyak membantu mendukung dan memberi semangat serta doa-doa baik.
8. Kepada semua pihak yang telah banyak membantu selama masa penyusunan naskah ini, yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu. Penulis mengucapkan syukur dan terima kasih yang sebesar-besarnya.
9. Semoga kebaikan menjadi amal saleh dan dibalas dengan kebaikan yang lebih lagi oleh Allah subhanahu wa ta'ala. Semoga skripsi ini bisa memberikan sedikit banyak manfaat khususnya untuk penulis dan untuk masyarakat umum lain yang membaca.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR TABEL	x
ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN.....	xi
ABSTRAK	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Konteks Permasalahan.....	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Alpukat Mentega	5
B. Simplisia	9
C. Ekstraksi	9
D. Fraksinasi.....	11
E. Antioksidan	12
F. Metode Uji Antioksidan.....	13
G. Metode DPPH.....	14
H. Spektrofotometer	15
I. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	16
J. Landasan Teori	17
K. Hipotesis	20
BAB III METODE PENELITIAN.....	21
A. Populasi dan Sampel	21
B. Variabel Penelitian.....	21
C. Bahan dan Alat	22
D. Metode Penelitian.....	23
E. Analisis Data.....	30
F. Skema Penelitian	31
1. Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Biji Alpukat Mentega ..	31

2. Pembuatan Fraksi	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	33
A. Hasil Identifikasi Sampel Tanaman.....	33
B. Hasil Pengambilan Bahan Utama Penelitian dan Pembuatan Serbuk Simplisia	33
C. Hasil Uji Karakteristik Serbuk Biji Alpukat Mentega.....	34
D. Hasil Pembuatan Ekstrak Biji Alpukat Mentega.....	36
E. Hasil Uji Karakteristik Ekstrak Biji Alpukat Mentega	37
F. Hasil Uji Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Biji Alpukat Mentega.....	38
G. Hasil Pembuatan Fraksi Biji Alpukat Mentega Dari Ekstrak Etanol 96% Biji Alpukat Mentega	39
H. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan	41
J. Hasil Uji KLT Senyawa Kimia Pada Fraksi Dengan IC ₅₀ Terbaik	46
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	49
A. KESIMPULAN	49
B. SARAN.....	49
DAFTAR PUSTAKA.....	50
LAMPIRAN	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur Kimia Saponin	6
Gambar 2. Struktur Kimia Flavonoid.....	7
Gambar 3. Struktur Kimia Alkaloid	7
Gambar 4. Struktur Kimia Fenol	7
Gambar 5. Struktur Kimia Tanjin	8
Gambar 6. Struktur Kimia Steroid	8
Gambar 7. Rumus Kimia Bangun DPPH.....	14
Gambar 8. Reduksi DPPH oleh senyawa antioksidan.....	15
Gambar 9. Spektrofotometer UV-VIS.....	16

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Identifikasi buah alpukat mentega	59
Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Biji Alpukat Mentega	60
Lampiran 3. Perhitungan susut pengeringan serbuk biji alpukat mentega	61
Lampiran 4. Perhitungan rendemen ekstrak biji alpukat mentega	63
Lampiran 5. Perhitungan kadar air ekstrak biji alpukat mentega	64
Lampiran 6. Hasil Uji Tabung	67
Lampiran 7. Perhitungan penimbangan pembuatan fraksi	68
Lampiran 8. Perhitungan Uji Antioksidan	69
Lampiran 9. Penentuan Lambda Maks	83
Lampiran 10. Penentuan Operating Time	84
Lampiran 11. Analisis Data SPSS	86
Lampiran 12. Hasil Uji KLT	87

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kategori nilai IC ₅₀	15
Tabel 2. Fase Gerak yang Umum Digunakan.....	17
Tabel 3. Hasil Rendemen Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Biji Alpukat.....	34
Tabel 4. Hasil Pemeriksaan Organoleptik Serbuk.....	35
Tabel 5. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk.....	35
Tabel 6. Hasil Rendemen Ekstrak Biji Alpukat Mentega	36
Tabel 7. Hasil Pemeriksaan Organoleptik Ekstrak.....	37
Tabel 8. Hasil Penetapan Kadar Air Ekstrak	37
Tabel 9. Hasil Uji Pendahuluan Identifikasi / Uji Fitokimia	38
Tabel 10. Rendemen Hasil Fraksinasi	40
Tabel 11. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan	42
Tabel 12. Hasil Uji KLT Fraksi Teraktif	46

ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

ABTS	: <i>(2,2-Azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)</i>
BHA	: <i>Butylated hydroxyanisole</i>
BHT	: <i>Butylated hydroxytoluene</i>
B2P2TOOT	: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional
CUPRAC	: <i>Cupric reducing antioxidant capacity</i>
DPPH	: <i>α, α-diphenyl-β-picryl hydrazyl</i>
ECC	: Ekstraksi cair-cair
EC50	: <i>Efficiency concentration</i>
ETB	: <i>Elektron Transfer Based</i>
FIC	: <i>Ferrous Ion Chelating</i>
FRAP	: <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
HAT	: <i>Hydrogen Atom Transfer Based</i>
IC ₅₀	: <i>Inhibition Concentration</i>
KCKT	: Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
KCV	: Kromatografi cair vakum
KK	: Kromatografi kolom
KLT	: Kromatografi Lapis Tipis
ND	: <i>Not Detected</i>
ORAC	: <i>Oxygen radical absorbance capacity</i>
ppm	: <i>Part Per Million</i>
Rf	: <i>Retention/retardation factor</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SEC	: <i>Size-exclusion chromatography</i>
SPE	: <i>Solid-phase extraction</i>
SPSS	: <i>Statistical Product and Service Solutions</i>
TBHQ	: <i>Tert butyl hydroxy quinone</i>
TPTZ	: <i>Ferri-tripyridyl-triazine</i>
TRAP	: <i>Total Radical-trapping Antioxidant Parameter</i>
UV-Vis	: <i>Ultraviolet Visible</i>

ABSTRAK

ILALANG SIWI PERTIWI, 2024. UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, *n*-BUTANOL, AIR DARI EKSTRAK ETANOL 96% BIJI ALPUKAT MENTEGA (*Persea americana* Mill.) MENGGUNAKAN METODE DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*), SKRIPSI, PROGRAM STUDI S1 FARMASI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA. Dibimbing oleh apt. Mamik Ponco Rahayu, M.Si. dan apt. Ismi Puspitasari, M.Farm.

Antioksidan yaitu senyawa yang menghambat oksidasi senyawa lain. Biji buah alpukat mentega kaya akan senyawa fenolik, flavonoid dan tanin. Senyawa tersebut diketahui sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui potensi fraksi *n*-heksan, etil asetat, *n*-butanol dan air dari ekstrak etanol 96% biji buah alpukat mentega. Serta mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi teraktif.

Serbuk biji alpukat mentega dimaserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan *n*-butanol. Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi diuji dengan metode DPPH, intensitas warna larutan diukur menggunakan Spektrofotometer UV-VIS. Identifikasi senyawa kimia fraksi teraktif dilakukan secara KLT.

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya potensi antioksidan fraksi *n*-heksan, etil asetat, *n*-butanol, air dan ekstrak etanol 96% biji alpukat mentega. Aktivitas antioksidan ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, *n*-butanol dan air berturut-turut yaitu 47.811 µg/mL, 66,91 µg/mL, 23.19 µg/mL, 39.86 µg/mL, 59.47 µg/mL. Golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat antara lain adalah alkaloid, triterpenoid, saponin dan flavonoid.

Kata Kunci: Ekstrak Etanol 96%, Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.), Metode DPPH, Aktivitas Antioksidan.

ABSTRACT

ILALANG SIWI PERTIWI, 2024. TESTING ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *n*-HEXANA, ETHYL ACETATE, *n*-BUTANOL, WATER FRACTIONS FROM 96% ETHANOL EXTRACT OF BUTTER AVOCADO SEEDS (*Persea americana* Mill.) USING THE DPPH METHOD (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*), SKRIPSI, BACHELOR OF PHARMACY STUDY PROGRAM, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA. Supervised by apt. Mamik Ponco Rahayu, M.Si. and apt. Ismi Puspitasari, M. Farm.

Antioxidants are compounds that inhibit the oxidation of other compounds. Avocado seeds are rich in phenolic compounds, flavonoids and tannins. This compound is known as an antioxidant. The aim of this research was to determine the potential of n-hexane, ethyl acetate, n-butanol and water fractions from 96% ethanol extract of butter avocado seeds. As well as knowing the groups of secondary metabolite compounds contained in the most active fraction.

Avocado seed powder is macerated with 96% ethanol solvent. The extract was fractionated using n-hexane, ethyl acetate and n-butanol as solvents. The antioxidant activity of extracts and fractions was tested using the DPPH method, the color intensity of the solution was measured using a UV-VIS spectrophotometer. Identification of the most active fraction chemical compounds was carried out by TLC.

The results of this study indicate the antioxidant potential of n-hexane, ethyl acetate, n-butanol, water and 96% ethanol extract of avocado seed butter. The antioxidant activity of the extract, n-hexane, ethyl acetate, n-butanol and water fractions were 47,811 µg/mL, 66.91 µg/mL, 23.19 µg/mL, 39.86 µg/mL, 59.47 µg/mL, respectively. The classes of compounds contained in the ethyl acetate fraction include alkaloids, triterpenoids, saponins and flavonoids.

*Keywords: 96% Ethanol Extract, Avocado Seeds (*Persea americana* Mill.), DPPH Method, Antioxidant Activity.*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Radikal bebas yaitu senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan yang sangat reaktif. Radikal bebas yang ada di tubuh manusia berasal dari dua sumber, yaitu dari dalam tubuh berupa reaksi autooksidasi dan oksidasi enzimatis serta berasal dari luar tubuh bersumber dari polusi udara asap rokok, asap kendaraan, dan radiasi dari alat-alat elektronik seperti *handphone*, TV dan lainnya. Paparan radikal bebas yang berlebihan akan menimbulkan efek negatif bagi tubuh manusia yang bersifat akumulatif, menyebabkan munculnya berbagai jenis penyakit jika sistem imun tubuh manusia tidak mampu mentoleransi keberadaan senyawa radikal bebas. Tubuh membutuhkan senyawa antioksidan yang merupakan substansi yang berguna untuk mengurangi dan mencegah terjadinya kerusakan akibat radikal bebas (Maharani *et al.*, 2013).

Antioksidan adalah senyawa yang menghambat proses oksidasi senyawa lain yang disebabkan oleh radikal bebas (Lampogajo *et al.*, 2021). Antioksidan dikategorikan menjadi dua yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan alami adalah senyawa antioksidan yang ada dalam tubuh manusia secara alami dan berperan sebagai mekanisme pertahanan tubuh normal, maupun antioksidan alami yang berasal dari asupan luar tubuh. Salah satu sumber senyawa antioksidan alami adalah tanaman yang memiliki banyak kandungan senyawa polifenol. Antioksidan sintetis adalah senyawa yang disintesis secara kimia (Tristantini *et al.*, 2016). Senyawa antioksidan sintetis yang sering dipakai antara lain adalah asam galat, propil galat, *Butylated hydroxytoluene* (BHT), *Butylated hydroxyanisole* (BHA) dan *Tert butyl hydroxy quinone* (TBHQ). Penggunaan antioksidan sintetis mulai dibatasi karena berdasarkan hasil penelitian antioksidan sintetis seperti BHT dan BHA terdapat zat yang berpotensi menyebabkan kanker (Mustopa, 2015).

Tanaman alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) diketahui memiliki banyak manfaat untuk kesehatan manusia, selain itu alpukat mentega diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Melgar *et al.*, 2018). Banyak tanaman buah alpukat mentega yang tumbuh di Indonesia, tetapi sayangnya masih sedikit bahkan jarang pemanfaatan biji alpukat

mentega yang digunakan sebagai salah satu sumber antioksidan alami. Biji alpukat mentega sering terbuang sia-sia karena kebanyakan orang hanya mengkonsumsi daging buahnya (Sutrisna *et al.*, 2015). Biji buah alpukat mentega memiliki kandungan kimia, yaitu alkaloid, triterpenoid, tannin, flavonoid, dan saponin. Senyawa-senyawa kimia tersebut diketahui memiliki efek sebagai antioksidan (Arukwe *et al.*, 2012).

Sejauh ini penelitian uji aktivitas antioksidan yang sudah dilakukan pada biji alpukat mentega masih sebatas ekstrak saja. Aktivitas antioksidan daun alpukat dengan pelarut etanol berdasarkan penelitian terdahulu memiliki IC₅₀ 417 mg/L (Kemit *et al.*, 2016), IC₅₀ 24,863 µg/mL (Anggorowati *et al.*, 2016), fraksi etil asetat IC₅₀ 16,51 µg/mL (Insie, 2013). Ekstrak etanol kulit buah alpukat IC₅₀ 137.34 ppm (Siyanti *et al.*, 2019), IC₅₀ 5,03 µg/mL, ekstrak etil asetat IC₅₀ 41,56 µg/mL, fraksi etil asetat IC₅₀ 2,78µg/mL, dan fraksi *n*-heksan IC₅₀ 22,33 µg/mL (Pratiwi *et al.*, 2016). Uji aktivitas antioksidan biji alpukat ekstrak etanol 70% IC₅₀ 31,5 ppm (Sutrisna *et al.*, 2015), IC₅₀ 44,5793 ppm (Mustopa, 2015), ekstrak etanol 96% IC₅₀ sebesar 23,07±1,63 µg/mL-1 (Rachman *et al.*, 2017), IC₅₀ 289,3 ppm (Djasmasari, 2020). Perbedaan nilai IC₅₀ pada hasil penelitian sebelumnya mungkin terjadi akibat pengaruh pemilihan pelarut. Pelarut yang sesuai akan memaksimalkan proses ekstraksi senyawa yang terkandung dalam simplisia (Kurniawati *et al.*, 2016).

Saat ini belum banyak penelitian yang mengungkapkan aktivitas antioksidan dari fraksi-fraksi biji alpukat mentega. Fraksinasi dilakukan dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya. Tujuan fraksinasi adalah pemisahan dan mendapatkan senyawa kimia berdasarkan tingkat kepolarannya. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah *n*-heksan (non polar), etil asetat (semi polar), metanol (polar) (Hasanah *et al.*, 2017). Pelarut yang dipakai untuk fraksinasi dalam penelitian ini adalah pelarut *n*-heksan (non polar) untuk menarik senyawa steroid dan terpenoid, etil asetat (semi polar) untuk menarik fenol termasuk flavonoid, *n*-butanol (polar) untuk menarik alkaloid, saponin, dan tannin (Septyaningsih, 2010).

Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan metode *Ferrous Ion Chelating* (FIC), *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), dan *2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). DPPH adalah senyawa radikal bebas yang bisa dipakai untuk indikator uji potensi aktivitas antioksidan (Marcelina, 2023). Metode DPPH memiliki prinsip kerja berupa transfer

elektron atau radikal hidrogen pada DPPH yang kemudian akan menetralkan radikal bebas. Semua elektron pada radikal bebas DPPH berpasangan warna larutan akan berubah dari yang semula ungu tua berangsur-angsur akan menjadi kuning terang atau kuning pudar, absorbansinya dihitung pada panjang gelombang maksimal 517 nm (Green, 2004). Penelitian yang sudah dilakukan oleh (Maesaroh *et al.*, 2018) menunjukkan bahwa metode uji aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas metode DPPH adalah yang paling efektif dan efisien diantara tiga metode uji yang digunakan (DPPH, FRAP dan FIC), metode DPPH memiliki kelebihan dan keunggulan lain yaitu metode analisisnya yang bersifat sederhana, cepat, mudah dan sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil (Karadag, 2009). Uraian tersebut menjadi dasar alasan penggunaan metode DPPH (*2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl*) untuk uji aktivitas antioksidan dalam penelitian ini.

Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian pada fraksi ekstrak biji alpukat mentega dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, *n*-butanol dan pelarut air untuk mengetahui potensi aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

B. Konteks Permasalahan

Berdasarkan pada uraian latar belakang masalah dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol 96% biji alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) mempunyai aktivitas antioksidan?
2. Manakah dari fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi *n*-butanol dan fraksi air dari ekstrak etanol 96% biji alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) yang memiliki potensi antioksidan teraktif?
3. Apa saja golongan senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi teraktif yang diidentifikasi secara KLT?

C. Tujuan Penelitian

Didasarkan pada rumusan masalah yang sudah disusun, maka tujuan penelitian ini dilakukan adalah untuk sebagai berikut :

1. Mengetahui potensi aktivitas antioksidan (IC₅₀) dari ekstrak etanol 96% biji alpukat mentega (*Persea americana* Mill.).
2. Mengetahui fraksi yang memiliki potensi antioksidan teraktif berdasarkan hasil dari uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH.

3. Mengetahui apa saja golongan senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi teraktif yang diidentifikasi menggunakan KLT.

D. Kegunaan Penelitian

Dari penelitian uji aktivitas antioksidan fraksi *n-heksana*, etil asetat, *n-butanol*, air dari ekstrak etanol 96% biji alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) yang diuji dengan metode DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*) ini diharapkan bisa memberi hasil yang bermanfaat dan berguna untuk lingkungan masyarakat secara umum, serta khususnya untuk pengembangan dalam bidang pemanfaatan bahan alam berupa biji alpukat mentega sebagai antioksidan alami. Penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber referensi dan landasan ilmiah dalam penelitian selanjutnya maupun dalam dunia industri yang lebih luas.