

**OPTIMASI KONDISI EKSTRAKSI TOTAL FENOL, FLAVONOID
DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BIJI ALPUKAT (*Persea americana*
Mill.) MENGGUNAKAN METODE *SIMPLEX LATTICE DESIGN***

TESIS



Oleh

**RIZQIKA BASTIAN TOMI
R252310376**

**PROGRAM STUDI S2 ILMU FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2025**

**OPTIMASI KONDISI EKSTRAKSI TOTAL FENOL, FLAVONOID
DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BIJI ALPUKAT (*Persea americana*
Mill.) MENGGUNAKAN METODE *SIMPLEX LATTICE DESIGN***

TESIS

*Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Mencapai
Derajat Sarjana Strata-2 (M.Farm)
Program Studi S-2 Ilmu Farmasi Pada Fakultas Farmasi*

Oleh

**RIZQIKA BASTIAN TOMI
R252310376**

**PROGRAM STUDI S2 ILMU FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2025**

HALAMAN PENGESAHAN TESIS

Berjudul
**OPTIMASI KONDISI EKSTRAKSI TOTAL FENOL, FLAVONOID DAN
UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.)
MENGUNAKAN METODE *SIMPLEX LATTICE DESIGN***

Oleh

**RIZQIKA BASTIAN TOMI
R252310376**

Dipertahankan di hadapan dewan penguji tesis
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada Tanggal 19 Agustus 2025



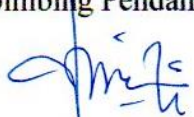
Mengetahui
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Dekan

Dr. apt. Iswandi, M.Farm.
NIDN. 625047902

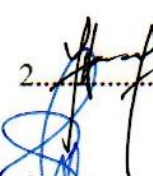
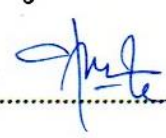
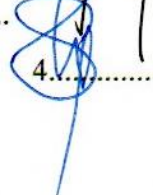
Pembimbing Utama


Dr. apt. Iswandi, M.Farm.
NIDN. 625047902

Pembimbing Pendamping


Dr. apt. Opstaria Saptarini, M.Si.
NIDN. 619097902

Dewan Penguji

- | | |
|--------------------------------------|---|
| 1. Dr. apt. Wiwin Herdwiani, M.Sc | 1.....  |
| 2. Dr. Drs. Supriyadi, M.Si | 2.....  |
| 3. Dr. apt. Opstaria Saptarini, M.Si | 3.....  |
| 4. Dr. apt. Iswandi, M.Farm | 4.....  |

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, segenap rasa syukur yang tidak pernah berhenti terucap, karya ini kupersembahkan sebagai wujud usaha, doa, dan pengabdian dalam perjalanan panjang menempuh ilmu farmasi. Lembar demi lembar dan barisnya terpatri ketekunan, kegelisahan, dan harapan yang tumbuh perlahan dalam sunyi.

Kupersembahkan karya ini kepada kedua orang tuaku tercinta, yang dengan kasih tanpa syarat dan doa yang tidak pernah terucap lelah serta menjadi cahaya dalam langkahku. Tanpa peluh dan restu Bapak, Ibu, jejak ini tidak akan sampai sejauh ini. Semoga keberkahan senantiasa melimpah atas setiap pengorbanan yang telah Bapak dan Ibu berikan.

Dosen pendidik dan pembimbing yang telah membukakan pintu-pintu pengetahuan dengan sabar dan tulus, terima kasihku yang mendalam. Bimbingan dan nasihat kalian menjadi kompas dalam arah pencarian makna dan nilai dari ilmu yang kupelajari. Kepada sahabat-sahabat seperjuangan, yang telah menjadi tempat berbagi keluh, tawa, dan semangat; kalian adalah pengingat bahwa perjalanan ini tidak harus dijalani seorang diri. Terima kasih atas waktu, keberanian, dan persaudaraan yang menguatkan.

“...*wa kafa billahi syahida. Al-Fath (48:28).* وَكَفَى بِاللَّهِ شَهِيدٌ”

Akhirnya, persembahan ini juga ditujukan kepada diriku sendiri yang memilih untuk bertahan ketika menyerah tampak lebih mudah. Semoga lembar ini menjadi pengingat bahwa setiap proses layak dihargai, dan setiap mimpi pantas diperjuangkan, Alhamdulillah.

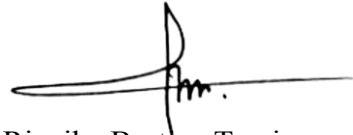
Almamater
Universitas Setia Budi Surakarta
Tempat Penulis menimba Ilmu Pengetahuan Farmasi

PERNYATAAN

Dengan ini penulis menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan penulis sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila tesis ini merupakan hasil jiplakan atau plagiasi dari penelitian atau karya ilmiah atau tesis orang lain, maka penulis siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun secara hukum.

Surakarta, Agustus 2025

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized 'R' followed by 'm' and a horizontal line extending to the right.

Rizqika Bastian Tomi

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis atas kehadiran Allah SWT, atas berkat dan rahmat-Nya. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, sebagai rahmatan lil'alamina dan kepada keluarga beliau, sahabat-sahabatnya, serta termasuk kita semua insya Allah, Amin ya rabbal'alamina.

Alhamdulillah penulis diberikan semangat dan kemampuan untuk menyusun tesis yang berjudul **“OPTIMASI KONDISI EKSTRAKSI TOTAL FENOL, TOTAL FLAVONOID DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) MENGGUNAKAN METODE *SIMPLEX LATTICE DESIGN*”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Strata-2 Program Studi S2 Ilmu Farmasi Sains Universitas Setia Budi.

Banyak hal yang penulis dapatkan dalam proses pembuatan tesis ini baik berupa bimbingan, petunjuk dan saran-saran yang berguna dari berbagai pihak, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Dr. apt. Jason Merari Peranginangin, S.Si., MM., M.Si., selaku Kepala Program Studi S2 Ilmu Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dr. apt. Lucia Vita Inandha Dewi, S.Si., M.Si., selaku Sekretaris Program Studi S2 Ilmu Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Dr. apt. Iswandi, S.Si., M.Farm., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi dan pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, perhatian, dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu dan bimbingan dalam penyusunan tesis ini.
5. Dr. apt. Opstaria Saptarini, S.Farm., M.Si., selaku pembimbing pendamping yang telah banyak membantu penulis dalam memberikan masukan dan bimbingan dalam penyusunan tesis ini.
6. Dian Marlina, S.Farm., M.Sc., M.Si., Ph.D., selaku pembimbing akademik yang telah banyak membantu memberi nasihat dan pengarahan selama berkuliah di Universitas Setia Budi Surakarta.
7. Dr. apt. Ilham Kuncahyo, M.Sc., selaku dosen yang membimbing penulis dalam pengoperasian *software* dan nasihat serta pengarahan dalam membantu menyusun naskah tesis.

8. Orang tua penulis, Bapak Sartono dan Almh. Ibu Sri Utami yang selalu memberikan dukungan moril maupun materiil, serta doa dan kasih sayang.
9. Yayasan Aisyah Lampung yang telah memberikan penulis kesempatan untuk meraih mimpi dalam dunia pendidikan.
10. Bapak/Ibu Dosen yang telah memberikan ilmunya selama penulis mengampu perkuliahan di Universitas Setia Budi Surakarta.
11. Anggota Staff, Karyawan, beserta Laboran Fakultas Farmasi yang telah banyak membantu.
12. Kepada teman-temanku: Nadia, Eva, Sella, Ni Luh, Alshol, Abdilia, Kak Jeni, Kak Kristin, Kak Ismi, dan Kak Ria yang telah memberikan *support*, masukan, dan nasihat yang tidak pernah henti-hentinya kepada penulis. Terima kasih, kalian sangat berharga.
13. Teman-teman mahasiswa angkatan 2023 minat Farmasi sains dan minat Manajemen farmasi yang telah banyak membantu dan memberikan masukan dalam penyusunan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih memiliki banyak kekurangan dan kesalahan. Penulis mengharapkan adanya kritik dan saran dari pembaca untuk penyempurnaan penulisan tesis ini. Akhir kata, penulis berharap semoga apa yang telah penulis sajikan dalam tesis ini dapat bermanfaat khusus bagi penulis serta secara umum kepada pembaca.

Surakarta, 15 Agustus 2025
Penulis

Rizqika Bastian Tomi

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN TESIS	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
E. Keaslian Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
A. Tinjauan Tanaman Alpukat.....	8
1. Alpukat.....	8
2. Habitat Tumbuh	9
3. Khasiat	9
4. Kandungan Senyawa.....	10
B. Karakterisasi Ekstrak.....	12
1. Parameter Non-Spesifik.....	12
1.1 Kadar air dan susut pengeringan.....	12
1.2 Kadar abu	12
2. Parameter Spesifik	13
2.1 Identitas dan Organoleptik ekstrak	13
2.2 Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu	13
C. Ekstraksi	13
1. Ekstraksi Konvensional	13
1.1. Maserasi	13
1.3. Soxhletasi.....	14
1.4. Refluks	14
1.5. Dekokta.....	14

1.6. Infusa	15
2. Ekstraksi Modern	15
2.1. Ekstraksi arus berlawanan	15
2.2. Ekstraksi ultrasonik.....	15
2.3. Ekstraksi Cair Superkritis	16
3. Pelarut	16
3.1. Etanol	16
3.2. Aseton	16
D. Antioksidan	16
1. Antioksidan.....	16
2. Penggolongan Antioksidan	18
2.1 Antioksidan berdasarkan sumber.....	18
2.2 Antioksidan berdasarkan fungsi.....	18
3. Metode Uji Antioksidan.....	18
3.1 Tes ABTS	18
3.2 Tes DPPH.....	19
3.3 Tes FRAP	20
4. Spektrofotometri UV-Vis.....	20
4.1. Spektrofotometri Uv-Vis.....	20
4.2. Tipe-tipe Spektrofotometer	21
4.3. Syarat Pengukuran Spektrofotometri UV-Vis	22
5. Optimasi Metode <i>Simplex Lattice Design</i> (SLD)	22
5.1. <i>Design Expert</i>	22
5.2. Metode <i>Design expert</i>	22
E. Landasan Teori	24
F. Kerangka Konsep Penelitian	26
G. Hipotesis.....	27
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	28
A. Rancangan Penelitian	28
B. Subyek Penelitian.....	28
C. Populasi dan Sampel Penelitian	28
D. Variabel Penelitian.....	28
1. Identifikasi Variabel Utama	28
2. Klasifikasi Variabel Utama	28
3. Definisi Operasional Variabel Utama	29
E. Bahan dan Alat	29

1. Bahan	29
2. Alat.....	30
F. Jalannya Penelitian.....	30
1. Determinasi Tanaman	30
2. Persiapan Bahan dan Pembuatan Serbuk Simplisia	30
2.1. Pengambilan bahan	30
2.2. Pembuatan serbuk	30
3. Optimasi ekstrak	31
4. Identifikasi Senyawa Kimia.....	31
4.1. Penentuan Alkaloid	31
4.2. Penentuan Saponin.....	31
4.3. Penentuan Tanin.....	31
4.4. Penentuan Fenolik.....	32
4.5. Penentuan Flavonoid.....	32
4.6. Penentuan Terpenoid.....	32
5. Penetapan Karakterisasi Ekstrak.....	32
5.1. Penentuan Parameter Non-Spesifik	32
5.2. Penentuan parameter spesifik.	33
6. Penetapan Fenol Total.....	33
6.1. Pembuatan Larutan Baku Sampel	33
6.2. Pembuatan Seri Deret Konsentrasi	33
6.3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	33
6.4. Penentuan <i>Operating Time</i> (OT).....	34
7.5. Pembuatan Kurva Baku Asam Galat	34
7. Penetapan Flavonoid Total.....	34
7.1. Pembuatan Larutan Baku Sampel	34
7.2. Pembuatan Seri Deret Konsentrasi	34
7.3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	34
7.4. Penentuan <i>Operating Time</i> (OT).....	35
7.5. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin.....	35
8. Penetapan Aktivitas Antioksidan	35
8.1. Pembuatan larutan DPPH	35
8.2. Pembuatan larutan ekstrak dan deret baku	35
8.3. Pembuatan larutan pembanding asam askorbat.....	36

G. Analisis Data	36
H. Jadwal Penelitian.....	37
I. Alur Penelitian.....	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	40
A. Hasil Determinasi Tanaman Alpukat.....	40
B. Persiapan Bahan dan Pembuatan Serbuk Biji Alpukat.....	40
1. Pengambilan bahan.....	40
2. Pembuatan Serbuk Biji Alpukat.....	40
3. Hasil rendemen biji alpukat	41
4. Hasil Organoleptik Serbuk Biji Alpukat	42
C. Rendemen Ekstrak.....	42
D. Identifikasi Senyawa Kimia	48
E. Penetapan Karakterisasi Ekstrak	50
1. Parameter Non-Spesifik.....	50
1.1. Kadar Air.....	50
1.2. Susut pengeringan.....	51
1.3. Kadar Abu	52
1.4 Kadar abu tidak larut asam	53
2. Parameter Spesifik	53
2.1. Identitas dan Organoleptis Ekstrak	53
2.2. Kadar sari larut air	54
2.3. Kadar sari larut etanol.....	55
F. Penetapan Total Flavonoid	56
1. Pengukuran Panjang Gelombang (λ) Maksimum	56
2. Penentuan <i>Operating Time</i> (OT).....	56
3. Penetapan Kadar Total Flavonoid	57
G. Penetapan Total Fenol	61
1. Pengukuran Panjang Gelombang (λ) Maksimum	61
2. Penentuan <i>Operating Time</i> (OT).....	62
3. Penetapan Kadar Total Fenol	62
H. Penetapan Aktivitas Antioksidan.....	68
1. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum DPPH	68
2. Penentuan <i>Operating Time</i> (OT).....	68
3. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Alpukat.....	68

I. Optimasi Formula Optimum	74
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	77
A. Kesimpulan.....	77
B. Saran.....	77
BAB VI RINGKASAN	78
DAFTAR PUSTAKA	81
LAMPIRAN	94

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman alpukat dan Biji buah alpukat	8
2. Struktur Fenol dan asam galat	11
3. Struktur Flavonoid dan Kuersetin.....	12
4. Single-beam instrument.....	21
5. Double-beam instrument	21
6. Kerangka konsep penelitian.....	26
7. Pembuatan ekstrak.....	37
8. Perlakuan ekstrak.....	37
9. Skrining fitokimia.....	38
10. Penentuan total fenol	38
11. Penentuan Total Flavonoid	39
12. Uji Aktivitas Antioksidan	39
13. Contour plot Rendemen.....	46
14. Kurva baku kuersetin.....	57
15. Contour plot Total Flavonoid.....	60
16. Kurva baku asam galat	63
17. Contour plot total fenol.....	66
18. Contour plot Antioksidan.....	72

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Kandungan fitokimia yang terdapat pada biji alpukat.....	11
2. Komposisi pelarut ekstraksi.....	31
3. Rendemen biji alpukat.....	41
4. Rendemen bobot serbuk biji alpukat	41
5. Hasil organoleptik serbuk.....	42
6. Rendemen ekstrak 17 run SLD.....	43
7. Identifikasi senyawa kimia biji alpukat	48
8. Kadar Air ekstrak biji alpukat.....	51
9. Susut Pengeringan ekstrak biji alpukat	52
10. Kadar Abu total ekstrak biji alpukat	52
11. Hasil Kadar abu tidak larut asam.....	53
12. Identitas dan Organoleptik Ekstrak	54
13. Kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol.....	54
14. Kadar sari larut etanol ekstrak biji alpukat	55
15. Hasil penetapan kadar total flavonoid	58
16. Hasil penetapan kadar total fenol	64
17. Tingkat kategori aktivitas antioksidan.....	69
18. Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Alpukat	69
19. Parameter Pelarut.....	74
20. Penetapan formula optimum.....	74

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat izin penelitian	94
2. Determinasi Tanaman	95
3. Sertifikat analisis (Co-A) Aseton.....	97
4. Sertifikat analisis (Co-A) Etanol	98
5. Sertifikat analisis (Co-A) Metanol	99
6. Sertifikat analisis (Co-A) Kuersetin	100
7. Sertifikat analisis (Co-A) asam galat.....	100
8. Sertifikat analisis (Co-A) asam askorbat	101
9. Lambda maksimum kuersetin.....	102
10. <i>Operating time</i> kuersetin	103
11. Lambda maksimum asam galat	104
12. <i>Operating time</i> asam galat.....	105
13. Lambda maksimum DPPH	106
14. <i>Operating time</i> DPPH.....	107
15. <i>Operating time</i> formula optimum F12.....	108
16. Gambar alat dan bahan penelitian	109
17. Data penelitian dan perhitungan	113

INTISARI

TOMI, RIZQIKA B., (2025). OPTIMASI KONDISI EKSTRAKSI TOTAL FENOL, TOTAL FLAVONOID DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) MENGGUNAKAN METODE *SIMPLEX LATTICE DESIGN*. TESIS, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA. DR. APT. ISWANDI, M.FARM. DR. APT. OPSTARIA SAPTARINI, M.SI.

Biji alpukat mengandung senyawa bioaktif seperti *procyanidin*, senyawa fenolik, triterpenoid, asetonin, asam lemak amina, dan asam lemah yang dapat digunakan sebagai antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat oksidasi serta memblokir produksi yang merusak dan, memblokir penuaan, peradangan, dan kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari perbandingan pelarut, komposisi formula pelarut yang optimal, dan kadar fenol total, flavonoid total, dan aktivitas antioksidan dari pelarut yang optimal dalam proses ekstraksi biji alpukat.

Metode penelitian ini menggunakan desain metode SLD (*Simplex Lattice Design*) *Design Expert*. Formula ekstrak dibuat dengan metode sonikasi, hasil running menunjukkan 17 formula terhadap tiga pelarut yaitu aseton, akuades, dan etanol 70%. Parameter pengujian antara lain uji skrining fitokimia, uji parameter spesifik dan non-spesifik, uji total fenol, uji total flavonoid, dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Analisis data statistik dilakukan menggunakan *Design Expert* dengan keluaran ANOVA (*Analysis of Variance*) sesuai dengan desain eksperimen yang dirancang.

Hasil yang diperoleh berdasarkan penelitian adalah formula run ke-12 dengan perbandingan pelarut aseton, akuades, dan etanol 70% (100:0:0) memiliki rendemen ekstrak 3,25%, total flavonoid sebesar 17,302 mgQE/g ekstrak, total fenol sebesar 46,274 mgGAE/g ekstrak, dan aktivitas antioksidan sebesar 81,68 ppm, hasil optimasi menunjukkan bahwa komposisi pelarut optimum adalah 100% Aseton, tanpa campuran Etanol 70% atau Akuades.

Kata kunci: Biji alpukat, antioksidan, SLD, IC50, *Design Expert*

ABSTRACT

TOMI, RIZQIKA B., (2025). OPTIMIZATION OF TOTAL FENOL, TOTAL FLAVONOID EXTRACTION CONDITIONS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF AVOCADO SEEDS (*Persea americana* Mill.) USING SIMPLEX LATTICE DESIGN METHOD. THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA. DR. APT. ISWANDI, M.FARM. DR. APT. OPSTARIA SAPTARINI, M.SI.

Avocado seeds contain bioactive compounds such as procyanidins, phenolic compounds, triterpenoids, acetogenins, amino fatty acids, and weak acids that can be used as antioxidants. Antioxidants are compounds that can inhibit oxidation and block damaging production, as well as block ageing, inflammation, and cancer. This study aims to determine the effect of solvent ratios, the optimal solvent formula composition, and the total phenol content, total flavonoids, and antioxidant activity of the optimal solvent in the avocado seed extraction process.

The research method used the SLD (Simplex Lattice Design) Design Expert method. The extract formula was prepared using sonication, with the results showing 17 formulas for three solvents: acetone, distilled water, and 70% ethanol. Test parameters included phytochemical screening tests, specific and non-specific parameter tests, total phenol tests, total flavonoid tests, and antioxidant activity tests using the DPPH method. Statistical data analysis was performed using Design Expert with ANOVA (Analysis of Variance) output according to the designed experimental design.

The results obtained based on the research are the 12th run formula with a solvent ratio of acetone, distilled water, and 70% ethanol (100:0:0) has an extract yield of 3.25%, total flavonoids of 17.302 mgQE/g extract, total phenols of 46.274 mgGAE/g extract, and antioxidant activity of 81.68 ppm, the optimisation results show that the optimum solvent composition is 100% Acetone, without a mixture of 70% Ethanol or Distilled Water.

Keywords: Avocado seed, antioxidant, SLD, IC50, *Desain Expert*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai entitas molekul atau fragmen molekul, yang mampu berdiri sendiri (“bebas”). Radikal bebas memiliki satu atau lebih jumlah elektron yang tidak berpasangan dalam orbital atom luar atau orbital molekul (“radikal”). Muatan listrik negatif dari elektron dapat diimbangi oleh muatan nuklir positif dari positron, menghasilkan partikel netral; atau radikal anion atau kation. Elektron yang tidak berpasangan dari radikal bebas dilambangkan dengan sebuah titik pada atom atau gugus di mana titik radikal berada, misalnya H (atom hidrogen), OH (hidroksil), CH₃ (metil), dan CH₂CH₃ (etil). Radikal oksigen yang terdapat pada elektron tidak berpasangan sebagian besar berada di atom oksigen, misalnya superoksida (O₂), hidroksil (OH), dan peroksil (ROO). Elektron ganjil dari radikal bebas yang tidak stabil sehingga berumur pendek dan reaktif serta bertanggung jawab atas reaksi berantai (Martemucci *et al.*, 2022).

Senyawa antioksidan dapat menghambat terjadinya oksidasi pada konsentrasi rendah, dan melindungi rusaknya sel dengan menunda atau mencegah oksidasi lipid, karbohidrat, protein, dan DNA akibat radikal bebas. Antioksidan memiliki kemampuan untuk menyumbangkan elektron. Antioksidan yang memutus reaksi berantai adalah pendonor elektron kuat yang dapat bereaksi terhadap radikal bebas sebelum rusaknya molekul utama sehingga antioksidan teroksidasi dan harus dibuat kembali atau diganti. Enzim antioksidan mengkatalisis degradasi spesies radikal bebas di dalam sel. Protein pengikat logam transisi mencegah interaksi logam transisi seperti tembaga dan besi, hidrogen peroksida, dan superoksida sehingga menghasilkan radikal hidroksil yang sangat reaktif. Bukti klinis menunjukkan bahwa kemunduran penyakit *neurodegeneratif* dapat diperbaiki dengan penggunaan antioksidan alami yang tepat (Martemucci *et al.*, 2022).

Permintaan akan antioksidan alami beberapa tahun terakhir telah meningkat dan terbukti mengurangi penggunaan antioksidan sintetis karena toksisitas, karsinogenik, atau hepatotoksik dalam tubuh. Antioksidan makanan yang secara alami ada dalam makanan telah membangkitkan minat yang cukup besar karena keamanan dan potensi

efek nutrisi dan terapeutiknya terhadap kesehatan. Antioksidan alami ditemukan di setiap bagian tanaman seperti sayuran, buah, kacang-kacangan, akar, daun, kulit kayu, dan biji, masyarakat menerima suplemen antioksidan langsung dari melalui buah dan sayuran segar (Martemucci *et al.*, 2022). Antioksidan alami ditemukan dari tanaman seperti sayuran, buah, rempah-rempah, dan rempah yang dapat dimakan, kaya akan vitamin, senyawa fenolik, karotenoid, dan unsur mikro. Produk tanaman sebagai antioksidan murah yang tersedia menyediakan banyak manfaat dan perhatian khusus, seperti daun dan biji selain buah yang mengandung banyak antioksidan (Flieger *et al.*, 2021).

Alpukat telah direkomendasikan sebagai salah satu buah yang paling bernutrisi. Alpukat merupakan tanaman berbunga yang berasal dari Amerika Tengah dan Meksiko, termasuk dalam famili *Lauraceae*. Alpukat kaya akan berbagai vitamin (dengan vitamin C dan D yang paling dominan), mineral (terutama tembaga), dan fitokimia (flavonoid adalah yang paling banyak), dan diketahui memiliki aktivitas antioksidan, serta meningkatkan fungsi imunologis dan mengurangi peradangan, yang dapat menyebabkan penurunan risiko penyakit kronis secara keseluruhan. Alpukat dilaporkan memiliki sifat antioksidan yang tinggi karena terdiri dari metabolit sekunder dan molekul aktif lainnya seperti flavonoid, fenolik, tanin, tokoferol, alkohol lemak, karotenoid, dan antosianin (Marra *et al.*, 2024). Biji memiliki senyawa polifenol yang tinggi serta aktivitas antioksidan yang lebih besar jika dibandingkan terhadap daging buahnya (Dabas *et al.*, 2019). Senyawa antioksidan yang paling banyak pada ekstrak biji alpukat adalah flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa fenolik dengan aktivitas antioksidan kuat, senyawa flavonoid memiliki gugus hidroksil yang berperan menetralkan radikal bebas dengan kemampuan mendonorkan elektron hidrogennya (Kopon *et al.*, 2020).

Penelitian yang dilakukan Munthe *et al.*, (2023), tentang antioksidan, total fenolik, dan total flavonoid ekstrak etanol 70% biji alpukat. Hasil yang diperoleh dibandingkan terhadap produktivitas hasil, hasil masing-masing 43,07% dan 39,58%. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% biji alpukat yang diperoleh dengan metode maserasi dan refluks masing-masing sebesar 77,298 g/mL dan 98,626 g/mL, sedangkan nilai IC₅₀ vitamin C adalah 12,883 g/mL. Ekstrak etanol 70% biji alpukat yang diperoleh dengan metode maserasi dan refluks

memiliki kandungan fenolik total 276,96 mgGAE/g dan 294,96 mgGAE/g, dan kandungan flavonoid total masing-masing 1,73 mgQE/g dan 12,70 mgQE/g. Ekstrak etanol 70% dari biji alpukat yang diperoleh melalui maserasi dan refluks menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat. Kandungan flavonoid total dinyatakan dengan satuan QE (*quercetin equivalent*) yaitu kesetaraan jumlah miligram kuersetin dalam setiap 1 gram ekstrak.

Penelitian yang dilakukan Vo *et al.*, (2019), hasil menunjukkan bahwa biji alpukat mengandung (7,14±0,40)g lipid/100g, (1,67±0,03)g protein/100g, (54,0±1,2)g karbohidrat/100g, dan (62,0±2,3) mgGAE/g ekstrak berat kering. Diklorometana dan etil asetat dinyatakan sebagai fraksi penangkap radikal bebas tertinggi memiliki nilai IC₅₀ masing-masing sebesar (48,0±3,4)µg/mL (uji DPPH) dan (22,0±1,8)µg/mL (uji ABTS). Ekstrak biji alpukat dan fraksi-fraksinya mampu melindungi dari kerusakan DNA yang diinduksi oleh H₂O₂ pada konsentrasi 100µg/mL. Ekstrak etanol efektif dalam mengurangi produksi oksida nitrat dari sel makrofag RAW 264.7 yang dirangsang lipopolisakarida tanpa efek sitotoksik. Khususnya, biji alpukat secara signifikan menghambat proliferasi sel kanker paru-paru manusia A549 dan lambung manusia BGC823 pada konsentrasi 200µg/mL. Penelitian yang dilakukan oleh Septyanani *et al.*, (2023) tentang kadar flavonoid ekstrak biji alpukat dan uji aktivitas antioksidan dengan metode maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksan, etil asetat, etanol, diperoleh nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi memiliki nilai IC₅₀ 37,14 mg/L diikuti ekstrak etil asetat memiliki nilai IC₅₀ 42,15mg/L, dan ekstrak n-heksan memiliki nilai IC₅₀ 62,47 mg/L. Ekstrak etil asetat dan etanol 96% tergolong antioksidan sangat kuat, ekstrak n-heksan tergolong antioksidan kuat. Penelitian terdahulu digunakan sebagai dasar untuk melakukan optimasi ekstraksi biji alpukat untuk mendapatkan ekstrak yang baik dan sesuai *like dissolve like*, senyawa metabolit sekunder didasarkan polaritas yang sama terhadap pelarut yang digunakan.

Optimasi ekstrak biji buah alpukat dalam penelitian sebelumnya sudah dilakukan pada optimasi ekstrak biji alpukat, berdasarkan uraian latar belakang penelitian terkait optimasi ekstraksi perlu dilakukan pada optimasi ekstraksi total fenol, total flavonoid, dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat. Pelarut dalam penelitian ini yaitu etanol 70%, aseton, dan akuades. Penentuan formula pelarut

ditentukan dengan *design expert* 13 metode *simplex lattice design* serta metode ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi ultrasonik. Analisis kandungan total fenol dan flavonoid total dilakukan menggunakan metode kolorimetri. Uji aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat dilakukan menggunakan metode DPPH. Metode DPPH digunakan karena memiliki sensitivitas yang tinggi dan harganya yang murah. Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai media informasi untuk penelitian selanjutnya mengenai total flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat agar dapat dikembangkan menjadi bahan obat tradisional menggunakan formula yang optimal.

B. Perumusan Masalah

Adapun perumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah ada pengaruh dari perbandingan pelarut dengan kadar fenol total, kadar flavonoid total, dan aktivitas antioksidan dalam optimasi pelarut proses ekstraksi biji alpukat?
2. Berapakah komposisi formula pelarut yang optimal dalam proses ekstraksi biji alpukat dengan menggunakan metode *simplex lattice design*?
3. Berapakah kadar kandungan total fenol, total flavonoid dan nilai aktivitas antioksidan dari pelarut yang optimal dalam proses ekstraksi biji alpukat?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh dari perbandingan pelarut terhadap kadar fenol total, flavonoid total, dan aktivitas antioksidan dalam optimasi pelarut proses ekstraksi biji alpukat
2. Untuk mengetahui komposisi formula pelarut yang optimal dalam proses ekstraksi biji alpukat dengan menggunakan metode *simplex lattice design*
3. Untuk mengetahui kadar fenol total, flavonoid total, dan aktivitas antioksidan dari pelarut yang optimal dalam proses ekstraksi biji alpukat.

D. Manfaat Penelitian

Adapun kegunaan penelitian ini adalah sebagai media informasi sekaligus pengetahuan mengenai optimasi ekstraksi fenol total, flavonoid total, dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat menggunakan metode SLD. Hasil penelitian ini diharapkan tidak hanya menambah ilmu dan manfaat, tetapi juga menambah wawasan serta pengetahuan mengenai tanaman sekitar yang berpotensi sebagai herbal bermanfaat dan memberikan landasan informasi bagi penelitian selanjutnya khususnya penelitian pengembangan terhadap formulasi sediaan bahan alam untuk obat tradisional.

E. Keaslian Penelitian

Penelitian yang dilakukan Syafaatullah *et al.*, (2023), waktu dan suhu berpengaruh selama ekstraksi dipelajari dalam penelitian ini. Hasil dilakukan analisa *yield* dan kadar asam lemak bebas untuk memperoleh hasil optimal. Metode yang digunakan adalah RSM (*Response Surface Methodology*), metode RSM digabungkan dan diterapkan untuk menganalisis kondisi serta mengoptimalkan kondisi ekstraksi. Suhu ekstraksi sebagai faktor independen ($100-110^{\circ}\text{C}$), dan waktu ekstraksi (5-7 jam) serta kondisi optimum ekstraksi yaitu $103,041^{\circ}\text{C}$, dan 5,689 jam. Desain model prediksi yang diperoleh yaitu 12,518% *yield* ekstraksi dan kadar asam lemak bebas yaitu 1,489%.

Penelitian yang dilakukan Widyawati *et al.*, (2020), optimasi ekstraksi menggunakan RSM-CCD (*Response Surface Methodology-Central Composite Design*) memvariasikan suhu dan waktu ekstraksi, serta jumlah volume pelarut n-heptana. Karakteristik parameter sifat fisik minyak ditentukan dengan uji ANOVA ($p < 0,05$), bahwa variabel memberikan pengaruh signifikan terhadap *yield* minyak biji alpukat. Minyak biji alpukat memiliki karakteristik berwarna oranye, densitas 0,8138 g/ml, kadar air 0,0915%, FFA 0,0997%, dan *yield* 2,8112%. Komposisi asam lemak dari minyak biji alpukat yaitu asam linoleat 47,3531% (b/b), asam palmitat 20,3439% (b/b), dan asam oleat 15,8823%(b/b). Nilai optimum *yield* pada dipengaruhi variabel operasi di mana rendemen optimum yaitu suhu ekstraksi 300°C , waktu ekstraksi 2 jam, volume pelarut 180 ml, dan massa biji 10g.

Penelitian yang dilakukan Araújo *et al.*, (2020), optimalisasi MAE (*Microwave-assisted Extraction*) dari senyawa bioaktif dengan kapasitas antioksidan tinggi dari biji alpukat dipelajari dalam penelitian

ini untuk pertama kalinya. Menerapkan dua desain eksperimental, menggunakan aseton 70% dan etanol, kondisi optimal ekstraksi ditemukan: 72,18°C selama 19,01 menit dan 71,64°C selama 14,69 menit dengan 58,51% etanol, masing-masing untuk mendapatkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan tertinggi. Ekstrak yang dioptimasi dengan aseton dan etanol menunjukkan kandungan polifenol yang tinggi ($307,09 \pm 14,16$ dan $254,40 \pm 16,36$ mgGAE/g ekstrak) dan aktivitas antioksidan yang tinggi yang diukur dengan metode DPPH ($266,56 \pm 2,76$ dan $221,69 \pm 20,12$ mg ET/g ekstrak), ABTS ($607,28 \pm 4,71$ dan $516,34 \pm 11,81$ mgET/g ekstrak) dan ORAC ($475,55 \pm 47,82$ dan $495,25 \pm 14,52$ mgET/g ekstrak), membuktikan bahwa MAE merupakan teknik yang lebih baik dibandingkan dengan teknik-teknik yang telah dilaporkan untuk biji alpukat. Residu serat yang diperoleh setelah MAE menunjukkan senyawa fenolat yang terikat dengan aktivitas antioksidan yang relevan, yang diperoleh dengan etanol. Analisis HPLC-ESI-MS menunjukkan adanya 20 senyawa berbeda yang teridentifikasi, termasuk asam fenolat, procyanidin dimer B dan trimer A dan B dalam bentuk isomer yang berbeda, katekin, epikatekin, dan perseitol. MAE adalah alat yang ramah lingkungan, hemat energi dan cepat untuk mengekstraksi komponen bioaktif dari biji alpukat tanpa mempengaruhi aktivitas antioksidannya, yang merupakan protokol alternatif dalam industri herbal tradisional dan obat-obatan.

Penelitian yang dilakukan Hau *et al.*, (2019), faktor ekstraksi polifenol dioptimalkan untuk hasil pemulihan dengan menggunakan metodologi permukaan respon dan larutan kaya polifenol yang diperoleh dienkapsulasi dengan bahan pelapis yang berbeda (Maltodekstrin-MD dan Gum Arab-GA) serta campurannya. Desain *Box-behnken* digunakan untuk menyelidiki efek dari tiga variabel independen termasuk konsentrasi etanol (X1: 35-65%, v/v), rasio pelarut terhadap padatan (X2: 8-12, v/w) dan waktu ekstraksi (X3: 1,0-3,0 jam). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi ekstraksi yang dioptimalkan menggunakan konsentrasi etanol 40% (v/v), rasio pelarut terhadap padatan 12:1 dan waktu ekstraksi 1,5 jam. Di bawah kondisi tersebut, hasil perolehan polifenol eksperimental adalah 83,1% yang sangat sesuai dengan hasil yang diperkirakan sebesar 82,5%. Partikel mikro yang dibuat dengan rasio MD:GA 20:80 sebagai agen pelapis dapat dipilih untuk enkapsulasi senyawa polifenol.

Penelitian yang dilakukan Weremfo *et al.*, (2020), dijelaskan bahwa penelitian ini dirancang untuk mengoptimalkan tiga parameter ekstraksi dengan gelombang mikro MAE (daya gelombang mikro, konsentrasi etanol, dan waktu ekstraksi) fenolat total, flavonoid total, dan aktivitas antioksidan biji alpukat dengan menggunakan RSM. Model kuadratik yang diprediksikan sangat signifikan ($p < 0,001$) untuk respon yang diteliti. Ekstraksi kandungan fenolik total, flavonoid total, dan aktivitas antioksidan secara signifikan ($p < 0,05$) dipengaruhi oleh daya *microwave* dan waktu ekstraksi. Kondisi optimal untuk ekstraksi senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan secara simultan adalah konsentrasi etanol 58,3% (v/v), daya *microwave* 400W, dan waktu ekstraksi 4,8 menit. Dalam kondisi ini, hasil eksperimen sesuai dengan nilai prediksi. MAE menunjukkan keunggulan yang jelas dibandingkan dengan ekstraksi pelarut konvensional (CSE) dalam hal efisiensi ekstraksi yang tinggi dan aktivitas antioksidan dalam waktu ekstraksi yang singkat. Lebih lanjut, analisis kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dari ekstrak yang dioptimalkan menunjukkan adanya 10 senyawa fenolik, dengan rutin, katekin, dan asam *syringic* sebagai senyawa yang dominan. Hasilnya, metode MAE yang dioptimalkan ini telah menunjukkan aplikasi potensial untuk ekstraksi antioksidan polifenol yang efisien dari biji alpukat dalam industri nutrasetikal.