|  |
| --- |
| **Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dan Kloroform Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Metode DPPH** |
| **Antioxidant Activity of Methanol and Chloroform Extracts of Avocado Seeds (*Persea americana* Mill.) Using the DPPH Method**  |
| **Ambar Pratiwi\*, Adilla Shafa Nafisa**Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia\*Corresponding author: ambar@bio.uad.ac.id |
|  |

Abstract: One part of the avocado (*Persea americana* Mill.) that is often unused and considered waste is the avocado seed. Avocado seeds have the potential to be made into an extract because they contain antioxidant compounds. The aim of this research was to determine the highest antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid content in methanol and chloroform extracts, and to determine the relationship between total phenolic and total flavonoid content on the IC50 values of methanol and chloroform extracts. Antioxidant activity was tested using the DPPH method. Data analysis used the classic assumption test, independent sample t-test, and Pearson correlation test. The results showed that the highest IC50 was found in the chloroform extract at 349.28 ± 137.29 µg/mL DW. The highest phenolic content was found in the methanol extract at 2,419.51 ± 389.54 mgGAE/g DW. The highest total flavonoid content was found in the chloroform extract at 232.13 ± 54.32 mgQE/g DW. Based on the Pearson correlation test, the total flavonoid content had a correlation (0.028<0.05) with the IC50 value of methanol and chloroform extracts of avocado seeds, while the total phenolic content had no correlation (0.749>0.05) with the IC50 value of methanol and chloroform extracts of avocado seeds.

Keywords: *antioxidants, avocado seeds, correlation, DPPH, total flavonoids, total phenolic.*

1. INTRODUCTION (PENDAHULUAN)

Antioksidan berperan sebagai senyawa yang mendonorkan satu elektron pada senyawa radikal bebas, maka senyawa radikal bebas itu akan stabil (Winarti, 2010). Antioksidan berperan penting bagi manusia, antara lain, untuk menghambat oksidasi radikal bebas dan mempunyai peranan sebagai mekanisme pertahanan tubuh terhadap bermacam penyakit yang berhubungan dengan serangan radikal bebas (Lindsay & Astley, 2006). Sumber antioksidan dapat ditemukan pada tanaman sayuran dan buah yang dikategorikan sebagai senyawa antioksidan alami (Parwata, 2016).

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.), yaitu tanaman yang mempunyai kandungan senyawa antioksidan. Tanaman ini dipertimbangkan sebagai buah yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan memiliki beberapa keuntungan bagi kesehatan manusia. Alpukat biasanya dibuat untuk berbagai macam olahan makanan, seperti bolu kukus, jus dan salad. Daging buahnya kaya akan nutrisi, dan daunnya biasa digunakan sebagai pengobatan herbal untuk penyakit ginjal dan darah tinggi (Antia *et al.,* 2005).

Pada umumnya biji alpukat sering tidak terpakai, namun ada yang memanfaatkannya sebagai tepung untuk ransum ayam ras pedaging. Biji alpukat cukup baik untuk dijadikan sebuah alternatif sebagai tepung untuk ransum ayam ras pedaging hingga persentase 5% (Harahap *et al.,* 2019). Sebagian besar masyarakat Indonesia menganggap biji alpukat sebagai limbah yang tidak dapat dimanfaatkan, walaupun sesungguhnya biji alpukat mengandung zat antioksidan yang dapat bermanfaat bagi kesehatan.

Menurut penuturan Vinha *et al.,* (2013), biji alpukat memiliki kandungan berbagai kandungan senyawa fitokimia antara lain fenolik 704 mg per 100 g, flavonoid 47,9 mg per 100 g, karoten 0,988 mg/100 g, vitamin C 2,6 mg per 100 g dan vitamin E 4,82 mg per 100 g. Senyawa fenolik terkenal sebagai komponen tumbuhan terpenting, yang mana mampu memerangi suatu radikal bebas. Senyawa fenol dapat bertindak sebagai agen pereduksi, donor hidrogen dan peredam oksidasi (Hsu *et al.,* 2007). Flavonoid diketahui merupakan senyawa pereduksi yang baik. Flavonoid dapat menghambat berbagai reaksi oksidasi, baik enzimatis maupun non-enzimatis (Robinson, 2002).

Utami (2009) memaparkan bahwa jenis pelarut ialah faktor yang memengaruhi hasil ekstraksi suatu sampel. Larutan pengekstrak yang dipergunakan harus sesuai dengan kepolaran senyawa yang ditargetkan. Menurut prinsip *like dissolves like*, suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama. Pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan sebaliknya (Suryani *et al.,* 2015). Berdasar penelitian Hartati *et al.,* (2013), hasil menunjukkan bahwa ekstrak metanol p.a. dari biji mahoni (*Swietenia mahagoni*) memperlihatkan aktivitas antioksidan paling tinggi (60,89%) dibanding ekstrak metanol 70% (60,77%), etanol p.a. (58,85%), etanol 70% (59,87%) dan aseton p.a. (46,54%). Yulistian *et al.,* (2015), menyatakan dalam penelitiannya bila ekstrak aseton 80% dari biji kacang tunggak (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) ialah pelarut yang mampu mengekstrak senyawa fenolik, flavonoid dan aktivitas antioksidan paling tinggi dengan kadar fenolik total maupun flavonoid total yang dihasilkan menyentuh angka 8.081,4 EAG/g sampel dan 33.308,3 EK/g sampel, sedangkan aktivitas antioksidan yang terukur menyentuh angka 620,9%.

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol dan kloroform biji alpukat (*Persea americana* Mill.). Saat ini belum ada penelitian mengenai aktivitas antioksidan biji alpukat menggunakan pelarut metanol dan kloroform di Indonesia. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk menentukan jenis pelarut yang paling tepat dari pelarut metanol dan kloroform sehingga diperoleh ekstrak biji alpukat dengan aktivitas antioksidan tertinggi.

1. METODE (METHODS)

**2.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian terlaksana pada bulan April 2023 - Juli 2023. Penelitian dilakukan di Desa Sidakaya, Kecamatan Cilacap Selatan, Kabupaten Cilacap dan Laboratorium Botani Biologi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.

**2.2 Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan, meliputi pisau, talenan, panci, kompor gas, oven, blender merk Philips, oven, vortex, pengaduk kaca, spatula, keranjang cuci, timbangan analitik merk ACIS MN Series, ayakan 60 mesh, erlenmeyer 100 ml, corong, toples kaca, gelas arloji, botol gelap, pipet tetes, mikropipet, corong, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spatula, gelas ukur, gelas beaker, labu ukur, *rotary vacuum evaporator,* spektrofotometer UV-Vis merk Thermo Spectronic, kuvet, mangkuk besi, labu erlenmeyer, tip, laptop dan kamera. Bahan-bahan yang digunakan meliputi biji alpukat (*Persea americana* Mill.) yang didapat dari kebun yang berada di Kecamatan Cilacap Selatan, aquades, metanol p.a, kloroform p.a, asam galat, reagen *folin-ciocalteu*, Na2CO3 20%, kuersetin, reagen AlCl 10%, kalium asetat 1 M, DPPH (*1,1-diphenyl-2- picrylhydrazyl*), asam askorbat, Buffer Tris-HCl, aluminium foil, kertas saring Whatman Nomor 1., label dan tissue.

**2.3 Variabel Penelitian**

Variabel bebas : Metanol p.a. dan Kloroform p.a.

Variabel terikat : Nilai IC50, Fenolik total dan Flavonoid total

**2.4 Cara Kerja**

Alpukat sebanyak 6 kg diperoleh dari kebun di Kec. Cilacap Selatan. Biji alpukat diambil dan dicuci bersih. Sampel diiris kecil-kecil dan tipis lalu ditiriskan. Kemudian biji alpukat yang telah diiris kecil-kecil dikeringkan di oven dengan suhu 55oC selama 8 jam. Biji alpukat kering dihaluskan mempergunakan blender, lalu diayak dengan ayakan 60 mesh sehingga diperoleh serbuk biji alpukat (Prasetyowati dan Tera, 2010).

Sebanyak 100 gram serbuk biji alpukat dimaserasi menggunakan pelarut metanol p.a. dan kloroform p.a dengan perbandingan 1:5 selama 48 jam, lalu diremaserasi dengan pelarut yang sama selama 48 jam. Filtrat bebas ampas pelarut metanol diperoleh dan diuapkan dengan *rotary vacum evaporator* dengan kecepatan 100 rpm dengan suhu 40°C kemudiaan dikering-anginkan selama 2 minggu sehingga diperoleh ekstrak kental berbentuk pasta, sedangkan filtrat bebas ampas pelarut kloroform dikering-anginkan selama 2 hari untuk didapatkan ekstrak kental berbentuk pasta. Ekstrak biji alpukat kemudian ditutup dengan *aluminium foil* lalu disimpan dalam toples kaca dan dimasukkan ke dalam kulkas untuk digunakan pada analisis selanjutnya.

Penetapan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH mengacu pada prosedur Brand-William *et al.,* (1995). Ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) ditimbang sebanyak 1 mg kemudian ditambah 1 mL metanol (sebagai larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm dari masing-masing ekstrak) dan dibuat 6 seri konsentrasi yaitu 0 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Larutan stok tiap ekstrak diambil sebanyak 0,05 mL dan ditambahkan 1,0 mL larutan DPPH dalam metanol (20 µg/mL) dan 0,45 mL 50 Mm Buffer Tris-HCl (pH 7,5), kemudian didiamkan selama 30 menit di ruangan gelap dengan suhu ruangan. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Metanol berguna sebagai larutan blanko dan asam askorbat sebagai kontrol positif.

Penetapan kandungan fenolik total dengan metode reagen *Folin-ciocalteau* mengacu pada prosedur Luthria *et al.,* (2006). Sampel ekstrak biji alpukat (1 mg/ml, dilarutkan dalam metanol:air = 80:20 %v/v) diambil sebanyak 0,1 mL dicampur dengan 7,9 mL aquadest dan divortex selama 10-20 detik. Ditambahkan 0,5 mL reagen *Folin-Ciocalteau* 50% dan divortex selama 20-30 detik. Ditambahkan 1,5 mL sodium karbonat 20% dan divortex selama 20-30 detik. Kemudian campuran diinkubasi pada suhu ruangan selama 2 jam. Campuran larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm dengan menggunakan kurva standar asam galat (0-100 µg/mL). Kandungan fenol dapat dinyatakan sebagai mg asam galat yang ekivalen per gram berat serbuk (mg GAE/g).

Penetepan kandungan flavonoid total dengan metode reagen AlCl3 mengacu pada prosedur Pourmorad *et al.,* (2006). Sebanyak 0,5 mL sampel ekstrak biji alpukat (1 mg/mL, dilarutkan dalam metanol:air = 1:1 %v/v) ditambah dengan metanol sebanyak 1,5 mL, 0,1 mL AlCl3 10%, 0,1 mL KCH3COO 1 M dan 2,8 mL aquadest. Kemudian ditera dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 415 nm. Metanol digunakan sebagai larutan blanki. Kandungan flavonoid total dapat ditentukan dengan kurva standar quersetin (0-100 µg/mL) dan flavonoid total dinyatakan sebagai mg quersetin equivalent (QE)/g ekstrak.

**2.5 Analisis Data**

Analisis data menggunakan uji asumsi klasik (uji normalitas dan uji homogenitas), uji *independent sample t-test* dan analisis korelasi pearson untuk mengetahui korelasi antara kandungan fenolik total dan flavonoid total terhadap antioksidan (IC50) dalam sampel ekstrak metanol dan kloroform biji alpukat.

1. hasil dan pembahasan (RESULTS AND DISCUSSION)

**3.1 Nilai IC50**

Tabel 1. Nilai IC50 Ekstrak Metanol dan Kloroform Biji Alpukat.

|  |  |
| --- | --- |
| **Jenis Ekstrak** | **Nilai IC50 (µg/mL)** |
| Ekstrak Metanol | 668,82 ± 373,69 |
| Ekstrak Kloroform | 349,28 ± 137,29 |

Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, diperoleh nilai IC50 dari rumus persamaan y = ax + b dan didapat ekstrak kloroform biji alpukat (*Persea americana* Mill.) mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi dibanding ekstrak metanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) (Tabel 1). Berdasarkan hasil analisis data menggunakan *t-test for Equality of Means* didapatkan nilai sig 0,592 > 0,05, maka dari itu dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan dari hasil nilai IC50 ekstrak metanol dan kloroform biji alpukat.

Nilai IC50 yang telah didapat melalui hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa nilai IC50 ekstrak metanol biji alpukat sebesar 668,82 µg/mL DW dan ekstrak kloroform biji alpukat sebesar 349,28 µg/mL DW. Berdasar pada teori dari Tristiantini *et al.,* (2016), kedua ekstrak ini dikelompokkan sebagai antioksidan sangat lemah, sebab mempunyai nilai IC50 di atas 200 µg/mL. Asam askorbat mempunyai nilai IC50 sejumlah 57,13 µg/mL DW, maka dikelompokkan sebagai antioksidan kuat karena memiliki nilai IC50 di atas 50 µg per mL dan di bawah 100 µg per mL. Hal ini berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Mustopa (2015), yang menunjukkan bahwa ekstrak kental biji buah alpukat memiliki potensi antioksidan meredam 50% radikal bebas DPPH pada konsentrasi 44,5793 ppm sehingga dikategorikan sangat kuat. Hal ini dikarenakan pada penelitian Mustopa (2015), menggunakan jenis pelarut yang berbeda yaitu pelarut etanol. Etanol merupakan sebuah pelarut yang bersifat polar dan sangat baik digunakan pada ekstraksi bahan alam. Pelarut etanol memiliki sifat untuk menembus bahan dinding sel sehingga mampu melakukan difusi sel dan menarik senyawa bioaktif lebih cepat (Harbone, 1987).

Metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan pada biji alpukat selain senyawa fenolik dan flavonoid antara lain alkaloid, polifenol, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid (Abubakar *et al.,* 2017). Pada pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH kali ini diperoleh bahwa ekstrak kloroform biji alpukat lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol biji alpukat. Hal ini dimungkinkan karena adanya kandungan senyawa antioksidan bersifat non-polar pada ekstrak kloroform biji alpukat yang aktif dalam menghambat radikal bebas seperti triterpenoid, katekin, flavonol dan steroid (Abubakar *et al.,* 2017).

Hasil nilai IC50 ekstrak metanol biji alpukat lebih rendah dibandingkan ekstrak kloroform biji alpukat. Pada proses pembuatan ekstrak kental yang dikering-anginkan, ekstrak metanol memakan waktu lebih lama dibandingkan ekstrak kloroform. Ekstrak metanol memakan waktu sangat lama yaitu dua minggu, sedangkan ekstrak kloroform hanya memakan waktu selama dua hari karena memiliki sifat sangat mudah menguap. Hasil penentuan aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat juga sangat lemah karena dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu lemahnya kemampuan senyawa aktif pada ekstrak dan lamanya penyimpanan ekstrak biji alpukat sebelum dilakukan uji kuantitatif. Ekstrak kental metanol dan kloroform biji alpukat disimpan selama dua minggu, dikarenakan penggunaan alat laboratorium yang diharuskan mengantri. Hal ini diperkuat oleh penelitian milik Khotimah *et al.,* (2018), dikemukakan jika aktivitas antioksidan ekstrak daun miana mengalami penurunan setelah disimpan selama lebih dari dua pekan. Menurut penuturan Hihat *et al.,* (2017), aktivitas antioksidan rendah terlihat melalui nilai IC50 yang tinggi, sebaliknya aktivitas antioksidan tinggi terlihat melalui nilai IC50 yang rendah.

**3.2 Kandungan Fenol dan Flavonoid Total**

Tabel 2. Kandungan Fenol Total Ekstrak Metanol dan Kloroform Biji Alpukat.

|  |  |
| --- | --- |
| **Jenis Ekstrak** | **Kandungan fenol total** **(mgGAE/g)** |
| Ekstrak Metanol | 668,82 ± 373,69 |
| Ekstrak Kloroform | 349,28 ± 137,29 |

Pada penelitian kali ini diperoleh bahwa kandungan fenol total pada ekstrak biji alpukat menggunakan pelarut metanol sebesar 2419,51 ± 389,54 mgGAE/g DW, sedangkan ekstrak biji alpukat menggunakan pelarut kloroform memiliki kandungan fenol total sebesar 529,69 ± 52,07 mgGAE/g DW (Tabel 2). Hasil perhitungan fenol total menunjukkan bahwa pada ekstrak metanol mempunyai kandungan fenol lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kloroform. Berdasarkan hasil analisis data menggunakan t-test for *Equality of Means* didapatkan nilai sig 0,002 < 0,05, maka dari itu dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan dari hasil kandungan fenol total ekstrak metanol dan kloroform biji alpukat.

Berdasar studi Tiwari *et al.,* (2011), kelarutan senyawa polifenol lebih baik pada pelarut metanol dibandingkan kloroform. Hal ini juga sesuai dengan penelitian Dai & Mumper (2010), bahwa pelarut seperti metanol, etanol, aseton, etil asetat dan fraksinya umum digunakan dalam ekstraksi fenol dari bahan alam. Metanol ialah pelarut yang paling efisien dan umum untuk proses ekstraksi senyawa polifenol dengan berat molekul rendah. Hal ini dikarenakan metanol dan fenol bersifat polar karena sama-sama memiliki gugus hidroksil (-OH), sehingga membuat mereka dapat bereaksi dengan baik. Menurut Iqbal (2012), bahwa penggunaan pelarut dengan kepolaran yang tinggi seperti metanol mampu meningkatkan penarikan senyawa total fenol dari dalam ekstrak.

Tabel 3. Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Metanol dan Kloroform Biji Alpukat.

|  |  |
| --- | --- |
| **Jenis Ekstrak** | **Kandungan flavonoid total** **(mgQE/g)** |
| Ekstrak Metanol | 209,81 ± 44,63 |
| Ekstrak Kloroform | 232,13 ± 54,32 |

Pada penelitian kali ini diperoleh bahwa kandungan flavonoid total pada ekstrak kloroform biji alpukat sebesar 232,13 ± 54,32 mgQE/g DW, sedangkan pada ekstrak kloroform biji alpukat sebesar 209,81 ± 44,63 mgQE/g DW (Tabel 3). Kandungan flavonoid total dari ekstrak kloroform dan metanol biji alpukat memperlihatkan bila kandungan flavonoid total ekstrak kloroform lebih tinggi dibanding dengan ekstrak metanol. Berdasarkan hasil analisis data menggunakan t-test for *Equality of Means* didapatkan nilai sig 0,549 > 0,05, maka dari itu dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari hasil kandungan flavonoid total ekstrak metanol dan kloroform biji alpukat.

Berdasarkan penuturan Tiwari *et al.,* (2011), pelarut kloroform baik untuk untuk kelarutan senyawa flavonoid. Jenis-jenis flavonoid yang terdapat pada biji alpukat antara lain kuersetin, flavonol, katekin dan prosianidin (Setyawan dan Sukardi, 2021). Kuersetin termasuk ke dalam flavonoid polihidroksi yang bersifat semi-polar. Flavonol dan katekin termasuk ke dalam flavonoid non-polar (aglikon). Flavonoid aglikon memiliki beberapa gugus polar seperti gugus hidroksil, akan tetapi jumlahnya terbatas dibandingkan dengan gugus hidrokarbon non-polar dalam strukturnya. Oleh karena itu, sifat polar dari flavonoid aglikon tidak cukup kuat untuk membuatnya larut dalam pelarut polar seperti air, tetapi cukup untuk berinteraksi dengan pelarut non-polar seperti kloroform (Ferreira and Pinho, 2012). Flavonoid sebagai antioksidan mampu meredam radikal bebas dikarenakan terdapat logam Mg yang terkelat, serta memiliki kerangka porfirin. Logam yang terkelat menghasilkan radikal bebas yang cenderung mendonorkan elektron ke logam Mg, dan menghasilkan sifat radikal bebas yang netral (Damogalad *et al.,* 2013).

**3.3 Hubungan Fenol dan Flavonoid Total dengan Nilai IC50**

Tabel 4. Hasil Uji Korelasi Pearson.

|  |  |
| --- | --- |
| **Hubungan parameter** | ***Pearson correlation*** |
| Fenol total dengan IC50 | 0,140 |
| Flavonoid total dengan IC50 | 0,761\* |

*\*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).*

Berdasarkan hasil analisis data menggunakan uji korelasi pearson, diperoleh bahwa kandungan total flavonoid pada ekstrak kloroform dan metanol biji alpukat dengan besarnya penghambatan radikal bebas DPPH mempunyai korelasi dengan nilai koefisen sebesar 0,761 (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa antara kandungan flavonoid total dengan aktivitas antioksidan biji alpukat mempunyai hubungan yang erat. Selain itu, kenaikan kandungan flavonoid akan menyebabkan meningkatnya aktivitas antioksidan suatu bahan. Hubungan antara kandungan fenolik dengan penghambatan radikal bebas DPPH mempunyai nilai koefisien korelasi sebesar 0,140 (Tabel 4). Hal ini menunjukkan kandungan fenolik total tidak mempunyai korelasi terhadap aktivitas antioksidan biji alpukat. Sama seperti studi milik Ambarwati dan Erni (2022), memperjelas bila senyawa kimia yang memiliki peranan sebagai antioksidan pada biji alpukat, yaitu senyawa flavonoid maupun tanin. Aktivitas antioksidan yang dimiliki senyawa flavonoid mampu mengkhelat ion logam hal ini dapat menyebabkan berkurangnya kapasitas logam yang akan menghasilkan radikal bebas.

1. SIMPULAN

Sesuai studi yang sudah terlaksana, simpulan yang didapat, yaitu:

1. Aktivitas antioksidan tertinggi ada di ekstrak kloroform biji alpukat sejumlah 349,28 ± 137,29 µg/mL DW.
2. Kadar fenolik total tertinggi ada di ekstrak metanol biji alpukat yaitu sebesar 2.419,51 ± 389,54 mgGAE/g DW, sedangkan kadar flavonoid total tertinggi ada di ekstrak kloroforom biji alpukat yaitu sebesar 232,13 ± 54,32 mgQE/g DW.
3. Flavonoid total berhubungan dengan nilai aktivitas antioksidan dari ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dibandingkan fenolik total.
4. saran

Sesuai studi yang sudah peneliti lakukan, maka peneliti menyarankan bagi peneliti berikutnya, yakni perlunya melakukan studi mengenai kadar total tanin menggunakan metode reagen *Folin-ciocalteau* pada biji alpukat dan perlu adanya penelitian mengenai fraksinasi untuk mengetahui fraksi yang optimal terhadap aktivitas antioksidan biji alpukat (*Persea americana* Mill.).

1. DAFTAR PUSTAKA

Abubakar A. N. F, Suminar S. A. Irma H. S. (2017). Triterpenoid of avocado (*Persea americana*) seed and its cytotoxic activity toward breast MCF-7 and liver HepG2 cancer cells. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine,* 7(5), 397-400.

Ambarwati, R., Erni Rustiani. (2022). Formulasi dan Evaluasi Nanopartikel Ekstrak Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Dengan Polimer Plga. *Majalah Farmasetika,* 7(4), 305-313.

Antia, B. S. (2005). Hypoglycemic Activity of Aqueous Leaf Extract of Persea americana Mill. *Research Letter Indian J Pharmacol,* 37(5), 21.

Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier and C. Berset. (1995). Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel Wissenschaft Technologie*, 28: 25-30.

Dai, Jin and R. J. Mumper. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules.* 15: 7313-7352.

Damogalad, V., Edy, H.J., dan Supriati H.S. (2013). Formulasi Krim Tabir Surya Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas Cosmosus* L. Merr) dan Uji In Vitro Nilai Sun Protecting Factor (SPF). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 42.

Ferreira and Pinho. (2012). Solubility of Flavonoids in Pure Solvents. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 51(18), 6586-6590.

H.Y. Setyawan, S. Sukardi dan C. A. Puriwangi. (2021). Sifat fitokimia biji alpukat: Sebuah tinjauan*. Seri Konferensi IOP: Ilmu Bumi dan Lingkungan,* 1-7.

Harahap, et al. (2019). Pemanfaatan Tepung Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) dalam Ransum terhadap Performa Ayam Ras Pedaging. *Jurnal Peternakan Sriwijaya*, 8(2), 45-57.

Harborne, J. B. (1987). *Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.

Hartati, H., Salleh, L. M., Abd Azis, A., & Che Yunos, M. A. (2013). Pengaruh Jenis Pelarut Ekstraksi Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq) Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri. *BIONATURE “Jurnal Kajian, Penelitian, dan Pengajaran Biologi”,* 14(1), 11-15.

Hihat, S., Remini, H. dan Madani, K. (2017). Effect of oven and microwave drying on phenolic compounds and antioxidant capacity of coriander leaves. *International Food Research Journal,* 24(2), 503-509.

Hsu, C.Y., Y.P. Chan, J Chang. (2007). Antioxidant activity of Extract from Polygenum cuspidatum. *Biological Research,* 40: 13-21.

Iqbal, S., Younas U, Chan KW, Zia-Ul-Haq M & Ismail M. (2012). Chemical composition of *Artemisia annua* L. leaves and antioxidant potential of extracts as a function of extraction solvents. *Molecules,* 17(5), 6020-6032.

Khotimah, H., Agustina, R., & Ardana, M. (2018, November). Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Miana *(Coleus atropurpureus* L. Benth*). Farmasi, suatu Sosial, Budaya, Sains, dan Teknologi untuk Kesehatan dan Kesejahteraan.* Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences, Samarinda.

Lindsay D.G.& Astley (2002). European research on functional effects of dietary antioxidants. *Molecular Aspects of Medicine,* 23(3), 287–291.

Luthria et al., (2006). Acids in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. *Journal of Food Composition and Analysis,* 19: 771-777.

Mustopa, L.H. (2019). Uji Potensi Antioksidan Pengembangan Formulasi Krim Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) *Jurnal Institusi Poltekes Kemenkes Bandung,* 2(2), 88-94.

Parwata, I Made Oka Adi. (2016). *Diktat/Bahan Ajar Kimia Organik Bahan Alam*. Denpasar: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Pourmorad, F., S.J Hosseinimerh, N. Shahabimajd. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid content of some selected Iranian medical plants. *African Journal of Biotechnology,* 5(11), 1142-1145.

Prasetyowati, R. Pratiwi, dan F. Tris. (2010). Pengambilan Minyak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Metode Ekstraksi. *Jurnal Teknik Kimia,* 17(2), 112-157.

Robinson, T. (2002). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi.* Bandung: ITB.

Suryani, N. C., D. G. M. Permana, dan A. A. G. N. A. Jambe. (2015). Pengaruh jenis pelarut terhadap kandungan total flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun matoa (*Pometia pinnata*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan,* 5(1), 1-10.

Tiwari, P., B. Kumar, M. Kaur, G. Kaur, H. Kaur. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Sciencia,* 1(1), 98-106.

Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Jonathan, J. G. (2016, Maret). Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH pada daun tanjung (*Mimusops elengi* L). *Pengolahan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia.* Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan”, Yogyakarta.

Utami. (2009). Potensi Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Sebagai Sumber Antioksidan Alami. *Jurnal Teknik Kimia UPN Jawa Timur,* 2(1), 58-64.

Vinha, A.F., Moreira, J., and Barreira, S.V.P., (2013). Physicochemical Parameters, Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of the Algarvian Avocado (*Persea americana* Mill.). *Journal of Agricultural Science,* 5(12), 100-109.

Winarti, Sri. (2010). *Makanan Fungsional.* Yogyakarta: Graha Ilmu.

Yulistian, D. P., Utomo, E. P., Ulfa, S. M., & Yusnawan, E. (2015*). Studi pengaruh jenis pelarut terhadap hasil isolasi dan kadar senyawa fenolik dalam biji kacang tunggak (Vigna unguiculata (L.) Walp) sebagai antioksidan.* Doctoral dissertation, Brawijaya University.