



## Isolasi dan Elusidasi Senyawa Flavonoid dari Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Kiki Feliana<sup>✉</sup>, Sri Mursiti, dan Harjono

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang  
Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

### Info Artikel

Diterima Juni 2018

Disetujui Juli 2018

Dipublikasikan Agustus  
2018

#### Keywords:

*Persea americana* Mill.  
flavonoid  
isolasi

### Abstrak

Alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan tanaman yang dapat tumbuh subur di daerah tropis seperti Indonesia. Biji alpukat memiliki efek hipoglikemik dan dapat digunakan untuk pengobatan secara tradisional. Ekstrak etanol biji buah alpukat mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, yaitu alkaloid, triterpenoid, tanin, flavonoid, dan saponin. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi golongan dan struktur senyawa flavonoid dalam biji alpukat. Maserasi 4.000 g serbuk biji alpukat menghasilkan ekstrak kental etanol 170 g. Partisi 100 g ekstrak kental etanol menggunakan etil asetat dan air menghasilkan 25,6 g ekstrak etil asetat. Pemisahan ekstrak etil asetat dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam G-F254 dan fase gerak *n*-butanol : asam asetat : air (BAA) (4:1:5) menghasilkan fraksi-fraksi yang positif mengandung flavonoid. Hasil analisis isolat biji alpukat dengan FT-IR menunjukkan bahwa isolat memiliki gugus fungsi OH, C-H alifatik, C=O, C=C aromatik, dan C-H aromatik, sedangkan analisis dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan puncak serapan pada panjang gelombang 285 nm dan 320 nm, sehingga diduga isolat adalah senyawa flavonoid golongan flavanon dengan gugus hidroksi pada atom C-7.

### Abstract

Avocado (*Persea americana* Mill.) is a plant that can flourish in tropical regions like Indonesia. Avocado seeds have the hypoglycemic effect and can be used for traditional medicine. The ethanol extract of avocado seeds contains several secondary metabolite compounds such as alkaloids, triterpenoids, tannins, flavonoids, and saponins. Aims of this study are to identify groups and structures of flavonoid compounds in avocado seeds. 4,000 g of avocado seed powder produces ethanol 170 g condensed extract with maseration process. 100 g of viscous ethanol extract using ethyl acetate and water yielded 25.6 g of ethyl acetate extract with partition process. The separation of ethyl acetate extract by Thin Layer Chromatography (TLC) with G-F254 stationary phase and *n*-butanol mobile phase : acetic acid: water (BAA) phase (4:1:5) produces positive fractions containing flavonoids. Results of avocado seeds isolate analysis with FT-IR showed that isolate has OH functional group, CH aliphatic, C=O, C=C aromatics, and CH aromatic, while analysis with UV-Vis spectrophotometer showed the absorption peak at 285 nm and 320 nm wavelength, so the hypothesis of isolate is flavonoid compound flavanon group with hydroxy group at C-7 atom.

© 2018 Universitas Negeri Semarang

✉Alamat korespondensi:

Gedung D6 Lantai 2 Kampus Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229

E-mail: kikifeliana@gmail.com

p-ISSN 2252-6951

e-ISSN 2502-6844

## Pendahuluan

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati yang melimpah. Hingga saat ini tercatat 7000 spesies tanaman telah diketahui khasiatnya, namun kurang dari 300 tanaman yang digunakan sebagai bahan baku industri farmasi secara reguler. WHO pada tahun 2008 mencatat bahwa 68% penduduk dunia masih bergantung pada sistem pengobatan tradisional yang mayoritas melibatkan tumbuhan untuk menyembuhkan penyakit dan lebih dari 80% penduduk dunia menggunakan obat herbal untuk mendukung kesehatan mereka (Saifuddin *et al.*, 2011). Dalam tanaman ada banyak komponen kimia yang dapat digunakan sebagai obat. Ada banyak pengobatan dengan bahan alam yang dapat dipilih sebagai solusi mengatasi penyakit yang salah satunya ialah penggunaan ramuan obat berbahan herbal (Koirewoa, 2012).

Salah satu dari sekian banyak tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.). Alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan tanaman yang dapat tumbuh subur di daerah tropis seperti Indonesia. Berdasarkan penelitian, daun *Persea americana* Mill memiliki aktifitas antioksidan dan membantu dalam mencegah atau memperlambat kemajuan berbagai oksidatif stres yang berhubungan dengan penyakit (Owalabi *et al.*, 2010).

Menurut penelitian Marlinda *et al.* (2012), menyatakan bahwa ekstrak etanol biji buah alpukat mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, yaitu alkaloid, triterpenoid, tanin, flavonoid, dan saponin. Senyawa tersebut diduga dapat digunakan sebagai antibakteri. Biji alpukat memiliki efek hipoglikemik dan dapat digunakan untuk pengobatan secara tradisional dengan cara dikeringkan kemudian dihaluskan, dan air seduhannya dapat diminum. Biji alpukat dipercaya dapat mengobati sariawan sebagai pelembab, kencing batu, darah tinggi, nyeri syaraf, nyeri lambung, saluran nafas memebengkak, menstruasi tidak teratur, dan sakit gigi (Zulhida dan Hery, 2013).

Senyawa metabolit sekunder yang menjadi objek utama dalam penelitian ini adalah flavonoid. Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan tinggi seperti bunga, daun, buah, kayu, akar, biji, dan kulit kayu. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Manfaat flavonoid antara lain untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik (Waji dan Sugrani, 2009).

## Metode

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *rotary vacuum evaporator*, oven, seperangkat alat kromatografi kolom dan KLT, lampu UV, instrumen FT-IR *Perkin Elmer Spectrum* 100, Spektrofotometer UV-Vis *Shimadzu UVmini-1240*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji alpukat yang diperoleh dari Bandungan kabupaten Semarang, *n*-heksana teknis, etanol teknis, aquades, serbuk logam Mg, kertas saring, *silica gel*, HCl, NaOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, AlCl<sub>3</sub>, plat KLT aluminium dengan silika Gel GF-254, etil asetat, *n*-heksana, metanol, etil asetat, asam asetat, *n*-butanol dengan *grade pro analyst* buatan *Merck*.

Prosedur penelitian diawali dengan preparasi sampel. Sebanyak 4.000 g serbuk biji alpukat dimaserasi dengan menggunakan *n*-heksana selama 3x24 jam, dimana setiap 24 jam ekstrak disaring. Residu yang diperoleh dikeringkan untuk kemudian dimaserasi kembali menggunakan etanol 95 % selama 3x24 jam. Filtrat etanol dievaporasi dan diperoleh ekstrak kental etanol. Ekstrak kental etanol dipartisi dengan etil asetat dan air (1:1) menggunakan corong pisah sehingga terbentuk 2 fase. Fase etil asetat diambil untuk kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental etil asetat (Mursiti, 2015).

Pemisahan ekstrak kental etil asetat dilakukan dengan kromatografi kolom. Kromatografi lapis tipis dilakukan untuk mencari eluen yang sesuai, fase diam yang digunakan plat silika G-F254 dan dielusi dengan *n*-butanol : asam asetat : air (4:1:5, lapisan atas), *n*-heksana : etil asetat (7:3), *n*-heksana : etil asetat (8:2), *n*-heksana : etil asetat (9:1), dan metanol : etil asetat (4:1). Setelah larutan pengembang sampai garis batas, elusi dihentikan, selanjutnya memerhatikan bentuk noda pada berbagai larutan pengembang ditentukan perbandingan larutan pengembang yang paling baik (Zirconia *et al.*, 2015).

Persiapan pertama kromatografi kolom adalah memanaskan *silica gel* pada suhu 160°C selama 3 jam kemudian didinginkan. Setelah itu *silica gel* dibuat bubuk dan dimasukkan dalam kolom, lalu dibiarkan semalam. Ekstrak kental etil asetat digerus bersama *silica gel* dan dimasukkan dalam kolom, kemudian ditambah dengan eluen pelan pelan sambil kran dibuka. Fraksi ditampung dalam botol vial 3 ml sampai eluen habis (Syahril *et al.*, 2015).

Fraksi dianalisis dengan KLT dengan eluen yang sesuai. Botol yang berisi fraksi tunggal dengan Rf sama dikelompokkan menjadi satu wadah. Ekstrak kental etanol, ekstrak kental etil asetat, dan isolat

murni hasil kromatografi kolom selanjutnya dilakukan uji flavonoid. Isolat yang telah diuji kemurnian dengan kromatografi kolom selanjutnya diidentifikasi strukturnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR.

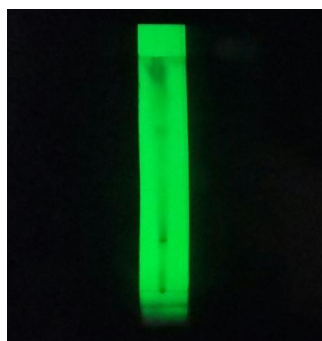
Identifikasi isolat flavonoid dilakukan dengan penambahan pereaksi geser. Isolat murni hasil kolom dalam metanol dituang dalam kuvet (2-3 mL) direkam spektranya pada  $\lambda$  200-600 nm, selanjutnya isolat dalam metanol tadi ditambah 3 tetes larutan NaOH, dicampur dan direkam spektranya. Pada penambahan pereaksi geser berikutnya larutan isolat dalam metanol ditambah 3 tetes AlCl<sub>3</sub>, dicampur dan direkam spektranya, kemudian larutan isolat yang sudah ditambah AlCl<sub>3</sub> tadi ditambah 3 tetes HCl dan direkam spektranya.

### Hasil dan Pembahasan

Sebanyak 4.000 g serbuk biji alpukat diekstraksi dengan maserasi menggunakan *n*-heksana selama 3x24 jam. Residu yang diperoleh dikeringkan untuk kemudian dimaserasi kembali menggunakan etanol 95 % selama 3x24 jam. Filtrat etanol dievaporasi, dan diperoleh ekstrak kental etanol sebanyak 170 g dengan rendemen 4.25 % yang berwarna coklat kehitaman.

Sebanyak 100 g ekstrak kental etanol dipartisi dengan etil asetat : air dengan perbandingan 1:1 menggunakan corong pisah sehingga terbentuk 2 fase. Fase etil asetat diambil untuk kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* dan diperoleh ekstrak kental etil asetat sebanyak 25,6 g yang berwarna coklat kehitaman (Mursiti, 2015).

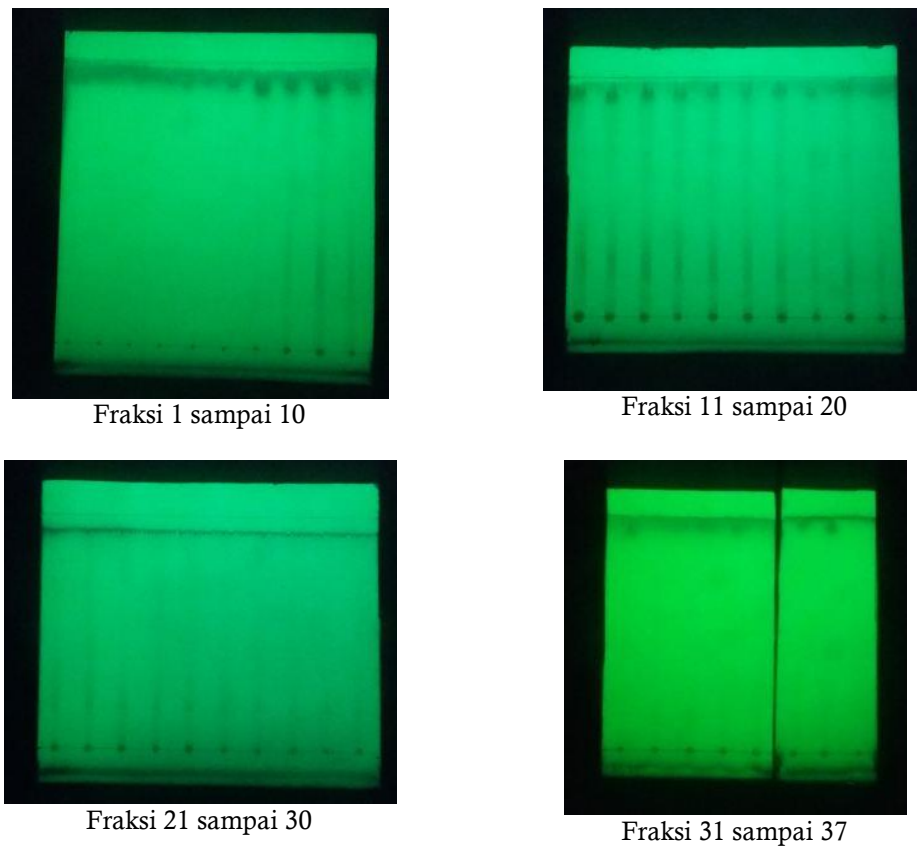
Pemisahan ekstrak kental etil asetat menggunakan kromatografi kolom dengan eluen yang digunakan adalah campuran *n*-butanol : asam asetat : air dengan perbandingan (4:1:5, fase atas). Kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam plat silika G-F254 dengan fase gerak campuran *n*-butanol : asam asetat : air menghasilkan 3 bercak dengan Rf 0,21 ; 0,71 ; dan 0,85.



**Gambar 1.** Kromatogram hasil KLT dengan fase gerak *n*-butanol : asam Asetat : air (4:1:5)

Pemisahan senyawa dengan metode kromatografi kolom ini menggunakan fase diam berupa *silica gel* sedangkan fase geraknya adalah campuran *n*-butanol : asam asetat : air (4:1:5, fase atas) sebanyak 200 mL. Perlakuan selanjutnya adalah dibuat bubuk *silica gel* dengan mendispersikan *silica gel* sebanyak 30 g dengan *n*-heksana sebanyak 100 mL, kemudian bubuk *silica gel* dimasukkan ke dalam kolom kromatografi diamkan semalam. Ekstrak kental etil asetat biji alpukat sebanyak 3 g digerus bersama *silica gel*, kemudian dimasukkan ke dalam kolom kromatografi. Eluen *n*-butanol: asam asetat : air (4:1:5, fase atas) sebanyak 100 mL dimasukkan perlahan-lahan ke dalam kromatografi sambil kran kolom dibuka. Fraksi yang telah terpisah ditampung dalam botol vial 3 mL. Proses pemisahan dengan kromatografi kolom menghasilkan fraksi sebanyak 37 fraksi (Syahril *et al.*, 2015).

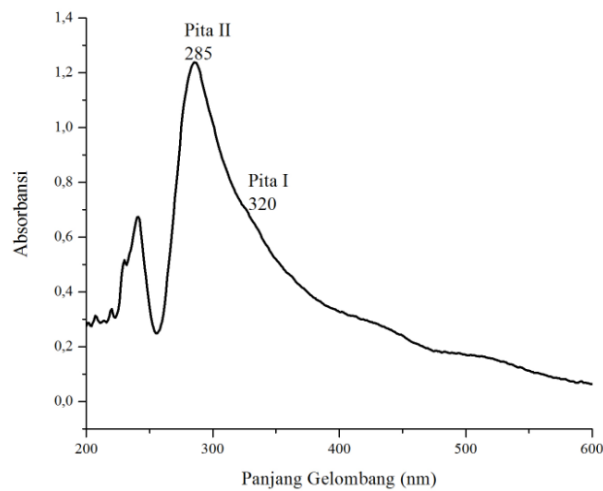
Setiap fraksi dianalisis dengan kromatografi lapis tipis dengan eluen yang sesuai. Fase diam yang digunakan adalah plat silika gel G-F254. Eluen yang menunjukkan pemisahan terbaik adalah campuran *n*-butanol : asam asetat : air (4:1:5, fase atas). Selanjutnya dilakukan penyiapan plat KLT berukuran 7x7 cm dengan garis batas awal dan akhir masing-masing 1 cm. Fraksi kemudian ditotolkan di plat KLT, setelah totolan kering, plat KLT dimasukkan ke dalam *chamber*. Plat KLT dikeluarkan setelah eluen mencapai batas akhir dan dikeringkan, kemudian dilakukan pengamatan di bawah lampu UV 254 nm dan 265 nm. Fraksi-fraksi yang memiliki Rf sama dikelompokkan menjadi satu wadah kemudian diuapkan.



**Gambar 2.** Kromatogram fraksi hasil kromatografi kolom

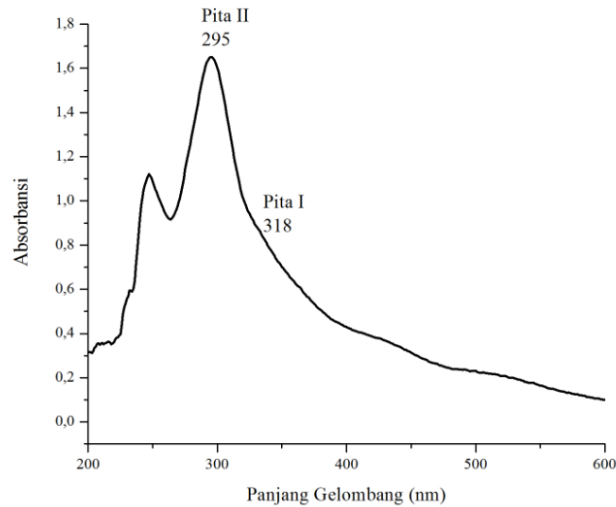
Identifikasi senyawa flavonoid pada biji alpukat (*Persea americana* Mill.), baik ekstrak kental etanol, ekstrak kental etil asetat, dan isolat murni hasil kolom menunjukkan positif mengandung flavonoid, ditandai dengan perubahan warna menjadi merah kecoklatan (Zirconia *et al.*, 2015).

Spektrum UV-Vis isolat murni biji alpukat dipaparkan dalam Gambar 3. Berdasarkan spektrum UV-Vis diperoleh dua puncak serapan yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid yaitu pita II pada 285 nm dan pita I pada 320 nm. Menurut Markham (1988) serapan maksimum tersebut merupakan ciri khas senyawa flavonoid golongan flavanon atau dihidroflavonol yang memiliki serapan maksimum antara 275-295 nm pada pita II dan 300-330 (bahu) nm pada pita I.



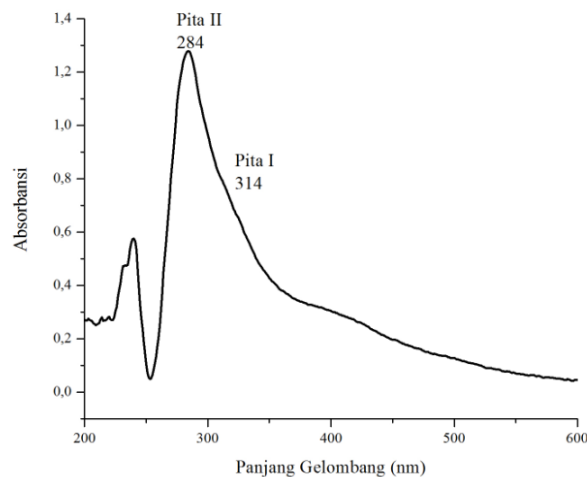
**Gambar 3.** Spektra isolat hasil kolom

Penambahan pereaksi geser NaOH pada isolat hasil kolom, basa bereaksi dengan mengionisasi semua gugus hidroksil bebas yang terdapat dalam senyawa flavonoid dan kemudian karena adanya perubahan struktur tersebut dihasilkan spektrum dengan puncak serapan sebesar 318 nm (pita I) dan 295 nm (pita II). Pereaksi geser NaOH menyebabkan terjadinya pergeseran batokromik sebesar 10 nm pada pita II, yang menunjukkan adanya gugus hidroksi pada cincin A yaitu pada atom C-7 (Markham, 1988).



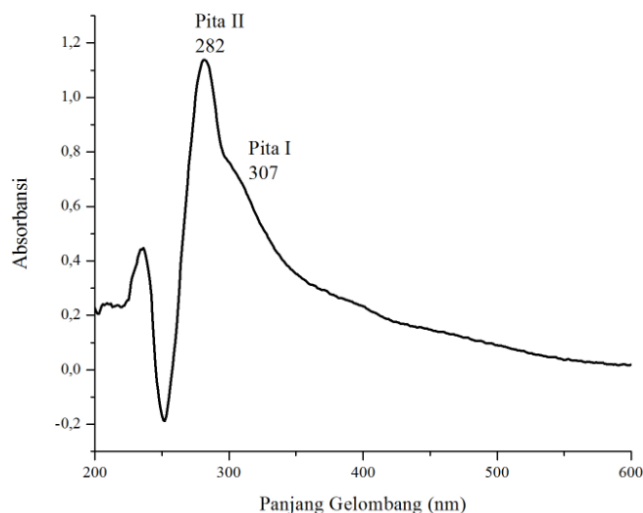
**Gambar 4.** Spektra dengan penambahan NaOH

Penambahan  $\text{AlCl}_3$  pada isolate hasil kolom berguna untuk mendeteksi gugus orto-dihidroksil yang membentuk kompleks tak tahan asam dan mendeteksi gugus hidroksi dan keton yang bertetangga yang membentuk kompleks tahan asam (Markham, 1988). Spektrum dengan pereaksi geser  $\text{AlCl}_3$  didapatkan puncak serapan 314 nm (pita I) dan 284 nm (pita II). Adanya pergeseran hipsokromik pada pita I sebesar 6 nm dan pita II sebesar 1 nm.



**Gambar 5.** Spektra dengan Penambahan  $\text{AlCl}_3$

Isolat ditambah dengan HCl sehingga didapat spektrum dengan puncak serapan 307 nm (pita I) dan 282 nm (pita II). Pada penambahan HCl terjadi pergeseran hipsokromik pada pita I sebesar 13 nm dan pita II sebesar 3 nm yang menunjukkan tidak adanya gugus orto dihidroksil pada C-4' maupun C-5' dan tidak adanya gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang dapat membentuk kompleks apabila berikatan dengan gugus keton dengan bantuan  $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$ .

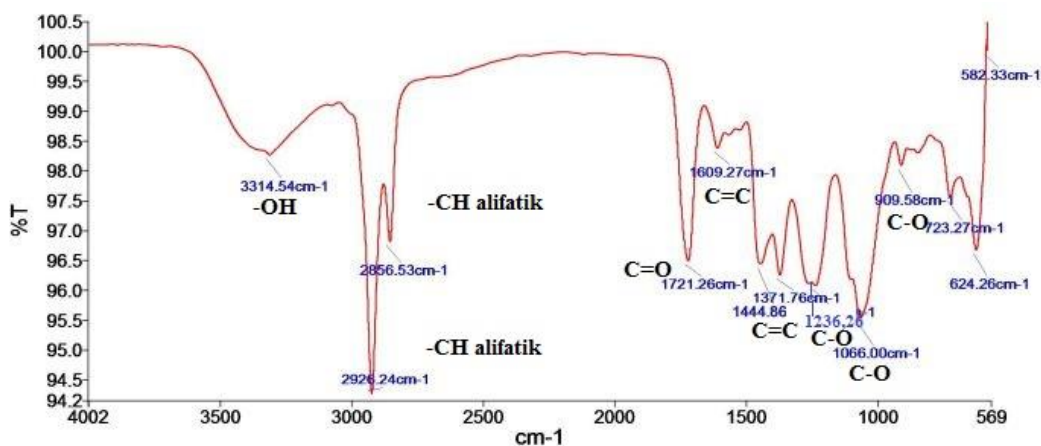


**Gambar 6.** Spektra dengan penambahan HCl

Tidak adanya gugus hidroksil pada atom C-3 menandakan bahwa senyawa flavonoid dalam isolat bukan merupakan golongan dihidroflavonol, melainkan merupakan senyawa flavonoid golongan flavanon (Markham, 1988). Dugaan ini diperkuat dengan uji warna yaitu reduksi dengan serbuk Mg dan HCl pekat yang menunjukkan perubahan warna merah yang sesuai dengan warna flavanon (Harborne, 1987). Pergeseran hipsokromik yang terjadi pada pita II setelah penambahan pereaksi geser  $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$  menunjukkan adanya gugus O-glikosida pada atom C-7 (Markham, 1988). Spektrum UV-Vis sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser dan data tabulasi sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser dipaparkan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Data spektrum UV-Vis isolat hasil kolom setelah penambahan pereaksi geser

Pereaksi	Panjang gelombang $\lambda_{\text{maks}}$ (nm)		Geseran panjang gelombang $\lambda_{\text{maks}}$ (nm)	
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II
Metanol	320	285	-	-
Metanol + NaOH	318	295	-2	+10
Metanol + $\text{AlCl}_3$	314	284	-6	-1
Metanol+ $\text{AlCl}_3$ +HCl	307	282	-13	-3



**Gambar 7.** Spektrum FT-IR isolat hasil kolom

Hasil spektrum inframerah isolat murni biji alpukat menunjukkan adanya gugus OH dengan adanya serapan yang melebar pada daerah bilangan gelombang  $3314,54 \text{ cm}^{-1}$ , serapan C-H alifatik yang tajam pada bilangan gelombang  $2926,24$  dan  $2856,53 \text{ cm}^{-1}$ , serapan gugus karbonil atau keton ( $\text{C}=\text{O}$ ) sebagai ciri umum senyawa golongan flavonoid muncul pada bilangan gelombang  $1721,26 \text{ cm}^{-1}$ , dan  $\text{C}=\text{C}$

aromatik pada bilangan gelombang antara 1609,27 dan 1444,86  $\text{cm}^{-1}$ , serta C-O pada bilangan gelombang antara 1236,26 dan 1066  $\text{cm}^{-1}$ .

Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Ekawati *et al.*, (2017) yang menyatakan spektrum inframerah hasil isolasi senyawa golongan flavonoid pada daun sembukun (*Paederia foetida* L) mengandung gugus OH, C-H alifatik, C-H aromatik, C=C aromatik, C-O, dan C=O. Hasil penelitian Nugraha *et al.*, (2017) dalam penelitiannya tentang isolasi, identifikasi, uji aktivitas senyawa flavonoid sebagai antibakteri dari daun mangga menyatakan spektrum inframerah terlihat bahwa pola spektrum senyawa yang diperoleh menunjukkan adanya beberapa gugus fungsi seperti diantaranya gugus O-H, C-H alifatik, C=O, C=C aromatik, C-O alkohol, dan C-H aromatik.

### Simpulan

Biji alpukat positif mengandung senyawa flavonoid. Identifikasi isolat hasil kromatografi kolom gravitasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR menunjukkan bahwa isolat adalah senyawa flavonoid golongan flavanon dengan gugus hidroksi pada atom C-7 yang tidak mempunyai gugus orto dihidroksil pada C-4' maupun C-5' dan tidak adanya gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5, serta memiliki gugus fungsi OH, C-H alifatik, C=O, C=C, dan C-H aromatik.

### Daftar Pustaka

- Ekawati, M.A., I Wayan S., Sri, R.S. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Daun Sembukan (*Paederia foetida* L) serta Uji Aktivitasnya sebagai Antioksidan. *Jurnal Kimia*, 11(1): 43-48
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Terbitan ke-2. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB
- Koirewoa, Y.A., Fatimawali., Weny, I.W. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (Pluchea indica L.)*. Manado: Universitas Samratulangi
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit ITB
- Marlinda, M., Meiske, S.S., & Audy, D.W. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana Mill.*). *Jurnal FMIPA UNSRAT*, 1(1): 24-28
- Mursiti, S. 2015. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Antihiperlipidemik Sari Biji Mahoni (*Swieteniamacrophylla*, King). *Disertasi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada
- Nugraha, A.C., A.T. Prasetya, S. Mursiti. 2017. Isolasi, Identifikasi, Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri dari Daun Mangga. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(2): 91-96
- Owolabi, M.A., Coker, dan S.I. Jaja. 2010. Bioactivity of the Phytoconstituents of the Leaves of *Persea americana*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(12): 1130-1135
- Syahril, A., Nurhayati, B., Hendri, I. 2015. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Ekstrak Metanol Daun Pecut Kuda. *Jurnal Pendidikan Kimia Universitas Negeri Gorontalo*, 3(1): 1-10
- Saifudin A., Rahayu., Yuda, H. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu
- Waji, R.A., Sugrani, A. 2009. *Makalah Kimia Organik Bahan Alam Flavonoid (Quercetin)*. Makasar: Universitas Hasanudin
- Zirconia, A., N. Kurniasih, V. Amalia. 2015. Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan Metode Pereaksi Geser. *Al Kimia*, 2(1): 9-17
- Zulhida, R., dan Hery, S.T. 2013. Pemanfaatan Biji Alpukat (*Persea americana Mill*) sebagai Bahan Pembuat Pati. *Jurnal Ilmu Pertanian Agrium*, 18(2): 144-148