

**FRAKSINASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL DAUN ALPUKAT
(*PERSEA AMERICANA* MILL.) SECARA KOLOM
KROMATOGRAFI**



**MAULIAH INTIFAIL INSIE
2443009174**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALASURABAYA
2013**

PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Demi pertimbangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan pada Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill.) secara Kolom Kromatografi** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain, yaitu Digital Library Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 19 Agustus 2013



Mauliyah Intifail Insie
2443009174

**Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini
adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri
Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini
merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia
menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan
dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh**

Surabaya, 19 Agustus 2013

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Mauliyah Intifail Insie', written in a cursive style.

**Mauliyah Intifail Insie
2443009174**

**FRAKSINASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL DAUN
ALPUKAT (PERSEA AMERICANA Mill.) SECARA KOLOM
KROMATOGRAFI**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi
di Fakultas Farmasi Unika Widya Mandala Surabaya

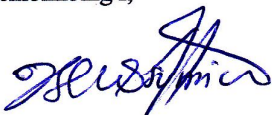
OLEH :

MAULIYAH INTIFAIL INSIE

2443009174


Telah disetujui pada tanggal 25 Juli 2013 dan dinyatakan **LULUS**

Pembimbing I,



Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt.
NIK. 241.03.0558

Pembimbing II,



Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt.
NIK. 241. 98.0351

Mengetahui,
Ketua Penguji,



Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt
NIK. 241. 07.0609

ABSTRAK

FRAKSINASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL DAUN ALPUKAT (*PERSEA AMERICANA* MILL.) SECARA KOLOM KROMATOGRAFI

MAULIYAH INTIFAIL INSIE

2443009174

Persea americana Mill. yang dikenal sebagai alpukat diketahui memiliki daya antioksidan. Pada penelitian ini, dilakukan proses fraksinasi dan identifikasi senyawa antioksidan dengan menggunakan ekstrak etanol dari daun alpukat. Pada penelitian ini dilakukan pemisahan senyawa antioksidan secara kolom kromatografi dan fraksi-fraksi yang terkumpul dari diuji daya antioksidannya secara kualitatif dan kuantitatif dengan metode KLT – DPPH. Ekstraksi menggunakan metode perkolasi. Serbuk diekstraksi dengan menggunakan etanol 96% lalu diuapkan hingga didapatkan ekstrak kental (kadar air 9,36%). Dari hasil skrining fitokimia dari ekstrak dan fraksi diketahui bahwa ekstrak mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan terpenoid. Sedangkan fraksi mengandung tanin, flavonoid, dan terpenoid. Ekstrak kental kemudian diidentifikasi dengan skrining fitokimia, kromatografi lapis tipis, spektrofotometer UV-Vis, dan spektroskopi *infra red* dan penentuan aktivitas antioksidan secara kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan pada hasil identifikasi didapatkan bahwa senyawa yang memiliki daya antioksidan dari fraksi daun alpukat diduga adalah senyawa tanin. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa fraksi daun alpukat memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dengan nilai IC_{50} 16,51 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan ekstrak etanol mempunyai daya antioksidan lebih rendah dengan nilai IC_{50} 18,37 $\mu\text{g/ml}$ (nilai IC_{50} pembanding vitamin C 6,04 $\mu\text{g/ml}$ dan rutin 8,05 $\mu\text{g/ml}$).

Kata kunci : daun alpukat, *Persea americana* Mill., kromatografi kolom, DPPH dan antioksidan.

ABSTRACT

FRACTIONATION AND IDENTIFICATION OF ANTIOXIDANT COMPOUNDS IN THE ETHANOL EXTRACT OF AVOCADO LEAVES (*PERSEA AMERICANA* MILL.) LEAVES USING COLUMN CHROMATOGRAPHY

MAULIYAH INTIFAIL INSIE

2443009174

Persea americana Mill. known as avocado are known to have antioxidant activity. In this study, fractionation and identification of antioxidant compounds using ethanol extract of leaves of avocado were carried out. In this study, antioxidant compounds was separated using column chromatography and fractions were collected and each fraction will be tested qualitatively and quantitatively with TLC – DPPH method. Extraction using percolation method. The powder was extracted using 96% ethanol and then evaporated to obtain viscous extract (water contain 9,36%). From the results of phytochemical screening of the extract and active fraction is known that the extract contains antioxidant alcaloid, flavonoids, tannins, and terpenoids. And while fractions containing tannins, flavonoids and terpenoids. Viscous extract was then identified by phytochemical screening, thin-layer chromatography, UV-Vis spectrophotometry, and infra-red spectroscopy and quantitative antioxidant capacity examination with UV-VIS spectrophotometer. Based on the identification result of it was found that antioxidant compounds of avocado leaves fraction is tannin. The test results showed that the antioxidant activity of the fraction of avocado leaves have greater antioxidant capacity with IC_{50} value of 16,51 $\mu\text{g/ml}$ while the extract of ethanol has lower antioxidant capacity with a IC_{50} value of 18,37 $\mu\text{g/ml}$ (IC_{50} value of ascorbic acid was 6.04 $\mu\text{g/ml}$ and the IC_{50} value of the routine is 8.05 $\mu\text{g/ml}$).

Keywords: avocado leaves, *Persea americana* Mill, chromatography column, DPPH and antioxidant

KATA PENGANTAR

Puji syukur dan terima kasi kepada Allah SWT atas segala karunia, hikmat dan kekuatan sehingga dapat terselesaikan skripsi yang berjudul Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan pada Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana*, Mill.) secara Kolom Kromatografi. Penyusunan skripsi ini dilakukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Widya Mandala Surabaya.

Penyusunan skripsi ini tidak akan dapat terselesaikan tanpa bantuan dan kerjasama dari banyak pihak, baik dari dalam maupun luar universitas. Oleh karena itu penyusun mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu,

di antaranya:

1. Sumi Wijaya, P.hd., Apt, selaku dosen pembimbing I dan Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing II yang telah telah banyak meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan, memberikan saran-saran, pemikiran yang sangat berguna selama penelitian, memotivasi dan mengajarkan banyak hal yang berharga hingga terselesainya skripsi ini.
2. Lucia Hendriati, S.Si., M.Sc., Apt., selaku penasehat akademik yang telah memberikan waktu, pikiran, dan mendorong terselesainya skripsi ini.

3. Dra. Hj. Emi Sukarti., M.Si., Apt., dan Lisa Soegianto, M.Si., apt., selaku tim dosen penguji.
4. Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi dan seluruh staf pengajar Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan bantuan selama ini.
5. Ketua Laboratorium Teknologi Formulasi Bahan Alam, Ketua Laboratorium Analisis Sediaan Farmasi, Ketua Laboratorium Farmasetika Lanjut, Ketua Laboratorium Pusat dan Pengembangan Obat & Tanaman dan Ketua Laboratorium Farmakognosi Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan bantuan dalam hal peminjaman peralatan dan tempat untuk melaksanakan penelitian ini.
6. Para laboran (Bu Tyas, Bu Mega, Bu Nina, Pak Wawan dan Pak tri) yang telah memberikan semangat dan bekerjasama selama proses penelitian ini.
7. Seluruh staf Tata Usaha dan Laboran Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah membantu pada proses penelitian ini.
8. Buat yang aku sayangi orang tua (bapak Mujahid Hendro, ibu Nur Faizah), adikku (Moh.Hafidz Maulana) dan Sandy Rahmat Firdaus yang selalu mendukungku, menemaniku dan mendo' akan aku selama ini. Thanks for your support.

9. Ega Tursiana Dewi, Emilia Puspita K. S., Aprilini Fransisca, Margareth K. Ceme, Endang Dwi Setyaningrum selaku teman-teman yang selalu mendukung saya dalam pelaksanaan penelitian ini.

Pada penyelesaian skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu mengharapkan peneliti-peneliti yang ingin melanjutkan skripsi ini dapat memberikan peningkatan dari penelitian ini menjadi lebih baik lagi. Akhir kata penyusun mengharapkan naskah skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi masyarakat luar dan farmasi khususnya.

Surabaya, Juni 2013

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	xi
 BAB	
1 PENDAHULUAN.....	1
2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Tinjauan tentang Radikal Bebas.....	7

2.2.	Tinjauan tentang Antioksidan.....	10
2.3.	Tinjauan tentang Flavonoid.....	15
2.4.	Tinjauan tentang Tanin	17
2.5.	Tinjauan tentang Tanaman	18
2.6.	Tinjauan tentang Simplisia.....	20
2.7.	Tinjauan tentang Ekstraksi.....	21
2.8.	Tinjauan Parameter Standarisasi Simplisia/Ekstrak...	24
2.9.	Tinjauan tentang Isolasi	25
2.10.	Tinjauan tentang Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder.....	28
2.11.	Tinjauan tentang Metode Analisa Antioksidan.....	31
3	METODE PENELITIAN.....	34
3.1.	Bahan dan Alat.....	34
		Halaman
3.2.	Metode Penelitian	35
3.3.	Rancangan Penelitian.....	35
3.4.	Tahapan Penelitian.....	36
3.5.	Skema Kerja.....	43
4	HASIL PERCOBAAN DAN BAHASAN.....	44
4.1.	Hasil Determinasi Tanaman Alpukat	44
4.2.	Hasil Penetapan Standarisasi Simplisia Daun Alpukat	45
4.3.	Hasil Penetapan Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat.....	47
4.4.	Hasil Penentuan Fase Gerak dengan Menggunakan Metode KLT.....	47
4.5.	Hasil Pemisahan KLT Ekstrak Etanol.....	49

4.6.	Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat dengan Menggunakan Metode Kromatografi Kolom.....	58
4.7.	Identifikasi Golongan Senyawa.....	66
4.8.	Hasil Penentuan Uji Daya Antioksidan Menggunakan DPPH 0,2%.....	71
4.9.	Pembahasan.....	76
5	SIMPULAN	79
5.1.	Kesimpulan	79
5.2.	Alur Penelitian Selanjutnya.....	79
	DAFTAR PUSTAKA.....	80
	LAMPIRAN	84

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Pita abspsi inframerah.....	30
3.1. Jenis-jenis eluen yang digunakan	39
4.1. Hasil pemeriksaan organoleptis simplisia daun alpuka.....	45
4.2. Hasil pemeriksaan susut pengeringan dan kadar abu serbuk daun alpukat.....	46
4.3. Hasil skrining kualitatif fitokimia serbuk daun alpukat.....	45
4.4. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak etanol daun alpukat	48
4.5. Hasil pemeriksaan kadar air dan kadar abu.....	48
4.6. Hasil skrining kualitatif fitokimia ekstrak etanol daun alpukat	49

4.7.	Hasil penentuan fase gerak dengan beragam komposisi/jenis eluen	56
4.8.	Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun alpukat dengan metode kolom kromatografi.....	58
4.9.	Hasil skrining kualitatif secara fitokimia golongan/senyawa terduga dari fraksi terpilih.....	67
4.10.	Hasil scanning ekstrak dan fraksi (F6).....	69
4.11.	Identifikasi puncak spektrum IR	71
4.12.	Hasil penentuan IC50 berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun alpukat.....	72
4.13.	Hasil penentuan IC50 berbagai konsentrasi fraksi dari ekstrak etanol daun alpukat.....	73
4.14.	Hasil penentuan IC50 berbagai konsentrasi vitamin c.....	74
4.15.	Hasil penentuan IC50 berbagai konsentrasi rutin	74

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Struktur Umum Flavonoid	15
2.2. Jenis-Jenis Flavonoid.....	16
2.3. Tanaman Alpukat	19
2.4. Struktur Umum DPPH.....	32
4.1. Daun Alpukat (<i>Persea americana</i> , Mill.).....	44
4.2. Skrining Kualitatif Fitokimia Serbuk Daun Alpukat	47
4.3. Skrining Kualitatif Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Alpukat.	49
4.4. Hasil Pengamatan KLT Ekstrak Etanol Daun Alpukat Pada UV 254 nm, 366 nm dan Penyempotan DPPH 0,2%	50

4.5.	Hasil Pengamatan KLT Ekstrak Etanol Daun Alpukat Pada UV 254 nm, 366 nm dan Penyemprotan DPPH 0,2%	51
4.6.	Hasil Pengamatan KLT Ekstrak Etanol Daun Alpukat Pada UV 254 nm, 366 nm dan Penyemprotan DPPH 0,2%.....	52
4.7.	Hasil Pengamatan KLT Ekstrak Etanol Daun Alpukat Pada UV 254 nm, 366 nm dan Penyemprotan DPPH 0,2%	53
4.8.	Hasil Pengamatan KLT Ekstrak Etanol Daun Alpukat Pada UV 254 nm, 366 nm dan Penyemprotan DPPH 0,2%	54
4.9.	Hasil Pengamatan KLT Ekstrak Etanol Daun Alpukat Pada UV 254 nm, 366 nm dan Penyemprotan DPPH 0,2%	55
4.10.	Hasil Pemisahan KLT Fraksi no. 1-24 yang Diamati dengan UV 254 nm, UV 366 nm, Penyemprotan DPPH 0,2% dengan Eluen Kloroform : Etil asetat (9:1)	59
4.11.	Hasil Pemisahan KLT Fraksi no. 25-48 yang Diamati dengan UV 254 nm, UV 366 nm, Penyemprotan DPPH 0,2% dengan Eluen Kloroform : Etil asetat (9:1)	60
4.12.	Hasil Pemisahan KLT Fraksi no. 49-72 yang Diamati dengan UV 254 nm, UV 366 nm, Penyemprotan DPPH 0,2% dengan Eluen Kloroform : Etil asetat (9:1)	61
Halaman		
4.13.	Hasil Pemisahan KLT Fraksi no. 73-96 yang Diamati dengan UV 254 nm, UV 366 nm, Penyemprotan DPPH 0,2% dengan Eluen Kloroform : Etil asetat (9:1)	62
4.14.	Hasil Pemisahan KLT Fraksi no. 97-109 yang Diamati dengan UV 254 nm, UV 366 nm, Penyemprotan DPPH 0,2% dengan Eluen Kloroform : Etil asetat (9:1)	63
4.15.	Hasil Pemisahan KLT Fraksi no. 110-112 yang Diamati dengan UV 254 nm, UV 366 nm, Penyemprotan DPPH 0,2% dengan Eluen Kloroform : Etil asetat (9:1).....	64
4.16.	Hasil Pemisahan KLT Fraksi no. 113-115 yang Diamati dengan UV 254 nm, UV 366 nm, Penyemprotan DPPH 0,2% dengan Eluen Kloroform : Etil asetat (9:1)	64

4.17.	Hasil Pemisahan KLT Fraksi no. 116-118 yang Diamati dengan UV 254 nm, UV 366 nm, Penyemprotan DPPH 0,2% dengan Eluen Kloroform : Etil asetat (9:1)	64
4.18.	Hasil Pemisahan KLT Fraksi no. 119-120 yang Diamati dengan UV 254 nm, UV 366 nm, Penyemprotan DPPH 0,2% dengan Eluen Kloroform : Etil asetat (9:1)	65
4.19.	Hasil Skrining Fitokimia Fraksi (F6) dengan Pereaksi FeCl ₃ , Pereaksi Dragendroff, Pereaksi Lieberman-Burchard, Pereaksi NaOH.....	66
4.20.	Hasil Pengamatan KLT dari Fraksi Terpilih (F6) dengan Eluen N-Butanol:Asam asetat:Air (3:1:1).....	67
4.21.	Hasil Pengamatan KLT dari Fraksi Terpilih (F6) dengan Eluen kloroform:etil asetat (9:1)	68
4.22.	Hasil Scanning Ekstrak Daun Alpukat dengan Spektrofotometer	69
4.23.	Hasil Scanning Fraksi (F6) Ekstrak Etanol Daun Alpukat dengan Spektrofotometer	69
4.24.	Hasil Analisa <i>Infra red</i> Fraksi (F6)	70
4.25.	Grafik Hasil Penentuan IC50 Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat	72

Halaman

4.26.	Grafik Hasil Penentuan IC50 Berbagai Konsentrasi Fraksi Ekstrak Etanol Daun Alpukat.....	73
4.27.	Grafik Hasil Penentuan IC50 Berbagai Konsentrasi Vitamin C	74
4.28.	Grafik Hasil Penentuan IC50 Berbagai Konsentrasi Rutin ...	75

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A Skringing Fitokimia pada Simplisia, Ekstrak dan Fraksi.....	84
B Sertifikat Determinasi Tanaman Alpukat.....	85
C Perhitungan Rendemen Ekstrak	86
D Cara Perhitungan Kadar Abu Simplisia.....	87
E Cara Perhitungan Kadar Abu Ekstrak.....	89
F Cara Perhitungan Kadar Air Ekstrak	91
G Hasil Perhitungan Persen Peredaman DPPH (% Y) berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat.....	93

H	Hasil Perhitungan Persen Peredaman DPPH (% Y) berbagai Konsentrasi Fraksi (F6) Ekstrak Etanol Daun Alpukat.....	94
I	Hasil Perhitungan Persen Peredaman DPPH (% Y) berbagai Konsentrasi Vitamin C	95
J	Hasil Perhitungan Persen Peredaman DPPH (% Y) berbagai Konsentrasi Rutin	96