# BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

## A. Jalannya Penelitian

Penelitian mengenai penetapan kadar flavonoid pada ekstrak kulit buah alpukat (*Persea americana Mill*) Menggunakan Metode Spektrofotometru UV-Vis yang telah dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Bengkulu dan Laboraturium Biologi FMIPA Universitas Bengkulu. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar flavonoid dalam kulit buah alpukat (*Persea americana Mill*) khususnya yang berada Kecamatan Selebar, Kota Bengkulu.

Penelitian ini meliputi berbagai tahapan, yaitu tahap pra analatik, tahap analitik, dan tahap pasca analitik. Pada tahap pra analitik meliputi kegiatan pengajuan dan penepatan judul, perumusan masalah, tujuan penelitian, penyusunan metode penelitian, dan peneliti mempersiapkan pelaksanaan seminar proposal dan surat izin penelitian yang berupa surat izin dari institusi pendidikan yaitu Poltekkes Kemenkes Bengkulu diteruskan ke kantor DPMPTSP dan Laboratorium FMIPA Biologi Universitas Bengkulu dan Laboratorium Potekkes Kemenkes Bengkulu Penelitian ini berlangsung dari bulan Januari–Juni 2025. Kemudian dilanjutkan tahap analitik yaitu pengambilan sampel kulit buah alpukat (*Persea americana Mill*) yang berada di Kecamatan Selebar kota Bengkulu.

Setelah pengambilan sampel kulit buah alpukat terdapat beberapa tahap yang harus dilakukan yaitu seperti dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan penyimpanan. Setelah itu dilakukan maserasi selama 15 hari, dan dilakukan remaserasi pertama selama 5 hari dan remaserasi kedua selama 5 hari dan remaserasi ketiga 5 hari untuk mendapatkan ekstrak etanol kulit buah Alpukat, setelah dilakukan maserasi kemudian didapatlah

maserat/hasil maserasi daun kulit buah alpukat, kemudian hasil maserasi tersebut dibawa ke Laboraturium Biologi FMIPA Universitas Bengkulu untuk di lakukan proses ekstraksi dengan Rotary Evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental kulit buah alpukat. Setelah ekstrak kental siap dilanjutkan dengan proses Uji Kualitatif dan Uji Kuantitatif

## B. Hasil

### 1. Determinasi Sampel

Determinasi sampel dilakukan di Laboraturium FMIPA Biologi Universias Bengkulu. Hasil determinasi menyatakan bahwa sampel tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit buah Alpukat. Berikut verifikasi taksonomi dari tanaman:

Ordo : Laurales

Familia : Lauraceae

Genus : Persea

Spesies : *Persea americana* Mill.

Hasil identifikasi ini disahkan dengan surat hasil identifikasi Laboratorium dengan nomor 69/LT-FMIPA/LHU/2025.

### 2. Uji Kadar Air Simplisia

Pada pengujjian kadar air simplisia kulit buah alpukat didapatkan hasil sebesar 7,4%. Hasil uji kadar air simplisia kulit buah alpukat dapat dilihat pada Tabel 4.1 sebagai berikut:

**Tabel 4.1 Hasil Uji Kadar Air Simplisia**

| No | Metode pengeringan | Hasil | Standar | keterangan |
|---|---|---|---|---|
| 1. | Kering Angin | 7,4% | <10% | memenuhi Syarat |

**Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill)**

Ektrak etanol kulit buah alpukat *(Persea americana* Mill*)* dibuat menggunakan kering angin sebanyak 500 gram simplisia. Hasil ekstrak yang di dapat sebanyak 56,517 gram dengan % rendemen 11,30%. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Hasil pembuatan simplisia dapat dilihat pada tabel 4.2 sebagai berikut:

**Tabel 4.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat**

| Sampel | Berat Simplisia Kering | Berat Ekstrak | % Rendemen |
|---|---|---|---|
| Kulit Buah Alpukat | 500 gram | 56,517 gram | 11,30% |

**3. Uji Kualitatif Flavonoid**

Hasil dari uji kualitatif bahwa ekstrak kulit buah alpukat positif mengandung flavonoid, hasilnya dapat dilihat di table 4.3

**Tabel 4.3 Hasil Uji Kualitatif Flavonoid**

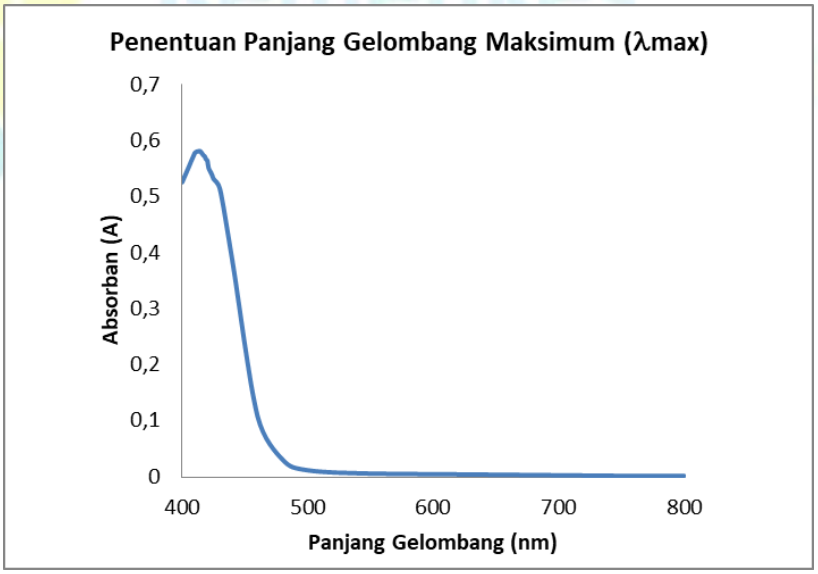
| No | Reagen Uji | Hasil Pengamatan | | | Keterangan |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Sampel | Kontrol positif | Kontrol negatif | |
| 1 | HCL pekat, serbuk Mg | Warna kuning jingga | Warna kuning jingga | Tidak berubah | + Mengandung flavonoid |
| 2 | $FeCl_3$ | Warna coklat kehitaman | Warna hijau, merah, ungu, hitam, dan biru | Tidak berubah | + Mengandung flavonoid |
| 3 | NaOH | Warna orange kemerahan | warna merah, orange, jingga | Tidak berubah | + Mengandung flavonoid |

## 4. Uji Kuantitatif Kadar Flavonoid Pada Ekstrak Kulit Buah Alpukat

Analisa kuantitatif kadar flavonoid ekstrak kulit buah alpukat dilakukan dengan menggunakan alat Spektrofotometri UV-Vis.

### a. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum (λmax) Kuarsetin

Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan pada sinar *visibel* dengan range panjang gelombang 400-800 nm yang bertujuan untuk menentukan panjang gelombang yang memberikan nilai serapan maksimal. Hasil panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah pada panjang gelombang 414 nm dengan nilai absorban 0,582. Hasil panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada Gambar 4.1 sebagai berikut :




**Gambar 4.1 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum**

### b. Penetapan *Operating Time*

Penentuan *Operating time* dilakukan dengan interval waktu 2 menit selama 60 menit yang bertujuan untuk menentukan waktu inkubasi yang baik pada larutan uji. Hasil *operating time* diperoleh pada menit ke 22 pada panjang gelombang maksimum dengan absorban 0,499. Hasil penetapan *operating time* dapat dilihat pada Tabel 4.4 sebagai berikut :

**Tabel 4. 1 Penentuan *Operating Time***

| Waktu (menit) | Absorban (A) |
|---|---|
| 2 | 0,540 |
| 4 | 0,537 |
| 6 | 0,531 |
| 8 | 0,528 |
| 10 | 0,522 |
| 12 | 0,516 |
| 14 | 0,512 |
| 16 | 0,509 |
| 18 | 0,505 |
| 20 | 0,5 |
| 22 | 0,499 |
| 24 | 0,499 |
| 26 | 0,498 |
| 28 | 0,495 |
| 30 | 0,49 |
| 32 | 0,49 |
| 34 | 0,492 |
| 36 | 0,491 |
| 38 | 0,488 |
| 40 | 0,489 |
| 42 | 0,483 |
| 44 | 0,482 |
| 46 | 0,48 |
| 48 | 0,482 |
| 50 | 0,478 |
| 52 | 0,477 |
| 54 | 0,473 |
| 56 | 0,47 |
| 58 | 0,466 |
| 60 | 0,465 |

Kemenkes Politeknik Bengkulu

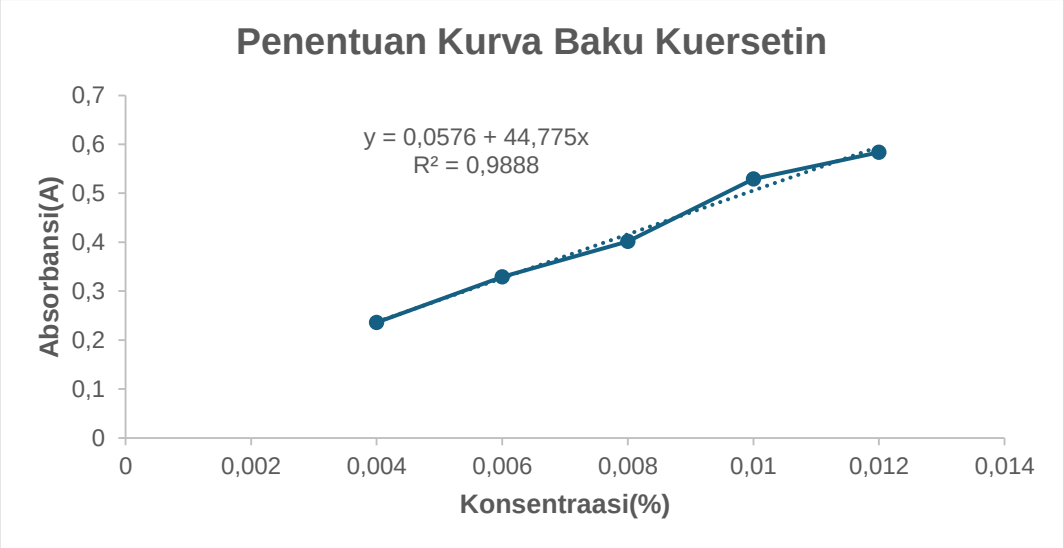
### c. Penentuan Kurva Baku Kuarsetin

Penentuan kurva baku kuersetin dilakukan dengan konsentrasi 0,004%, 0,006%, 0,008%, 0,01%, dan 0,012% yang diukur dengan panjang gelombang maksimum 414 nm. Hasil pengukuran absorbansi baku kuersetin dapat dilihat pada Tabel 4.5 sebagai berikut :

**Tabel 4. 2 Hasil Pengukuran Absorbansi Kurva Baku Kuersetin**

| Konsentrasi (%) | Absorbansi | | | |
|---|---|---|---|---|
| | R1 | R2 | R3 | Rata-rata |
| 0,004 | 0,235 | 0,240 | 0,233 | 0,2360 |
| 0,006 | 0,337 | 0,328 | 0,323 | 0,3293 |
| 0,008 | 0,407 | 0,401 | 0,396 | 0,4013 |
| 0,01 | 0,536 | 0,530 | 0,521 | 0,5290 |
| 0,012 | 0,598 | 0,581 | 0,571 | 0,5837 |

Dari hasil pengukuran absorbansi kurva kalibrasi didapatkan persamaan garis linier kurva kalibrasi baku kuersetin dengan nilai y = 0,0576 + 44,775x dengan koefisien ($R^2$) = 0,9888. Yang dapat dilihat pada gambar 4.2 berikut ini.



**Gambar 4.2 Kurva Baku Kuarsetin**

**d. Penetapan Flavonoid Kadar Total Ekstrak Kulit Buah Alpukat**

Hasil pengukuran kadar flavonoid didalam ekstrak kulit buah alpukat dengan 3 kali penggulangan dapat dilihat pada tabel 4.6 berikut ini

**Tabel 4. 3 Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak kulit buah alpukat**

| Berat sampel (g) | Replikasi | Absorbansi (A) | Kadar Flavonoid Total(x) (%) |
|---|---|---|---|
| 0,1 | 1 | 0,310 | 0,563% |
| | 2 | 0,311 | 0,565% |
| | 3 | 0,314 | 0,572% |
| Rata-rata | | | 0,566% |

## C. Pembahasan

### 1. Pengambilan Sampel

Pemanenan daun dilakukan di Kecamatan Selebar, Kota Bengkulu. Yang memiliki kriteria buah alpukat mentega yang sudah tua, ciri ciri buah alpukat mentega yang sudah tua berwarna hijau tua, kulit buah alpukat terasa sedikit keriput dan mengkilap. Dengan cara panen potong tangkai buah alpukat dengan gunting atau pisau yang tajam, jangan menarik paksa buah untuk menghindari kerusakan pada buah dan pohon.

### 2. Pembuatan Simplisia

Setelah pengambilan sampel maka kemudian dilakukan sortasi basah dengan memisahkan antara kulit dan isinya, kemudian kulit alpukat yang telah dipisahkan dari isinya dipilih kembali dengan kriteria kulit seperti tidak busuk, tidak berlubang, dan sedikit mengkilap, kemudian tahap berikutnya adalah mencuci menggunakan air mengalir yang bersih, setelah proses

Kemenkes Poltekkes Bengkulu

pencucian dilanjutkan dengan pengeringan dengan cara kering angin. Setelah itu dilakukan sortasi kering, selanjutnya simplisia kulit buah alpukat dipotong atau dipecah dan disimpan dalam wadah yang tertutup. Simpan di tempat yang sejuk, kering, dan terhindar dari sinar matahari langsung.

**3. Penetapan Kadar Air**

Penetapan kadar air ini bertujuan yaitu untuk mengetahui batasan maksimal atau rentang besar nya kandungan air dalam simplisia. Hasil penetapan kadar air kulit buah alpukat dengan pengeringan kering angin didapatkan 7,4%. Dapat disimpulkan bahwa kadar air simplisia kulit buah alpukat memenuhi parameter mutu simplisia yang ditetapkan yaitu ≤10%. Penetapan kadar air simplisa dilakukan untuk mengetahui kadar air yang terkandung dalam ekstrak, Hal ini bertujuan untuk menghindari pertumbuhan mikroorganisme yang berdampak buruk pada kandungan senyawa aktif selama proses penyimpanan (Effendi *et al*., 2015).

**4. Proses Ekstraksi Kulit Buah Alpukat**

Proses ekstraksi kulit buah alpukat menggunakan metode maserasi dengan menggunakan etanol 70%. Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana karena cairan penyari akan menembus dinding sel dan kemudian masuk kedinding sel yang mengandung zat aktif. Selain itu, alasan metode maserasi sering digunakan yaitu perlakuan lebih sederhana karena tidak membutuhkan perlatan yang mahal, kandungan kimia dalam simplisia yang akan ditarik aman karena tidak menggunakan pemanasan (Ningsih et al., 2018).

Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% digunakan pelarut etanol karena Etanol adalah pelarut *volatile* bersifat universal karena dapat melarutkan baik senyawa polar, nonpolar maupun semipolar (Arsa & Achmad, 2020). Setelah proses maserasi selesai, dilakukan pemisahan antara ekstrak dan pelarut menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental kulit buah alpukat.

**5. Uji Kualitatif**

Uji kualitatif flavonoid ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan senyawa flavonoid didalam sampel kulit buah alpukat, ada atau tidaknya dan hasil uji yang didapat bahwa didalam ekstrak kulit buah alpukat (*Persea americana* Mill) positif mengandung flavonoid. Pada penelitian ini, penguji flavonoid pertama dilakukan dengan cara menggunakan HCl pekat dan ditambahkan serbuk Mg yang menghasilkan warna kuning jingga. Yang dimana penambahan HCl berfungsi untuk mendeteksi senyawa yang mengandung inti benzopiranon, sehingga setelah penambahan HCl menghasilkan garam benzopirilium yang disebut juga garam flavilium reduksi penambahan HCl mengakibatkan terjadinya reaksi oksidasireduksi antara logam Mg sebagai pereduksi dengan sanyawa flavonoid (Asmorowati, 2019).

Kemudian penguji kedua dilakukan dengan cara menggunakan $FeCl_3$ dengan hasil yang didapatkan yaitu adanya perubahan warna menjadi coklat kehitaman, penambahan larutan FeCl bertujuan untuk membentuk reaksi kompleks antara logam Fe dari FeCl dengan gugus hidroksil yang ada pada fenol (Puspa Yani *et al*., 2023).

Selanjutnya penguji menggunakan NaOH hasil yang didapatkan yaitu timbul adanya warna orange kemerahan perubahan warna ini dikarenakan senyawa kristin merupakan senyawa turunan dari senyawa flavon yang mengalami penguraian oleh basa menjadi molekul seperti asetofenon yang berwarna kuning karena adanya pemutusan ikatan pada struktur isoprena setelah penambahan larutan NaOH (Suharyanto & Prima, 2020). Berdasarkan 3 uji warna yang dilakukan semua uji warna menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah alpukat *(Persia americana Mill)* mengandung flavonoid.

**6. Penetapan Kadar Flavonoid Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis**

Penetapan kadar flavonoid didalam sampel dengan cara penentuan Panjang gelombang terlebih dahulu, *operating time* dan kurva kalibrasi, pengukuran sampel. Penentuan Panjang gelombang maksimum dilakukan pada daerah Panjang gelombang visible (400-800 nm). Penentuan Panjang gelombang didalam penelitian ini dengan cara membaca serapan larutan baku kerja kuarsetin dengan konsentrasi 0,01%.

Pada penelitian ini Panjang gelombang maksimum yang di dapatkan adalah pada Panjang gelombang 414 nm dikarenakan pada daerah Panjang gelombang 414 nm diperoleh nilai absorban paling tinggi dengan nilai absorbannya 0,582. Panjang gelombang maksimum merupakan Panjang gelombang dimana terjadinya eksitasi dengan memberikan absorbansi yang tinggi. Adapun alasan dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang saat mencapai serapan maksimum, selain itu juga memiliki daya serap yang relatif konstan. Pada

penelitian Aminah pada tahun 2017 digunakan kuersetin sebagai larutan standar karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol (Aminah *et al*., 2017).

*Operating time* yang telah diperoleh adalah 22 menit dengan interval waktu yang digunakan 2 menit. *Operating time* dilakukan pada waktu absorbansi mulai stabil atau selisih absorbansi mulai kecil, antara selang waktu yang di uji. Penentuan *operating time* yang bertujuan untuk mengetahui lama waktu yang dibutuhkan larutan untuk mencapai absorbansi konstan *(*Tulandi *et al*., 2015). Penentuan *operating time* ini untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil yaitu ketika sampel telah bereaksi sempurna dan membentuk senyawa kompleks (Asmorowati, 2019).

Penentuan kurva baku kalibrasi dilakukan dengan membuat larutan 0,004%, 0,006%, 0,008%, 0,01%, 0,012%. %. Semakin besar konsentrasi larutan baku standar kuersetin maka semakin tinggi juga nilai absorbansi yang dihasilkan sejalan dengan hukum *Lambert-Beer*. Tiap konsentrasi diukur pada panjang gelombang maksimum 414 nm dan didapatkan hasil persamaan linier dengan nilai koefisien ($R^2$) yaitu 0,9948. Maka dikatakan bahwa absorbansi dan konsentrasi memilki korelasi yang kuat.

Kemudian dilakukan penetapan kadar flavonoid ekstrak kulit buah alpukat menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang sudah ditetapkan yaitu 414 nm. Pengukuran ini dilakukan dengan 3 kali pengulangan dan didapatkan hasil kadar flavonoid total ekstrak kulit buah alpukat adalah

0,566%. (Ariani *et al*., 2022). Penelitian Kirana *et al* tahun 2023 menunjukkan bahwa kulit buah alpukat memiliki kadar flavonoid yang lebih tinggi, yaitu 2,4313% , jika dibandingkan dengan daun alpukat yang hanya memiliki kadar 1,5289% (Kirana *et al*., 2023). Penetapan kadar flavonoid total ditentukan berdasarkan reaksi korimetri dengan menggunakan penambahan pereaksi berupa $AlCl_3$ 10% dan Asam asetat 5% yang mana fungsi dari pereaksi $AlCl_3$ adalah untuk membentuk reaksi antara $AlCl_3$ dengan golongan flavonoid membentuk kompleks antara gugus hidroksil dan keton. AlCl3 akan bereaksi dengan gugus keton pada C4 dan gugus OH pada C3 atau C5 pada senyawa flavon atau flavonol membentuk senyawa kompleks yang stabil berwarna kuning yang akan bereaksi pada kuersetin sehingga akan terjadi pegeseran panjang gelombang ke arah visibel dan ditandai dengan timbul larutan yang menghasilkan warna lebih kuning. Fungsi penambahan asam asetat didalam sampel untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visibel (Sari & Ayuchecaria, 2017).

Kemenkes
Poltekkes Bengkulu