

**PERBEDAAN TEKNIK EKSTRAKSI SOXHLET DAN MAE
(*Microwave Assisted Extraction*) TERHADAP RENDEMEN DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MINYAK BIJI ALPUKAT**

SKRIPSI



No. Mahasiswa : 16612128

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA
2020**

**PERBEDAAN TEKNIK EKSTRAKSI SOXHLET DAN MAE
(*Microwave Assisted Extraction*) TERHADAP RENDEMEN DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MINYAK BIJI ALPUKAT**

SKRIPSI

Yang diajukan oleh:

YUNI ASTUTI

No. Mahasiswa : 16612128

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Prodi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 17 November 2020

Dewan Penguji

1. Dr. Noor Fitri, M.Si
2. Dr. Tatang Shabur Julianto, M.Si
3. Febi Indah Fajarwati, M.Sc

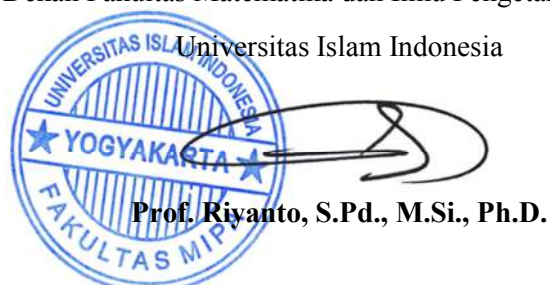
Tanda tangan



Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yuni Astuti

NIM : 16612128

Program Studi : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul Perbedaan Teknik Ekstraksi Soxhlet dan MAE (*Microwave Assisted Extraction*) terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan Minyak Biji Alpukat bersifat asli dan tidak berisi material yang telah diterbitkan sebelumnya kecuali referensi yang disebutkan di dalam skripsi ini. Apabila terdapat kontribusi dari penulis lain, maka penulis tersebut secara eksplisit telah disebutkan di dalam skripsi ini. Apabila kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia dituntut dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan penuh tanggung jawab.

Yogyakarta, 17 November 2020

Yang menyatakan,



Yuni Astuti

NIM. 16612128

DAFTAR ISI

Halaman sampul	i
Lembar pengesahan.....	ii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR TABEL	vii
INTISARI	8
BAB 1	10
PENDAHULUAN	10
1.1 Latar Belakang	10
1.2 Rumusan Masalah	12
1.3 Tujuan Penelitian.....	12
1.4 Manfaat Penelitian	12
BAB II.....	13
TINJAUAN PUSTAKA.....	13
BAB III.....	18
DASAR TEORI.....	18
3.1 Biji Buah Alpukat	18
3.1.1 Kandungan Biji Buah Alpukat.....	19
3.2 Teknik Ekstraksi	19
3.3 Karakteristik	21
3.4 Antioksidan	22
3.4.1 Aktivitas Antioksidan.....	24
3.5 Uji DPPH.....	24
3.6 Spektrofotometer Uv-Vis	25
BAB IV	28
METODE PENELITIAN	28
4.1 Bahan.....	28
4.2 Alat	28
4.3 Cara Kerja	29
4.3.1 Proses Ekstraksi Minyak Biji Alpukat dengan <i>Microwave Assisted Extraction</i>	29
4.3.2 Proses Ekstraksi Minyak Biji Alpukat dengan Teknik Soxhlet	30

4.3.3 Karakterisasi Minyak Biji Alpukat	30
4.3.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	33
BAB V	35
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
KESIMPULAN	49
DAFTAR PUSTAKA.....	50
LAMPIRAN-LAMPIRAN	55



DAFTAR GAMBAR

3.1 Buah Alpukat.....	18
4.3 Skema Kerja Penelitian.....	28
5.1 Reaksi Hidrolisis Minyak/ Lemak.....	37
5.2 Grafik Hubungan Konsentrasi dengan %inhibisi Sampel Teknik MAE.....	45
5.3 Grafik Hubungan Konsentrasi dengan %inhibisi Sampel Teknik Soxhlet.....	45
5.4 Grafik Hubungan Konsentrasi dengan %inhibisi pembanding EVOO 99%.....	46



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbandingan Hasil Ekstraksi Minyak Biji Alpukat Pada Penelitian Sebelumnya.....	14
Tabel 2. Perbandingan Hasil Rendemen dari Kedua Teknik.....	36
Tabel 3. Karakterisasi Hasil Penelitian dengan Penelitian Sebelumnya.....	41
Tabel 4. Kategori Antioksidan Pada Sampel dan Pembanding.....	47



PERBEDAAN TEKNIK EKSTRAKSI SOXHLET DAN MAE (*Microwave Assisted Extraction*) TERHADAP RENDEMEN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MINYAK BIJI ALPUKAT

INTISARI

Yuni Astuti

NIM 16612128

Telah dilakukan penelitian mengenai perbandingan hasil ekstraksi minyak biji alpukat menggunakan teknik Soxhlet dan *Microwave Assisted Extraction* (MAE) dengan pelarut n-heksana, serta uji aktivitas antioksidan. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui teknik yang lebih efektif dalam ekstraksi minyak biji alpukat. Tahapan penelitian yang dilakukan: 1) Preparasi sampel biji alpukat menjadi serbuk; 2) Ekstraksi minyak biji alpukat teknik teknik Soxhlet dan MAE; 3) Karakterisasi fisika dan kimia minyak biji alpukat; 4) Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan rendemen minyak biji alpukat yang diekstrak dengan teknik MAE dua kali lipat dibandingkan dengan teknik Soxhlet. Hasil karakterisasi fisika dan kimia menunjukkan tidak ada perbedaan minyak biji alpukat dari kedua ekstraksi. Nilai aktivitas antioksidan minyak biji alpukat dengan teknik Soxhlet adalah sebesar 130,65 ppm (antioksidan sedang), sedangkan untuk teknik MAE sebesar 100,30 ppm (antioksidan sedang). Ekstraksi biji alpukat dengan teknik MAE lebih efektif dibanding teknik Soxhlet dalam hal rendemen dan aktivitas antioksidannya.

Kata Kunci : *minyak biji alpukat, Soxhlet, MAE, antioksidan, DPPH.*

THE DIFFERENCE OF SOXHLET AND MAE (*Microwave Assisted Extraction*) EXTRACTION TECHNIQUES TOWARDS YIELD AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF AVOCADO SEED OIL

ABSTRACT

Yuni Astuti

NIM 16612128

This research observed the comparison of the results of avocado seed oil extraction using Soxhlet and MAE (*Microwave Assisted Extraction*) techniques with n-hexane solvent, the antioxidant activity test was also carried out. The aim of this research is to find out which technique is more effective in extracting avocado seed oil. The stages are: 1) Avocado seed sample preparation into powder; 2) Avocado seed oil extraction using Soxhlet and MAE techniques; 3) Physical and chemical characterization of avocado seed oil; 4) Antioxidant activity test using DPPH method. The result showed that the yield of avocado seed oil extracted using the MAE technique was twice compared to the Soxhlet technique. The result of physical and chemical characterization showed no difference in avocado seed oil from the two extraction. The antioxidant activity number of avocado seed oil using the Soxhlet technique was 130.65 ppm (moderate antioxidant), while for the MAE technique was 100.30 ppm (moderate antioxidant). Avocado seed extraction using the MAE technique is more effective than the Soxhlet technique in terms of yield and antioxidant activity.

Keywords : *avocado seed oil, Soxhlet, MAE, antioxidant, DPPH.*

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki berbagai macam tumbuhan dan buah-buahan. Salah satu buah unggulan di Indonesia adalah alpukat karena buah ini memiliki kandungan protein dan lipid tinggi. Masyarakat biasanya hanya memanfaatkan daging buah alpukat, sedangkan bijinya dibuang sehingga menjadi limbah. Biji alpukat dapat diekstraksi menjadi minyak biji alpukat yang bermanfaat. Biji buah alpukat mengandung minyak yang cukup tinggi yaitu 15% sampai 25%. Minyak biji alpukat dapat digunakan sebagai obat anti diabetes (Prasetyowati, *et al.*, 2010), sebagai bahan baku biodiesel yang ekonomis dan ramah lingkungan, serta dapat digunakan pada pembuatan *mayonaise* dan *salad dressing* karena tingginya kandungan asam lemak esensial di dalam biji alpukat. Kandungan biji alpukat antara lain *polifenol*, *flavonoid*, *triterpenoid*, *saponin*, *kuinon*, *tanin*, *monoterpenoid*, dan *seskuiterpenoid* (Erfiza, *et al.*, 2016). Menurut Song dan Barlow (2004), biji buah alpukat dapat berfungsi sebagai antioksidan karena adanya kandungan senyawa *phenolic* sebanyak lebih dari 90% di dalamnya.

Minyak biji alpukat dapat diperoleh melalui teknik ekstraksi dan pengepresan. Teknik ekstraksi lebih diutamakan karena kehilangan minyak saat proses lebih sedikit sehingga diperoleh minyak yang lebih banyak. Ekstraksi merupakan proses pemisahan komponen-komponen dalam larutan berdasarkan perbedaan kelarutannya (solubilitas). Terdapat beberapa macam ekstraksi untuk memperoleh minyak biji alpukat. Salah satunya adalah teknik *microwave* (Đurđevića *et al.*, 2017), ekstraksi daging alpukat dapat dilakukan dengan pelarut n-heksan untuk mendapatkan minyaknya. Pada penelitian ini, akan dilakukan Soxhlet dan MAE (*Microwave Assisted Extraction*) untuk mengetahui teknik yang lebih efektif dalam memperoleh minyak biji alpukat. Berdasarkan analisis kimia dan fisika dari hasil minyak yang didapatkan, yaitu: warna, bau, indeks bias, densitas minyak, bilangan asam, bilangan peroksida, dan rendemen, serta

dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada minyak biji alpukat menggunakan metode DPPH.



1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah, maka dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana perbandingan hasil ekstraksi minyak biji alpukat menggunakan teknik ekstraksi Soxhlet dan MAE?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan minyak biji alpukat menggunakan teknik ekstraksi Soxhlet dan MAE dengan metode DPPH?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka didapatkan tujuan dari penelitian sebagai berikut :

1. Mengetahui perbandingan hasil ekstraksi minyak biji alpukat menggunakan teknik ekstraksi Soxhlet dan MAE.
2. Mengetahui aktivitas antioksidan minyak biji alpukat menggunakan teknik ekstraksi Soxhlet dan MAE dengan metode DPPH.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah diharapkan dapat mengetahui teknik yang lebih efektif dalam memperoleh minyak biji alpukat dan aktivitas antioksidan minyak biji alpukat menggunakan metode DPPH.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

Minyak biji alpukat memiliki berbagai manfaat dalam kehidupan, di antaranya adalah sebagai bahan dasar biodiesel yang ekonomis dan ramah lingkungan karena minyak biji alpukat memiliki kandungan lipid yang cukup tinggi dan dapat dikatakan sebagai sumber minyak nabati. Pada (Prasetyowati, *et al.*, 2010) didapatkan minyak biji alpukat encer dengan warna kuning bening kemerahan. Viskositas dan angka asam pada penelitian tersebut berturut-turut adalah antara 0,82-4,55 dan 0,13-0,18 yang menandakan nilai tersebut masuk standar SNI minyak biodiesel (SNI 04-7182-2006).

Bahan dasar krim pelembab kulit dapat menggunakan minyak biji alpukat. Hal tersebut tercantum dalam (Utomo, 2016) bahwa minyak biji alpukat memenuhi standar bahan baku krim pelembap. Beberapa nilai yang memenuhi standar adalah pH 6,52, viskositas 25000 cp, dan kadar air sebesar 77%.

Kandungan biji alpukat menurut (Abu bakar, *et al.*, 2014) melalui skrining fitokimia adalah golongan senyawa metabolit sekunder, yaitu: tanin, flavonoid, polifenol, saponin, triterpenoid, kuinon, monoterpenoid, dan seskuiterpenoid. Selain itu disebutkan pula pada (Sanjaya, *et al.*, 2020) bahwa biji alpukat mengandung saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, dan sianogenik glikosida. Sedangkan menurut (Asngad dan Subiakto, 2020) kandungan fitokimia pada ekstrak biji alpukat dengan pelarut n-heksan adalah asam lemak. Kandungan asam lemak pada minyak biji alpukat menurut (Widyawati, *et al.*, 2020) antara lain asam linoleat (47,35%), asam lemak jenuh berupa asam palmitat (20,34%), dan asam lemak tidak jenuh tunggal yaitu asam oleat (15,88%). Menurut (Hendra, *et al.*, 2018) kandungan asam lemak pada minyak biji alpukat antara lain asam nonanoat (1,20%), asam miristat (2,80%), asam behenat (2,23%), asam palmitoleinat (7,91%), asam oleat (28,69%), dan asam isopalmitat (4,77%). Selain itu, dalam (Tampubolon, 2017) dikatakan bahwa kandungan asam lemak pada minyak biji alpukat adalah asam linoleat (25,68 %), asam stearat (25,19 %),

asam palmitat (22,05 %), asam oleat (2,52 %), asam palmitoleat (1,66 %), dan asam behenat (1,28 %) .

Pada penelitian ini, akan dilakukan perbandingan hasil ekstraksi minyak biji alpukat menggunakan teknik Soxhlet dan MAE. Perbandingan hasil ekstraksi minyak biji alpukat dalam penelitian-penelitian sebelumnya dapat dilihat pada Tabel 1.



Tabel 1. Perbandingan Hasil Ekstraksi Minyak Biji Alpukat Pada Penelitian Sebelumnya

JUDUL	METODE	PELARUT	VOLUME PELARUT	MASSA BAHAN	WAKTU EKSTRAKSI	RENDEMEN
Pengambilan Minyak Biji Alpukat Dengan Teknik Ekstraksi (Marlina, <i>et al.</i> , 2019)	Ekstraksi Soxhlet	N-heksan	250 mL	50 gram	45 menit 60 menit	10,1% 32,8%
Extraction Of Vegetable Oil From Avocado Seeds For Production Of Biodiesel (Dagde, 2019)	Ekstraksi Soxhlet	N-heksan	250 mL	250 gram	120 menit	3%
Studies On The Paint Forming Properties Of Avocado(<i>Persea Americana</i>) And African Pear (<i>Dacryodes Edulis</i>) Seed Oils (Otaigbe, <i>et al.</i> , 2016)	Ekstraksi Soxhlet	N-heksan	-	985 gram	-	3,63%
Pengaruh Pelarut Campur Etil Asetat Dan N-Heksan Terhadap Rendemen Dan Golongan Senyawa Ekstrak Biji Alpukat (Nadya, <i>et al.</i> , 2019)	Ekstraksi maserasi	Etil asetat dan N-heksan	100 mL	10 gram	Tiga kali 24 jam	2,442 %
Hydrothermal–Microwave Processing For Starch Extraction From Mexican Avocado Seeds:	Hydrothermal–Microwave	air	20 mL	1 gram	30 menit	47,31%

Operational Conditions And Characterization (Rafael, <i>et al.</i> , 2020)						
--	--	--	--	--	--	--

Teknik ekstraksi Soxhlet adalah salah satu teknik yang dapat digunakan untuk mengisolasi minyak lemak. Soxhlet merupakan ekstraksi padat-cair karena substansi yang diekstrak terdapat di dalam campuran berbentuk padat. Soxhlet juga disebut berkesinambungan karena pelarut yang sama dipakai berulang-ulang sampai proses ekstraksi selesai (Isabel dan Mahfud, 2017). Soxhlet merupakan teknik yang sederhana, murah, dan paling umum digunakan dalam proses ekstraksi minyak alpukat (Gatbonton, 2013). Salah satu keuntungan teknik ini adalah menggunakan pelarut yang lebih sedikit karena berulangnya ekstraksi dan uap panas tidak melalui serbuk simplisia, melainkan melalui pipa samping. Pada (Hendra, 2018) digunakan teknik Soxhlet dalam memperoleh minyak biji alpukat. Biji alpukat yang digunakan berasal dari Pasar Tradisional Solok, Sumatera Barat. Kadar minyak biji alpukat yang didapat pada penelitian tersebut sebesar 40,33% (w/w).

Ekstraksi berbantuan gelombang mikro atau biasa disebut *Microwave Assisted Extraction* (MAE) adalah salah satu teknik untuk mengekstraksi berbagai senyawa bioaktif termasuk minyak atsiri. Kelebihan dari teknik ini adalah dapat digunakan untuk menghasilkan berbagai komponen bioaktif, minyak atsiri atau zat-zat lain. Teknik ini dapat mencegah oksidasi yang dipicu oleh kelembaban, ion logam, oksigen, dan panas. Untuk memperoleh minyak biji alpukat menggunakan teknik ini masih sangat jarang dilakukan. Penelitian sebelumnya yang menggunakan teknik ini adalah untuk memperoleh minyak dari kulit alpukat, seperti yang telah dilakukan Thitiphan (2016), minyak kulit alpukat dapat diekstrak menggunakan MAE dan pelarut MeTHF (2-methyltetrahydrofuran) pada 600 W selama 15 menit. Minyak ini dapat digunakan pada skala industri bidang makanan, kosmetik, dan farmasi.

Aktivitas antioksidan minyak biji alpukat dapat diketahui melalui metode uji 1,1-diphyenyl-2-picrylhidrazyl (DPPH). Metode DPPH merupakan uji aktivitas antioksidan suatu minyak dengan mengukur absorbansi menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 518 nm (Sumiwi, 2011).

Pada (Pratama, *et al.*, 2017) telah dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan berbagai pelarut dan hasilnya menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan minyak biji alpukat tertinggi terdapat pada pelarut isopropil alkohol (55,73%), sedangkan aktivitas antioksidan terendah pada pelarut n-heksan (50,39%) yang tidak berbeda dengan pelarut petroleum ether (50,43%).



BAB III

DASAR TEORI

3.1 Biji Buah Alpukat

Alpukat (*Persea americana* Mill.) adalah tanaman yang dapat tumbuh subur di daerah tropis, contohnya Indonesia. Buah alpukat menjadi salah satu buah yang banyak disukai orang karena rasanya yang enak, selain itu juga buah alpukat kaya akan antioksidan dan zat gizi (Malangngi, *et al.*, 2012). Alpukat terdiri dari tiga tipe yaitu tipe *West Indian*, tipe *Guatemalan*, dan tipe *Mexican*. Daging buah yang berada di bawah kulit berwarna hijau dan kuning di bagian yang mengarah ke biji. Sedangkan warna kulit buahnya bermacam-macam, apabila berwarna hijau itu dikarenakan kandungan klorofil dan hitam dikarenakan pigmen antosianin (Lopez, 2002). Taksonomi tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) menurut Chandra *et al.* (2013) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Laurales
Famili	: Lauraceae
Genus	: <i>Persea</i>
Spesies	: <i>Persea americana</i> Mill.

Bagian-bagian tanaman alpukat antara lain adalah akar, batang, daun, bunga, dan buah. Buah alpukat memiliki satu biji berbentuk seperti bola

berdiameter 6,5-7,5 cm dengan keping biji yang berwarna putih kemerahan. Biji buah alpukat sering dibuang padahal terdapat banyak kandungan bermanfaat di dalamnya.



Gambar 3.1 Buah Alpukat

(Sumber: Chandra et al., 2013)

Beberapa manfaat minyak biji alpukat antara lain dapat digunakan sebagai bahan dasar biodiesel (Prasetyowati, *et al.*, 2010), sebagai penghilang rasa sakit gigi (Abral dan Asmaul Husna, 2014), sebagai bahan pembuatan krim pelembab kulit (Utomo, 2016), dan sebagai obat anti diabetes (Prasetyowati, *et al.*, 2010).

3.1.1 Kandungan Biji Buah Alpukat

Biji buah alpukat memiliki beberapa kandungan, antara lain senyawa polifenol, flavonoid, triterpenoid, kuinon, tanin, monoterpenoid, dan seskuiterpenoid (www.google.com/alpukat.ppt).

3.2 Teknik Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan bahan dari campurannya menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ini dihentikan apabila telah tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman.

3.2.1 Macam-macam Teknik ekstraksi

a. Maserasi

Maserasi merupakan teknik sederhana yang paling banyak digunakan. Metode ini sesuai untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2007). Teknik maserasi berprinsip pada perpindahan massa komponen zat aktif ke dalam pelarut, di mana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antarmuka yang kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harborne, 1987). Teknik ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah yang bersifat inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan apabila telah tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kelemahan utama dari teknik maserasi ini yaitu memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan adanya kemungkinan hilangnya beberapa senyawa. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit untuk diekstraksi pada suhu kamar. Tetapi kelebihan teknik maserasi adalah dapat mencegah rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

b. Refluks dan Destilasi Uap

Pada metode refluks, sampel dimasukkan bersamaan dengan pelarut ke dalam labu yang terhubung dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Sedangkan, destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk ekstraksi minyak *essensial* (campuran berbagai senyawa menguap). Kerugian pada kedua teknik ini yaitu senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Seidel, 2006).

c. Soxhlet

Teknik Soxhlet merupakan teknik ekstraksi menggunakan Soxhlet dengan pelarut cair (etanol, alkohol, n-heksan, dan lainnya). Soxhlet merupakan salah satu teknik yang dapat digunakan untuk mengisolasi minyak lemak. Prinsip Soxhlet ialah teknik ekstraksi yang menggunakan pelarut yang selalu baru sehingga terjadi ekstraksi berulang dengan jumlah

pelarut konstan dengan adanya pendingin balik. Keuntungan dari teknik ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terkestraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugian dari teknik ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi dikarenakan ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014).

d. Microwave Assisted Extraction (MAE)

Microwave Assisted Extraction (MAE) merupakan ekstraksi yang memanfaatkan gelombang mikro untuk mempercepat ekstraksi selektif melalui pemanasan pelarut secara cepat dan efisien (Jain, *et al.*, 2009). Menurut beberapa penelitian, MAE meningkatkan efisiensi dan efektivitas ekstraksi bahan aktif berbagai jenis rempah, tanaman herbal, dan buah-buahan (Calinescu *et al.*, 2001). Keunggulan MAE sebagai teknik ekstraksi adalah meminimalkan penggunaan pelarut organik, efisiensi waktu, dan sebagai teknik ekstraksi yang ramah lingkungan (Shakinazet *et al.*, 2010). Prinsip dari teknik ini adalah memanfaatkan gelombang mikro yang dihasilkan oleh medan listrik dan medan magnet yang saling beresilasi dengan adanya dua fenomena yang berjalan secara simultan yaitu konduksi ionik dan rotasi dipol sehingga menyebabkan timbulnya panas dan tekanan (Iqbal *et al.*, 2013, Choi *et al.*, 2006).

3.3 Karakteristik

Beberapa analisis yang dilakukan untuk menentukan karakterisasi minyak/lemak adalah sebagai berikut:

1. Berat Jenis, yaitu perbandingan volume sampel pada suhu 25°C dengan berat air. Berat jenis minyak sangat dipengaruhi oleh ketidakjenuhan komponen asam lemaknya, tetapi akan turun nilainya dengan makin kecilnya berat molekul komponen asam lemaknya.

2. Indeks bias, yaitu derajat penyimpangan dari cahaya yang dilewatkan pada suatu medium yang cerah. Indeks bias dipakai untuk pengujian kemurnian minyak.
3. Bilangan asam, yaitu jumlah mg KOH yang dibutuhkan untuk menetralkan asam-asam lemak bebas dari satu gram minyak atau lemak. Bilangan asam dipergunakan untuk mengukur jumlah asam lemak bebas yang terdapat dalam minyak atau lemak.
4. Bilangan peroksida, adalah banyaknya meq oksigen aktif yang terdapat dalam 1000 g minyak atau lemak. Makin besar bilangan peroksida, maka makin besar pula derajat kerusakan minyak atau lemak akibat reaksi oksidasi.
5. Bilangan iod, yaitu jumlah (g) iod yang dapat diikat oleh 100 g minyak atau lemak. Ikatan rangkap yang terdapat dalam asam lemak tidak jenuh akan bereaksi dengan iod atau senyawa-senyawa iod. Trigliserida dengan ketidakjenuhan tinggi akan mengikat iod dalam jumlah yang lebih besar (Ketaren, 1986).

3.4 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang melindungi sel melawan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif penyebab kerusakan sel (Rahmi, 2011). Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel akan dihambat (Winarsi, 2007). Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda, menghambat atau mencegah oksidasi lipid atau molekul lain dengan menghambat inisiasi atau propagasi dari reaksi rantai oksidatif (Javanmardi, *et al.*, 2003). Senyawa ini mempunyai berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal (Winarsi, 2007).

Antioksidan berfungsi mencegah kerusakan sel dan jaringan tubuh karena dalam hal ini antioksidan bertindak sebagai pemulung/ *scavenger* (Sen, *et al.*,

2010). Pada bidang kesehatan dan kecantikan, antioksidan berfungsi sebagai pencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, penangkal radikal bebas, dan lain-lain. Berkaitan dengan fungsinya, antioksidan diklasifikasikan dalam lima tipe antioksidan yaitu:

1. *Primary antioxidants*, yaitu senyawa-senyawa fenol yang mampu memutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas asam lemak. Dalam hal ini memberikan atom hidrogen yang berasal dari gugus hidroksi senyawa fenol sehingga terbentuk senyawa yang stabil. Senyawa antioksidan yang termasuk kelompok ini misalnya BHA, BHT, PG, TBHQ, dan tokoferol.
2. *Oxygen scavengers*, yaitu senyawa-senyawa yang berperan sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi. Dalam hal ini, senyawa tersebut akan mengadakan reaksi dengan oksigen yang berada dalam sistem sehingga jumlah oksigen akan berkurang. Contoh dari senyawa-senyawa kelompok ini adalah vitamin C (asam askorbat), askorbil palminat, asam eritorbat, dan sulfat.
3. *Secondary antioxidants*, yaitu senyawa-senyawa yang mempunyai kemampuan untuk berdekomposisi hidroperoksida menjadi produk akhir yang stabil. Tipe antioksidan ini pada umumnya digunakan untuk menstabilkan poliolefin resin. Contohnya asam tiopropionat dan dilauril tiopropionat.
4. *Antioxidative Enzimel*, yaitu enzim yang berperan mencegah terbentuknya radikal bebas. Contohnya glukose oksidase, superoksidase dismutase (SOD), *glutation* peroksidase, dan kalalase.
5. *Chelators sequestrants*, yaitu senyawa-senyawa yang mampu mengikat logam seperti besi dan tembaga yang mampu mengkatalis reaksi oksidasi lemak. Senyawa yang termasuk di dalamnya adalah asam sitrat, asam amino, *ethylene diamine tetraacetid acid* (EDTA), dan fosfolipid.

3.4.1 Aktivitas Antioksidan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai aktivitas antioksidan minyak biji alpukat yang telah diperoleh dengan teknik ekstraksi yang efektif. Pengujian ini akan dilakukan dengan metode *2,2-difenil-1-pikrilhidrazil* (DPPH). Metode DPPH digunakan karena kelebihanannya yang sederhana, mudah, cepat, peka, dan membutuhkan sedikit sampel. Parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan adalah IC_{50} yang diartikan sebagai konsentrasi senyawa antioksidan yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH (Molyneux, 2004).

3.5 Uji DPPH

DPPH (*2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate*) adalah uji antioksidan berdasarkan transfer elektron yang menghasilkan pelarut berwarna ungu dalam etanol. Pengujian dengan metode ini memiliki keuntungan cara yang mudah dan cepat untuk mengidentifikasi antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri (Huang, 2005). DPPH adalah radikal bebas yang stabil dalam larutan etanol. DPPH memiliki panjang gelombang maksimum antara 515-520 nm (Bandonieneet *al.*, 2002, Pavlov *et al.*, 2002, dan Gazi *et al.*, 2004). Prinsip metode DPPH adalah penurunan intensitas absorbansi larutan DPPH yang berbanding lurus dengan kenaikan konsentrasi senyawa antioksidan yang dinyatakan dengan *Inhibition Concentration 50* (IC_{50}). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas DPPH (Guravet *al.*, 2007).

DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen akan membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan radikal bebas dari DPPH. Warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 516 nm akan hilang jika semua elektron pada

radikal bebas DPPH menjadi berpasangan. Perubahan ini dapat diukur sesuai dengan jumlah elektron atau atom hidrogen yang ditangkap oleh molekul DPPH akibat adanya zat reduktor. Suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC_{50} kurang dari 200 ppm. Bila nilai IC_{50} yang diperoleh berkisar antara 200-1000 ppm, maka zat tersebut kurang aktif tetapi masih berpotensi sebagai zat antioksidan (Molyneux, 2004). Senyawa antioksidan mempunyai sifat yang relatif stabil dalam bentuk radikalnya. Aktivitas antioksidan merupakan kemampuan suatu senyawa atau ekstrak untuk menghambat reaksi oksidasi yang dapat dinyatakan dengan persen penghambatan (Williams *et al.*, 1995).

3.6 Spektrofotometer Uv-Vis

Spektrofotometer adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dan spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relatif, jika energi tersebut ditransmisikan, direfraksikan, atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang.

Emisi elektromagnetik sebagai fungsi dari panjang gelombang terdiri dari komponen-komponen pokok dari spektrofotometer tersebut meliputi:

1. Sumber tenaga radiasi stabil
2. Sistem yang terdiri atas lensa-lensa, cerminan, dan lain-lain
3. Monokromator untuk mengubah radiasi menjadi komponen-komponen pada panjang gelombang
4. Tempat sampel yang transparan dan detektor radiasi yang dihubungkan dengan sistem pencatat (Sastrohamidjojo, 2001).

Warna adalah kriteria utama mengidentifikasi suatu objek. Analisis spektrum radiasi elektromagnetik digunakan untuk menganalisis spesies kimia dan menelaah interaksinya dengan radiasi elektromagnetik. Persamaan Planck menunjukkan bahwa $E = hv$

Di mana:

E = Energi foton

v = Frekuensi

h = Ketetapan Planck ($6,624 \times 10^{-27}$ erg detik)

Suatu foton memiliki energi tertentu dan dapat menyebabkan transisi tingkat energi suatu atom atau molekul. Suatu spektrum yang diperoleh dengan memplot beberapa frekuensi terhadap frekuensi radiasi elektromagnetik adalah khas untuk spesies kimia tertentu dan berguna untuk identifikasi.

Bila cahaya jatuh pada senyawa, maka bagian dari cahaya diserap oleh molekul-molekul sesuai dengan struktur dari molekul. Setiap senyawa mempunyai tingkatan tenaga yang spesifik.

Bila cahaya mempunyai tenaga yang sama dengan perbedaan tenaga antara tingkat dasar (G) dan tenaga tingkat tereksitasi (E_1, E_2, \dots) jatuh pada senyawa, maka elektron-elektron pada tingkat dasar dieksitasi ke tingkatan tereksitasi dan sebagian tenaga cahaya yang sesuai dengan panjang gelombang ini diserap. Elektron yang tereksitasi akan melepaskan tenaga dengan proses radiasi panas dan kembali ke tingkat dasar asal.

Karena perbedaan tenaga antara tingkat dasar dan tingkat tereksitasi spesifik untuk tiap-tiap bahan atau senyawa, maka frekuensi yang diserap juga tertentu. Gambar hubungan intensitas radiasi (absorbansi) sebagai fungsi panjang gelombang atau frekuensi dikenal sebagai spektrum serapan. Hal ini sesuai dengan hukum Lambert-Beer yang berbunyi

$$A = \epsilon b c$$

Di mana:

A = Absorbansi

ϵ = Serapan molar

b = Lebar kuvet

c = Konsentrasi

panjang gelombang sinar UV-Vis adalah dari 400 nm hingga 700 nm.



BAB IV

METODE PENELITIAN

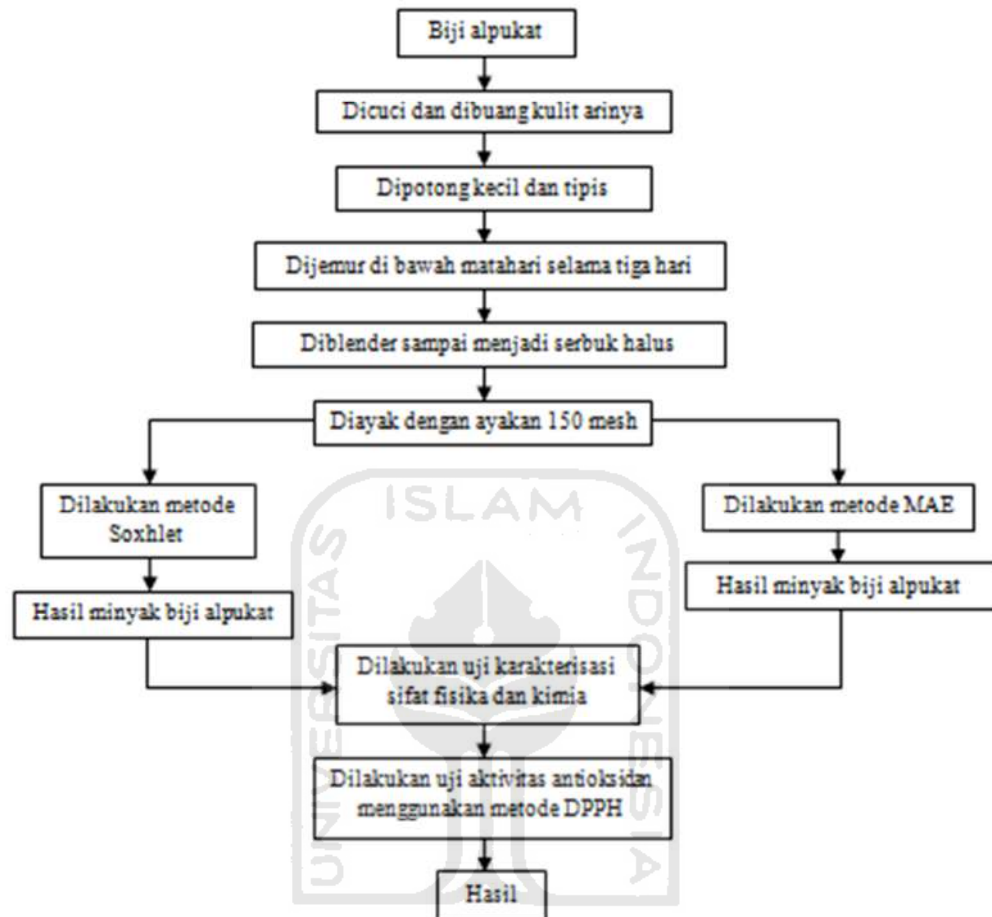
4.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain n-heksan teknis, kertas saring, biji alpukat, benang, akuades, tisu, larutan KOH 0,1 N, larutan H₂C₂O₄ 0,1 N, indikator pp 1%, etanol p.a, asam asetat glasial, kloroform, KI jenuh, Na₂S₂O₃ 0,1 N, indikator kanji 0,5%, larutan DPPH 0,08 mM, *aluminium foil*, dan minyak *Extra Virgin Olive Oil* 99%.

4.2 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain piknometer 1 mL, seperangkat alat Soxhlet, kompor listrik, neraca analitik Ohaus, *vacuum evaporator* Heidolph, refraktometer ABBE, pipet tetes, penangas, *thermometer*, vial, labu ukur 25 mL, lumpang dan alu, labu ukur 10 mL, spatula, batang pengaduk, spektrofotometer UV-Vis double beam UH5300 Hitachi, *microwave* Electrolux, *blender* Miyako, dan tampah.

4.3 Cara Kerja



Gambar 4.3 Skema Kerja Penelitian

4.3.1 Proses Ekstraksi Minyak Biji Alpukat dengan *Microwave Assisted Extraction*

Bahan yang digunakan pada proses ekstraksi ini adalah serbuk biji alpukat dan n-heksan teknis. Biji alpukat yang digunakan sebelumnya sudah dipreparasi hingga berbentuk serbuk. Kemudian ditimbang sebanyak 50 gram. Serbuk biji alpukat dimasukkan ke dalam wadah tahan panas *tupperware*, kemudian dimasukkan n-heksan teknis 200 mL. Ditutup wadah dan dipastikan tertutup rapat sehingga tidak ada celah n-heksan untuk menguap. Selanjutnya wadah dimasukkan ke dalam *microwave* dan diatur dengan panas 100 watt dan waktu delapan menit dengan perlakuan

pengadukan setiap dua menit. Selanjutnya larutan hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring, lalu filtratnya dievaporasi dengan suhu 68⁰C.

4.3.2 Proses Ekstraksi Minyak Biji Alpukat dengan Teknik Soxhlet

Serbuk biji alpukat ditimbang sebanyak 50 gram kemudian dibungkus dengan kertas saring untuk dimasukkan ke dalam tempat sampel rangkaian Soxhlet, dimasukkan n-heksan teknis sebanyak 200 mL ke dalam labu alas bulat dan alat Soxhlet dirangkai. Ekstraksi dilakukan selama dua jam dengan menghitung banyaknya siklus yang terjadi. Setelah itu, filtrat yang masih mengandung pelarut dievaporasi dengan suhu 68⁰C.

4.3.3 Karakterisasi Minyak Biji Alpukat

4.3.3.1 Penentuan Berat Jenis

Piknometer dengan ukuran 1 mL digunakan untuk penentuan berat jenis minyak hasil ekstraksi biji alpukat. Piknometer 1 mL ditimbang massanya dan dicatat, kemudian piknometer 1 mL diisi akuades, ditimbang, dan dicatat massanya, kemudian piknometer 1 mL diisi dengan minyak biji alpukat, ditimbang, dan dicatat massanya. Berat jenis minyak dapat dihitung dari persamaan berikut:

$$\frac{(\text{Berat piknometer} + \text{minyak}) - \text{berat piknometer kosong}}{\text{Berat air}}$$

4.3.3.2 Penentuan Indeks Bias

Sebelum dilakukan pengukuran indeks bias, refraktometer harus distandarkan dengan air murni ($n = 1,333$), sedangkan untuk minyak pada suhu 25⁰C. Satu tetes minyak diletakkan pada kaca prisma refraktometer, kemudian kaca prisma ditutup dan didiamkan selama 2 menit. Lampu refraktometer dinyalakan dan langsung dilihat pada skala pembacaan. Nilai indeks bias suatu jenis minyak atau lemak dipengaruhi oleh suhu.

4.3.3.3 Penentuan Bilangan Asam

a. Pembuatan Larutan KOH 0,1 N dalam 50 mL

Ditimbang KOH sebanyak 0,2805 gram dan dilarutkan dengan 50 mL akuades.

b. Pembuatan Larutan Asam Oksalat 0,1 N dalam 50 mL

Ditimbang $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ sebanyak 0,315 gram dan dilarutkan dengan 50 mL akuades.

c. Pembuatan Indikator Fenolftalein 1% 10 mL

Ditimbang serbuk fenolftalein sebanyak 0,1 gram dan dilarutkan dalam 10 mL etanol pa.

d. Pengujian Bilangan Asam

Dilakukan standarisasi larutan KOH dengan larutan Asam Oksalat ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$) sebanyak 5 mL dengan titrasi sebanyak tiga kali dengan penambahan indikator pp tiga tetes dan dititrasi sampai berubah warna merah muda, lalu dicatat volume rata-rata KOH yang dibutuhkan. Kemudian setelah dilakukan standarisasi KOH, ditimbang minyak biji alpukat yang telah diekstraksi menggunakan *microwave* dan Soxhlet masing-masing sebanyak 1 gram dan ditambahkan 50 mL etanol pa dan dipanaskan sampai 65°C , lalu dititrasi sampai berubah warna merah muda sebanyak tiga kali dan dicatat volume KOH yang dibutuhkan. Setelah itu, dilakukan perhitungan jumlah mg KOH yang digunakan untuk menetralkan asam lemak bebas dalam 1 g sampel minyak.

$$\text{Bilangan asam} = \frac{Vs \times N \times 56,107}{G}$$

Di mana:

V_s = jumlah mL KOH yang dibutuhkan untuk mentitrasi sampel

N = normalitas larutan KOH

G = berat sampel

56,107 = berat ekivalen KOH

4.3.3.4 Penentuan Bilangan Peroksida

a. Pembuatan KI Jenuh

Dilarutkan kristal kalium iodida (KI) ke dalam akuades sampai terbentuk endapan atau sampai tidak larut.

b. Pembuatan Larutan Standar $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N dalam 1000 mL

Ditimbang kristal $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 2,48 g dan dilarutkan dengan sedikit akuades di dalam gelas beker, setelah larut dipindahkan ke labu ukur 1 L dan ditera dengan akuades.

c. Pembuatan Larutan KIO_3 0,01 N dalam 100 mL

Ditimbang kristal KIO_3 sebanyak 0,0356 g dan dilarutkan dengan sedikit akuades di dalam gelas beker, setelah larut dipindahkan ke labu ukur 100 mL dan ditera dengan akuades.

d. Pembuatan Larutan KI 5%

Ditimbang kristal KI sebanyak 5 g dan dilarutkan dengan sedikit akuades di dalam gelas beker, setelah larut dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditera dengan akuades.

e. Pembuatan Indikator Amilum 1%

Ditimbang serbuk amilum sebanyak 1 g dan dimasukkan ke dalam gelas beker berisi akuades 100 mL, lalu dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk. Sebelum digunakan, larutan didinginkan dahulu dan larutan ini dibuat sesaat sebelum titrasi untuk mencegah rusaknya larutan.

f. Pembuatan Larutan H_2SO_4 2N dalam 100 mL

Dimasukkan akuades ke dalam labu ukur 100 mL sebanyak 50 mL kemudian dimasukkan H_2SO_4 pekat sebanyak 5,6 mL, lalu ditera dengan akuades dan dihomogenkan.

g. Pengujian Bilangan Peroksida

Ditimbang minyak sebanyak 1 g dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 100 mL, ditambahkan kloroform sebanyak 2 mL dan dikocok dengan kuat, ditambahkan asam asetat glasial 3 mL dan 0,2 mL larutan KI jenuh, segera ditutup Erlenmeyer dan dikocok selama 5 menit di tempat gelap. Setelah itu ditambah 15 mL air suling dan dikocok dengan kuat, kemudian larutan dititrasi dengan

Na₂S₂O₃ yang telah distandarisasi, ditambahkan indikator amilum 1%. Hal yang sama dilakukan pada blanko, kemudian dihitung bilangan peroksida. Hasil yang didapat dinyatakan dalam meq O₂/kg sampel.

$$\text{Bilangan peroksida} = \frac{(Vs - Vb) \times N \times 1000}{G}$$

Di mana:

- Vb = jumlah mL tiosulfat yang dibutuhkan untuk titrasi blanko
- Vs = jumlah mL tiosulfat yang dibutuhkan untuk titrasi sampel
- N = normalitas larutan tiosulfat
- G = berat sampel minyak

4.3.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

a. Pembuatan Larutan Stok Minyak 1000 ppm dalam 10 mL

Ditimbang minyak sebanyak 0,01 gram, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, dan dilarutkan dengan etanol pa sampai batas tera.

b. Pembuatan Larutan Konsentrasi 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm dalam 10 mL

Disiapkan lima buah labu ukur 10 mL, masing-masing labu ukur diisi dengan minyak biji alpukat 1000 ppm sebanyak 0,5; 1; 1,5; 2; dan 2,5 mL, kemudian semua minyak pada kelima labu ukur dilarutkan dengan etanol pa dengan ditambahkan sampai batas tera.

c. Pembuatan Larutan DPPH konsentrasi 0,08 mM dalam 25 mL

Ditimbang serbuk DPPH sebanyak 0,0007 gram, dilarutkan dengan etanol pa, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambah etanol pa sampai batas tera.

d. Pembuatan Larutan Uji

Disiapkan vial kecil sebanyak lima buah, masing-masing vial diisi dengan larutan 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm sebanyak 2,5 mL,

ditambah larutan DPPH sebanyak 2,5 mL, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Konsentrasi akhir larutan sampel terlampir.

e. Pembuatan Larutan DPPH Kontrol

Dimasukkan etanol pa sebanyak 2,5 mL ke dalam vial dan ditambahkan larutan DPPH 2,5 mL, lalu diinkubasi selama 30 menit.

f. Pembuatan Larutan Blanko

Disiapkan etanol pa sebanyak 10 mL dan dipastikan disimpan di tempat yang tertutup rapat agar tidak menguap.

g. Pembuatan Larutan Pembanding

Ditimbang minyak *Extra Virgin Olive Oil* 99% sebanyak 0,01 gram, kemudian dibuat variasi konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm dengan pelarut etanol p.a dalam 10 mL. Kemudian diambil larutan pembanding sebanyak 2,5 mL dan ditambahkan larutan DPPH sebanyak 2,5 mL, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Konsentrasi akhir larutan pembanding terlampir.

h. Pengukuran Absorbansi Larutan Uji dan Pembanding

Larutan uji dan pembanding diukur absorbansinya dengan spektrofotometer uv-vis *double beam* pada panjang gelombang 517 nm.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan perbandingan teknik Soxhlet dengan *Microwave Assisted Ecxtraction* (MAE) dalam mendapatkan minyak biji alpukat. Aktivitas antioksidan minyak yang diperoleh diukur menggunakan metode DPPH. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui teknik yang lebih efektif dalam mendapatkan minyak biji alpukat.

Alpukat adalah buah yang banyak terdapat di daerah tropis, salah satunya Indonesia. Banyak orang memanfaatkan dagingnya untuk dijadikan jus atau olahan lainnya, tetapi kulit dan bijinya sering dibuang sehingga tidak dimanfaatkan dengan baik, padahal bijinya memiliki beberapa manfaat, antara lain sebagai obat sakit gigi, maag kronis, dan hipertensi (Widyanti, 2007). Kandungan dari biji alpukat adalah 65% daging buah (mesokarp), 20% biji (endocarp), dan 15% kulit buah (perikarp). Selain itu juga biji alpukat mengandung minyak sebanyak 15-20% (Prasetyowati, 2010), minyak biji alpukat memiliki fungsi sebagai antioksidan, anti inflamasi, dan anti kanker karena tingginya persentase hidrokarbon, sterol, dan asam lemak tidak jenuh (Alkhalf, 2018). Kandungan minyak yang berada pada biji alpukat hampir sama dengan kedelai sehingga menjadikannya sebagai salah satu sumber minyak nabati (Bambang, 2008).

Pada penelitian ini digunakan alpukat jenis mentega (*Porsea americana Mill*) yang didapatkan dari penjual jus buah Jalan Kaliurang KM 13, Sleman, Yogyakarta. *Porsea amaricana Mill* beratnya sekitar 0,3 kilogram per buah. Bentuknya bulat, buah muda berwarna hijau tua, sedangkan buah tua berwarna hijau tetapi warnanya lebih muda, dan agak kusam daripada buah yang muda. Kulitnya agak kasar, daging buah tebal dan berwarna kehijauan atau kuning seperti mentega, sehingga lebih dikenal sebagai alpukat mentega.

Minyak biji alpukat dapat dihasilkan dengan berbagai cara, salah satunya dengan ekstraksi pelarut. Ekstraksi pelarut adalah pemisahan komponen yang diinginkan dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi pelarut biasa digunakan untuk mendapatkan minyak biji alpukat karena lebih sederhana dan

pelarut yang dibutuhkan sedikit. Pada penelitian kali ini, digunakan teknik Soxhlet dan MAE dengan pelarut n-heksan.

Sebelum ekstraksi, dilakukan preparasi biji alpukat terlebih dahulu. Preparasi biji alpukat dilakukan untuk memperluas permukaan agar lebih mudah terekstrak. Tahapan preparasi antara lain: pengupasan kulit ari, pencucian, pemotongan, pengeringan, penghancuran biji dengan *blender*, dan pengayakan dengan ayakan 150 mesh.

Pada ekstraksi Soxhlet, bahan dibungkus dengan kertas saring yang diikat dengan benang, kemudian dimasukkan ke dalam rangkaian alat Soxhlet. Ekstraksi menggunakan pelarut n-heksan sebanyak 200 mL selama dua jam dengan suhu 60-70⁰C. Setelah dua jam, didapatkan ekstrak biji alpukat yang masih tercampur dengan pelarut. Untuk memisahkan ekstrak biji alpukat dari pelarutnya, dilakukan pemisahan dengan penguapan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Alat tersebut berprinsip pada titik didih pelarut. Adanya tekanan membuat uap pelarut terkumpul di atas, sedangkan kondensator (suhu dingin) membuat uap mengembun dan jatuh ke lubang penerima (*receiver flask*). Ekstrak dalam bentuk padatan atau cairan akan dihasilkan setelah penguapan larutan dilakukan (Nugroho, *et al.*, 1999). Minyak yang didapat dengan teknik ini bervolume 2,1 mL, bermassa 1,44 g, dan memiliki rendemen sebesar 2,88%. Setelah didapatkan minyak dari proses ini, dilanjutkan dengan perolehan minyak biji alpukat menggunakan teknik MAE.

Pada ekstraksi MAE, digunakan massa bahan sebanyak 50 gram dengan volume pelarut n-heksan sebanyak 200 mL. Ekstraksi dilakukan pada daya 100 watt selama delapan menit dengan perlakuan pengadukan setiap dua menit. Pengadukan dilakukan bertujuan agar terjadi kontak yang lebih sering antara sampel dan pelarut. Semakin banyak pengadukan, maka semakin banyak desakan antara pelarut dengan sel sehingga semakin banyak senyawa organik yang terlarut. Ekstraksi fase cair berprinsip pada perbedaan kemampuan energi *microwave* dalam menyerap senyawa yang terdapat dalam bahan tanaman. Pada teknik MAE, proses pemanasan terjadi dengan target yang spesifik dan cara yang spesifik, dengan begitu tidak ada panas yang keluar ke lingkungan karena pemanasan terjadi dalam sistem tertutup.

Ekstraksi MAE adalah ekstraksi yang memanfaatkan energi gelombang mikro di mana energi ini akan menghasilkan panas sehingga suhu meningkat. Pemanasan akibat gelombang mikro menyebabkan dinding sel hancur dan membuat senyawa target terekstrak keluar untuk kemudian berdifusi ke pelarut. Semakin lama waktu ekstraksi, pemanasan akan semakin lama pula sehingga suhu meningkat dan menyebabkan sel-sel pada sampel terdegradasi oleh panas tersebut (Mandal, 2007). Pada metode ini, didapatkan hasil minyak biji alpukat dengan volume sebesar 2,35 mL, massa sebanyak 2,284 g, dan rendemen sebesar 4,56%.

Tabel 2. Perbandingan hasil rendemen dari kedua teknik

Teknik	Massa bahan	pelarut	waktu	Massa minyak	Volume minyak	Rendemen
MAE	50 gram	n-heksan	8 menit	2,28 g	2,35 mL	4,56%
Soxhlet	50 gram	n-heksan	2 jam	1,44 g	2,10 mL	2,88%

Setelah didapatkan minyak biji alpukat, dilakukan uji fisika dan kimia untuk memastikan hasil yang didapat adalah benar minyak biji alpukat. Selain itu, untuk mengetahui keadaan fisik dan kimia dari minyak yang didapat. Uji fisika yang dilakukan adalah bau, warna, indeks bias, dan densitas, sedangkan uji kimia yang dilakukan adalah uji bilangan asam dan uji bilangan peroksida.

Uji Indeks Bias

Untuk pengujian indeks bias, dilakukan dengan instrumen ABBE refraktometer. Sebelum pengujian, dibersihkan tempat peletakan sampel dengan tisu beralkohol agar steril. Kemudian sampel minyak diteteskan pada tempat peletakan sampel sebanyak satu tetes. Alat disesuaikan, lalu dilakukan pembacaan pada skala yang muncul. Hasil pengujian indeks bias untuk minyak biji alpukat menggunakan teknik Soxhlet dan MAE berturut-turut adalah 1,4759 dan 1,4577.

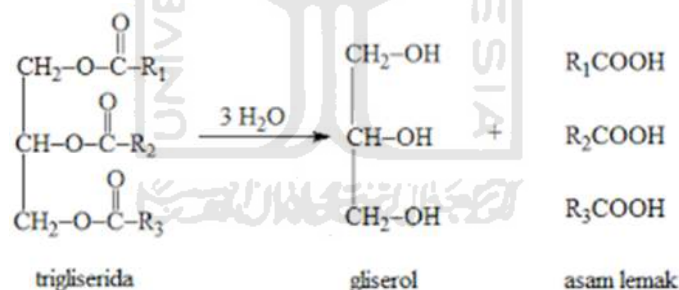
Uji Densitas

Pengujian densitas bertujuan untuk mengetahui berat jenis sampel. Metode ini berdasarkan pada penentuan massa cairan dan ruang yang ditempati cairan.

Wadah yang digunakan pada metode ini disebut piknometer (Ahmad, *et al.*, 2014). Nilai densitas untuk minyak biji alpukat menggunakan teknik Soxhlet dan MAE masing-masing adalah 0,831 g/mL dan 0,730 g/mL.

Uji Bilangan Asam

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui jumlah miligram KOH atau basa lain yang dibutuhkan untuk menetralkan asam lemak. Pengujian ini berfungsi sebagai penentu kualitas minyak dengan melihat banyaknya asam lemak bebas yang terdapat pada minyak akibat reaksi hidrolisis. Makin tinggi angka bilangan asam, makin buruk kualitas minyak. Pada pengujian ini, sampel ditambahkan beberapa tetes indikator fenolftalein (pp) yang berfungsi sebagai indikator terjadinya titik akhir titrasi dengan tanda berubahnya warna indikator menjadi merah muda. Titik akhir adalah berhentinya proses titrasi karena suasana telah menjadi netral dengan tanda berubahnya warna indikator. Reaksi yang terjadi pada uji ini adalah

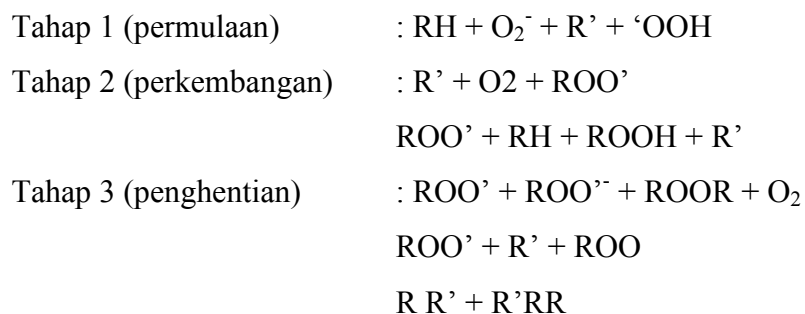


Gambar 5.1. Reaksi Hidrolisis Minyak/Lemak

Pada penelitian ini didapatkan hasil bilangan asam minyak biji alpukat menggunakan teknik Soxhlet dan MAE masing-masing sebesar 3,46 mg KOH/g dan 3,12 mg KOH/g. Hal ini menandakan pada teknik MAE dibutuhkan 3,12 mg KOH untuk menetralkan asam lemak bebas dalam 1 g minyak, dan pada teknik Soxhlet dibutuhkan 3,46 mg KOH untuk menetralkan asam lemak bebas pada 1 g minyak. Apabila dibandingkan dengan nilai bilangan asam minyak biji alpukat pada penelitian-penelitian sebelumnya, nilai bilangan asam pada penelitian ini tidak berbeda jauh sehingga dapat dikatakan minyak pada penelitian ini masih terbilang bagus.

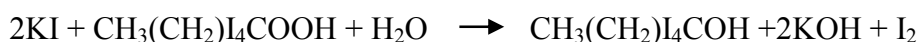
Uji Peroksida

Tujuan pengujian ini adalah untuk mengetahui bilangan peroksida sebagai parameter kualitas minyak yang mengalami oksidasi. Asam lemak tidak jenuh akan mudah mengalami oksidasi dan membentuk senyawa peroksida. Iodometri adalah cara untuk menentukan jumlah senyawa peroksida, di mana kalium iodida (KI) akan mengoksidasi senyawa dalam minyak dan natrium tiosulfat (Na_2SO_3) akan menitrasi iod yang lepas. Bilangan peroksida adalah jumlah miligram ekuivalen peroksida yang terbentuk setiap 100 g minyak. Bilangan peroksida digunakan sebagai parameter ketengikan minyak karena peroksida merupakan hasil oksidasi lemak. Terbentuknya peroksida adalah saat asam lemak tak jenuh mengikat oksigen yang terdapat pada ikatan rangkapnya dan menghasilkan aldehid yang memberikan bau tengik pada minyak. Inisiasi oksidasi merupakan tahapan saat peroksida terbentuk di mana senyawa olefin mengambil hidrogen dan menghasilkan radikal bebas. Lalu radikal bebas bereaksi dengan oksigen untuk menghasilkan radikal peroksi. Kemudian diambil hidrogen pada molekul tak jenuh lain untuk menghasilkan radikal bebas yang baru dan peroksida (Deman, 1999; Ericson, 2002). Penentuan derajat ketidakjenuhan pada uji ini berprinsip bahwa iodium dapat bereaksi dengan ikatan rangkap yang terdapat pada asam lemak. Reaksi adisi berlangsung di setiap molekul iodium pada suatu ikatan rangkap. Maka dari itu, semakin banyak ikatan rangkap, semakin banyak iodium yang bereaksi. Minyak yang mengandung peroksida ditandai dengan adanya pembebasan iodin. Indikator dalam pengujian ini adalah amilum di mana apabila sampel positif mengandung iodin, akan terbentuk warna biru hingga hitam. Reaksi oksidasi terjadi apabila sejumlah oksigen kontak dengan minyak/ lemak. Reaksi ini mengalami tiga tahap. Pada tahap 1 (permulaan) berlangsung pemisahan hidrogen dari lemak tidak jenuh dan reaksi pembentukan radikal bebas. Pada tahap 2 (perkembangan) terjadi reaksi antara radikal bebas (hasil tahap 1) dengan senyawa organik dan oksigen. Pada tahap 3 (penghentian) terjadi pembentukan senyawa yang tidak lagi adalah radikal bebas.



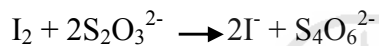
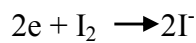
RH pada persamaan di atas merupakan senyawa organik, yaitu asam lemak tidak jenuh. Lokasi H yang berada pada atom karbon dekat ikatan rangkap membuatnya bersifat labil. Pembentukan aldehid, keton, alkohol, dan ester merupakan produk lain dari oksidasi lemak. Senyawa-senyawa tersebut yang akan memberikan rasa tidak enak dan bau tengik.

Sampel pada pengujian ini dilarutkan dengan campuran asam asetat glasial, kloroform, dan alkohol. Campuran tersebut bertujuan untuk mengoksidasi minyak golongan asam lemak tidak jenuh di mana ia mudah teroksidasi dan mengikat oksigen pada ikatan rangkapnya sehingga membentuk senyawa peroksida. Penambahan KI jenuh dilakukan pada minyak yang sudah larut dan dididihkan pada tempat gelap. Penambahan ini bertujuan untuk mendekomposisi senyawa lemak. Minyak yang mengandung peroksida akan terdeteksi oleh indikator amilum dan bereaksi dengan kalium iodida. Kemudian terbentuk iodium yang berwarna biru. Pemanasan di tempat gelap adalah agar tidak terjadi proses oksidasi lebih lanjut karena oksidasi oleh cahaya dapat membuat bahan semakin tengik sehingga bilangan peroksida berubah. Seperti yang tercantum pada (Herschdoerfer, 1986), hal yang harus diperhatikan dalam uji bilangan peroksida adalah menjaga sampel jauh dari cahaya, selalu dalam keadaan dingin, dan di tempat yang seluruhnya dari gelas dengan penutup kedap udara.



Pengukuran peroksida dilakukan berdasarkan kemampuannya dalam melepaskan iodin dari kalium iodida atau dalam mengoksidasi ion fero menjadi feri. Satuan bilangan peroksida adalah miliekuivalen oksigen per kg lemak, yaitu

banyaknya oksigen yang diserap atau peroksida yang menimbulkan ketengikan dari beberapa macam komposisi minyak (Fennema, 1985). Setelah mendidih, akuades dan amilum ditambahkan hingga berwarna biru atau keunguan. Apabila sudah berubah warna ungu, titrasi dengan natrium tiosulfat segera dilakukan hingga berubah warna. Perlakuan yang sama dilakukan pada blanko dan sampel. Perubahan warna pada titrasi menandakan jumlah iodine dalam minyak. Sehingga I₂ yang terbentuk dari penambahan KI sebelumnya akan bereaksi dengan Na₂S₂O₃.



Warna biru yang terbentuk akibat ikatan larutan pati dengan iodine akan hilang karena iodine bereaksi dengan natrium tiosulfat.

Pada penelitian ini didapatkan nilai bilangan peroksida pada teknik Soxhlet dan MAE masing-masing sebesar 17,40 meqO₂/kg dan 20,45 meqO₂/kg. Menurut (Vargazet *al.*, 2017) nilai bilangan peroksida dapat berbeda-beda tergantung pada banyak faktor, antara lain varietas biji dan perlakuan saat penanaman.

Tabel 3. Karakterisasi hasil penelitian dengan penelitian sebelumnya

Parameter	Penelitian Sebelumnya	Teknik	
		MAE	Soxhlet
Bau	Bau khas minyak biji alpukat (Nadya <i>et al.</i> , 2019).	Bau khas minyak biji alpukat	Bau khas minyak biji alpukat
Warna	Kuning kecoklatan (Achmad dan Sugiarto, 2020).	Oranye kecoklatan	Oranye kecoklatan
Bilangan Asam	2,06 - 3,39 mg KOH/g (Wulansari dan Indriani., 2012; Sanches, B., 2019)	3,12 mg KOH/g	3,46 mg KOH/g
Bilangan Peroksida	20,58 meq O ₂ /kg (Salgado <i>et al.</i> , 2008)	20,45 meq O ₂ /kg	17,40 meq O ₂ /kg
Indeks Bias	1,47 (Sánchez and Menacho., 2020)	1,4577	1,4759
Densitas	0,71 - 0,81 g/mL (Risyyad <i>et al.</i> , 2016; Widyawati <i>et al.</i> , 2020)	0,73 g/mL	0,83 g/mL

Dari Tabel 3 di atas, semua parameter hasil penelitian tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya, sehingga hasil penelitian dapat dikatakan benar minyak biji alpukat. Selain itu, dari penjelasan di atas dapat disimpulkan bahwa teknik MAE lebih efisien dalam menghasilkan minyak biji alpukat, hal ini dikarenakan dengan waktu yang singkat, teknik MAE dapat menghasilkan minyak lebih banyak karena adanya panas pada *microwave* yang membuat biji alpukat dapat terekstrak lebih banyak dibandingkan dengan teknik Soxhlet. Temperatur dan power merupakan variabel yang berpengaruh pada metode ini, seperti pada penelitian (Segovia *et al.*, 2016) dikatakan bahwa temperatur dan power mempengaruhi kapasitas antioksidan yang tinggi. Selain itu, rendemen yang didapatkan lebih tinggi dibandingkan rendemen yang dihasilkan oleh teknik Soxhlet, sehingga minyak biji alpukat teknik MAE dapat dikatakan lebih murni dibandingkan dengan teknik Soxhlet. Akan tetapi pada teknik MAE, dihasilkan bilangan peroksida yang lebih tinggi yang menandakan kualitas minyak lebih buruk dibandingkan minyak biji alpukat dari teknik Soxhlet, hal ini dikarenakan panas yang menurunkan kualitas minyak akibat reaksi oksidasi. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Reddy *et al.*, 2013) di mana persentase

rendemen minyak alpukat menggunakan teknik *microwave* paling tinggi dibandingkan dengan teknik yang lain, selain itu dikatakan pula oleh (Rafael *et al.*, 2020) bahwa teknik MAE merupakan teknik yang efektif dalam mengekstraksi polifenol bioaktif dari biji alpukat.

Kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan kepada kedua sampel. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH dengan mengetahui nilai IC_{50} pada sampel. Salah satu contoh pengujian antioksidan pada alpukat menggunakan metode DPPH adalah pada penelitian yang dilakukan oleh (Villa *et al.*, 2011) di mana dikatakan bahwa ekstrak lifofilik memiliki kapasitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak hidrofilik. Menurut data sekunder yang dimiliki (Putri, 2017), senyawa kimia yang terkandung dalam minyak biji alpukat yang bersifat antioksidan antara lain asam linoleat, asam palmitat, asam oleat, asam stearat, asam palmitoleat, dan asam behenat di mana asam linoleat berperan sebagai asam lemak tidak jenuh yang dominan sebanyak 25,68% (Tampubolon, 2017). Antioksidan dalam pengertian kimia merupakan senyawa pemberi elektron. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa terhambat. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Winarsi, 2007). Salah satu metode yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH dan membentuk DPPH tereduksi. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang (Rohman *et al.*, 2010).

Aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat ditentukan dari kemampuannya dalam menangkap radikal bebas. Radikal bebas yang umum digunakan pada pengukuran daya penangkapan radikal bebas adalah DPPH di mana ia merupakan senyawa radikal bebas yang stabil, dan apabila digunakan sebagai pereaksi pada

uji penangkapan radikal bebas, hanya dilarutkan saja. Untuk penyimpanan dalam keadaan kering dan kondisi yang baik, DPPH akan stabil selama bertahun-tahun (Amelia, 2011).

Metode DPPH merupakan metode yang umum digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan dari berbagai tanaman. Metode ini berdasarkan pada reduksi DPPH oleh penghambat radikal bebas. Metode ini memerhatikan pengukuran penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimalnya yang sebanding terhadap konsentrasi penghambat radikal bebas. Peristiwa ini disebut sebagai konsentrasi efektif (*effective concentration*) [EC₅₀] atau *inhibitory concentration* (IC₅₀) (Amelia, 2011).

Metode DPPH adalah metode yang sering dipakai dalam pengujian aktivitas antioksidan karena sederhana, mudah, memerlukan sedikit sampel, dan stabil dibandingkan dengan metode yang lain. Senyawa antioksidan menghambat radikal dengan mendonorkan atom hidrogen pada radikal saat senyawa antioksidan yang berada di dalam minyak biji alpukat bereaksi dengan DPPH. DPPH memiliki banyak ikatan rangkap terkonjugasi sehingga ia berwarna, dan pembacaan absorbansi dapat dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Setelah dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH, didapatkan serapan tertinggi pada 517 nm. Labu ukur yang digunakan sebagai wadah larutan DPPH dilapisi *aluminium foil* dan dipastikan larutan DPPH disimpan di tempat gelap untuk mencegah rusaknya larutan karena cahaya. Larutan DPPH berkonsentrasi 0,08 mM digunakan dalam pengujian. Sebelum dilakukan pengukuran, larutan diinkubasi selama 30 menit agar DPPH bereaksi dengan sampel. Berkurangnya intensitas warna ungu dari larutan DPPH dan berkurangnya nilai absorbansi setelah sampel bereaksi dengan DPPH menandakan peredaman aktivitas radikal bebas. Semakin rendah konsentrasi sampel, semakin kecil perubahan intensitas warna dan penurunan absorbansinya.

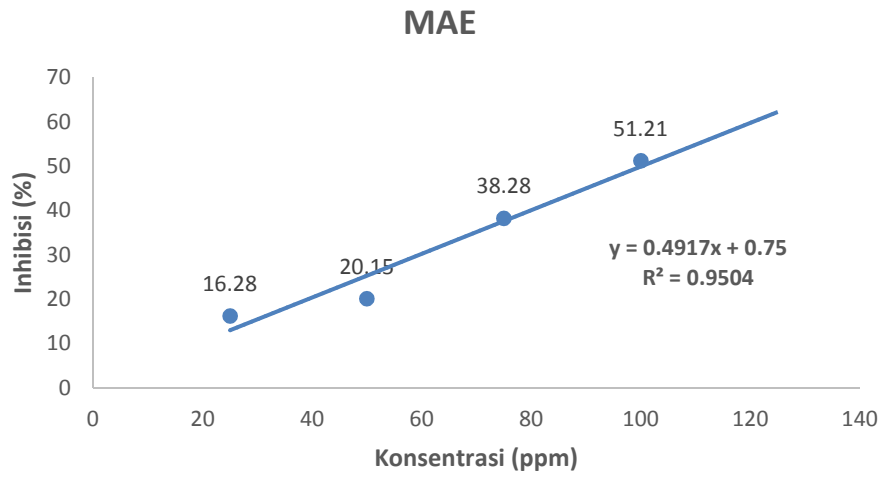
Larutan kontrol DPPH diuji pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm sebagai absorbansi kontrol dalam pengujian ini. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37⁰C. Untuk mengetahui aktivitas dari penangkal radikal bebas tersebut, diuji pada spektrofotometer. Berubahnya

warna ungu menjadi warna kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Diukur absorbansi pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm setelah diinkubasi selama 30 menit, berubahnya warna menjadi kuning menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas diuji dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

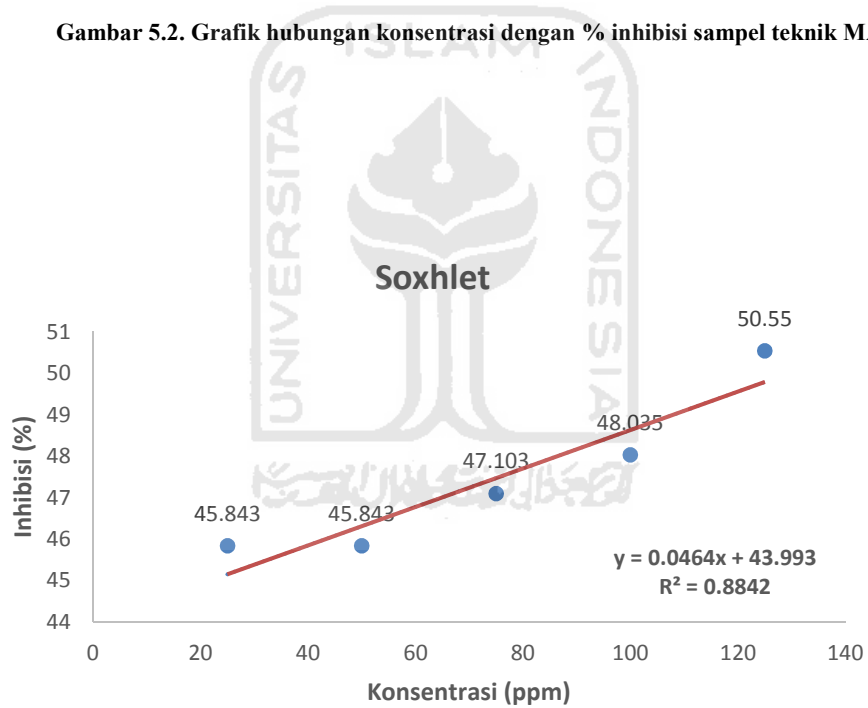
Kemudian diamati perbandingan dengan minyak Extra Virgin Olive Olive (EVOO) 99% sebagai standar. Aktivitas penangkapan radikal bebas (persen inhibisi) dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

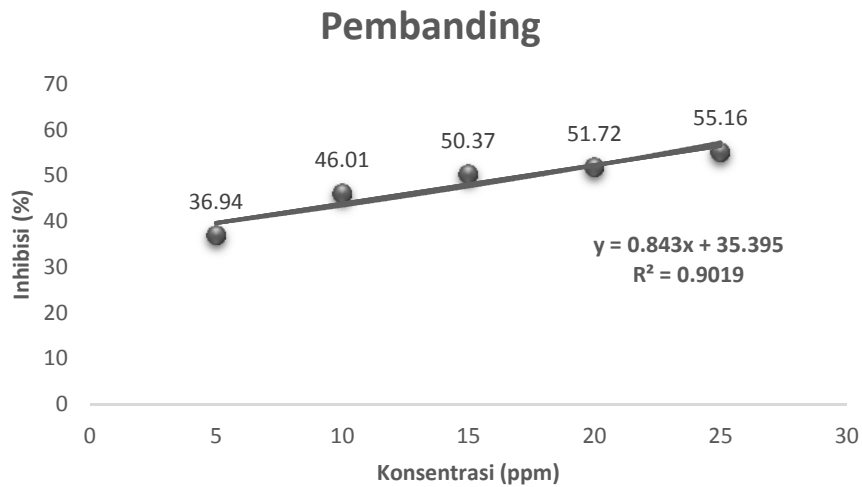
Pada pengujian ini digunakan Extra Virgin Olive Oil 99% sebagai pembanding karena EVOO memiliki antioksidan yang tinggi dengan matriks yang mirip dengan biji alpukat, salah satunya sama-sama mengandung banyak asam oleic, sehingga minyak biji alpukat dapat dijadikan sebagai pengganti minyak zaitun (Tan *et al.*, 2018). Dikatakan juga oleh (Corzziniet *al.*, 2016) bahwa minyak biji alpukat mirip dengan minyak zaitun karena dapat digunakan sebagai bahan makanan karena mengandung banyak vitamin, fitosterol, dan asam lemak tidak jenuh. Di bawah ini adalah grafik yang menunjukkan hubungan konsentrasi sampel dengan persen inhibisi radikal bebas :



Gambar 5.2. Grafik hubungan konsentrasi dengan % inhibisi sampel teknik MAE



Gambar 5.3. Grafik hubungan konsentrasi dengan % inhibisi sampel teknik Soxhlet



Gambar 5.4. Grafik hubungan konsentrasi dengan % inhibisi pemanding EVOO 99%

Dari Gambar 5.2, 5.3, dan 5.4 di atas dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi, semakin tinggi pula persen inhibisinya, hal itu sesuai dengan teori di mana semakin besar konsentrasi ekstrak sampel maka absorbansi sampel menurun dan nilai persen (%) inhibisi menjadi naik. Absorbansi sampel menurun karena elektron pada sampel dilepaskan untuk berikatan dengan elektron pada radikal DPPH sehingga menjadi berpasangan dengan elektron dalam sampel tersebut.

Persamaan regresi antioksidan dengan teknik Soxhlet dan MAE berturut-turut adalah $y = 0,046x + 43,99$ dengan $r^2 = 0,884$ dan IC_{50} sebesar 130,65 ppm, serta $y = 0,491x + 0,75$ dengan nilai $r^2 = 0,950$ dan IC_{50} sebesar 100,30 ppm. Lalu persamaan regresi antioksidan pemanding Extra Virgin Olive Oil 99% adalah $y = 0,843x + 35,39$ dengan $r^2 = 0,901$ dan IC_{50} sebesar 17,33 ppm. Kategori antioksidan dari sampel yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kategori Antioksidan Pada Sampel dan Pembanding

No	Sampel	IC ₅₀ (ppm)	Daya Antioksidan (Jun M, <i>et al.</i> , 2006)
1.	Minyak Biji Alpukat Teknik MAE	100,30	Sedang (IC ₅₀ 100-250 ppm)
2.	Minyak Biji Alpukat Teknik Soxhlet	130,65	Lemah (IC ₅₀ 250-500 ppm)
3.	Pembanding EVOO 99%	17,33	Sangat kuat (IC ₅₀ < 50 ppm)

Dapat dilihat pada Tabel 4 bahwa minyak biji alpukat teknik MAE dan Soxhlet masuk ke dalam kategori minyak yang memiliki aktivitas antioksidan sedang tetapi pada teknik MAE, aktivitas antioksidannya lebih kuat dibandingkan dengan teknik Soxhlet, sedangkan untuk pembanding EVOO 99% masuk ke dalam kategori minyak dengan aktivitas antioksidan sangat kuat, hal ini didasarkan pada teori di mana apabila nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) suatu senyawa kurang dari 50 ppm, maka dikatakan sangat kuat, antara 50-100 ppm dikatakan kuat, antara 100-250 ppm dikatakan sedang, antara 250-500 ppm dikatakan lemah, dan apabila nilai IC₅₀ lebih dari 500 ppm, antioksidan dikatakan tidak aktif (Jun M, *et al.*, 2006).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan ekstraksi minyak biji alpukat teknik MAE lebih efektif daripada teknik Soxhlet dengan rendemen 4,56%. Aktivitas antioksidan minyak biji alpukat teknik MAE lebih kuat dibandingkan teknik Soxhlet. Keunggulan teknik MAE: hasil rendemen lebih besar, waktu ekstraksi lebih cepat, dan aktivitas antioksidan lebih kuat. Sehingga teknik ekstraksi MAE direkomendasikan untuk mendapatkan minyak biji alpukat.



DAFTAR PUSTAKA

- Abral dan Asmaul Husna, 2014, Perbedaan Khasiat Antara Biji Alpukat dan Bunga Cengkeh dalam Menghilangkan Sakit Gigi (*Hypereamipulpa*) pada Masyarakat yang Berkunjung di Puskesmas, *Jurnal Vokasi No 1*.
- Achmad, Z., Sugiarto, B., 2020, Ekstraksi Antosianin dari Biji Alpukat sebagai Pewarna Alami, *Jurnal Teknologi Technoscientia*, Vol. 12 No. 2.
- Agoes, G., 2007, *Teknologi Bahan Alam*, ITB Press, Bandung.
- Ahmad, D., Putri, N.S., dan Purwa, G.R., 2014. Uji Kualitas Minyak Kelapa dengan Uji Coba Penggorengan, *Jurnal Program Studi Teknologi Agroindustri Fakultas Pendidikan Teknik dan Kejuruan Universitas Pendidikan Indonesia*.
- Alkhalif, M.I., Alansari, W.S. E., Ibrahim, A., ELhalwagy, M.E.A., 2018, Anti-oxidant, Anti inflammatory and Anti-cancer Activities of Avocado (*Persea americana*) Fruit and Seed Extract, *Journal of KingSaud University – Science*, S1018-3647(18)31571-4.
- Amelia, P., 2011, Isolasi, Elusidasi Struktur dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Kimia dari Daun Garcinia benthani Pierre. *Tesis Universitas Indonesia* (online). 23 oktober 2012. 10:45
- Asngad, A., Subiakto, D.W., 2020, Potensi Ekstrak Biji Alpukat Sebagai *Hand Sanitizer* Alami: Literatur Review, *Bioeksperimen*, Volume 6 No. 2
- Aulia dan Widjanarko, 2018, Optimasi Proses Ekstraksi Daun Sirsak (*Annona muricata L*) Teknik MAE (*Microwave Assisted Extraction*) dengan Respon Aktivitas Antioksidan dan Total Fenol, *Jurnal Agroindustri*, Volume 4 Nomor 1, 2442-3548.
- Bambang, P., Septian, A., Wawan, R., 2008, Ekstraksi Kontinyu dengan Simulasi Batch Tiga Tahap Aliran Lawan Arah: Pengambilan Minyak Biji Alpukat Menggunakan Pelarut n-Hexane dan Iso Propil Alkohol, *Jurnal Reaktor*, Vol. 12 No. 1.
- Bandoniene, D., Murkovic, M., Pfannhauser, W., Venskutonis, P.R., dan Gruzdiene, D., 2002, Detection and Activity Evaluation of Radical Scavenging Compounds by Using DPPH Free Radical and Online HPLC-DPPH Methods, *Europe Food Research Technologies*, 214, 143-147.
- Calinescu, I., Ciuculescu, C., Popescu, M., Bajenaru, S., Epure, G., 2001, Microwaves Assisted Extraction of Active Principles from Vegetal Material, *Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering*, 12:1-6.
- Chandra, A., Ingrid, H.M., Verawati., 2013, Pengaruh pH dan Jenis Pelarut pada Perolehan dan Karakterisasi Pati dari Biji Alpukat, *Skripsi*, Universitas Katolik Parahyangan Bandung.
- Choi, I.L., Choi, S.J., Chun, J.K., Moon, T.W., 2006, Extraction Yield of Soluble Protein and Microstructure of Soybean Affected by Microwave Heating, *J. of Food Processing and Preservation*, 30, 4, 407-419.

- Corzzini, S.C.S., Barros, H.D.F.Q., Grimaldi, R., Cabral, F.A., 2016, Extraction of edible avocado oil using supercritical CO₂ and a CO₂/ethanol mixture as solvents, *Journal of Food Engineering*, S0260-8774(16)30309-0.
- deMan, M.J., 1999, *Principles of Food Chemistry*, Third Edition, Aspen Publisher, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Durđevića, S., Milovanović, S., Šavikinb, K., Ristićb, M., Menkovićb, N., Pljevljakušićb, D., Petrovića, S., Bogdanović, A., 2017, Improvement of supercritical CO₂ and n-hexane extraction of wild growing pomegranate seed oil by microwave pretreatment, *Industrial Crops & Product*, 104, 21-27.
- Ericson, M.C., 2002 Lipid Oxidation of Muscle Foods dalam Akoh.C.C., and Min.B.D. 2002. Food Lipid: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology. 2nd Ed. Marcel Dekker Inc. New York-Basel.
- Fennema, R., 1985, *Food Chemistry Second Edition*, Revised and Expanded, Academic Press, New York.
- Gatbonton, G.L., De Jesus, A.P.P., Lorenzo, K.M.L., danUy, M.M., 2013, Soxhlet Extraction Of Philippine Avocado Fruit Pulp Variety 240, *De La Salle University Manila*, FNH-II-013.
- Gazi, M.R., Kanda, K., Yasuda, M., dan Kato, F., 2004, Optimisation of Cultural Conditions and Some Properties of Radical Scavenging Substances from *SporobolomycesSalmonicolor*, *Pakistan Journal of Biological Sciene*, 7, 1365-1370.
- Gurav, S., Deshkar, N., Gulkari, V., Duragka, N., dan Patil, A., 2007, Free Radical Scavenging Activity of Polygala Chinensis Linn, *Pharmacology Line*, 2, 245-253.
- Halliwell, BandGutteridge, J.M.C., 2000, *Free Radical in Biology and Medicine*, Oxford University Press, NewYork.
- Harborne, JB., 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Bandung, Institut Teknologi Bandung.
- Hendra, S., Novizar, N., dan Diana, S., 2018, Ekstraksi dan Karakterisasi Minyak Alpukat (*PerseaAmericana Mill*), Solok, Sumatera Barat.
- Huang, D.J., 2005, The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays, *J Agric Food Chem*, 53:1841-1856.
- Iqbal, J., Theegala, C., 2013, Microwave Assisted Lipid Extraction from Microalgae using Biodiesel as Co Solvent, *Algal Research*, 2, 34-42.
- Isabel dan Mahfud., 2017, Ekstraksi Minyak Atsiri dari Gaharu (*Aquilaria Malaccensis*) dengan Menggunakan Metode *Microwave Hydrodistillation* dan *Soxhlet Extraction*, *Jurnal Teknik ITS Vol. 6 No. 2*.
- Jain, V., Tripti, J., Pandey, R., Vyas, A., Shukla, S.S., 2009, Microwave Assisted Extraction for Phytoconstituents – An Overview, *Asian J. Research Chem*, 2(1): 19-25.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., Vivanco, J.M., 2003, Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Iranian Ocimum Accessions, *Food Chemistry*, 83:547-550.
- Jun, M., Fu, H.Y., Hong, J., Wang, X., Yang, C.S.H.C., 2006, *Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (Pueraria lobate ohwi)*, pp. 2117–2122. Diakses pada: <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/387515>.

- Ketaren, S., 1986, *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Mandal, V., 2007. Microwave Assisted Extraction – An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research. *Pharmacognosy Reviews*. 1 (1). 7-18.
- Lopez, V.M.G., 2002, Fruit Characterization of High Oil Content Avocado Varieties, *Scientia Agricola*.
- Malangngi, L.P., Sangi, M.S., Paendong, J.J.E., 2012, Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.), *MIPA UNSRAT ONLINE* Manado 1, no 1, hlm 5-10.
- Molyneux, P., 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26, 211-219.
- Mukhriani, 2014, Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif, *Jurnal Kesehatan*, Vol VII No 2.
- Nugroho, B. W., Dadang, Prijono, D., 1999. “Pengembangan dan Pemanfaatan Insektisida Alami”. Pusat Kajian Pengendalian Hama Terpadu, IPB, Bogor.
- Pavlov, A., Kovatcheva, P., Georgiev, V., Koleva, I., dan Ilieva, M., 2002, Biosynthesis and Radical Scavenging Activity of Betalains during the Cultivation of Red Beet (*Beta vulgaris*) Hairy Root Cultures, *Z Naturforsch*, 57c, 640-644.
- Prasetyowati, Retno, P., Fera, T.O., 2010, Pengambilan minyak biji alpukat (*persea Americana* mill) dengan metode ekstraksi, *Jurnal Teknik Kimia*, 17,16 – 24.
- Putri, T.W., 2017, Ekstraksi Asam Lemak Chlorella sp dan Skeletonema costatum dengan Minyak Alpukat serta Aplikasinya sebagai Krim Anti Aging. *Skripsi*, Universitas Hasanuddin.
- Rafael, G., Rodriguez-Jasso, R.M., Ruiza, H.A., Govea-Salas, M., Pintadoc, M.E., Aguilera, C.N., 2020, Process optimization of microwave-assisted extraction of bioactive molecules from avocado seeds, *Industrial Crops & Products*, 154, 112623.
- Rahmi, RT., 2011, Uji Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dan Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Tiga Rimpang Genus Curcuma dan Rimpang Temu Kunci (*boesenbergiapandurata*), *Skripsi*, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Reddy, M., Moodley, R., and Jonnalagadda, S.B., 2013, Fatty acid profile and elemental content of avocado (*Persea americana* Mill.) oil –effect of extraction methods, *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 47, 529–537.
- Risyad, A., Permadani, R.L., Siswarni, M.Z., 2016, Ekstraksi Minyak Dari Biji Alpukat (*Persea americana* Mill) Menggunakan Pelarut N-Heptana, *Jurnal Teknik Kimia USU*, Vol. 5, No. 1.
- Rohman, A., Riyanto, S., Yuniarti, N., Saputra, W.R., Utami, R., Mulatsih, W., 2010, Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavonoid of Extracts and Fractions of Red Fruit (*Padanusconoideus* Lam). *International Food Research Journal*, 17, 97-106.

- Sanches, B., 2019, Kajian Karakteristik Minyak Biji Alpukat (*Persea Americana*) Asal Soe Kabupaten Timor Tengah Selatan sebagai Bahan Bakar Alternatif, *Skripsi*, Universitas Katolik Widya Mandira, Kupang.
- Sánchez, J.G., Menacho, L.M.P., 2020, Oxidative stability and shelf life of avocado oil extracted cold and hot using discard avocado (*Persea americana*), *Scientia Agropecuaria*, vol.11 no.1
- Salgado, Jocelem, Mastrodi, 2008, O óleo de abacate (*Persea americana* Mill) como matéria-prima para a indústria alimentícia, *Food Science and Technology*, 28:20-26.
- Sastrohamidjojo, 2001, *Spektroskopi*, Edisikedua, Liberty, Jogjakarta.
- Segovia, F.J., Corral-Pérez, J.J., Almajano, M.P., 2016, Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds, *Industrial Crops and Products*, 85, 213-220.
- Seidel V., 2006, *Natural Product Isolation*, 2nd ed, Humana Press Inc, New Jersey.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y.S.R., De, B., 2010, Free Radicals, Antioxidants, Disease and Phytochemistry: Current Status and Future Prospect, *Inter. J. Pharmaceu. Sci. Rev and Res.*, 3(1): 91-100.
- Shakinaz, A., Ahmed A, R., Shakinaz, T., 2010, Production of Biodiesel using Microwaves Technique, *J. Advanced Research*, 1, 309-314.
- Song, Y., Barlow, P. J., (2004), Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds, *Food Chemistry*, 88,411 – 417.
- Sudarmaji, S.B., Haryono, dan Suhardi, 1989, Analisa Bahan Makanan dan Pertanian, *Liberty dan Pusat Antar Fakultas Pangan dan Gizi UGM*, Yogyakarta.
- Sumiwi, 2011, Aktivitas Antioksidan dari Minyak Atsiri dan Ekstrak Etanol Kulit Batang Sintok (*Cinnamomum Sintoc* Bl.) terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH), *Jurnal Fakultas Farmasi UNPAD*, Bandung.
- Tampubolon, W.W., 2017, Analisa Komposisi Asam Lemak dari Biji Buah Alpukat (*Persea americana mill*) dengan Metode Analisa GC-MS Serta Uji Aktivitas Anti bakteri, *Skripsi*, Universitas Sumatera Utara.
- Tan, C.X., Chong, G.H., Hamzah, H., Ghazalia, H.M., 2018, Comparison of subcritical CO₂ and ultrasound-assisted aqueous methods with the conventional solvent method in the extraction of avocado oil, *The Journal of Supercritical Fluid*, 135, 45-51.
- Thitiphan, C., 2016, Microwave Assisted Extraction Of Avocado Oil From Avocado Skin And Encapsulation Using Spray Drying, *Trans Tech Publications*, Vol 737.
- Utomo, S., 2016, Pengaruh Konsentrasi Pelarut (N-Heksana) Terhadap Rendemen Hasil Ekstraksi Minyak Biji Alpukat Untuk Pembuatan Krim Pelembab Kulit, *JurnalKonversi Volume 5 No 1*.
- Vargas-Ortiz, M., Servent, A., Salgado-Cervantes, M., Pallet, D., 2017, Stability of the lipid fraction of avocado puree obtained by flash vacuum-expansion process, *Innovative Food Science and Emerging Technologie*, 41, 109-116.
- Villa-Rodríguez, J.A., Molina-Corral, F.J., Ayala-Zavala, J.F., Olivas, G.I., González-Aguilar, G.A., 2011, Effect of maturity stage on the content of

- fatty acids and antioxidant activity of 'Hass' avocado, *Food Research Internationa*, 44, 1231–1237.
- Widyanti, 2007, Aktivitas Antioksidan Tempe Lamtoro Gung Hasil Fermentasi *Rhizopusoligosporus*, *Jurnal Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Sebelas Maret*.
- Widyawati, Y., Mageswara, F.A., Permana, S.A., 2020, Optimasi Proses Sokletasi Menggunakan Metode Permukaan Respon dan Karakterisasi Minyak Biji Alpukat (*Persea Americana*), *Jurnal Teknologi* 7, 97-109.
- Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995, Use of A Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Lebensmitted-Wissenschaft und Technologie*, 28: 25-30.
- Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Kanisius, Yogyakarta.
- Wulansari, A., Indriani, E.P., 2012, Pembuatan Biodiesel dari Minyak Biji Alpukat (*Persea gratissima*) Menggunakan Katalis Heterogen Kalsium Oksida (CaO), *Skripsi*, Politeknik Negeri Bandung, Bandung.



LAMPIRAN-LAMPIRAN



Lampiran 1

Dokumentasi alat penelitian



Serangkaian alat Soxhlet



Microwave Electrolux



Timbangan Analitik Ohaus



Vacuum Evaporator Heidolph



UV-Vis double beam UH5300 Hitachi



Refraktometer Abbe



Ayakan 150 mesh



Tampah



Blender miyako

Lampiran 2

Dokumentasi preparasi bahan bubuk biji alpukat



Pengeringan biji alpukat



Hasil Pengayakan Biji Alpukat



Lampiran 3

Dokumentasi Ekstraksi Minyak Biji Alpukat Menggunakan Metode *Microwave*



الجامعة الإسلامية



Lampiran 4

Dokumentasi Ekstraksi Minyak Biji Alpukat Menggunakan Teknik Soxhlet



Lampiran 5

Dokumentasi Uji Fisika dan Uji Kimia



Uji Bilangan Asam



Uji Bilangan Peroksida



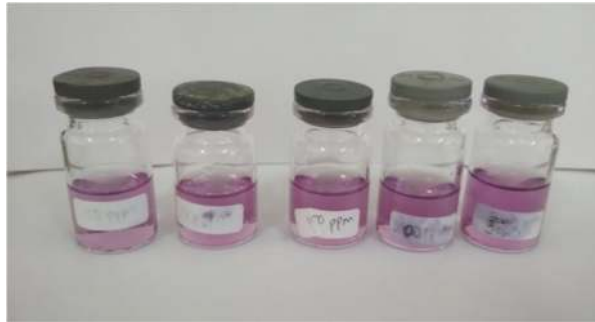
Uji Indeks Bias



Uji Densitas

Lampiran 6

Dokumentasi Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH



Hasil Uji DPPH pada sampel dengan teknik MAE



Hasil uji DPPH pada sampel dengan teknik Soxhlet



Hasil uji DPPH pada pembanding (Extra Virgin Olive Oil 99%)

Lampiran 7

Pembanding Extra Virgin Olive Oil 99%



Lampiran 8

Perhitungan berat jenis

- a. Berat jenis minyak biji alpukat (teknik MAE)

Diket: BJ air = 1 g/mL

Berat pikno kosong = 6,760 g

Berat pikno + air = 8,482 g

Berat pikno + minyak = 8,018 g

$$\begin{aligned} \text{BJ minyak biji alpukat} &= \frac{(\text{Berat pikno} + \text{minyak}) - \text{berat pikno kosong}}{(\text{berat pikno} + \text{air}) - \text{berat pikno kosong}} \times 1 \text{ g/mL} \\ &= \frac{8,018 \text{ g} - 6,760 \text{ g}}{8,482 \text{ g} - 6,760 \text{ g}} \times 1 \text{ g/mL} \\ &= 0,730 \text{ g/mL} \end{aligned}$$

- b. Berat jenis minyak biji alpukat (teknik Soxhlet)

Diket: BJ air = 1 g/mL

Berat pikno kosong = 6,760 g

Berat pikno + air = 8,482 g

Berat pikno + minyak = 8,191 g

$$\begin{aligned} \text{BJ minyak biji alpukat} &= \frac{(\text{Berat pikno} + \text{minyak}) - \text{berat pikno kosong}}{(\text{berat pikno} + \text{air}) - \text{berat pikno kosong}} \times 1 \text{ g/mL} \\ &= \frac{8,191 \text{ g} - 6,760 \text{ g}}{8,482 \text{ g} - 6,760 \text{ g}} \times 1 \text{ g/mL} \\ &= 0,831 \text{ g/mL} \end{aligned}$$

Lampiran 9

UJI BILANGAN ASAM (TEKNIK MAE)

1. Pembuatan larutan KOH 0,1 N dalam 50 mL

$$N=M$$

$$M = \frac{\text{massa}/Mr}{V}$$

$$\text{massa} = M \times V \times Mr$$

$$\text{massa} = 0,1 \text{ mol/L} \times 0,05 \text{ L} \times 56,1 \text{ g/mol}$$

$$\text{massa} = 0,2805 \text{ g}$$

2. Pembuatan larutan asam oksalat 0,1 N dalam 50mL

$$\text{Berat Molekul (BM) H}_2\text{C}_2\text{O}_4 = 126 \text{ g/mol}$$

$$\text{Berat Ekuivalen (BE) H}_2\text{C}_2\text{O}_4 = \frac{126 \text{ g/mol}}{2 \text{ (valensi)}} = 63 \text{ g/mol}$$

$$\text{massa} = M \times V \times Mr$$

$$\text{massa} = 0,1 \text{ mol/L} \times 63 \text{ g/mol} \times 0,05 \text{ L}$$

$$\text{massa} = 0,315 \text{ g}$$

3. Pembuatan indikator fenolftalein 1% 10 mL

$$\text{Massa serbuk fenolftalein yang dibutuhkan} = \frac{1}{100} \times 10 \text{ mL} = 0,1 \text{ g}$$

4. Standarisasi KOH dengan asam oksalat 5 mL

$$V_1 \text{titrasi KOH} = 5,9 \text{ mL}$$

$$V_2 \text{titrasi KOH} = 5,9 \text{ mL}$$

$$V_3 \text{titrasi KOH} = 6,1 \text{ mL}$$

$$\text{Volume rata-rata titrasi} = 5,96 \text{ mL}$$

5. Pencarian konsentrasi KOH

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$N \text{ KOH} = \frac{\text{Volume asam oksalat} \times N \text{ asam oksalat}}{\text{volume rata-rata titrasi KOH}}$$

$$= \frac{5 \text{ mL} \times 0,1 \text{ N}}{5,96 \text{ mL}}$$

$$= 0,083 \text{ N}$$

6. Penentuan bilangan asam

$$\text{Diket : } N \text{ KOH} = 0,083 \text{ N}$$

$$Mr \text{ KOH} = 56,1 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa minyak/sampel} = 1 \text{ g}$$

$$V_1 \text{ titrasi KOH} = 0,6 \text{ mL}$$

$$V_2 \text{ titrasi KOH} = 0,8 \text{ mL}$$

$$V_3 \text{ titrasi KOH} = 0,6 \text{ mL}$$

Volume rata-rata titrasi KOH= 0,67 mL

$$\begin{aligned}\text{Bilangan Asam} &= \frac{\text{Volume rata-rata titrasi KOH} \times \text{Konsentrasi KOH} \times \text{Mr KOH}}{\text{massa minyak/sampel}} \\ &= \frac{0,67 \text{ mL} \times 0,083 \text{ N} \times 56,1 \text{ g/mol}}{1 \text{ g}} \\ &= 3,119 \text{ mg KOH/g lemak.}\end{aligned}$$

UJI BILANGAN ASAM (TEKNIK SOXHLET)

1. Pembuatan larutan KOH 0,1 N dalam 50 mL

$$N \approx M$$

$$M = \frac{\text{massa/Mr}}{V}$$

$$\text{massa} = M \times V \times \text{Mr}$$

$$\text{massa} = 0,1 \text{ mol/L} \times 0,05 \text{ L} \times 56,1 \text{ g/mol}$$

$$\text{massa} = 0,2805 \text{ g}$$

2. Pembuatan larutan asam oksalat 0,1 N dalam 50 mL

$$\text{Berat Molekul (BM) H}_2\text{C}_2\text{O}_4 = 126 \text{ g/mol}$$

$$\text{Berat Ekuivalen (BE) H}_2\text{C}_2\text{O}_4 = \frac{126 \text{ g/mol}}{2 \text{ (valensi)}} = 63 \text{ g/mol}$$

$$\text{massa} = M \times V \times \text{Mr}$$

$$\text{massa} = 0,1 \text{ mol/L} \times 63 \text{ g/mol} \times 0,05 \text{ L}$$

$$\text{massa} = 0,315 \text{ g}$$

3. Pembuatan indikator fenolftalein 1% 10 mL

$$\text{Massa serbuk fenolftalein yang dibutuhkan} = \frac{1}{100} \times 10 \text{ mL} = 0,1 \text{ g}$$

4. Standarisasi KOH dengan asam oksalat 5 mL

$$V_1 \text{ titrasi KOH} = 5,8 \text{ mL}$$

$$V_2 \text{ titrasi KOH} = 5,3 \text{ mL}$$

$$V_3 \text{ titrasi KOH} = 5,9 \text{ mL}$$

$$\text{Volume rata-rata titrasi} = 5,7 \text{ mL}$$

5. Pencarian konsentrasi KOH

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$N \text{ KOH} = \frac{\text{Volume asam oksalat} \times N \text{ asam oksalat}}{\text{volume rata-rata titrasi KOH}}$$

$$= \frac{5 \text{ mL} \times 0,1 \text{ N}}{5,7 \text{ mL}}$$

$$= 0,087 \text{ N}$$

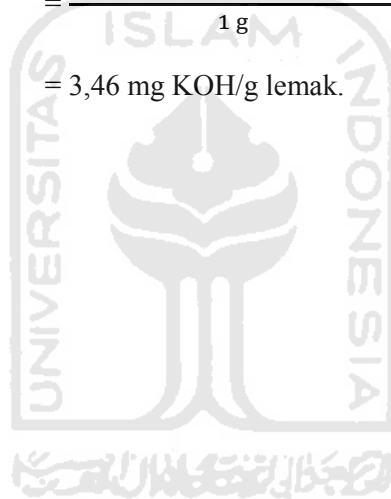
6. Penentuan bilangan asam

Diket : N KOH = 0,087 N
Mr KOH = 56,1 g/mol
Massa minyak/sampel = 1 g

V1 titrasi KOH = 0,71 mL
V2 titrasi KOH = 0,69 mL
V3 titrasi KOH = 0,73 mL
Volume rata-rata titrasi KOH = 0,71 mL

$$\text{Bilangan Asam} = \frac{\text{Volume rata-rata titrasi KOH} \times \text{Konsentrasi KOH} \times \text{Mr KOH}}{\text{massa minyak/sampel}}$$

$$= \frac{0,71 \text{ mL} \times 0,087 \text{ N} \times 56,1 \text{ g/mol}}{1 \text{ g}}$$
$$= 3,46 \text{ mg KOH/g lemak.}$$



Lampiran 10

UJI BILANGAN PEROKSIDA (TEKNIK MAE)

1. Pembuatan larutan standar Natrium Thiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

Natrium Thiosulfat 0,01 N dalam 1000 mL

$$N=M$$

$$\text{Mr Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} = 248 \text{ g/mol}$$

$$M = \frac{\text{massa/Mr}}{v}$$

$$\text{massa} = M \times V \times \text{Mr}$$

$$\text{massa} = 0,01 \text{ mol/L} \times 1 \text{ L} \times 248 \text{ g/mol}$$

$$\text{massa} = 2,48 \text{ g}$$

2. Pembuatan larutan KIO_3 0,01 N dalam 100 mL

Berat Molekul (BM) $\text{KIO}_3 = 214 \text{ g/mol}$

$$\text{Berat Ekuivalen (BE) KIO}_3 = \frac{214 \text{ g/mol}}{6 \text{ (valensi)}} = 35,66 \text{ g/mol}$$

$$\text{massa} = M \times V \times \text{Mr}$$

$$\text{massa} = 0,01 \text{ mol/L} \times 35,66 \text{ g/mol} \times 0,1 \text{ L}$$

$$\text{massa} = 0,0356 \text{ g}$$

3. Pembuatan larutan KI 5%

$$\text{Massa kristal KI yang dibutuhkan} = \frac{5}{100} \times 100 \text{ mL} = 5 \text{ g}$$

4. Pembuatan indikator amilum 1%

$$\text{Serbuk amilum yang dibutuhkan} = \frac{1}{100} \times 100 \text{ mL} = 1 \text{ g}$$

5. Pembuatan larutan H_2SO_4 2N

Kadar asam sulfat (H_2SO_4) murni = 96% ~36 N

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 = \frac{V_2 \times N_2}{N_1}$$

$$= \frac{100 \text{ mL} \times 2N}{36 N}$$

$$= 5,555 \text{ mL} \sim 5,6 \text{ mL}$$

6. Standarisasi $\text{Na}_2\text{S}_2\text{SO}_3$ dengan KIO_3 10 mL

$$V_1 \text{titrasi Na}_2\text{S}_2\text{SO}_3 = 10 \text{ mL}$$

$$V_2 \text{titrasi Na}_2\text{S}_2\text{SO}_3 = 9,2 \text{ mL}$$

$$V_3 \text{titrasi Na}_2\text{S}_2\text{SO}_3 = 9,1 \text{ mL}$$

$$\text{Volume rata-rata titrasi} = 9,433 \text{ mL} \sim 9,4 \text{ mL}$$

7. Pencarian konsentrasi $\text{Na}_2\text{S}_2\text{SO}_3$

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{SO}_3 = \frac{\text{volume KIO}_3 \times N_{\text{KIO}_3}}{\text{volumerata-ratatitrasi Na}_2\text{S}_2\text{SO}_3}$$

$$= \frac{10 \text{ mL} \times 0,01 \text{ N}}{9,4 \text{ mL}}$$

$$= 0,0106 \sim 0,01 \text{ N}$$

8. Penentuan bilangan peroksida

Diket :

$N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{SO}_3$	=	0,01 N
V titrasi sampel	=	2,245 mL
V titrasi blanko	=	0,2 mL
Massa sampel	=	1 g

$$\begin{aligned} \text{Bilangan peroksida} &= \frac{(V_s - V_b) \times N_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{SO}_3} \times 1000}{\text{massa sampel}} \\ &= \frac{(2,245 \text{ mL} - 0,2 \text{ mL}) \times 0,01 \text{ N} \times 1000}{1 \text{ g}} \\ &= 20,45 \text{ meq O}_2/\text{kg} \end{aligned}$$

UJI BILANGAN PEROKSIDA (TEKNIK SOXHLET)

1. Pembuatan larutan standar Natrium Thiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

Natrium Thiosulfat 0,01 N dalam 1000 mL

$$N = M$$

$$\text{Mr Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} = 248 \text{ g/mol}$$

$$M = \frac{\text{massa/Mr}}{v}$$

$$\text{massa} = M \times V \times \text{Mr}$$

$$\text{massa} = 0,01 \text{ mol/L} \times 1 \text{ L} \times 248 \text{ g/mol}$$

$$\text{massa} = 2,48 \text{ g}$$

2. Pembuatan larutan KIO_3 0,01 N dalam 100 mL

Berat Molekul (BM) $\text{KIO}_3 = 214 \text{ g/mol}$

$$\text{Berat Ekuivalen (BE) KIO}_3 = \frac{214 \text{ g/mol}}{6 (\text{valensi})} = 35,66 \text{ g/mol}$$

$$\text{massa} = M \times V \times \text{Mr}$$

$$\text{massa} = 0,01 \text{ mol/L} \times 35,66 \text{ g/mol} \times 0,1 \text{ L}$$

$$\text{massa} = 0,0356 \text{ g}$$

3. Pembuatan larutan KI 5%

$$\text{Massa kristal KI yang dibutuhkan} = \frac{5}{100} \times 100 \text{ mL} = 5 \text{ g}$$

4. Pembuatan indikator amilum 1%

$$\text{Serbuk amilum yang dibutuhkan} = \frac{1}{100} \times 100 \text{ mL} = 1 \text{ g}$$

5. Pembuatan larutan H_2SO_4 2N

Kadar asam sulfat (H_2SO_4) murni = 96% ~36 N

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 = \frac{V_2 \times N_2}{N_1}$$

$$= \frac{100 \text{ mL} \times 2N}{36 N}$$

$$= 5,555 \text{ mL} \sim 5,6 \text{ mL}$$

6. Standarisasi $Na_2S_2SO_3$ dengan KIO_3 10 mL

$$V_1 \text{titrasi } Na_2S_2SO_3 = 9,6 \text{ mL}$$

$$V_2 \text{titrasi } Na_2S_2SO_3 = 9,45 \text{ mL}$$

$$V_3 \text{titrasi } Na_2S_2SO_3 = 9,9 \text{ mL}$$

$$\text{Volume rata-rata titrasi} = 9,65 \text{ mL}$$

7. Pencarian konsentrasi $Na_2S_2SO_3$

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$N \text{ } Na_2S_2SO_3 = \frac{\text{volume } KIO_3 \times N_{KIO_3}}{\text{volume rata-rata titrasi } Na_2S_2SO_3}$$

$$= \frac{10 \text{ mL} \times 0,01 N}{9,65 \text{ mL}}$$

$$= 0,0103 \sim 0,01 N$$

8. Penentuan bilangan peroksida

$$\text{Diket : } N \text{ } Na_2S_2SO_3 = 0,01 N$$

$$V \text{ titrasi sampel} = 2,09 \text{ mL}$$

$$V \text{ titrasi blanko} = 0,35 \text{ mL}$$

$$\text{Massa sampel} = 1 \text{ g}$$

$$\text{Bilangan peroksida} = \frac{(V_s - V_b) \times N \text{ } Na_2S_2SO_3 \times 1000}{\text{massa sampel}}$$

$$= \frac{(2,09 \text{ mL} - 0,35 \text{ mL}) \times 0,01 N \times 1000}{1 \text{ g}}$$

$$= 17,40 \text{ meq } O_2 / \text{kg}$$

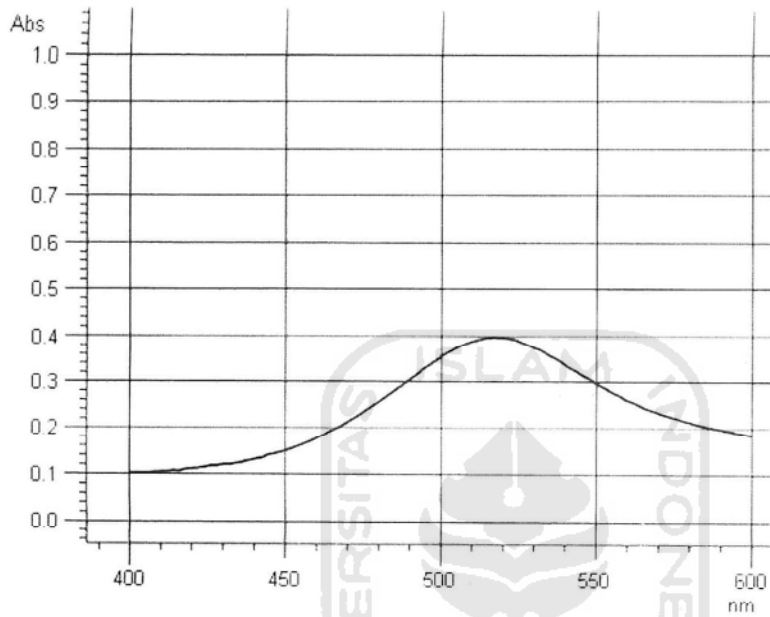
Lampiran 11

Hasil penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

UH5300

06/08/20 21 39

Report : 2020/08/06 15:04



Sample Name : kontrol
 File Name : kontrol
 Run Date : 2020/08/06 15:02
 Operator :

Spectrophotometer
 Model : UH5300 Spectrophotometer
 SERIAL No. : 2734-017
 (CPU1) Program No. : 3J15300-04
 (CPU2) Program No. : 3J15310-08
 Option : 6 Cell

Instrument Parameter

Measurement Mode :	WL Scan	Bandpass(nm) :	1.0
Data Mode :	Abs	Response :	Medium
Start WL(nm) :	600.0	6 Cell Mode :	Auto
End WL(nm) :	400.0	Baseline Correction :	Cell A
Scan Speed(nm/min) :	200	Number of Sample :	1
Data Interval(nm) :	1.0		
Initial Delay(s) :	0		

Peak

Threshold :	0.010
Sensitivity :	2

Peak Table

No.	WL(nm)	Peak	WL(nm)	Valley
1	517.0	0.397		

Lampiran 12

Hasil penentuan absorbansi pada pembanding Extra Virgin Olive Oil 99%

UH5300

18/08/20

Report : 2020/08/18 12:49

Sample Name : pembanding
File Name : pembanding
Run Date : 2020/08/18 12:48
Operator :

Spectrophotometer

Model : UH5300 Spectrophotometer
SERIAL No. : 2734-017
(CPU1) Program No. : 3J15300-04
(CPU2) Program No. : 3J15310-08
Option : 6 Cell

Instrument Parameter

Measurement Mode :	Abs/Transmittance	Bandpass (nm) :	1.0
Data Mode :	Abs	Replicate Measurement :	ON
Number of WL :	1	Number of Replicate :	3
WL1 (nm) :	517.0	Statistics :	OFF
Initial Delay (s) :	0	6 Cell Mode :	Auto
		Autozero :	Cell A
		Sample Autozero :	ON
		Autozero Interval :	5
		Number of Sample :	1

Sample

Sample ID	Abs
10-1	0.250
10-2	0.251
10-3	0.250
20-1	0.215
20-2	0.214
20-3	0.214
30-1	0.197
30-2	0.197
30-3	0.197
40-1	0.191
40-2	0.192
40-3	0.192
50-1	0.178
50-2	0.178
50-3	0.178

*konsentrasi di atas adalah konsentrasi larutan sampel sebelum dilakukan perhitungan dua kali pengenceran, konsentrasi akhir larutan sampel berada pada **Lampiran 15 dan 17.**

Lampiran 13

- **Perhitungan pembuatan larutan pembanding Extra Virgin Olive Oil 99% 1000 ppm**

$$\begin{aligned} 1000 \text{ ppm} &= 1000 \text{ } \mu\text{g/mL dalam } 10 \text{ mL} = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} \times 10 \text{ mL} \\ &= 10.000 \text{ } \mu\text{g} \\ &= 10 \text{ mg dalam } 10 \text{ mL} \end{aligned}$$

Maka untuk membuat larutan pembanding (Extra Virgin Olive Oil 99%) 1000 ppm sebanyak 10 mL dibutuhkan minyak sebanyak 10 mg.

Perhitungan pembuatan larutan stok pembanding Extra Virgin Olive Oil 99% 100 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 1000 \text{ ppm} \times V_1 &= 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

- **Perhitungan pembuatan larutan sampel minyak biji alpukat 1000 ppm**

$$\begin{aligned} 1000 \text{ ppm} &= 1000 \text{ } \mu\text{g/mL dalam } 10 \text{ mL} = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} \times 10 \text{ mL} \\ &= 10.000 \text{ } \mu\text{g} \\ &= 10 \text{ mg dalam } 10 \text{ mL} \end{aligned}$$

Maka untuk membuat larutan sampel minyak biji alpukat 1000 ppm sebanyak 10 mL dibutuhkan minyak sebanyak 10 mg.

- **Perhitungan pembuatan larutan DPPH kadar 0,08 mM**

$$M = \frac{\text{mol}}{\text{liter}} \longrightarrow 1 \text{ mM} = \frac{1 \text{ mmol}}{\text{liter}}$$

$$\text{mol} = \frac{\text{gram}}{M_r} \longrightarrow \text{mmol} = \frac{\text{mg}}{M_r}$$

$$1 \text{ mM} = \frac{\text{mg}/M_r}{\text{liter}}$$

$$\text{BM DPPH} = 394,3 \text{ g/mol atau mg/mmol}$$

Maka untuk membuat larutan DPPH 0,08 mM sebanyak 25 mL dibutuhkan serbuk DPPH sebanyak:

$$\begin{aligned} 0,08 \text{ mM} &= \frac{\text{mg}/394,3}{0,025 \text{ liter}} \longrightarrow \text{mg} = 0,08 \text{ mM} \times 394,3 \times 0,025 \text{ liter} \\ &= 0,7886 \text{ mg} \end{aligned}$$

Sehingga dibutuhkan serbuk DPPH sebanyak 0,7886 mg yang dilarutkan dalam 25 mL etanol p.a untuk didapatkan larutan DPPH 0,08 mM.

Lampiran 14

Perhitungan pembuatan seri kadar pembanding Extra Virgin Olive Oil 99%

- i. Pembuatan larutan stok pembanding 100 ppm dari 1000 ppm

Larutan stok pembanding 100 ppm dibuat sebanyak 10 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Sehingga diambil larutan stok pembanding 1000 ppm sebanyak 1 mL yang kemudian ditambahkan etanol p.a sampai batas tera labu ukur 10 mL.

- ii. Pembuatan larutan pembanding dengan seri kadar 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm dari larutan stok pembanding 100 ppm

Larutan seri kadar dibuat sebanyak 10 mL

- 10 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Diambil 1 mL larutan 100 ppm dan ditera dengan etanol p.a

- 20 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 20 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 2 \text{ mL}$$

Diambil 2 mL larutan 100 ppm dan ditera dengan etanol p.a

- 30 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 30 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 3 \text{ mL}$$

Diambil 3 mL larutan 100 ppm dan ditera dengan etanol p.a

- 40 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 40 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 4 \text{ mL}$$

Diambil 4 mL larutan 100 ppm dan ditera dengan etanol p.a

- 50 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Diambil 5 mL larutan 100 ppm dan ditera dengan etanol p.a

Lampiran 15

Setelah didapatkan variasi konsentrasi, masing-masing larutan pembanding EVOO 99% diambil 2,5 mL dan ditambahkan 2,5 mL DPPH sehingga didapat konsentrasi akhir:

- Konsentrasi akhir

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

di mana

V_1 = volume sampel yang diambil

N_1 = konsentrasi awal sampel

V_2 = volume campuran larutan

N_2 = konsentrasi akhir larutan sampel

1. Konsentrasi akhir larutan sampel 10 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$2,5 \text{ mL} \times 10 \text{ ppm} = 5 \text{ mL} \times N_2$$

$$5 \text{ ppm} = N_2$$

2. Konsentrasi akhir larutan sampel 20 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$2,5 \text{ mL} \times 20 \text{ ppm} = 5 \text{ mL} \times N_2$$

$$10 \text{ ppm} = N_2$$

3. Konsentrasi akhir larutan sampel 30 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$2,5 \text{ mL} \times 30 \text{ ppm} = 5 \text{ mL} \times N_2$$

$$15 \text{ ppm} = N_2$$

4. Konsentrasi akhir larutan sampel 40 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$2,5 \text{ mL} \times 40 \text{ ppm} = 5 \text{ mL} \times N_2$$

$$20 \text{ ppm} = N_2$$

5. Konsentrasi akhir larutan sampel 50 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$2,5 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm} = 5 \text{ mL} \times N_2$$

$$25 \text{ ppm} = N_2$$

Lampiran 16

Pembuatan larutan sampel minyak biji alpukat menggunakan teknik *Microwave* dan Soxhlet masing-masing dibuat dengan kadar 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm dari larutan stok sampel 1000 ppm.

Larutan seri kadar dibuat dalam 10 mL

- 50 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

- 100 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

- 150 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 150 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 1,5 \text{ mL}$$

- 200 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 200 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

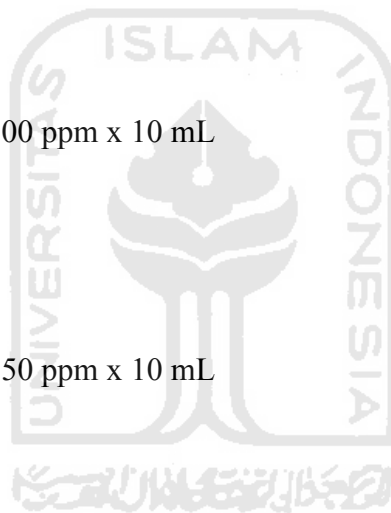
$$V_1 = 2 \text{ mL}$$

- 250 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 250 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 2,5 \text{ mL}$$



Lampiran 17

Setelah didapatkan variasi konsentrasi, masing-masing larutan sampel MAE dan Soxhlet diambil 2,5 mL dan ditambahkan 2,5 mL DPPH sehingga didapat konsentrasi akhir:

- Konsentrasi akhir

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

di mana

V_1 = volume sampel yang diambil

N_1 = konsentrasi awal sampel

V_2 = volume campuran larutan

N_2 = konsentrasi akhir larutan sampel

1. Konsentrasi akhir larutan sampel 50 ppm
 $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$
 $2,5 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm} = 5 \text{ mL} \times N_2$
 $25 \text{ ppm} = N_2$
2. Konsentrasi akhir larutan sampel 100 ppm
 $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$
 $2,5 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm} = 5 \text{ mL} \times N_2$
 $50 \text{ ppm} = N_2$
3. Konsentrasi akhir larutan sampel 150 ppm
 $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$
 $2,5 \text{ mL} \times 150 \text{ ppm} = 5 \text{ mL} \times N_2$
 $75 \text{ ppm} = N_2$
4. Konsentrasi akhir larutan sampel 200 ppm
 $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$
 $2,5 \text{ mL} \times 200 \text{ ppm} = 5 \text{ mL} \times N_2$
 $100 \text{ ppm} = N_2$
5. Konsentrasi akhir larutan sampel 250 ppm
 $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$
 $2,5 \text{ mL} \times 250 \text{ ppm} = 5 \text{ mL} \times N_2$
 $125 \text{ ppm} = N_2$

Lampiran 18

Hasil absorbansi, perhitungan persen inhibisi, dan IC₅₀ minyak pembanding Extra Virgin Olive Oil 99%

Absorbansi kontrol : 0,397

Kadar minyak pembanding (ppm)	Pembacaan	Absorbansi	Rata-rata absorbansi	% inhibisi	Persamaan garis dan nilai IC ₅₀
5	1	0,250	0.250333	36,94%	y = 0,421x + 35,39 R ² = 0,901 IC ₅₀ = 34,703 ppm atau 0,034703 mg/mL
	2	0,251			
	3	0,250			
10	1	0,215	0.214333	46,01%	
	2	0,214			
	3	0,214			
15	1	0,197	0,197	50,37%	
	2	0,197			
	3	0,197			
20	1	0,191	0.191667	51,72%	
	2	0,192			
	3	0,192			
25	1	0,178	0,178	55,16%	
	2	0,178			
	3	0,178			

$$\text{Rumus \%inhibisi} = \left(\frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \right) \times 100\%$$

$$\%inhibisi \text{ 5 ppm} = \left(\frac{0,397 - 0,250333}{0,397} \right) \times 100\% = 36,94\%$$

$$\%inhibisi \text{ 10 ppm} = \left(\frac{0,397 - 0,214333}{0,397} \right) \times 100\% = 46,01\%$$

$$\%inhibisi \text{ 15 ppm} = \left(\frac{0,397 - 0,197}{0,397} \right) \times 100\% = 50,37\%$$

$$\%inhibisi \text{ 20 ppm} = \left(\frac{0,397 - 0,191667}{0,397} \right) \times 100\% = 51,72\%$$

$$\% \text{inhibisi } 25 \text{ ppm} = \left(\frac{0,397-0,178}{0,397} \right) \times 100\% = 55,16\%$$

Perhitungan nilai IC_{50} dengan cara menggunakan persamaan garis linear yang didapatkan dari memplotkan antara kadar dengan % inhibisi. Persamaan yang didapat adalah $y = 0,843x + 35,39$ di mana x adalah nilai yang dicari ketika $y = 50$. Maka : $y = 0,843x + 35,39$

$$50 = 0,843x + 35,39$$

$$x = \left(\frac{50-35,39}{0,843} \right)$$

$$x = 17,3309 \text{ ppm atau } 0,017 \text{ mg/mL.}$$



Lampiran 19

Hasil absorbansi, perhitungan persen inhibisi, dan IC₅₀ minyak biji alpukat menggunakan teknik MAE

Absorbansi kontrol: 0,397

Kadar minyak biji alpukat (ppm)	Pembacaan	Absorbansi	Rata-rata absorbansi	% inhibisi	Persamaan garis dan nilai IC ₅₀
25	1	0,333	0,332333	16,28%	$y = 0,219x + 3,37$ $R^2 = 0,955$ nilai IC ₅₀ = 212,92 ppm Atau 0,21292 mg/mL
	2	0,332			
	3	0,332			
50	1	0,317	0,317	20,15%	
	2	0,317			
	3	0,317			
75	1	0,245	0,245	38,28%	
	2	0,245			
	3	0,245			
100	1	0,194	0,193667	51,21%	
	2	0,194			
	3	0,193			
125	1	0,176	0,176	55,66%	
	2	0,176			
	3	0,176			

$$\text{Rumus \% inhibisi} = \left(\frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \right) \times 100\%$$

$$\% \text{inhibisi } 25 \text{ ppm} = \left(\frac{0,397 - 0,332333}{0,397} \right) \times 100\% = 16,28\%$$

$$\% \text{inhibisi } 50 \text{ ppm} = \left(\frac{0,397 - 0,317}{0,397} \right) \times 100\% = 20,15\%$$

$$\% \text{inhibisi } 75 \text{ ppm} = \left(\frac{0,397 - 0,245}{0,397} \right) \times 100\% = 38,28\%$$

$$\% \text{inhibisi } 100 \text{ ppm} = \left(\frac{0,397 - 0,193667}{0,397} \right) \times 100\% = 51,21\%$$

$$\% \text{inhibisi } 125 \text{ ppm} = \left(\frac{0,397 - 0,176}{0,397} \right) \times 100\% = 55,66\%$$

Perhitungan nilai IC_{50} dengan cara menggunakan persamaan garis linear yang didapatkan dari memplotkan antara kadar dengan % inhibisi. Persamaan yang didapat adalah $y = 0,491x + 0,75$ di mana x adalah nilai yang dicari ketika $y = 50$. Maka :

$$50 = 0,491x + 0,75$$

$$x = \left(\frac{50 - 0,75}{0,491} \right) = 100,3054 \text{ ppm atau } 0,100 \text{ mg/mL.}$$



Lampiran 20

Hasil absorbansi, perhitungan persen inhibisi, dan nilai IC₅₀ sampel minyak biji alpukat menggunakan teknik Soxhlet.

Absorbansi kontrol : 0,397

Kadar minyak biji alpukat (ppm)	Pembacaan	Absorbansi	Rata-rata absorbansi	% inhibisi	Persamaan garis dan nilai IC ₅₀
25	1	0,215	0,215	45,843%	$y = 0,023x + 43,99$ $R^2 = 0,884$ nilai IC ₅₀ = 261,3043 ppm Atau 0,2613043 mg/mL
	2	0,215			
	3	0,215			
50	1	0,215	0,215	45,843%	
	2	0,215			
	3	0,215			
75	1	0,210	0,210	47,103%	
	2	0,210			
	3	0,210			
100	1	0,206	0,206333	48,035%	
	2	0,207			
	3	0,206			
125	1	0,197	0,196333	50,55%	
	2	0,196			
	3	0,196			

$$\text{Rumus \%inhibisi} = \left(\frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \right) \times 100\%$$

$$\%inhibisi \text{ 25 ppm} = \left(\frac{0,397 - 0,215}{0,397} \right) \times 100\% = 45,843\%$$

$$\%inhibisi \text{ 50 ppm} = \left(\frac{0,397 - 0,215}{0,397} \right) \times 100\% = 45,843\%$$

$$\% \text{inhibisi } 75 \text{ ppm} = \left(\frac{0,397 - 0,210}{0,397} \right) \times 100\% = 47,103\%$$

$$\% \text{inhibisi } 100 \text{ ppm} = \left(\frac{0,397 - 0,206333}{0,397} \right) \times 100\% = 48,035\%$$

$$\% \text{inhibisi } 125 \text{ ppm} = \left(\frac{0,397 - 0,196333}{0,397} \right) \times 100\% = 50,55\%$$

Perhitungan nilai IC_{50} dengan cara menggunakan persamaan garis linear yang didapatkan dari memplotkan antara kadar dengan % inhibisi. Persamaan yang didapat adalah $y = 0,046x + 43,99$ di mana x adalah nilai yang dicari ketika $y = 50$. Maka: $y = 0,046x + 43,99$

$$50 = 0,046x + 43,99$$

$$x = \left(\frac{50 - 43,99}{0,046} \right) = 130,6521 \text{ ppm atau } 0,130 \text{ mg/mL.}$$

