

Uji Aktivitas Tonikum Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill.) pada Mencit Jantan (*Mus Musculus*) Dengan Metode *Natatory Exhaustion*

Shyfa Anindya Padirja¹, Imron Wahyu Hidayat², Herma Fanani Agusta³

^{1,2,3}Universitas Muhammadiyah Magelang, Indonesia

imronwh@unimma.ac.id

INFO ARTIKEL

Riwayat Artikel:

Diterima: 28-05-2025

Disetujui: 30-07-2025

Kata Kunci:

Daun Alpukat,
Tonikum, *Natatory Exhaustion*.

Keywords:

Avocado Leaves,
Tonicum, *Natatory Exhaustion*.

ABSTRAK

Abstrak: Penggunaan tonikum semakin populer karena meningkatnya aktivitas masyarakat dalam memenuhi kebutuhan ekonomi. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai tonikum adalah daun alpukat (*Persea americana* Mill.) karena mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, polifenol, dan saponin yang dapat memberikan efek tonik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia ekstrak etanol daun alpukat dan efek tonikum yang dihasilkan ekstrak etanol daun alpukat. Penelitian termasuk dalam penelitian eksperimental. Identifikasi kandungan kimia menggunakan analisis fitokimia yang ditandai adanya perubahan warna, identifikasi flavonoid dengan kromatografi lapis tipis, dan penetapan kadar flavonoid total dengan spektrofotometri Uv-Vis. Uji tonikum menggunakan metode *natatory exhaustion* pada 25 ekor mencit yang terbagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan terdiri dari Na-CMC 0,5% (kontrol negatif), kafein 100 mg/kgBB (kontrol positif), kelompok seri ekstrak etanol daun alpukat dosis 100, 200, dan 400 mg/kgBB. Data dianalisis menggunakan uji *one way* ANOVA dan uji lanjut *Least Significant Difference* (LSD). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun alpukat mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan steroid. Ekstrak etanol daun alpukat diketahui mengandung flavonoid dengan rata-rata kadar total sebesar 6,91%. Analisis statistik *one way* ANOVA ($p < 0,05$) menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan dengan nilai $0,001 < 0,05$. Uji LSD menunjukkan bahwa kontrol positif tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) dengan kelompok pemberian ekstrak etanol daun alpukat dosis 400 mg/kgBB. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak dosis 400 mg/kgBB meningkatkan efek tonikum yang sebanding dengan kafein dosis 100 mg/kgBB. Ekstrak etanol daun alpukat mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan steroid dengan rata-rata kandungan flavonoid total sebesar 6,91%. Ekstrak etanol daun alpukat dosis 400 mg/kgBB memberikan efek tonikum terbaik dan sebanding dengan kafein dosis 100 mg/kgBB.

Abstract: The use of tonics is becoming increasingly popular due to the rise in societal activities aimed at meeting economic needs. One plant with potential as a tonic is avocado leaves (*Persea americana* Mill.) because it contains bioactive compounds such as flavonoids, alkaloids, polyphenols, and saponins, which can provide a tonic effect. This study aims to identify the chemical content of avocado leaves ethanol extract and the tonic effect produced by avocado leaves ethanol extract. This study is included in experimental research. Identification of chemical content was conducted using phytochemical analysis indicated by color changes, identification of flavonoids with thinlayer chromatography, and determination of total flavonoid content with UIV-Vis spectrophotometry. The tonic test used the *natatory exhaustion* method on 25 mice divided into 5 treatment groups. The treatment groups consisted of 0.5% Na-CMC (negative control), 100 mg/kgBB caffeine (positive control), and a series of ethanol extract doses from avocado leaves at 100, 200, and 400 mg/kgBB. Data were analyzed using *one-way* ANOVA and further *Least Significant Difference* (LSD) tests. The results showed that the ethanol extract of avocado leaves contained flavonoids, alkaloids, tannins, saponins, and steroids. The ethanol extract of avocado leaves is found to contain flavonoids with an average total content of 6.91%. Statistical analysis of *one way* ANOVA ($p < 0.05$) showed significant differences between treatment groups with a value of $0.001 < 0.05$. LSD test showed that the positive control was not significantly different ($p > 0.05$) with the group giving the avocado leaf ethanol extract dose of 400 mg/kgBB. This indicates that the administration of the extract at a dose of 400 mg/kgBB enhances the tonic effect to a level comparable with 100 mg/kgBB of caffeine. The ethanol extract of avocado leaves contains flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, and steroid compounds with an average total flavonoid content of 6.91%. The ethanol extract of avocado leaves dose 400 mg/kgBB offers the best tonic effect and comparable to caffeine dose 100 mg/kgBB.



This is an open access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license

A. LATAR BELAKANG

Penggunaan zat penambah stamina (tonikum) semakin populer saat ini. Hal tersebut dilandasi karena kebutuhan masyarakat akan aktivitas kerja yang semakin meningkat untuk memenuhi kebutuhan ekonomi dan sosial. Tonikum merupakan suatu obat atau campuran bahan obat yang berfungsi sebagai penambah energi maupun stamina dalam waktu yang cukup singkat. Tonikum memiliki mekanisme kerja dengan cara merangsang perbaikan sel tonus otot serta memperkuat sistem organ (Hanifah et al., 2018). Zat penambah stamina yang beredar saat ini tersedia dalam bentuk minuman berenergi maupun obat-obatan sintetis. Kandungan yang terdapat dalam produk tersebut bersifat nefrotoksik atau dapat menyebabkan gangguan gagal ginjal kronik jika dikonsumsi secara terus menerus (Widyarini et al., 2014).

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang tertinggi di dunia. Tingginya keanekaragaman hayati tersebut menyebabkan semakin tinggi juga potensi tanaman obat di Indonesia, penggunaan tanaman obat secara empiris telah digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk memelihara kesehatan dan menyembuhkan suatu penyakit. Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat adalah alpukat (*Persea americana* Mill.). Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan tanaman yang mudah ditemukan dan banyak dikenal oleh masyarakat Indonesia. Tanaman ini diketahui dapat menyembuhkan sariawan, kencing batu, kencing manis, darah tinggi, dan sakit gigi. Daun alpukat dapat berfungsi sebagai anti-diuretik, anti-bakteri, anti-kanker, mengobati penyakit sakit kepala, nyeri saraf, nyeri lambung, dan haid tidak teratur (Anggorowati et al., 2016). Daun alpukat memiliki berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, quersetin, polifenol, saponin, tanin, dan alkaloid (Arwanda et al., 2021).

Flavonoid dapat berfungsi sebagai tonikum melalui beberapa mekanisme yaitu penghentian enzim fosfodiesterase dalam proses konversi cAMP siklik (*Cyclic Adenosine Monophosphate*) menjadi AMP (*Adenosine Monophosphate*), peningkatan kandungan glikogen hepar, dan menekan produksi asam laktat dalam otot (Li & Zhang, 2013). Daun alpukat kaya akan komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan dengan nilai total flavonoid, fenol, dan tanin masing-masing sebesar 93,97 mg/g, 23,28 mg/g, dan 9,47 mg/g (Widarta & Arnata, 2017). Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian uji efek tonikum ekstrak etanol daun alpukat terhadap mencit putih jantan dengan metode *Natatory Exhaustion*.

B. METODE PENELITIAN

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi gelas ukur (Pyrex®), tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas kimia (Pyrex®), erlenmeyer (pyrex®), labu ukur (Pyrex®), chamber, timbangan analitik (A&d FX-300iN), food dehydrator stainless (Getra®), blender, ayakan, waterbath, kertas saring, pompa vakum, corong buchner,

aluminium foil, cawan porselin, batang pengaduk, spatula, box penampak bercak UV 254 nm dan 366 nm, spektrofotometer Uv-Vis double beam (Cecil Aurius CE 7200), pisau/cutter, box tempat renang/kontainer, handscoon, kandang mencit, tempat minum mencit, stopwatch, spuit, dan sonde.

Bahan yang digunakan meliputi daun alpukat, plat KLT silika gel, etanol 70% (PT Brataco), etanol 96% (PT Brataco), aquadest (PT Brataco), CMC-Na, metanol p.a (Merck), etil asetat p.a (Merck), serbuk magnesium, asam klorida (HCl) (Merck), H₂SO₄ (Merck), kloroform (Merck), ammonia, besi (III) klorida (FeCl₃), pereaksi mayer, dragendorff, kuersetin, aluminium klorida (AlCl₃), natrium asetat, kafein, hewan uji mencit, pakan mencit, dan minum mencit.

2. Prosedur penelitian

a. Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Universitas Ahmad Dahlan, Daerah Istimewa Yogyakarta.

b. Pengumpulan bahan dan pembuatan simplisia

Sebanyak 4 kg daun alpukat disortasi untuk menghilangkan zat pengotor dan bahan-bahan asing. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan menggunakan air mengalir, kemudian ditiriskan. Daun alpukat yang telah bersih dirajang dengan cara memotong daun hingga potongan kecil, kemudian daun tersebut dikeringkan menggunakan oven atau lemari pengering dalam suhu 50°C. Daun yang telah kering dilakukan sortasi kering untuk memisahkan bahan-bahan asing, simplisia yang belum kering, dan simplisia yang rusak. Setelah dilakukan sortasi kering, daun alpukat dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan hingga didapatkan serbuk simplisia daun alpukat.

c. Pembuatan ekstrak etanol daun alpukat

Pembuatan ekstrak menggunakan metode maserasi, Sebanyak 400 gram serbuk daun alpukat direndam dengan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:6 selama 3x24 jam dengan sesekali diaduk. Setelah 3x24 jam, maserat disaring dan disimpan. remaserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:4 selama 1x24 jam, lalu dilakukan filtrasi menggunakan kertas saring dan pompa vakum. Hasil filtrasi kemudian diuapkan menggunakan waterbath pada suhu 65-70°C hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang telah diperoleh kemudian ditimbang beratnya dan dihitung persentase rendemennya dengan menggunakan rumus:

$$\text{Persentase rendemen (\%)} = \frac{\text{(bobot ekstrak yang didapatkan)}}{\text{(bobot simplisia awal)}} \times 100\%$$

d. Skreening Fitokimia

Identifikasi kandungan kimia dilakukan dengan uji pendahuluan untuk mengetahui kandungan golongan kimia : alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, terpenoid dan steroid.

1) Uji Flavonoid

Sejumlah ekstrak ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan larutan etanol 70% secukupnya. Selanjutnya, larutan diaduk hingga homogen dan tambahkan beberapa tetes larutan NaOH 10%. Ekstrak dinyatakan positif flavonoid jika pada larutan terjadi perubahan warna menjadi merah hingga cokelat.

2) Uji Alkaloid

Sejumlah 0,3 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu tambahkan 2 mL kloroform, 10 mL ammonia, dan 10 tetes H₂SO₄. Kemudian, campuran tersebut dikocok dan ditunggu hingga membentuk 2 lapisan. Lapisan atas (lapisan H₂SO₄) dipipet dan dipindahkan masing-masing 1 mL ke dalam tabung reaksi yang berbeda. Masing-masing tabung reaksi tersebut kemudian diteteskan beberapa tetes reagen Mayer dan Dragendorff. Sampel menunjukkan hasil positif alkaloid jika pada tabung reaksi yang diteteskan Mayer timbul endapan putih sedangkan pada tabung reaksi yang diteteskan Dragendorff timbul warna jingga hingga merah cokelat.

3) Uji Saponin

Sejumlah 0,2 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 2 mL etanol 70%, lalu diaduk. Selanjutnya tambahkan 20 mL aquadest dan dikocok, kemudian dibiarkan selama 10-20 menit. Adanya busa setinggi >1 cm menunjukkan positif lemah, tinggi busa 1,2 cm positif saponin, positif kuat jika tinggi busa >2 cm.

4) Uji Tanin

Sejumlah 0,2 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 mL etanol 70% dan dihomogenkan. Kemudian, tambahkan 3 tetes FeCl₃. Sampel menunjukkan positif tanin jika timbul warna biru kehitaman, hijau kehitaman, biru-hijau, atau endapan.

5) Uji Terpenoid dan steroid

Sejumlah 0,1 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu tambahkan kloroform, 10 tetes asam asetat glasial, dan 2 tetes H₂SO₄ pekat. Selanjutnya, larutan dikocok perlahan dan didiamkan selama 15 menit. Sampel menunjukkan positif triterpenoid jika timbul warna merah atau ungu, tetapi jika timbul larutan biru atau hijau maka sampel positif steroid.

e. Identifikasi Flavonoid dengan KLT

Uji KLT dilakukan dengan menggunakan fase diam berupa plat silika gel GF254 dengan panjang 10 cm dan lebar 3 cm dan fase gerak yang terdiri dari pelarut etil asetat:metanol (3:2) dengan pembading quersetin pengamatan terhadap bercak penotolan menggunakan sinar UV 254 nm dan UV 366 nm, lalu dihitung nilai Rf menggunakan rumus: (Eka P, 2021).

$$R_f = (\text{jarak yang ditempuh senyawa})/(\text{jarak yang ditempuh fase gerak})$$

f. Penetapan kadar Flavonoid

80 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL etanol 96%, lalu disonikasi hingga ekstrak terlarut seluruhnya. Selanjutnya ekstrak disaring ke dalam labu ukur 10 mL dan tambahkan etanol 96% hingga tanda batas. Selanjutnya, dipipet sebanyak 1 mL larutan ekstrak ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 3 mL etanol 96%, 0,2 mL AlCl₃ 10%, 0,2 mL Na asetat, dan 5,6 mL aquades. Larutan dikocok hingga homogen dan diamkan selama 30 menit pada suhu ruang (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Selanjutnya dilakukan pengukuran serapan pada panjang gelombang maksimum kuersetin yang telah didapatkan. perhitungan kadar flavonoid menggunakan rumus sebagai berikut : (Syamsul et al., 2019).

$$\text{Kadar (\%)} = (C \times V \times F_p \times 10^{(-3)})/m \times 100\%$$

Keterangan:

C = Kesetaraan kuersetin (mg/L)

V = Volume total ekstrak etanol (mL)

F_p = Faktor pengenceran

m = Berat sampel (mg)

g. Uji Aktivitas Tonikum

Pengujian efek tonikum dilakukan menggunakan metode natatory exhaustion. Sebanyak 25 ekor mencit dengan bobot 20-30 gram dan umur 2-3 bulan dikelompokkan menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Seluruh mencit tersebut ditimbang masing-masing bobotnya. Sebelum diberi perlakuan, seluruh mencit diadaptasikan selama 1 minggu. Satu hari sebelum dilakukan perlakuan, ambil data waktu bertahan renang mencit sebagai data sebelum perlakuan, lalu seluruh hewan uji dipuaskan selama 8 jam. Selanjutnya, dilakukan pemberian larutan uji secara oral selama 7 hari (Noer et al., 2023).

Setiap mencit diberi perlakuan secara oral menggunakan sediaan larutan uji. Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol negatif diberikan perlakuan CMC-Na 0,5%, kelompok 2 merupakan kelompok kontrol positif diberikan perlakuan kafein 100 mg/kgBB, sedangkan kelompok 3, 4 dan 5 merupakan kelompok variasi dosis ekstrak dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB secara berurutan. Pengambilan data waktu ketahanan berenang mencit setelah perlakuan dilakukan pada hari ke-3 dan ke-7 dengan cara merenangkan mencit setelah diberikan waktu jeda 30 menit dari waktu pemberian oral. Seluruh mencit direnangkan hingga menunjukkan kondisi lelah dengan tanda yakni tidak terdapat pergerakan dari kaki, posisi badan membungkuk, serta kepalanya berada di bawah permukaan air selama 7 detik.

3. Analisis Data

Data hasil dari penelitian dianalisis dan diolah menggunakan software SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*). Analisis data dilakukan dengan uji Shapiro-Wilk untuk menguji normalitas data dan uji Levene Test untuk menguji homogenitas data (Kharisma et al., 2019). Selanjutnya, data dianalisis dengan uji statistik parametrik One Way ANOVA untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan, tetapi jika data tidak normal digunakan uji statistik Kruskal-Wallis. Kemudian, dilanjutkan analisis data dengan Least Significant Difference (Mafitri & Parmadi, 2018).

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Identifikasi Tanaman Alpukat

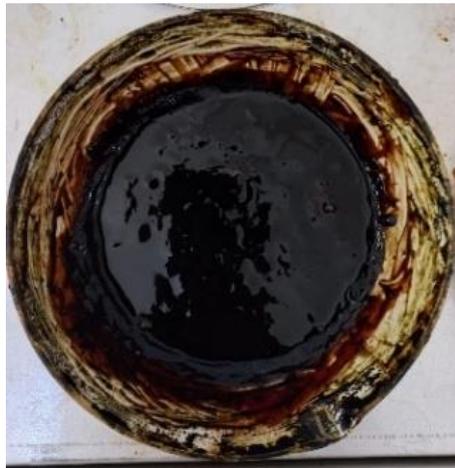
Pada penelitian ini bagian tanaman yang digunakan ialah daun alpukat. Uji determinasi dilakukan untuk memastikan kebenaran tanaman yang akan diteliti dan meminimalkan terjadinya kesalahan saat mengumpulkan bahan serta menghindari tercampurnya bahan yang akan diteliti dengan bahan lain. Determinasi daun alpukat dilakukan di Laboratorium Pembelajaran Biologi Universitas Ahmad Dahlan. Berdasarkan Surat Keterangan Nomor 340/Lab.Bio/B/VI/2024 menyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini termasuk dalam famili Lauraceae dengan spesies *Persea americana* Mill.

2. Pembuatan Simplisia Daun Alpukat

Daun alpukat basah ditimbang sebanyak 4 kg. Kemudian dilakukan perajangan untuk memperlus permukaan, dibersihkan dengan air mengalir dan dikeringkan menggunakan alat food dehydrator pada suhu 50°C. Setelah disortasi kering, simplisia daun kemudian dihaluskan dengan blender dan diayak sehingga diperoleh serbuk simplisia daun alpukat.

3. Ekstraksi Daun Alpukat

Ekstraksi daun alpukat menggunakan metode maserasi, 400 gram serbuk simplisia direndam menggunakan 4 liter pelarut etanol 70 %. Ekstrak etanol daun alpukat yang didapatkan ialah sebesar 98,29 gram dengan nilai rendemen sebesar 24,57%. Perhitungan nilai rendemen ekstrak bertujuan untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh dari hasil ekstraksi. Nilai rendemen juga memiliki kaitan erat dengan senyawa aktif yang terdapat dari suatu sampel dimana semakin tinggi nilai rendemen suatu ekstrak, maka semakin banyak juga senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak tersebut, seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Ekstrak Kental Daun Alpukat

Hasil uji organoleptik dilakukan dengan mengamati bentuk, bau dan rasa dari ekstrak etanol daun alpukat, seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Organoleptis Ekstrak Daun Alpukat

Pengamatan	Hasil Pengamatan
Bentuk	Ekstrak kental
Warna	Cokelat kehitaman
Bau	Khas daun
Rasa	Pahit

Berdasarkan uji organoleptik diketahui bahwa ekstrak etanol daun alpukat berwujud ekstrak kental, berwarna cokelat kehitaman, berbau khas daun, dan memiliki rasa yang pahit. Hasil uji ini sesuai dengan penelitian lain yang dilakukan oleh Azzahra et al. (2019) yang menyatakan bahwa ekstrak kental etanol daun alpukat berupa ekstrak kental dan berwarna cokelat kehitaman (Azzahra et al., 2019).

4. Identifikasi Skreening Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak etanol daun alpukat meliputi uji kandungan terhadap senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan triterpenoid/steroid. Skrining fitokimia merupakan salah satu uji kualitatif yang menggunakan pereaksi warna untuk mengetahui ada atau tidaknya suatu senyawa bioaktif tertentu, seperti terlihat pada Tabel 2.

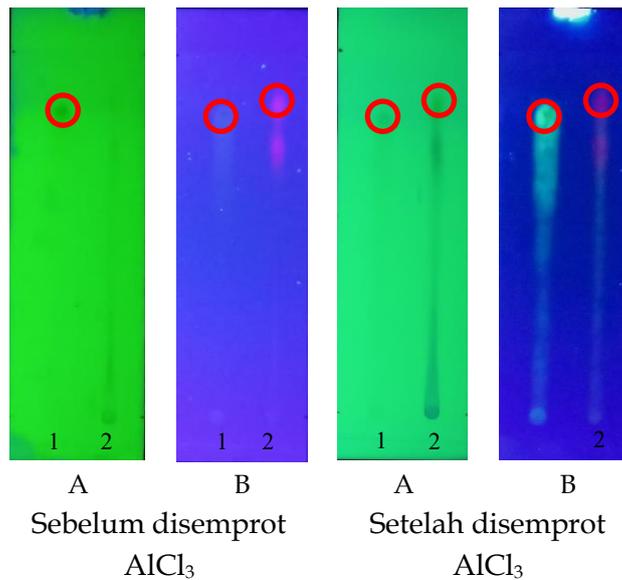
Tabel 2. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Alpukat

Senyawa Bioaktif	Persyaratan	Hasil
Flavonoid	Terjadi perubahan warna menjadi merah hingga coklat	+
Alkaloid	Terjadi perubahan warna jingga hingga merah coklat	+
Saponin	Terbentuk busa yang stabil selama 10-20 menit	+
Tanin	Terjadi perubahan warna biru/hijau kehitaman	+
Steroid	Terjadi perubahan warna menjadi hijau/biru	+

Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun alpukat menunjukkan bahwa ekstrak mengandung beberapa senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan steroid. Hasil skrining ini telah sesuai dengan penelitian lain yang menyatakan bahwa ekstrak daun alpukat positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, steroid, dan glikosida (Azzahra et al., 2019).

5. Identifikasi Kandungan Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi kandungan kimia menggunakan metode kromatografi lapis tipis dengan fase diam berupa silika gel GF 254 dan fase gerak etil asetat : metanol dengan perbandingan 3:2, dan menggunakan senyawa pembading quersetin dan pereaksi semprot $AlCl_3$, seperti terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Kromatografi lapis tipis ekstrak daun alpukat

Keterangan:

- 1 : Pembanding kuersetin ($R_f = 0,875$)
- 2 : Sampel ekstrak etanol daun alpukat ($R_f = 0,863$)
- A : Pengamatan di bawah sinar UV 254 nm
- B : Pengamatan di bawah sinar UV 366 nm

Pada plat KLT yang telah disemprot $AlCl_3$ menghasilkan bercak warna kuning pada sampel maupun pembanding kuersetin apabila dilihat secara visual dengan sinar tampak. Nilai R_f yang didapatkan dari pembanding kuersetin yaitu sebesar 0,875 sedangkan pada sampel didapatkan nilai R_f sebesar 0,863. Nilai R_f tersebut dapat dijadikan bukti untuk identifikasi suatu senyawa karena nilai R_f yang hampir sama atau sama antara pembanding dengan sampel menunjukkan bahwa senyawa yang teridentifikasi memiliki karakteristik yang mirip atau sama (Natasa et al., 2021).

6. Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Alpukat

Analisis kuantitatif penetapan kadar flavonoid pada penelitian ini menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis. Metode ini menggunakan prinsip kolorimetri dengan pereaksi alumunium klorida ($AlCl_3$). Penggunaan $AlCl_3$ dikarenakan $AlCl_3$ membentuk kompleks dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Standar yang digunakan pada penelitian ini yaitu kuersetin dimana senyawa tersebut termasuk dalam senyawa flavonoid yang memiliki 2 gugus fungsi terdiri dari gugus karbonil dan gugus hidroksil (Lindawati & Ma'ruf, 2020). Pada penelitian ini diperoleh hasil rata-rata kadar flavonoid ekstrak etanol daun alpukat dari masing-masing replikasi sebesar 7,09%, 6,71%, dan 6,92% dengan kadar flavonoid akhir sebesar 6,91%. Hasil kadar flavonoid yang diperoleh dari penelitian ini telah sesuai dengan Farmakope Herbal

Indonesia dimana ekstrak daun alpukat tidak boleh $< 0,88\%$, seperti terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak

Sampel	Kadar Flavonoid	Rata-Rata Kadar Flavonoid	Rata-Rata Kadar Flavonoid \pm SD
Replikasi 1	7,09%	6,91%	6,91 \pm 0,19017 %
Replikasi 2	6,71%		
Replikasi 3	6,92%		

7. Uji aktivitas tonikum

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini ialah mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan jenis Balb-c sejumlah 25 ekor dengan usia 2-3 bulan dan memiliki kisaran bobot badan 20-30 gram. Uji aktivitas tonikum pada penelitian ini menggunakan metode *nataory exhaustion*, merupakan metode penapisan farmakologi yang digunakan untuk mengevaluasi efek obat pada koordinasi motorik, khususnya berkaitan dengan kontrol sistem saraf pusat (Turner, 1965 dalam Mafitri & Parmadi, 2018). Prinsip dari metode ini yaitu mengamati peningkatan aktivitas secara langsung yang diukur melalui adanya penambahan waktu berenang hewan uji di dalam suatu wadah berisi air. Alasan uji aktivitas tonikum menggunakan metode *nataory exhaustion* dikarenakan metode ini menggunakan peralatan yang sederhana dan efek tonik dapat dilihat spontan melalui adanya peningkatan kapasitas kerja hewan uji (Ramadhani Setyawati et al., 2019).

Pada penelitian ini digunakan 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 5 hewan uji. Kelompok perlakuan tersebut terdiri dari kelompok kontrol negatif yang diberikan Na-CMC 0,5%, kelompok kontrol positif yang diberikan kafein 100 mg/kgBB, serta 3 kelompok perlakuan variasi dosis ekstrak dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB. Sebelum perlakuan, seluruh mencit dipuasakan selama 8 jam dengan tujuan untuk mencegah terjadinya aktivitas lain dari makanan yang dapat mempengaruhi aktivitas tonikum selama pengujian serta untuk mencegah makanan dikeluarkan saat pemberian oral (Noer et al., 2023). Namun, pemberian minum tetap diberikan selama hewan uji dipuasakan.

Tabel 4. Waktu Ketahanan Renang Mencit

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata Waktu (detik) \pm SEM		
	Sebelum Perlakuan	Perlakuan Hari ke-3	Perlakuan Hari ke-7
Na-CMC 0,5%	385 \pm 39,09	458,6 \pm 56,61	454 \pm 55,38
Kafein 100 mg/kgBB	403,8 \pm 26,95	1.497,4 \pm 291,08	3.478,8 \pm 994,99
EEDA 100 mg/kgBB	541,4 \pm 77,39	492,6 \pm 87,15	732,8 \pm 99,72
EEDA 200 mg/kgBB	482 \pm 93,22	710,2 \pm 130,72	913,8 \pm 126,58
EEDA 400 mg/kgBB	389,6 \pm 28,51	1.165,6 \pm 230,31	2.303,8 \pm 412,10

Berdasarkan Tabel 4. diketahui terdapat peningkatan waktu bertahan renang mencit antara sebelum perlakuan dengan sesudah perlakuan hari ke-3 dan hari ke-7 untuk kelompok kontrol kafein 100 mg/kgBB dan seluruh kelompok perlakuan variasi dosis ekstrak etanol daun alpukat. Kelompok perlakuan ekstrak yang memberikan efek tonikum terbaik diperoleh kelompok ekstrak etanol daun alpukat dosis 400 mg/kgBB dengan rata-rata waktu ketahanan renang hewan uji sebesar 2.303,8 detik. Hasil analisis statistik menggunakan uji *one way* ANOVA mendapatkan hasil $p=0,001$ untuk perlakuan hari ke-3 dan $p=0,001$ untuk perlakuan hari ke-7 sehingga dapat dinyatakan ada perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan ($p<0,05$).

Selanjutnya dilakukan analisis *Post Hoc Test* menggunakan uji *Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui secara rinci apakah terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Pada uji LSD untuk perlakuan hari ke-3 didapatkan hasil statistik bahwa pada kelompok EEDA dosis 400 mg/kgBB didapatkan hasil terdapat perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) dengan kelompok kontrol Na-CMC 0,5% ($p=0,012$) dan kelompok EEDA dosis 100 mg/kgBB ($p=0,017$), tetapi tidak berbeda signifikan ($p>0,05$) dengan kelompok kontrol kafein ($p=0,212$) dan kelompok EEDA 200 mg/kgBB ($p=0,92$). kelompok kontrol positif terdapat perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) dengan kelompok kontrol Na-CMC 0,5% ($p=0,001$), kelompok EEDA dosis 100 mg/kgBB ($p=0,001$), dan kelompok EEDA dosis 200 mg/kgBB ($p=0,006$).

Pada uji LSD untuk perlakuan hari ke-7 kelompok Na-CMC 0,5% terdapat perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) dengan kelompok kontrol kafein ($p=0,000$) dan kelompok EEDA dosis 400 mg/kgBB ($p=0,014$). Kelompok kontrol positif terdapat perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) dengan kelompok kontrol Na-CMC 0,5% ($p=0,000$), kelompok EEDA dosis 100 mg/kgBB ($p=0,001$), dan kelompok EEDA dosis 200 mg/kgBB ($p=0,001$) sedangkan dengan kelompok EEDA 400 mg/kgBB tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal tersebut berarti kelompok pemberian EEDA dosis 400 mg/kgBB memberikan hasil yang sebanding dengan kelompok kontrol kafein. Pada kelompok EEDA 400 mg/kgBB terdapat perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) hanya dengan kelompok kontrol Na-CMC 0,5% ($p=0,014$) dan kelompok EEDA dosis 100 mg/kgBB ($p=0,104$).

Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui pada hewan uji yang diberikan Na-CMC 0,5% tidak memiliki efek tonikum. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi dan Simaremare (2020) yang menyatakan bahwa Na-CMC 0,5% tidak memberikan efek tonikum (Pratiwi & Simaremare, 2020). Larutan Na-CMC 0,5% digunakan sebagai kontrol negatif dikarenakan untuk mengetahui suspensi yang diberikan apakah dapat berpengaruh terhadap pengujian. Selain itu, Na-CMC 0,5% juga digunakan sebagai pelarut ekstrak etanol daun alpukat yang tidak sepenuhnya larut dalam air. Oleh karena itu, Na-CMC 0,5% digunakan untuk membuat ekstrak dapat terdispersi secara merata dalam larutan uji, tahan terhadap pertumbuhan

mikroba, serta konsentrasi 0,5% juga telah mampu melarutkan ekstrak dengan baik sehingga dapat diperoleh suspensi yang baik. (Saputri et al., 2023)

Kelompok pemberian kafein pada penelitian ini menunjukkan ketahanan renang yang paling lama pada hewan uji. Hal ini dikarenakan kafein tergolong sebagai xanthin yang paling kuat dalam menghasilkan stimulan dan memberikan efek psikotonik kuat sehingga mampu menghilangkan gejala kelelahan dan dapat meningkatkan konsentrasi. Kafein merangsang korteks dan medula pada sistem saraf pusat sehingga dapat mencegah terjadinya kelelahan. Selain itu, kafein meningkatkan kesadaran dengan merangsang neuron kolinergik dan menghambat neuron GABA adrenergik yang mengurangi rasa kantuk dan secara langsung memodulasi reseptor dopamin postsinaptik (Febrinasari et al., 2016). Kafein bekerja berlawanan dengan adenosin yang sangat berpengaruh terhadap aktivitas sel saraf dengan cara menghambat ikatan reseptor adenosin. (Tari & Indriyana, 2021)

Pada penelitian ini diketahui bahwa adanya peningkatan dosis ekstrak daun alpukat, maka waktu ketahanan renang hewan uji juga akan meningkat. Efek tonikum yang dihasilkan oleh pemberian EEDA dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB diduga berasal dari flavonoid dan alkaloid yang terkandung dalam ekstrak. Flavonoid memberikan efek tonikum melalui mekanisme mengganggu penyerapan kalsium ke dalam retikulum sarkoplasma karena terjadi penghambatan ATP berikatan dengan kalsium ATPase. Hal tersebut mengakibatkan kalsium di sitosol berikatan dengan troponin yang mencegah terjadinya kelelahan karena adanya kontraksi otot. Selain itu, flavonoid juga memiliki mekanisme yang sama dengan kafein dalam memberikan efek tonikum yaitu dengan cara mengantagonis reseptor adenosin A₁ (Nabila et al., 2020).

Ekstrak etanol daun alpukat pada penelitian ini mengandung flavonoid yang terhitung sebagai kuersetin. Kuersetin memiliki efek psikostimulan yang mampu meningkatkan kinerja aktivitas fisik melalui mekanisme pemblokiran reseptor adenosin di otak dan meningkatkan aktivitas dopamin sehingga dapat menunda terjadi rasa lelah dan menyebabkan efek euforia . Selain itu, kuersetin juga merangsang biogenesis mitokondria yang merupakan proses dimana mitokondria baru dihasilkan di dalam sel. Peningkatan kepadatan mitokondria dapat berkontribusi pada sintesis energi (ATP) yang lebih baik di dalam sel otot sehingga dapat meningkatkan daya tahan dan mencegah terjadinya kelelahan .Penelitian lain juga menunjukkan bahwa kuersetin meningkatkan kinerja fisik dengan mengurangi membran otot dan mengurangi efek merugikan dari radikal oksigen yang berlebihan selama melakukan aktivitas (Askari et al., 2013).

D. SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, maka dapat disimpulkan: Ekstrak etanol daun alpukat positif mengandung senyawa flavonoid berdasarkan hasil skrining fitokimia dan uji KLT dengan nilai Rf sebesar 0,863. Selain itu, kadar flavonoid total yang terdapat dalam ekstrak etanol daun alpukat memiliki nilai rata-rata sebesar 6,91% yang dihitung sebagai kuersetin. Ekstrak etanol daun alpukat dengan dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB memiliki potensi sebagai tonikum dengan dosis terbaiknya dihasilkan oleh dosis 400 mg/kgBB yang memiliki efek yang hampir sama dengan kontrol positif kafein. Adapun saran: menggunakan jenis pelarut dan metode ekstraksi lain yang mampu memisahkan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai tonikum lebih maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggorowati, D., Priandini, G., & Thufail. (2016). Potensi daun alpukat (*persea americana miller*) sebagai minuman teh herbal yang kaya antioksidan. *Industri Inovatif*, 6(1), 1-7.
- Arwanda, S. N., Wibisono, & Sari, R. P. (2021). Efektivitas Daun Alpukat Untuk Kesehatan. *Nusantara Hasana Journal*, 1(2), 40-45. <https://nusantarahasanajournal.com/index.php/nhj/article/view/59>
- Askari, G., Ghiasvand, R., Paknahad, Z., Karimian, J., Rabiee, K., Sharifirad, G., & Feizi, A. (2013). The effects of quercetin supplementation on body composition, exercise performance and muscle damage indices in athletes. *International Journal of Preventive Medicine*, 4(1), 21.
- Azzahra, F., Arefadil Almalik, E., & Atkha Sari, A. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea Americana Mill.*) Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi* Dan *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Kefarmasian Akfarindo*, 1-10. <https://doi.org/10.37089/jofar.v0i0.63>
- Eka P, D. (2021). *Identifikasi Hidrokuinon Dalam Sabun Pemutih Pembersih Wajah Di Tiga Klinik Kecantikan Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis Dan Spektrofotometri Uv-Vi*. 2(4), 1147-1152.
- Febrinasari, N., Wijayanti, R., & Apriadi, A. (2016). Uji Stimulansia Ekstrak Kulit Umbi Bawang Putih (*Allium sativum L.*) pada Mencit Galus Swiss. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, 1(2), 42-49.
- Kharisma, K., Wahyuni, D., & Nurjanah, E. (2019). Uji Efek Tonikum Ekstrak Etanol Daun Trembesi (*Samanea saman*) pada Mencit Jantan Galur Swiss. *Prosiding Seminar Nasional Farmasi*, 24-31. <https://prosidingonline.iik.ac.id/index.php/semfarm/article/view/126>
- Li, C., & Zhang, L. (2013). In vivo Anti-fatigue activity of total flavonoids from sweetpotato [*Ipomoea batatas (L.) Lam.*] leaf in mice. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 50(4), 326-329.
- Mafitri, H M, & Parmadi, A. (2018). Uji Efek Tonikum Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb.*) terhadap Mencit dengan Metode Natatory Exhaustion. *Indonesian Journal On Medical Science*, 5(1), 64-69.
- Mafitri, Hanifah Miftah, Parmadi, A., Kesehatan, P., & Mulia, B. (2018). Uji Efek Tonikum Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb.*) terhadap Mencit dengan Metode Natatory Exhaustion The Tonic Effects Test of Ethanolic Extract of Pandan Wangi Leaf (*Pandanus amaryllifolius Roxb.*) on Mice by Using Natatory . *IJMS-Indonesian Journal On Medical Science*, 5(1), 2355-1313.

- Nabila, A., Puspitasari, C. E., & Erwinayanti, G. A. . S. (2020). Uji Efek Tonikum Ekstrak Etanol Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(1), 242–247.
- Natasa, E., Ferdinan, A., & Kurnianto, E. (2021). Identifikasi Senyawa Flavojoid Ekstrak Etanol Akar Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.). *Jurnal Komunitas Farmasi Nasional*, 1(2), 155–162.
- Noer, S. F., Wandira, A., Ashari, A. M., Apindiati, R. K., Tavita, G. E., & Dilla, S. Z. Z. (2023). Tonicum Activity of Red Ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) and Elephant Ginger (*Zingiber officinale* var. *Roscoe*) Ethanol Extract in Vivo. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(2), 176–181. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i2.4703>
- Pratiwi, R. D., & Simaremare, E. S. (2020). Uji efek stimulansia ekstrak etil asetat kulit kayu Akway (*Drymis piperita*) asal Papua pada tikus (*Ratus norvegicus*) jantan. *Jurnal Biologi Papua*, 12(1), 37–42.
- Ramadhani Setyawati, E., Endrawati, S., & Kesehatan Bhakti Mulia, P. (2019). Uji Efek Tonikum Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb) Schlecht) Terhadap Mencit Jantan Galur Swiss. *IJMS-Indonesian Journal On Medical Science*, 6(2), 52–56.
- Saputri, G. A. R., Nofita, N., & Sudarti, W. (2023). file:///D:/Download 2025/Uji Efektivitas Tonikum Kombinasi Ekstrak Daun Bidara Laut (*Ziziphus Mauritiana* L.) Dan Jus Kurma (*Phoenix Dactylifera* L.) Terhadap Mencit (*Mus Musculus*) Metode Natatory Exhaustion.pdf. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 10(11), 3294–3303. <https://doi.org/10.33024/jikk.v10i11.11245>
- Syamsul, E. S., Hakim, Y. Y., & Nurhasnawati, H. (2019). Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Kelakai (*Stenochlaena Palustris* (Burm. F.) Bedd.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 1(1), 11–20. <https://doi.org/10.33759/jrki.v1i1.46>
- Tari, M., & Indriyana, D. (2021). Uji Efek Tonikum Ekstrak Etanol Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* (L.) terhadap Mencit Putih Jantan dengan Metode Natatory Exhaustion. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*, 6(1), 21–34.
- Widarta, I. W. R., & Arnata, I. W. (2017). Ekstraksi Komponen Bioaktif Daun Alpukat dengan Bantuan Ultrasonik pada Berbagai Jenis dan Konsentrasi Pelarut. *Agritech*, 37(2), 148. <https://doi.org/10.22146/agritech.10397>
- Widyarini, Riskiyani, S., & Thaha Ridwan. (2014). The Consumption Behavior of Energy Drinks on Pete-Pete Driver Routes Sudiang Makassar. *Hasanuddin University Repository*.