SKRINING FITOKIMIA DAN PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) DENGAN METODE DPPH

SKRIPSI

Oleh:
Indra Wahyu Ismi Dwi Nofanda
NIM. 18040046

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022

SKRINING FITOKIMIA DAN PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) DENGAN METODE DPPH

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi

Oleh:
Indra Wahyu Ismi Dwi Nofanda
NIM. 18040046

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022

LEMBAR PERSETUJUAN

Peneilitian ini.telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi

Jember,31 Agustus 2022

Pembimbing utama,

Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M.Farm

NIDN. 0001028102

Pembimbing Anggota,

apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm

NIDN. 0703028901

Dipindai dengan CamScanner

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul *Skrining Fitokimia Dan Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (Moringa oleifera L.) Dengan Metode Dpph* telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Rabu

Tanggal : 14 September 2022

Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas dr. Soebandi Jember

Tim Penguji

Ketua Penguji,

I Gusti Ayu Karnasih, S.Kep. Ns., M.Kep, sp. Mat
NIDN. 4005116802

Penguji II,

Dr. apt. Ayik Puspaningtyas, M.Farm
NIDN. 0001028102

Penguji III,

apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm
NIDN. 0703028901

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas dr. Soebandi

Ns. Hella Meldy Tursina, S.Kep., M.Kep
NIDN. 0706109104

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Indra Wahyu Ismi Dwi Nofanda

NIM : 18040046

Program Studi : Sarjana Farmasi, Universitas dr.Soebandi Jember

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau hasil tulisan orang lain.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi/laporan tugas akhir ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 14 September 2022

Yang menyatakan

(Indra Wahyu Ismi Dwi N.)

SKRIPSI

SKRINING FITOKIMIA DAN PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) DENGAN METODE DPPH

Oleh:

Indra Wahyu Ismi Dwi Nofanda

NIM. 18040046

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M.Farm

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm

PERSEMBAHAN

Skripsi ini dengan sepenuh hati saya persembahkan kepada:

1. Allah SWT yang telah memberi rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Keluarga besar saya, Ayahanda tercinta Imam Sufi'I dan Ibunda Susiati yang selama ini telah sabar menunggu saya dalam menyelesaikan skripsi ini dengan terus memberikan motivasi dan semangat, juga telah berkorban baik secara moril maupun materiil serta selalu mendoakan saya hingga akhirnya mampu mencapai titik puncak untuk memperoleh gelar Sarjana S-1 Farmasi. Tidak lupa juga kepada Kakak tercinta Gilang Bayu Pratama yang telah membantu saya;
3. Seluruh dosen Fakultas Ilmu Kesehatan Prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember yang telah memberikan ilmu dan membimbing saya dengan sabar;
4. Para guru saya, dari TK sampai SMK yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat;
5. Elsya Putri Hermawan, Amd.Kep yang tiada henti memberikan semangat dan berdoa serta selalu sabar menemani saya dalam suka dan duka saat penulisan skripsi ini, tidak lupa juga memberikan kasih sayangnya yang tulus memberikan dukungan untuk meyakinkan saya melalui semua proses dalam penulisan skripsi ini;
6. Iqbal Gifar Maulana yang telah menemani saya mulai dari awal perkuliahan sampai penulisan skripsi ini, serta menjadi pendengar keluh kesah saya dengan sabar selama berada di Jember;
7. Teman-teman main saya selama di Jember Aden, Bagus, Dio, Naufal, Gifar, Dista, Jefrica, Tyas, Iza, Citamay, Anya dan Tiara;
8. Teman-teman Fakultas Ilmu Kesehatan Prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember angkatan 2018 khususnya Kelas 18-A yang memberikan cerita tersendiri bagi saya dalam mewarnai hari-hari dunia perkuliahan;

9. Amirul, Sendivo dan Mbak Anti yang telah memberikan semangat dan banyak membantu saya dalam mengerjakan skripsi ini selama berada di rumah, serta selalu memberi motivasi dan menghibur disaat mulai lelah dengan skripsi dan membuat saya bangkit kembali;
10. Pihak-pihak lain yang terlibat dan telah membantu dalam penulisan skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu;

MOTTO

“Hanya kepada Allah aku mengadukan kesusahan dan kesedihanku”

QS Yusuf:86

“Jadikan sholat dan sabar sebagai penolongmu”

QS Al-Baqarah: 45

“Sukses itu tidak harus bangun pagi dan kaki dibalut sepatu, definisi orang sukses adalah orang yang bisa menikmati hidupnya, bangga terhadap pekerjaannya dan bersyukur atas apa yang didapatnya”

Agus Kotak

“Dimanapun engkau berada selalulah menjadi yang terbaik dan berikan yang terbaik dari yang bisa kita berikan”

BJ Habibie

ABSTRAK

Nofanda, Indra Wahyu I. D* Puspaningtyas, Ayik Rosita** Fauziah, Dina Trianggaluh***. 2022. **SKRINING FITOKIMIA DAN PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) DENGAN METODE DPPH.** Skripsi. Program studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember.

Latar Belakang: Kelor memiliki lebih dari 90 jenis nutrisi antra lain vitamin esensial, mineral, asam amino, antipenuaan, dan antiinflamasi. Selain itu kelor mengandung 539 senyawa yang digunakan untuk mengobati 300 penyakit. Kandungan flavonoid pada daun kelor bisa berfungsi sebagai antioksidan khususnya beta karoten yang akan diubah menjadi vitamin A di dalam tubuh secara nyata berpengaruh terhadap hepatoprotektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor menggunakan metode maserasi dan sokletasi dengan metode DPPH.

Metode: Serbuk simplisia daun kelor diskrining dan diekstraksi dengan etanol 96% sebagai pelarut menggunakan metode maserasi dan sokletasi. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picril Hidrazil*) dengan pembanding kuersetin yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm pada menit ke-20.

Hasil Penelitian: Hasil skrining fitokimia daun kelor (*Moringa oleifera* L.) menunjukkan adanya senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tannin. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor dengan metode maserasi dan sokletasi menunjukkan nilai IC_{50} rata-rata 82,677 µg/mL dan 84 µg/mL. Nilai rata-rata IC_{50} kuersetin sebesar 6,603 µg/mL.

Kesimpulan: Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan metode maserasi dan sokletasi termasuk dalam ketegori kuat. Meskipun kedua metode tersebut tergolong memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, namun metode maserasi memiliki aktivitas antioksidan terbaik dibandingkan metode sokletasi yang dilihat dari besarnya nilai IC_{50}.

Kata Kunci: Daun kelor (*Moringa oleifera* L.), Antioksidan, Maserasi dan sokletasi, DPPH, IC_{50}.

*Peneliti

**Pembimbing 1

***Pembimbing 2

ABSTRACT

Nofanda, Indra Wahyu I. D* Puspaningtyas, Ayik Rosita** Fauziah, Dina Trianggaluh***. 2022. **PHYTOCHEMIC SCREENING AND EFFECT OF EXTRACTION METHODS ON ANTIOXIDANT ACTIVITY TESTING OF MORINGA LEAF (*Moringa oleifera L.*) Ethanol EXTRACT WITH DPPH METHOD**. Thesis. University of dr. Soebandi Jember.

Background: Moringa has more than 90 types of nutrients and other essential vitamins, minerals, amino acids, anti-aging, and anti-inflammatory. In addition, Moringa contains 539 compounds used to treat 300 diseases. The flavonoids content in Moringa leaves can function as antioxidants, especially beta carotene which will be converted into vitamin A in the body which significantly affects hepatoprotective. This study aims to determine the antioxidant activity of Moringa leaf ethanol extract using the maceration and soxhletation method with the DPPH method.

Methods: Moringa leaf simplicia powder is screened and extracted with 96% ethanol as solvent using maceration and soxhletation methods. Testing of antioxidant activity was carried out using the DPPH method (*1,1-Diphenyl-2-Picril Hidrazi*l) with a quercetin comparator measured using a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 515 nm at 20 minute.

Results: The results of phytochemical screening of Moringa leaves (*Moringa oleifera* L.) show the presence of flavonoid compounds, alkaloids, saponins and tannins. The results of testing the antioxidant activity of Moringa leaf ethanol extract by maceration and soxhletation methods showed an average IC50 value of 82,677 μg / mL and 84 μg / mL. The average value of the quercetin IC50 was 6.603 μg/mL.

Conclusion: Moringa leaf ethanol extract (*Moringa oleifera* L.) using maceration and soxhletation method belongs to the strong category. Although both methods are classified as having strong antioxidant activity, the maceration method has the best antioxidant activity compared to the soxhletation method as seen from the magnitude of the IC50 value.

Keywords: Moringa leaf (*Moringa oleifera* L.), Antioxidant, Maceration and soxhletation, DPPH, IC50.

*Author

**Advisor 1

***Advisor 2

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penyusunan Proposal Skripsi ini dapat terselesaikan. Proposal Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi degan judul "Skrining Fitokimia Dan Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Dengan Metode Dpph".

Selama proses penyusunan penulis dibantu dan dibimbing oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Drs. Said Mardijanto, S.Kep., MM selaku Rektor Universitas dr. Soebandi
2. Hella Meldy Tursina, S.Kep., Ns. M.Kep selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
3. apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi
4. Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M.Farm selaku pembimbing utama
5. apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm selaku pembimbing anggota
6. I Gusti Ayu Karnasih, S.Kep. Ns., M.Kep, sp.Mat selaku ketua penguji

Penulis tentu menyadari bahwa Proposal Skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Penulis mengharapkan kritik serta saran dari semua pihak demi kesempurnaan Proposal Skripsi ini.

Semoga Proposal Skripsi ini dapat bermanfaat. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih.

Jember, 18 April 2022

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN SAMPUL ..... **i**
HALAMAN JUDUL ..... **ii**
HALAMAN LEMBAR PERSETUJUAN ..... **iii**
HALAMAN PENGESAHAN ..... **iv**
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI ..... **v**
HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI ..... **vi**
HALAMAN PERSEMBAHAN ..... **vii**
MOTTO ..... **ix**
ABSTRAK ..... **x**
ABSTRACT ..... **xi**
KATA PENGANTAR ..... **xii**
DAFTAR ISI ..... **xiii**
DAFTAR TABEL ..... **xvii**
DAFTAR GAMBAR ..... **xviii**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xix**
DAFTAR SINGKATAN ..... **xx**
BAB 1 PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 5
1.3 Tujuan Penelitian 5
1.3.1 Tujuan Umum 5
1.3.2 Tujuan Khusus 5
1.4 Manfaat Penelitian 6
1.4.1 Manfaat bagi peneliti 6
1.4.2 Manfaat bagi peneliti lain 6
1.4.3 Manfaat bagi masyarakat 6
1.4.4 Manfaat bagi institusi pendidikan 6

1.5 Keaslian Penelitian 7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA 9
2.1 Tanaman Kelor (*Moringa oleifera)* 9
2.2 Morfologi Kelor 10
2.3 Klasifikasi 12
2.4 Kandungan Kimia 13
2.5 Penelitian Daun Kelor 15
2.6 Manfaat Kelor Bagi Kesehatan 16
2.7 Radikal Bebas 18
2.7.1 Definisi 18
2.7.2 Sumber 19
2.7.3 Tipe Radikal Bebas 20
2.7.4 Efek Radikal Bebas Dalam Tubuh 21
2.8 Antioksidan 22
2.8.1 Definisi 22
2.8.2 Sumber Antioksidan 23
2.8.3 Mekanisme Kerja 27
2.8.4 Penggolongan Antioksidan 28
2.8.5 Uji Aktivitas Antioksidan 30
2.9 DPPH 32
2.9.1 Definisi 32
2.9.2 Mekanisme Kerja Metode DPPH Terhadap Antioksidan 33
2.10 Ekstraksi 34
2.10.1 Definisi dan tujuan 34
2.10.2 Metode ekstraksi 35
A. Cara dingin 35
B. Cara panas 37
2.10.3 Pelarut 38
2.11 Instrumen Spektrofotometri UV-VIS 39
2.11.1 Definisi 39
2.11.2 Tipe-Tipe 41

2.11.3 Persyaratan Penggunaan 42
BAB 3 KERANGKA KONSEP 44
3.1 Kerangka Konsep 44
3.2 Hipotesis Penelitian 45
BAB 4 METODE PENELITIAN 46
4.1 Desain Penelitian 46
4.2 Populasi dan Sampel 46
4.2.1 Populasi 46
4.2.2 Sampel 46
4.3 Variabel Penelitian 46
4.3.1 Variabel Bebas 46
4.3.2 Variabel Terikat 47
4.3.3 Variabel Terkendali 47
4.4 Tempat dan Waktu Penelitian 47
4.5 Definisi Oprasional 47
4.6 Tehnik dan Instrumen Pengumpulan Data 49
4.6.1 Alat dan Bahan 49
4.6.2 Teknik Pengumpulan Data 49
4.7 Teknik Analisis Data 55
4.8 Kerangka Operasional 56
5.1 Hasil Determinasi Tanaman 57
5.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel 57
5.3 Ekstraksi 57
5.4 Skrining Fitokimia 59
5.5 Pengukuran Antioksidan 59
5.5.1 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum 59
5.5.2 Optimasi Waktu Inkubasi 60
5.5.3 Pengukuran Absorbansi Kuersetin dan Ekstrak Etanol Daun Kelor 61
5.5.4 Hasil Analisis Nilai IC50 Kuersetin dan Ekstrak Daun Kelor 63
5.5.5 Hasil Analisis Data 64
BAB 6. PEMBAHASAN PENELITIAN 65

6.1 Ekstraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) 65
6.2 Skrining Fitokimia Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) 66
6.3 Aktivitas Antioksidan 67
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN 73
7.1 Kesimpulan 73
7.2 Saran 73
DAFTAR PUSTAKA 74

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian 7

Tabel 2.1 Komposisi senyawa daun kelor..... 14

Tabel 2.2 Struktur radikal bebas biologis 21

Tabel 2.3 Sumber antioksidan alami..... 26

Tabel 2.4 Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH..... 33

Tabel 4.1 Definisi Oprasional 47

Tabel 5.1 Hasil ekstraksi daun kelor..... 58

Tabel 5.2 Hasil skrining fitokimia daun kelor 59

Tabel 5.3 Persamaan regresi linear dan nilai IC_{50} kuersetin dari Menit ke-10 sampai menit ke-60..... 61

Tabel 5.4 Hasil absorbansi kuersetin 62

Tabel 5.5 Hasil absorbansi ekstrak daun kelor dengan metode maserasi 62

Tabel 5.6 Hasil absorbansi ekstrak daun kelor dengan metode sokletasi 63

Tabel 5.7 Hasil nilai IC_{50} kuersetin dan ekstrak daun kelor 64

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Tanaman Kelor 11
Gambar 2.2 contoh senyawa fenol 24
Gambar 2.3 struktur dasar flavonoid 25
Gambar 2.4 Struktur kimia senyawa DPPH radikal dan non radikal 32
Gambar 2.5 Reduksi DPPH oleh senyawa antioksidan 34
Gambar 2.6 Maserasi 35
Gambar 2.7 Diagram alat spektrometer UV-Vis (single beam) 41
Gambar 2.8 Skema spektrofotometer UV-Vis (Double-beam) 42
Gambar 3.1 Kerangka konsep 44
Gambar 4.1 Kerangka Oprasional 56
Gambar 5.1 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum 60
Gambar 5.2 Absorbansi kuersetin dari menit ke-10 dampai menit ke-60 61

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1 Hasil Determinasi Tumbuhan 80

Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian 81

Lampiran 3 Perhitungan Rendemen Ekstrak 82

Lampiran 4 Skrining Fitokimia 83

Lampiran 5 Grafik Panjang Gelombang 85

Lampiran 6 Perhitungan Larutan Uji dan Hasil Absorbansi Larutan Uji 86

Lampiran 7 Perhitungan Persen Peredaman DPPH dan IC_{50} Larutan Uji 88

Lampiran 8 Hasil Analisis data dengan SPSS 95

DAFTAR SINGKATAN

BHA	: *Butylated Hydroxy Anisole*
BHT	: *Butylated Hydroxy Toluene*
TBHQ	: *Tert-Butylhydroquinone*
PG	: Propil Galat
ROS	: *Reactive Oxygen Species*
EDTA	: Asam Etilena Diamina Tetra Asetat
SOD	: Superoksida Dismutase
DNA	: *Deoxyribo Nucleic Acid*
IC_{50}	: *Inhibition Concentration 50%*
DPPH	: *1,1-Diphenyl-2-Picril Hidrazil*
UV-VIS	: Ultraviolet Visibel
PUFA	: *Poly Unsaturated Fatty Acid*
DMPO	: 5,5-dimetil-1-pirolin-N-oksida
ORAC	: *Oxygen Radical Absorbance Capacity*
AAPH	: *2,2-azobis-2-amidopropane dihydrochloride*
EC50	: *Efficient Concentration*
Etanol p. a	: Etanol pro analisis

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sumber daya alam yang berlimpah dan beranekaragam di Indonesia menjadikan masyarakat Indonesia kreatif dalam memanfaatkan hasil sumber daya alam mulai keikutsertaan berperan dalam mendukung perekonomian negara dan juga untuk keseharian seperti menjadikannya sebagai masakan sehari-hari (Rizkayanti dkk, 2017). Minat warga negara Indonesia yang kurang dalam memanfaatkan hasil alam dan lebih memilih untuk beralih ke makanan instan menjadikan negara Indonesia memiliki keterbatasan dalam menanggulangi masalah kesehatan, seperti penyakit *degenerative* yang semakin meningkat. Maka dari itu, penyakit *degenerative* merupakan masalah kesehatan yang serius. (Werdhasari, 2014)

Penyakit *degenerative* dapat diakibatkan dari radikal bebas yang ada dilingkungan sekitar. Salah satu contohnya adalah polusi udara yang sulit untuk dikendalikan dan tubuh secara tidak langsung terpapar oleh hal tersebut secara kontinyu akan berdampak buruk bagi tubuh. (Hasanah dkk, 2017)

Penyakit *degenerative* juga dapat disebabkan dari makanan cepat saji, minuman berkarbonasi, gorengan, makanan instan dan lain-lain. Hal ini dikarenakan makanan cepat saji atau sering disebut juga *junk food* banyak mengandung gula, garam serta lemak jenuh yang berlebih, tetapi kandungan nutrisi dan seratnya masih sedikit sehingga terjadi penumpukan kolesterol dipembuluh darah yang menyebabkan penyakit hipertensi dan jantung koroner. Konsumsi *junk food* yang berlebihan akan menyebabkan gangguan metabolik,

penurunan fungsi otak dan sistem saraf, gangguan fungsi imun sampai kanker. (Handayani, 2019)

Antioksidan berguna sebagai penetralisis radikal bebas di dalam tubuh serta meredam dampak negatifnya. Antioksidan bisa dijumpai dalam bentuk sediaan sintetis dan alami. Sediaan sintetis mempunyai banyak efek samping yang merugikan bagi tubuh. *Butylated Hydroxy Anisole* dan *Butylated Hydroxy Toluene* merupakan contoh antioksidan sintetis yang dapat mengakibatkan gangguan fungsi hati, paru, mukosa usus dan keracunan. Oleh karena itu, antioksidan dari bahan alam dapat menjadi alternatif. Antioksidan dari bahan alam memiliki keunggulan yaitu dapat melindungi tubuh dari kerusakan spesies oksigen reaktif, dapat menghambat penyakit *degenerative* dan menghambat peroksidasi lipid pada makanan. Antioksidan bahan alam diperoleh dari tumbuhan yang tersebar pada bagian tumbuhan mulai dari akar, batang, daun, bunga, buah, biji, maupun serbuk sari. (Ikhlas, 2013; Lisi dkk, 2017)

Indonesia sebagai negara tropis mempunyai aneka ragam flora yang dapat dikembangkan sebagai tanaman obat, salah satunya untuk antioksidan alami. Tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) merupakan contoh tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai antioksidan. Kelor memiliki beberapa julukan, antara lain *the miracle tree, tree for life,* dan *amazing tree* karena bagian pohon kelor mulai dari daun, buah, biji, bunga kulit batang hingga akar memiliki manfaat bagi tubuh. (Yuliani & Dienina, 2015)

Kelor memiliki lebih dari 90 jenis nutrisi antra lain vitamin esensial, mineral, asam amino, antipenuaan, dan antiinflamasi. Selain itu kelor

mengandung 539 senyawa yang digunakan untuk mengobati 300 penyakit. Bagian dari kelor berguna sebagai stimulan jantung, antitumor, antipiretik, antiepilepsi, antiinflamasi, *antiulcer*, *diuretic*, antihipertensi, antikolesterol, antioksidan, antidiabetik, antibakteri, dan anti jamur. Kelor juga terdapat mineral, asam amino, essensial, antioksidan seperti vitamin C, vitamin E, Flavonoid, tannin. (Nurbaya & Silalahi, 2017; Rizkayanti dkk, 2017)

Ekstraksi merupakan salah satu cara untuk menarik senyawa antioksidan yang terkandung di dalam daun kelor. Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa metode, seperti maserasi, sokletasi, destilasi, fraksinasi dan perkolasi. Ekstraksi metode maserasi memiliki banyak keunggulan dan metode yang paling banyak dilakukan dibanding metode ekstraksi lain (Sitepu, 2015). Ekstraksi metode maserasi adalah proses ekstraksi sederhana menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar. Sedangkan metode ekstraksi sokletasi adalah ekstraksi pelarut yang selalu baru, biasanya dilakukan dengan peralatan khusus yang sedemikian rupa sehingga terjadi ekstraksi terus menerus dengan jumlah pelarut yang relatif konstan pada kondisi pendinginan kembali. (Istiqomah, 2013)

Alasan pemilihan metode maserasi dan sokletasi karena kedua metode tersebut memiliki banyak keunggulan dibandingkan metode ekstraksi lainnya. Keuntungan utama dari metode ekstraksi maserasi adalah prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan metode ekstraksi maserasi tidak memerlukan pemanasan, sehingga bahan alam tidak terurai. Meskipun banyak senyawa dapat diekstraksi dengan ekstraksi dingin, beberapa senyawa memiliki kelarutan yang

terbatas dalam pelarut ekstraksi pada suhu kamar. Metode ekstraksi sokletasi merupakan metode ekstraksi terbaik untuk mendapatkan hasil ekstraksi yang banyak dengan menggunakan pelarut yang lebih sedikit, membutuhkan waktu yang lebih singkat, sampel yang diekstraksi menjadi maksimal karena dilakukan berulang. (Istiqomah, 2013)

Berdasarkan penilitian yang sudah dilakukan oleh Hasanah, dkk (2017) tentang uji aktivitas antioksidan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) menunjukkan bahwa daun kelor memiliki senyawa flavonoid yang berguna sebagai antioksidan. Hal tersebut ditunjukkan dari hasil skrining fitokimia yang dilakukan. Didukung penelitian Tutik, dkk (2018) bahwa ekstrak etanol daun kelor memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 103,98 µg/mL. Menurut Sandi, dkk (2019) tanaman kelor memiliki perbedaan morfologi dan anatomi pada berbagai ketinggian, sehingga kandungan metabolit yang terkandung pada kelor juga berbeda.

Berdasarkan beberapa penelitian yang sudah dilakukan di atas, maka akan dilakukan skrining fitokimia dan pengaruh metode ekstraksi terhadap uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan metode DPPH menggunakan pelarut etanol. Daun kelor diambil dari Pasuruan, Jawa timur yang diperoleh secara acak dengan warna daun hijau segar tanpa terdapat bintik putih, bercak kuning dan berlubang. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat besar potensi antioksidan yang terkandung dari ektrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) tersebut. Metode penelitian aktioksidan ini menggunakan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) dengan spektrofotometri UV-VIS. Metode

DPPH merupakan salah satu pengukuran yang paling umum digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada suatu tanaman. Kelebihan metode ini antara lain memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas yang tinggi pada pelarut organik dalam suhu kamar, sangat mudah dan sederhana saat digunakan, membutuhkan sampel sedikit dan waktu yang singkat, serta hanya membutuhkan spektrofotometri UV-VIS. (Ikhlas, 2013)

1.2 Rumusan Masalah

1. Apa saja kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol daun kelor dengan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi?
2. Apakah ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang diuji menggunakan metode DPPH?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang diuji menggunakan metode DPPH.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan metode maserasi dan sokletasi
2. Mengidentifikasi nilai IC50 ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) menggunakan metode DPPH.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan beberapa manfaat, antara lain:

1.4.1 Manfaat bagi peneliti

Dapat mengetahui kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan menggunakan metode DPPH.

1.4.2 Manfaat bagi peneliti lain

Penelitian ini mampu dijadikan dasar dalam penelitian selanjutnya untuk pencarian antioksidan yang lebih baik lagi dan bisa menjadi sumber informasi dan referensi yang dapat menjadi bahan pertimbangan dalam penelitain selanjutnya.

1.4.3 Manfaat bagi masyarakat

Penelitian ini mampu memberikan informasi serta menambah ilmu pengetahuan bagi masyarakat dibidang kesehatan dan potensi antioksidan dari ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.).

1.4.4 Manfaat bagi institusi pendidikan

Penelitian ini mampu menjadi referensi bagi mahasiswa lain terkait uji aktivitas antioksidan daun kelor (*Moringa oleifera*).

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Judul Penelitian	Nama Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (*Moringa oleifera, Lamk*) Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (Dpph)	Ni Nyoman & Desmira, 2015	a) Menggunakan sampel daun kelor b) Menggunakan metode DPPH	a) Menggunakan infusa daun kelor b) Menggunakan pembanding vitamin C
Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* LAM)	Rizkayanti, dkk., 2017	a) Menggunakan sampel daun kelor b) Menggunakan metode DPPH	a) Menggunakan metode ekstraksi dekok b) Menggunakan pembanding vitamin C
Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum* Linn) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)	Nur Ikhlas, 2013	Menggunakan metode DPPH	a) Menggunakan sampel daun kemangi b) Menggunakan berbagai macam pelarut antara lain n-heksan, etil asetat, etanol
Pemanfaatan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Dalam Sediaan Hand And Body Cream	Febby Hardiyanthi, 2015	a) Menggunakan tanaman daun kelor b) Menggunakan metode DPPH c) Menggunakan metode ekstraksi maserasi	a) Diaplikasikan dalam sediaan cream b) Menggunakan pengeringan freeze dryer dan tanpa menggunakan freeze dryer

Identifikasi Dan Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor Pada Variasi Pelarut Dengan Metode Dpph	Tutik., dkk, 2018	a) Menggunakan tanaman daun kelor b) Menggunakan metode DPPH c) Menggunakan metode ekstaksi maserasi	Menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kelor (*Moringa oleifera)*

Tanaman kelor (*Moringa oleifera L*.) berasal dari dataran disepanjang sub Himalaya antara lain India, Pakistan, Bangladesh, dan Afganistan. Beberapa negara menyebut kelor dengan sebutan *benzolive, drumstick tree, marango, mlonge, sajihan, mulangay, sajna,* dan *nebeday*. (Ma'ruf dkk, 2017)

The Miracle Tree, Tree for Life, Amazing Tree, merupakan julukan untuk tanaman kelor. Julukan tersebut muncul karena mulai dari akar, kulit batang, daun, bunga, buah, serta biji mempunyai manfaat yang luar biasa. Dunia internasional sedang menggalakan program budidaya terhadap tanaman kelor. Tanaman kelor merupakan tanaman yang mudah dikembangbiakkan, mampu hidup pada berbagai jenis tanah, tahan terhadap musim kemarau, serta tidak memerlukan perwatan yang intensif. Sehingga tanaman kelor dapat tumbuh subur di negara tropis. (Hardiyanthi, 2015)

Sebagai negara tropis, Indonesia mempunyai beragam hayati yang dapat tumbuh subur. Salah satu tanaman yang banyak tersebar hampir di seluruh wilayah Indonesia adalah kelor (*Moringa oleifera L.*). Beberapa masyarakat di Indonesia tanaman kelor dikenal dengan berbagai nama antara lain masyarakat Sulawesi menyebutnya kero, wori, kelo atau keloro. Masyarakat Aceh menyebutnya murong. Di Madura kelor disebut maronggih. Masyarakat Minang menyebutnya munggai. Orang-orang Sumbawa menyebutnya kawona. Di Ternate

kelor lebih populer disebut kelo. Sedangkan masyarakat Sunda dan Melayu mengenal dengan nama kelor. (Hardiyanthi, 2015)

Adat istiadat yang berada di Indonesia sangat beragam sehingga sangat banyak terdapat mitos dan pantangan yang dilakukan dalam keseharian. Daun kelor terdapat mitos yaitu dipercaya dapat untuk menangkal sihir, peluruh jimat, mengalahkan makhluk halus serta menghilangkan kesaktian atau kekuatan seseorang yang ada kaitannya dengan makhluk halus. Salah satu daerah yang masih mempercayai mitos tersebut antara lain kota Batu, Tumpang, Dampit, Junrejo, dan Karangploso. Daun kelor digunakan untuk memandikan jenazah dan pakan ternak. Hal tersebut menunjukkan bahwa masyarakat kurang maksimal dalam memanfaatkan daun kelor dengan baik. (Hardiyanthi, 2015)

2.2 Morfologi Kelor

Faktor lingkungan dan faktor genetika merupakan ketentuan dari morfologi setiap tumbuhan. Keduanya berinteraksi selama siklus hidup tumbuhan, maka hal tersebut memunculkan bentuk yang bereda antar spesies. Perkembangan tumbuhan berawal dari biji sampai dewasa akan mengalami perubahan biokimia, fisiolog, anatomi dan morfologi. Contoh hal tersebut adalah tumbuhan akan mengalami elastisitas yakni faktor lingkungan yang dapat merubah morologi suatu tumbuhan. (Sandi dkk, 2019)

Kelor mempunyai batang berkayu (lignosus), tegak, berkulit tipis, mudah patah, dan berwarna putih kotor. Kelor juga termasuk golongan tanaman perdu yang yang berumur panjang dapat berupa semak atau pohon yang dapat mencapai tinggi 7-12 meter. Mempunyai cabang yang jarang dengan arah percabangan atau

miring serta cenderung tumbuh lurus dan memanjang (Aminah dkk, 2015). Menurut Krisnadi (2015) kelor dapat diperbanyak dengan cara generatif (biji) atau dengan vegetatif (stek batang). Krisnadi menambahkan bahwa tanaman kelor dapat tumbuh pada dataran tinggi ± 1000 meter di bawah permukaan laut sampai pada dataran yang rendah. Sebagaian masyarakat di pedesaan banyak yang menanam kelor sebagai tapal batas atau pagar halaman rumah atau ladang.

Kulit batang dan cabang tanaman kelor mempunyai segi sifat anatomi yang khas yaitu terdapat sel-sel mirosin dan buluh buluh gom. Bunga yang terdapat pada kelor merupakan bunga banci, zigomorf yang tersusun pada malai yang terdapat pada ketiak daun. Kelopak tanaman kelor terdiri atas lima daun kelopak dan mahkotanya terdiri atas lima daun mahkota, lima benang sari, bakal biji banyak, serta bakal buah. Pada musim-musim tertentu daun kelor dapat meranggas atau menggugurkan daunnya. (Pramita, 2017)

Gambar 2.1 Tanaman Kelor. (Dokumentasi pribadi, 2022)

Tanaman kelor memiliki daun yang berbentuk bulat telur, bersirip tidak sempurna, beranak daun gasal, tersusun majemuk dalam satu tangkai, dan hanya sebesar ujung jari. Setiap helai daun kelor berwarna hijau, ujung daun tumpul,

pangkal daun membulat, tepi daun yang rata, tersusun atas pertulangan daun menyirip berukuran 1-2 cm. (Habibah, 2018)

Tanaman kelor mempunyai buah berbentuk segitiga yang panjangnya sekitar 20-60 cm dan berwarna hijau. Biji kelor berasal dari buah kelor yang dapat dibuat menjadi tepung atau minyak untuk diolah menjadi obat herbal dan kosmetik yang mempunyai nilai tinggi. Biji di dalam polong memiliki bentuk bulat dan berwarna coklat kehitaman. Pada setiap polong terdapat 12-35 biji. Setiap tahunnya tanaman kelor dapat menghasilkan 15.000-25.000 biji. (Laras, 2018)

Akar tanaman kelor merupakan akar tunggang berwarna putih dan dapat membesar seperti lobak. Sedangakan kulit akar kelor mempunyai rasa pedas dan bau tajam. Bagian dalamnya berwarna kuning pucat dan memiliki garis halus, bentuknya tidak beraturan, permukaan luar kulit agak licin, serta permukaan dalam sedikit berserabut. (Laras, 2018)

2.3 Klasifikasi

Berdasarkan Integrated Taxonomic Information System (Angelina dkk, 2021) taksonomi dari kelor (*Moringa oleifera L.*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)

Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)

Superdivisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)

Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)

Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)

Sub Kelas : Dilleniidae

Ordo : Cappareles

Famili : Moringaceae

Genus : Moringa

Spesies : Moringa oleifera Lam

2.4 Kandungan Kimia

Penduduk Indonesia khususnya di daerah pedesaan sering menggunakan daun kelor sebagai obat tradisional. Kandungan metabolit primer yang terdapat pada daun kelor seperti protein, lemak, vitamin, berbagai mineral, karbohidrat, dan asam amino yang dapat digunakan sebagai alternatif makanan pada kasus malnutrisi. Tidak hanya metabolit primer kelor juga mengandung metabolit sekunder. (Yuliani & Dienina, 2015)

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Simbolon (2019) mengemukakan bahwa daun kelor mengandung vitamin A, vitamin B, Vitamin C, kalium, kalsium, protein, dan besi dalam jumlah yang tinggi sehingga mudah dicerna dan diasimilasi oleh tubuh. Krisnadi menambahkan kelor juga mengandung lebih dari 40 antioksidan pada pengobatan tradisional Afrika dan India serta sudah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mencegah lebih dari 300 penyakit.

Kandungan flavonoid pada daun kelor bisa berfungsi sebagai antioksidan khususnya beta karoten yang akan diubah menjadi vitamin A di dalam tubuh secara nyata berpengaruh terhadap hepatoprotektif (Suaskara dkk, 2016). Senyawa glukosianat dan isotiosinat dalam tanaman kelor berfungsi sebagai hipotensif, menghambat aktivitas bakteri dan jamur serta berperan sebagai anti kanker. Metabolit sekunder yang terdapat pada daun kelor selain flavonoid yaitu

alkaloid, triterpenoid dan tanin yang di ekstrak akuades panas (70 derajat celcius). Dengan hasil nilai IC_{50} yang baik ekstrak daun kelor memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.colli* dan *Staphylococcus aureus.* (Suaskara dkk, 2016)

Tabel 2.1 Komposisi senyawa daun kelor (Hardiyanthi, 2015).

Mineral	Asam amino esensial	Kandungan sekunder	Karotenoid & asam askorbat
Potassium	Sistin	Saponin	Leutein
Kalsium	Methionin	Phenols	Vloxanthin
Magnesium	Valin	Phytates	Trans-β-carotene
Sodium	Isoleusin	Tanin	Cis-β-carotene
Phosphor	Leusin		Total-β-carotene
Tembaga	Tyrosin		Asam askorbat
Mangan	Fenilanin		
Seng	Histidin		
Besi	Lysine		
	Treonin		
	Tryptophan		

Vitamin A yang terkandung dalam serbuk daun kelor memiliki 10 kali lebih banyak dibandingkan dengan wortel, memiliki vitamin B1 4 kali lebih banyak dibanding daging babi, 50 kali lebih banyak mengandung vitamin B3 dibanding kacang, serbuk daun kelor mengandung 50 kali lebih banyak mengandung vitamin B2 dibanding sardines, 4 kali lebih banyak mengandung vitamin E dibanding minyak jagung, 25 kali lebih banyak mengandung zat besi dibanding bayam, mengandung beta karoten 4 kali lebih banyak dibanding wortel, 15 kali lebih banyak mengandung kalium dibanding pisang, 6 kali lebih banyak

mengandung zinc dibanding kacang almond, mengandung kalsium 17 kali lebih banyak dibanding susu, 6 kali lebih banyak mengandung asam amino dibandingkan bawang putih, serta 9 kali lebih banyak mengandung protein dibanding yogurt. (Hardiyanthi, 2015)

2.5 Penelitian Daun Kelor

Penelitian sebelumnya yang juga melakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan daun kelor yang dilakukan oleh Hasanah, dkk (2017) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor dapat menangkap radikal bebas yang masih lemah dibandingkan dengan vitamin E yang termasuk golongan antioksidan sangat kuat. Pada penelitiannya daun kelor mengandung flavonoid yang berperan sebagai antioksidan yang ditunjukkan dengan pencampuran methanol dan H_2SO_4 pekat, maka akan terjadi perubahan warna yang mula-mula berwarna kuning tua menjadi warna merah.

Infusa daun kelor yang dilakukan penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa infusa daun kelor menunjukkan antioksidan dengan mengunakan vitamin C sebagai pembanding. Antioksidan infusa daun kelor yang sangat lemah dapat disebabkan karena senyawa tersebut tidak dalam keadaan murni, maka harus dilakukan fraksinasi agar nilai IC_{50} dari senyawa lebih kuat dibanding dengan ekstrak yang tidak murni. (Yuliani & Dienina, 2015)

Dari berbagai macam pelarut yang dapat digunakan dalam ekstraksi daun kelor seperti n-heksan, etil asetat, dan etanol untuk menentukan aktivitas antioksidan berdasarkan uji fitokimia ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak yang paling banyak menganduk metabolit sekunder yang bersifat sebagai antioksidan

adalah ektrak dengan menggunakan pelarut etanol. Hal tersebut terjadi karena pelarut n-heksan yang bersifat non polar sehingga hanya bisa melarutkan senyawa yang bersifat non polar seperti asam lemak, kumarin, sterol, dan terpenoid. Sedangkan pelarut etanol yang bersifat polar dapat melarutkan senyawa polar seperti steroid, flavonoid dan fenol secara maksimal yang terdapat pada tumbuhan. (Tutik dkk, 2018)

Aktivitas antioksidan yang sudah banyak dilakukan menginspirasi penelitian yang dilakukan oleh Hardiyanthi (2015) menjadikan ekstrak daun kelor menjadi sediaan hand and body cream. Pada hasil penelitiannya semakin banyak konsentrasi yang digunakan dalam formulasi maka semakin tinggi pula kandungan antioksidannya untuk merawat kulit dari polusi disekitar lingkungan. Selain kandungan antioksidan hand and body cream ekstrak daun kelor juga dapat bersifat antimikroba antara lain senyawa saponin, flavonoid, tanin dan alkaloid. Mekanisme kerja antibakteri ini dengan merusak membrane sel bakteri. Masih banyak lagi penelitian yang menggunakan daun kelor. Maka dari itu potensi daun kelor sangat besar untuk dijadikan sebagai pengobatan tradisional.

2.6 Manfaat Kelor Bagi Kesehatan

Seluruh bagian dari tanaman kelor dapat dimanfaatkan dengan cara yang baik dan benar. Mengingat julukan kelor dengan sebutan miracle tree, tree for life dan amazing tree. Hal tersebut memiliki potensi digunakan dalam pengolahan pangan, industri dan kosmetik. (Hasanah dkk, 2017)

Zaman dahulu pengolahan daun kelor sebagai bahan pangan seperti sayur dapat digunakan sebagai mengatasi malnutrisi untuk balita dan ibu menyusui.

Selain dibuat sayur untuk makanan sehari-hari kelor juga bisa dijadikan dalam bentuk tepung. Kadar air yang sudah berkurang pada proses pembuatan tepung dapat terawetkan secara alami selama beberapa bulan tanpa pendinginan dan juga tidak terjadi kehingan nilai gizi. Selain itu kalori, kandungan protein, kalsium, zat besi dan vitamin A juga akan meningkat pada proses pengolahan kelor menjadi tepung. (Isnan & M, 2017)

Seiring berjalannya waktu dan sosial media yang mudah untuk diakses menjadikan pengolahan kelor berkembang dengan cepat. Pasalnya pengolahan daun kelor saat ini sangat beragam yang banyak dijumpai dipasaran. Kerupuk kelor, kue kelor, permen kelor dan teh daun kelor merupakan sebagian contoh dari pemanfaatan daun kelor yang lebih inovatif. (Isnan & M, 2017)

Batang dari tanaman kelor dapat berfungsi untuk menghambat pertumbuhan sel kanker. Batang kelor terbukti efektif menghambat pertumbuhan sel kanker, seperti kanker payudara, pankreas, dan usus besar. Daun kelor dapat bermanfaat sebagai obat tradisional antara lain menurunkan kadar gula darah, mengatasi peradangan, mengontrol tekanan darah, memelihara fungsi otak, menghambat pertumbuhan kanker, meningkatkan daya tahan tubuh, mengatasi edema, mencegah kanker usus besar, menunda penuaan. (Trisnawati & Mutaqien, 2021)

Pada bidang kecantikan ekstrak daun kelor dapat diformulasi menjadi sediaan *hand and body cream* sebagai zat aktif. Penggunaan *hand and body cream* dapat melindungi kulit dari radiasi sinar ultra violet, memenuhi kebutuhan yang

diperlukan oleh kulit tubuh serta mengatasi kulit kering yang diakibatkan oleh asupan vitamin B2 yang berkurang. (Ulfa dkk, 2016)

2.7 Radikal Bebas

2.7.1 Definisi

Oksigen sangat penting bagi organisme aerobik untuk proses metabolisme, oksigen diperlukan sebanyak kurang lebih 352,81 liter dalam kurun waktu 24 jam. Kebutuhan tersebut diperlukan untuk pernapasan kurang lebih sebanyak 23 ribu kali. Dari proses metabolisme tersebut menghasilkan radikal bebas sebanyak 2,5% dari oksigen total yang dibutuhkan yaitu sebanyak 3,4 kg setiap 24 jam. (Widayati, 2012)

Radikal bebas berasal dari bahasa latin *radicalis* yang berarti bahan kimia yang dapat berupa atom maupun molekul yang tidak memiliki elektron berpasangan dilapisan luarnya. *Reactive oxygen species* (ROS) merupakan sebutan nama lain dari radikal bebas. Kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang semakin tinggi akan menyebabkan penimbunan kolesterol pada dinding pembuluh darah dan berakibat atherosklorosis atau yang sering desubut dengan penyakit jantung koroner. (Violita, 2020)

Radikal bebas diperlukan untuk kelangsungan beberapa proses fisiologis dalam tubuh. Dalam kadar normal radikal bebas diperlukan untuk kebutuhan perkembangan sel dan membantu leukosit atau sel darah putih menghancurkan kuman yang masuk kedalam tubuh. Sehingga radikal bebas berperan untuk sistem imun dalam tubuh. *Stress oxidative* merupakan ketidak seimbangan antara radikal bebas dan antioksidan yang mengakibatkan gangguan sistem kerja imun. Orang

yang merokok, baik perokok aktif maupun orang yang terpapar asap rokok (perokok pasif) akan melemahkan sistem imun. Pembakaran dari asap rokok menghasilkan radikal bebas yang berkali lipat dibandingkan dengan radikal bebas yang dihasilkan pada metabolisme tubuh pada keadaan normal. Superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutation peroksidase merupakan enzim-enzim yang telah disintesis tubuh untuk menjadi sistem pertahanan terhadap radikal bebas. (Aminah dkk, 2015)

2.7.2 Sumber

Menurut Sibuea (2017) sumber radikal bebas dapat berasal dari 2 sumber antara lain :

a. Sumber endogen

Makanan yang dikonsumsi sehari-hari untuk menghasilkan tenaga mengandung lebih dari 90% oksigen dalam proses metabolisme. Hal tersebut sering dikenal dengan electron transport chain yang akan memproduksi radikal bebas superoxide anion (O_2). Semakin sering olahraga dan lebih intensif maka akan lebih banyak mengkonsumsi oksigen. Sel darah putih seperti netrofil akan memproduksi radikal bebas yang berguna untuk pertahanan tubuh dalam melawan pathogen yang menyerang. Selain itu beberapa obat-obatan yang dikonsumsi dapat menyebabkan produksi radikal bebas dan mempunyai efek oksidasi. Radikal bebas juga bisa terbentuk dalam berbagai reaksi enzim. Pada hakikatnya oksigen sangat penting untuk produksi energi tetapi akan ada oksigen yang akhirnya membentuk radikal bebas. (Sibuea, 2017)

b. Sumber eksogen

Lapisan ozon di atmosfer yang berfungsi sebagai perlindungan bumi untuk menyerap sinar ultraviolet yang dihasilkan dari sinar matahari yang akan masuk ke bumi. Seiring berjalannya waktu lapisan ozon mengalami penipisan sehingga sinar UV akan meningkatkan kadar radikal bebas secara mendadak. Polusi udara yang dihasilkan dari asap kendaraan, asap rokok dan industri juga akan menjadi radikal bebas yang merugikan tubuh. Selain itu sumber radiasi, bahan kimia, mikroorganisme yang patologik juga merupakan sumber eksogen radikal bebas. (Sibuea, 2017)

2.7.3 Tipe Radikal Bebas

Radikal bebas yang penting dalam tubuh salah satunya adalah radikal derivate dari oksigen yang biasa disebut oksigen reaktif (reactive oxygen species/ROS), di dalamnya terdapat tunggal (singlet/$1O_2$), triplet ($3O_2$), radikal hidroksil (-OH), anion superoksida (O_2-), nitrit oksida (NO-), asam hipoklorus (HOCI), peroksinirit (ONOO-), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal peroksil (LO-2), dan radikal alkoxyl (LO-). Radikal molekul organic menghasilkan radikal bebas yang mengandung senyawa karbon (CCL_3-), sedangkan radikal dari penyerangan atom hydrogen menghasilkan radikal bebas yang mengandung hydrogen (H-). Tipe lain yaitu radikal yang mengandung sulfur dari produksi oksidasi 4glutation dan menghasilkan radikal thiyl (R-S-). (Yuslianti, 2017)

Tabel 2.2 struktur radikal bebas biologis. (Violita, 2020)

Kelompok oksigen raktif	
O2	Radikal superoksida (Superoxide Radical)
-OH	Radikal hidrosil (Hydroxyl Radical)
ROO-	Radikal peroksil (Peroxyl Radical)
H2O2	Hidrogen peroksida (Hydrogen Peroxide)
$^{1}O2$	Oksigen tunggal (Single oxygen)
NO	Nitrit oksida (Nitric oxide)
ONOO	Nitrit peroksida (Nitric peroxide)
HOCl	Asam hipoklor (Hypochlorous acid)

2.7.4 Efek Radikal Bebas Dalam Tubuh

Kadar radikal bebas yang tinggi di dalam tubuh dan tidak dapat dikelola dengan baik mengakibatkan berbagai macam penyakit yang serius. Penyakit jantung, stroke, hipertensi, kanker, preeklamsia, dan penyakit lainnya yang disebabkan oleh stress oksidatif (*oxidative stress*) yaitu kondisi yang timbul dalam situasi tersebut. Stress oksidatif dapat merusak beberapa jaringan di dalam tubuh antara lain *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA), protein dan lipid. (Widayati, 2012)

Interaksi radikal bebas dengan basa DNA dapat merubah struktur kimia DNA, jika tidak segera diperbaiki akan mengakibatkan mutasi yang dapat diturunkan. Apabila DNA pada sel somatik mengalami kerusakan akan dapat mengakibatkan inisiasi keganasan. Reaksi radikal bebas dengan lipid dan plasma lipoprotein dapat terjadi pembentukan lipid peroksida (*malondialdehyde*) secara kimia mampu mengakibatkan modifikasi protein, basa nukleat dan asam amino dalam nukleat. Imunitas yang dihasilkan dalam tubuh akan bereaksi silang dengan

protein dalam jaringan yang merupakan awal timbulnya berbagai penyakit autoimmune. (Widayati, 2012)

2.8 Antioksidan

2.8.1 Definisi

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan efek berbahaya dari radikal bebas akibat metabolisme oksidatif dari reaksi kimia dan proses metabolisme dalam tubuh. Hasil penelitian yang sudah dilakukan oleh Sayuti & Yenrina (2015) menunjukkan bahwa antioksidan mampu mencegah terjadinya berbagai penyakit kronis contohnya kanker dan jantung koroner. Antioksidan berfungsi untuk menghentikan atau memutus rantai reaksi radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh sehingga dapat melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. (Kate, 2014)

Dalam pengertian kimia senyawa antioksidan disebut electron donors yang berarti senyawa pemberi elektron. Dari sudut pandang biologis merupakan senyawa yang mampu mengurangi dan menangkal efek berbahaya pada tubuh. Mekanisme antioksidan yaitu melepaskan satu elektron dan mendonorkan pada senyawa yang bersifat antioksidan sehingga akan menghambat aktifitas senyawa oksidan tersebut. Senyawa ini memiliki berat molekul rendah, tetapi dapat mencegah berkembangnya reaksi oksidatif, yang mencegah pembentukan radikal. (Kuş dkk, 2017)

Antioksidan dapat menangkal efek berbahaya dari radikal bebas atau *Reactive Oxygen Speciess* (ROS) yang dihasilkan dari reaksi kimia dan proses metabolisme dalam tubuh yang dihasilkan dari metabolisme oksidatif.

Antioksidan dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik diperoleh dari sintesis reaksi kimia, sedangkan antioksidan alami diperoleh dari ekstraksi komponen alami seperti tokoferol, lesitin, fosfatida, sesamol, gosipol, karoten dan asam, asam tanat, senyawa fenolik (asam galat dan asam ferulat), *quercetin* (flavonoid), dan lain-lain. (Katrin & Bendra, 2015)

2.8.2 Sumber Antioksidan

Menurut Ikhlas (2013) menyebutkan bahwa sumber antioksidan dibagi menjadi dua golongan antara lain antioksidan alami dan antioksidan sintetik.

a) Antioksidan alami

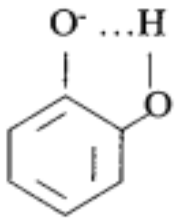
Antioksidan alami adalah jenis antioksidan yang berasal dari tumbuhan dan hewan. Antioksidan alami biasanya struktur molekul memiliki gugus hidroksil. Antioksidan herbal alami adalah senyawa fenolik berupa flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam organik multifungsi. Senyawa fenolik dapat dijumpai pada seluruh tanaman, termasuk kayu, biji, daun, buah, akar, bunga, dan serbuk sari. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan akhir-akhir ini banyak diteliti karena flavonoid memiliki kemampuan untuk memodifikasi atau mereduksi radikal bebas dan juga berperan sebagai melawan radikal bebas.

Antioksidan alami dalam sayuran dan biji-bijian seperti vitamin E, vitamin C, beta-karoten dan senyawa fenolik yang memiliki kemampuan untuk melakukan kerusakan oksidatif yang berhubungan dengan banyak penyakit seperti kanker, penyakit kardiovaskular, katarak, aterosklerosis, diabetes, arthritis, defisiensi

imun juga untuk mengurangi. Penyakit dan Penuaan. Ekstrak kasar dan isolat murni dari beberapa spesies tanaman yang dipelajari sebelumnya telah dilaporkan memiliki sifat antioksidan. Banyak peneliti fokus pada antioksidan alami. Tanaman yang mengandung fenol dan flavonoid dikatakan memiliki sifat antioksidan yang kuat. (Sibuea, 2017)

1. Senyawa fenolat

Senyawa fenol pada hakikatnya tidak berfungsi sebagai antioksidan, namun substitusi gugus alkil diposisi 2, 4 dan 6 akan meningkatkan densitas electron dari gugus hidroksil yang dipengaruhi induktif dan juga akan meningkatkan reaktivitasnya dengan radikal lipid. Substitusi gugus alkil pada posisi 4 dengan gugus etil atau n-butil dibanding gugus metil akan meningkatkan aktivitas antioksidan senyawa fenolik. Substituen pada posisi 2, 6 terdapat sangat banyak pada senyawa ini sehingga akan menurunkan laju reaksi fenol dengan radikal lipid. (Sibuea, 2017)



Gambar 2.2 contoh senyawa fenol (Sibuea, 2017).

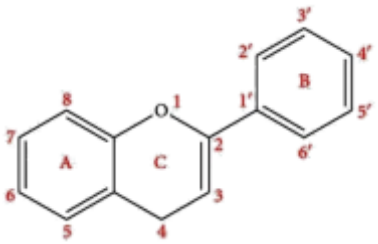
Antioksidan fenolik (senyawa turunan dari fenol) efektif dalam memperpanjang waktu induksi bila ditambahkan ke minyak yang masih dalam konidis baik, namun tidak efektif jika ditambah dengan lipid atau

sistem yang sudah rusak. Di bawah kondisi ini ada banyak radikal yang jauh melebihi kapasitas antioksidannya. (Sibuea, 2017)

2. Flavonoid

Struktur dasar flavonoid terdiri dari 2-fenil-benzo-α-piran atau inti flavan dengan dua cincin benzen berikatan dengan cincin piran yang mengandung oksigen. Flavonoid dapat dikelompokkan menjadi flavonol, flavan, flavon dan isoflavon. Beberapa makanan juga mengandung flavonoid seperti miresistin, kuersetin, luteolin, apigenin, krisan dan genistein. Antioksidan yang kuat dapat melindungi makanan dari kerusakan oksidatif seperti kuersetin, kaempferol, mirestitin, morin, asam tanat, dan asam elagat. (Sibuea, 2017)

Flavonoid adalah polifenol dengan 15 atom karbon dalam inti primernya yang berada dalam konfigurasi C6-C3-C6, yakni dua cincin aromatik yang melekat pada bagian tiga karbon yang mungkin atau tidak mungkin membentuk cincin ketiga. (Sibuea, 2017)



Gambar 2.3 struktur dasar flavonoid (Sibuea, 2017).

Kuersetin (*3,4-dihydroxyflavonol*) merupakan senyawa flavonoid dari golongan flavonol yang ditemukan terutama pada daun dan memiliki sifat antioksidan yang sangat potensial. Kuersetin dalam jumlah yang cukup (50-200 mg per hari) dapat membantu dalam perlindungan karena

bertindak untuk melawan radikal dan dapat mencegah penuaan dini. (Sibuea, 2017)

Tabel 2.3 Sumber antioksidan alami (Sayuti & Yenrina, 2015).

No	Komponen Antioksidan	Bahan Pangan
1	Vitamin A	Jeruk, buah berwarna kuning, mentega, margarine
2	Vitamin E	Biji bunga mtahari, tomat, biji-bijian yang mengandung kadar minyak yang tinggi, kacang-kacangan, susu dan produknya
3	Vitamin C	Jeruk, kiwi, pisang, anggur, apel, pir, melon, tomat, sayur, kentang
4	Vitamin B2	Susu, olahan susu, daging, ikan, telur, kacang-kacangan
5	Karotenoid (precursor Vitamin A	Wortel, daun hijau, sitrus,melon
6	Seng (Zn)	Daging merah, krustase, ikan, susu dan olahannya
7	Tembaga (Cu)	Hati dan sereal
8	Selenium	Sereal, daging dan ikan
9	Protein	Gandum dan telur

b) Antioksidan sintetik

Beberapa antioksidan sintetik yang paling umum digunakan antara lain senyawa fenolik seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *tert-butylhydroquinone* (TBHQ), dan ester asam galat seperti propil galat (PG). Antioksidan fenolik sintetik selalu digantikan oleh alkil

untuk meningkatkan kelarutannya dalam lemak dan minyak. (Sayuti & Yenrina, 2015)

Butylated hydroxyanisole (BHA) dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) mampu mengakibatkan dampak yang buruk bagi kesehatan, antara lain funsi hati yang terganggu, paru, mukosa usus dan keracunan. Batas maksimal antioksidan sintetik yang diperbolehkan adalah sebesar 0,01% sampai dengan 0,1% dari kandungan lemak atau minyak. (Ikhlas, 2013)

2.8.3 Mekanisme Kerja

Secara umum mekanisme kerja antioksidan yaitu dengan menghambat oksidasi lemak. Tahapan oksidasi lemak terdiri dari tiga tahapan antara lain inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap awal terbentuk radikal asam lemak, yaitu senyawa yang terbentuk dari asam lemak yang tidak stabil dan sangat reaktif melalui pelepasan atom hidrogen. Tahap selanjutnya yakni propagasi, radikal asam lemak bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi. Radikal peroksil menyerang asam lemak untuk menghasilkan hidroperoksida baru dan radikal asam lemak. (Yuslianti, 2017)

Hidroperoksida yang terbentuk tidak stabil dan biasanya dipecah menjadi senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton, yang bertanggung jawab atas flavor makanan tinggi lemak. Setelah senyawa ini terbentuk, antioksidan yang baik berinteraksi dengan radikal asam lemak. Di antara berbagai antioksidan yang tersedia, mekanisme kerja dan khasiat untuk antioksidan sangat bervariasi. Seringkali kombinasi beberapa antioksidan bertugas sebagai perlindungan (sinergi) yang lebih baik terhadap oksidasi daripada satu jenis

antioksidan saja. Misalnya, asam askorbat sering dicampur dengan antioksidan, yang merupakan senyawa fenolik. (Yuslianti, 2017)

2.8.4 Penggolongan Antioksidan

1. Antioksidan primer

Antioksidan primer merupakan antioksidan yang mempunyai sifat sebagai pemutus raksi rantai (*chain-breaking antioxidant*) Antioksidan primer mencegah pembentukan senyawa radikal baru, yaitu pengubahan radikal bebas yang ada menjadi molekul yang mengurangi efek negatifnya sebelum radikal bebas bereaksi. Antioksidan primer mengikuti mekanisme pemutusan rantai reaksi radikal dengan memberikan atom hidrogen dengan cepat ke radikal lipid dan produk yang dihasilkan menjadi lebih stabil. (Sayuti & Yenrina, 2015)

Enzim superoksida merupakan antioksidan primer yang terkenal di dalam tubuh. Enzim ini sangat penting kaitannya dengan melindungi kehancuran sel dalam tubuh akibat serangan radikal bebas. Mekanisme kerja enzim ini dipengaruhi dengan beberapa golongan mineral seperti mangan, tembaga, seng, dan selenium yang terkandung dalam makanan dan minuman. (Yuslianti, 2017)

2. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder bisa didapatkan dari buah-buahan berupa vitamin A, vitamin C, vitamin E, dan betakaroten. Antioksidan sekunder adalah senyawa yang mampu menangkap radikal bebas dan mencegah

adanya reaksi berantai yang mengakibatkan kerusakan yang lebih besar. (Yuslianti, 2017)

Sibuea (2017) mendefinisakan antioksidan sekunder merupakan senyawa yang menghambat laju oksidasi lipid melalui proses selain pemutusan rantai oksidasi dengan mengubah radikal bebas menjadi produk yang lebih stabil. Antioksidan ini dapat bekerja melalui berbagai mekanisme, termasuk senyawa yang mengikat ion logam dan merupakan prooksidan, menangkap oksigen, menguraikan hidroperoksida menjadi spesies non-radikal, dan sinar ultraviolet. Antioksidan sekunder digolongkan menjadi berbagai macam, antara lain:

a) *Sequestering agents*: asam sitrat, EDTA, Polifosfat.
b) *Oxygen scavengers* dan *reducing agents: ascorbyl palmitate, ascorbic acid, erythorbic acid, Na-erythorbate*
c) *Antioxidant enzymes*: SOD, *catalase*
d) *Singlet oxygen quenchers*: β-karoten

3. Antioksidan tersier

Antioksidan kelas tersier adalah antioksidan yang memperbaiki sel dan jaringan yang rusak akibat serangan radikal bebas. Kelompok ini biasanya mencakup enzim seperti metionin sulfoksida reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim ini berguna untuk memperbaiki DNA pada pasien kanker. (Yuslianti, 2017)

2.8.5 Uji Aktivitas Antioksidan

1. Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrasil*)

DPPH adalah radikal bebas yang stabil pada suhu ruang dan paling banyak digunakan untuk melihat aktivitas antioksidan dari suatu senyawa atau ekstrak bahan alam. Radikal bebas akan menjadi netral ketika antioksidan berinteraksi dengan DPPH secara transfer elektron atau radikal hidrogen dari DPPH. Ketika seluruh elektron pada radikal bebas DPPH berpasangan sehingga warna larutan akan mengalami perubahan dari warna ungu tua menjadi warna kuning terang. (Sibuea, 2017)

Panjang gelombang maksimum DPPH dapat menggunakan alat spetrofotometri UV-VIS dengan panjang gelombang bervariasi dimulai dari 515 nm sampai 520 nm. Puncak maksimal pada gelombang dapat memberikan absorbansi maksimum yang ditandai dengan puncak akan membentuk bulat pada isntrumen. Waktu raksi yang dibutuhkan DPPH agar bereaksi dengan sample yang digunakan cukup bervariasi karena setiap subtrat memiliki laju reaksi yang berbeda. Hasil terbaik mengikuti reaksi sampai selesai bereaksi. Namun waktu reaksi yang direkomendasikan yakni selama 30 menit. (Tutik dkk, 2018)

2. Uji diena terkonjugasi

Uji diena terkonjugasi mempunyai prinsip membentuk hidroperoksida dari PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) mengakibatkan konjugasi struktur pentadin. Oksidasi asam linoleat dapat merubah ikatan rangkap menjadi ikatan rangkap terkonjugasi yang ditandai dengan

penyerapan UV yang kuat pada gelombang 234 nm. Aktivitas ini disebut dengan konsentrasi hambat (IC_{50}). (Kondoj dkk, 2018)

3. Bilangan para-anisidin

Para-anisidin merupakan bahan yang dapat bereaksi dengan aldehid agar memberikan hasil serapan 350 nm. Reaksi dengan aldehid jenuh (2-alkana) menghasilan penyerapan yang lebih kuat pada panjang gelombang tersebut, sehingga pengujian ini lebih sensitif dengan bahan yang mengalami oksidasi. Kekurangan metode ini yaitu tidak dapat membedakan bahan yang menguap atau tidak, namun metode ini lebih sensitif dengan aldehid tak jenuh yang mudah menguap maka cara ini sangat cocok digunakan untuk menilai oksidasi sekunder. (Sibuea, 2017)

4. Aktivitas penghambatan radikal hidrosil

Penghambatan radikal hidroksil merupakan parameter yang mereaksikan DMPO (*5,5-dimetil-1-pirolin-N-oksida*) dan radikal OH secara adisi akan menghasilkan DMPO-OH dengan menggunakan instrumen spectrometer-ESR pada pengaturan medan magnet eksternal 337,5±5 mT dengan frekuensi 100 kHz, gelombang mikro 10 mW pada 9,43 GHz. (Sibuea, 2017)

5. Metode serapan radikal oksigen (ORAC)

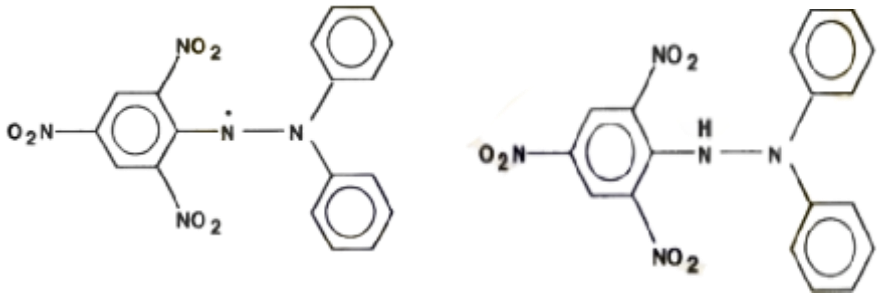
ORAC adalah metode analisis baru untuk mengukur kapasitas antioksidan total dan menghitung jumlah antioksidan dengan cepat atau lambat dalam sampel uji. Metode ini dilakukan dengan menggunakan Trolox (analog vitamin E) sebagai standar untuk penentuan ekuivalen

Trolox (TE). Semakin tinggi nilai ORAC, semakin kuat antioksidannya. pengujian dengan cara ini didasarkan pada pembentukan radikal bebas menggunakan AAPH (*2,2-azobis-2-amidopropane dihydrochloride*) dan fluorometri dengan adanya inhibitor radikal. (Sibuea, 2017)

2.9 DPPH

2.9.1 Definisi

DPPH terdiri dari radikal bebas yang stabil dengan bentuk bubuk kristal berwarna gelap. Berat molekul DPPH yaitu 394,32 dengan struktur kimia $C_{18}H_{12}N_5O_6$ yang bisa larut dalam air (Hardiyanthi, 2015). Metode DPPH adalah metode sederhana untuk menganalisis kapasitas antioksidan memakai senyawa pengenal yaitu DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Senyawa DPPH merupakan radikal bebas stabil yang mampu bereaksi dengan atom hidrogen berasal dari senyawa antioksidan membentuk DPPH tereduksi. (Kate, 2014)



DPPH (radikal) DPPH (non radikal)

Gambar 2.4 Struktur kimia senyawa DPPH radikal dan non radikal (Kate, 2014).

Radikal DPPH mempunyai nilai serapan yang kuat dengan panjang gelombang 517 nm menggunakan instrumen spektrofotometri UV-VIS. Adanya gugus kromofor dan gugus auksokrom pada struktur kimianya maka DPPH dapat

memberikan serapan. Delokalisasi elektron memberikan warna violet pada DPPH. (Kate, 2014)

Radikal bebas yang ditangkap oleh antioksidan mengakibatkan pasangan elektron dalam radikal DPPH akan menghilangkan warna sesuai dengan jumlah elektron yang diserap. Karena adanya antioksidan, warna larutan DPPH berubah dari ungu tua menjadi kuning. Semakin kuat senyawa antioksidan dalam melawan radikal DPPH, maka warna yang teramati menjadi pudar. (Kate, 2014)

Parameter yang menunjukkan aktivitas antioksidan senyawa tersebut adalah *efficient concentration* (EC_{50}) atau *inhibition concentration* (IC_{50}), yaitu konsentrasi antioksidan yang dapat meradikalisasi 50% DPPH. Dengan kata lain konsentrasi antioksidan yang dapat menyebabkan penghambatan 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} kemampuan suatu senyawa yang digunakan untuk antioksidan semakin besar. (Kate, 2014)

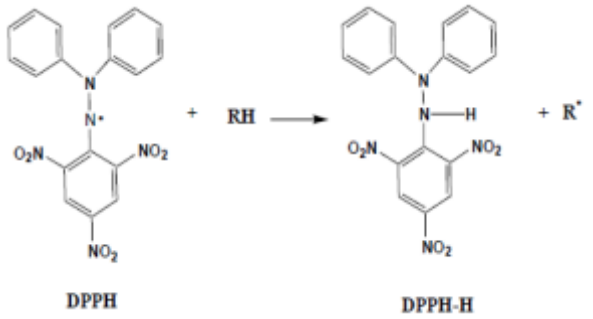
Tabel 2.4 Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH (Kate, 2014)

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat kuat	< 50 µg/mL
Kuat	50-100 µg/mL
Sedang	101-150 µg/mL
Lemah	>150 µg/mL

2.9.2 Mekanisme Kerja Metode DPPH Terhadap Antioksidan

Antioksidan akan menyerap radikal bebas DPPH dengan reaksi penangkapan atom hidrogen pada antioksidan oleh radikal bebas agar mendapatkan pasangan elektron dan mengubahnya menjadi difenil pikri hidrazin (DPPH-H). Radikal ini memiliki daya yang kecil, sehingga dapat mereduksi

radikal bebas toksik. Elektron atau radikal hidrogen yang diterima oleh DPPH dapat membentuk molekul diamagnetic yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH, baik dengan mentransfer elektron atau radikal hidrogen dalam DPPH dapat menetralkan sifat radikal bebas dari DPPH. (Ikhlas, 2013)



Gambar 2.5 Reduksi DPPH oleh senyawa antioksidan (Rizkayanti dkk, 2017).

2.10 Ekstraksi

2.10.1 Definisi dan tujuan

Ekstraksi merupakan suatu proses menarik kandungan kimia yang mampu larut untuk memisahkan bahan yang tidak larut dalam pelarut cair (Laha, 2018). Dilakukannya ekstraksi adalah menyari senyawa yang dapat berkhasiat atau senyawa aktif dari suatu bagian tanaman obat, hewan maupun beberapa jenis ikan dan biota laut. Pelarut yang dapat digunakan pada proses ekstraksi cukup bervariasi, sehingga diperlukan pelarut yang sesuai agar penarikan senyawa aktif lebih maksimal. Hal tersebut terjadi karena zat aktif yang terletak pada sel tanaman dan sel hewan berbeda. (Sibuea, 2017)

Tujuan melakukan ekstraksi dari bahan alam yaitu untuk menarik senyawa kimia yang terkandung dari bahan alam. Prinsip ekstraksi ini adalah perpindahan massa komponen ke dalam pelarut, dimana perpindahan dimulai pada lapisan batas dan kemudian merambat dalam pelarut. (Laha, 2018)

Proses ekstraksi dapat dipengaruhi oleh waktu ekstraksi, jenis pelarut dan suhu yang digunakan. Proses ekstraksi menjadi sempurna apabila waktu yang dgunakan semakin lama, suhu yang yang semakin tinggi, semakin dekat tingkat kepolaran pelarut dengan komponen yang diekstrak. (Kate, 2014)

2.10.2 Metode ekstraksi

A. Cara dingin

Keuntungan pada ekstraksi cara dingin yaitu mencegah terjadinya kerusakan pada senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan. Walaupun terdapat beberapa senyawa memiliki kelarutan yang terbatas pada suhu ruang, namun banyak senyawa yang sesuai menggunakan metode ekstraksi dengan cara dingin. (Istiqomah, 2013)

1. Maserasi

   Maserasi merupakan proses ekstrasi menggunakan pelarut yang sesuai untuk merendam simplisia pada suhu ruangan dalam wadah yang tertutup selama minimal 3 hari sambil sesekali diaduk kemudian disaring menggunakan kertas saring. (Harahap, 2019)

Gambar 2.6 Maserasi (dokumen pribadi, 2021)

Ekstraksi dengan cara maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana untuk dilakukan. Meserasi diambil dari bahasa latin *macerace* yang mempunyai arti melunakkan atau mengairi. Pada saat berakhirnya ekstraksi atau selesainya waktu maserasi, kandungan bahan yang diekstrak pada bagian sel akan masuk kedalam pelarut yang digunakan. Pengadukan secara berkala bertujuan agar keseimbangan konsentrasi bahan yang diekstraksi didalam cairan menjadi terjamin. Selama keadaan diam pada proses ekstraksi mengakibatkan bahan aktif akan berpindah ke bawah atau turun. Secara teori perbandingan simplisia yang digunakan semakin besar maka hasil yang diperoleh juga semakin banyak. Pengerjaan yang membutuhkan waktu yang lama dan kurangnya penyarian merupakan kekurangan dari metode maserasi. Re-maserasi atau pengulangan proses maserasi dengan cara menambahkan pelarut pada penyaringan maserat sebelumnya dapat disebut dengan meserasi kinetik. (Istiqomah, 2013)

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, pada umumnya dikerjakan pada suhu ruang. Perkolasi memiliki beberapa tahapan proses, antara lain tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak), terus-menerus hingga diperoleh perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan. (Istiqomah, 2013)

B. Cara panas

1. Sokletasi

Sokletasi merupakan metode ekstraksi yang pelarutnya selalu baru pada umumnya dilakukan menggunakan alat khusus maka akan terjadi ekstraksi kontinyu dengan pelarut yang konstan. Alat sokletasi akan mengkosongkan isinya kedalam labu alas bulat saat pelarut mencapai volume tertentu. (Istiqomah, 2013)

Ekstraksi dengan metode sokletasi yang mempunyai prinsip pemanasan dan perendaman sampel, sehingga akan mengakibatkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel yang disebabkan perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Metabolit yang berada di dalam sitoplasma akan terbawa kedalam pelarut organik. Pelarut kemudian menguap naik melewati kondensor menjadi embun uap sehinga akan akan menetes dan terkumpul kembali. Sirkulasi merupakan suatu siklus apabila larutan melewati batas lubang pipa yang terdapat pada samping soxhlet. (Istiqomah, 2013)

2. Refluks

Refluks merupakan salah satu metode ekstrasi dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya. Pada umumnya pengulangan proses pada residu pertama dilakukan tiga sampai lima kali maka dapat dikatakan termasuk proses ektraksi sempurna. Simplisia yang akan diekstraksi direndam dengan pelarut dalam labu alas bulat yang sudah dilengkapi kondensor kemudian dipanaskan sampai mendidih.

Cairan penyari akan menguap dan menjadi embun yang akan kembali menyari zat aktif yang masih terkandung dalam simplisa. Biasanya dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. (Istiqomah, 2013)

3. Digesti

Digesti dapat dikatakan sebagai maserasi kinetik (dengan pengadukan secara kontinyu) yang dilakukan pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan. Pada umumnya dilakukan pada suhu 40-50%. (Istiqomah, 2013)

4. Infusa

Infusa merupakan metode ekstrasi yang menggunakan pelarut air pada suhu terukur antara 96-98% selama 15-20 menit. (Istiqomah, 2013)

5. Dekok

Dekok merupakan proses penyarian simplisia yang sama seperti infusa, namun yang membedakan yaitu suhu yang digunakan semakin tinggi dan waktu yang lebih lama. (Istiqomah, 2013)

2.10.3 Pelarut

Dalam proses pembuatan ekstrak pelarut yang digunakan harus baik untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau aktif. Pelarut tersebut mampu dipisahkan dari bahan dan senyawa kandungan lainnya. Pemilihian pelarut harus mempertimbangkan beberapa faktor utama, diantaranya selektivitas, mampu bekerja, ekonomis, dan ramah lingkungan. Farmakope Indonesia menetapkan pelarut atau cairan penyari yang aman digunakan adalah etanol, air, etanol-air atau eter. (Istiqomah, 2013)

Pelarut etanol banyak digunakan sebagai pelarut karena termasuk pelarut universal yang mampu menarik sebagian besar senyawa kimia yang berkhasiat di dalam herba. Keuntungan pelarut etanol adalah titik didih yang rendah maka lebih mudah menguap, maka dari itu jumlah etanol yang masih tertinggal pada ekstrak sangat sedikit. Selain itu ekstrak etanol sangat sulit ditumbuhi kapang dan kuman, serta tidak beracun. (Rini dkk, 2017)

Etanol mampu melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, kurkumin, glikosida, flavonoid, dammar, kumarin, klorofil, dan antrakinon, sehingga zat pengganggu yang terlarut hanya sedikit. Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan meningkatkan stabilitas zat yang larut dalam obat. Manfaat lain dari etanol adalah kemampuannya untuk mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim. Etanol sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal sehingga hanya sejumlah kecil zat pengganggu yang masuk ke dalam cairan yang diekstraksi. (Setiani dkk, 2017)

2.11 Instrumen Spektrofotometri UV-VIS

2.11.1 Definisi

Spektrofotometer adalah salah satu intsrumen untuk pengukuran energi secara relatif ketika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan dan diemisikan dari fungsi dari spectrum melalui panjang gelombang tertentu. Fotometer merupakan sebuah alat yang digunakan untuk mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diserap. (Mustikaningrum, 2015)

Ultraviolet jauh mempunyai rentang panjang gelombang sekitar 10-200 nm, sedangkan sinar UV dekat memiliki rentang panjang gelombang sekitar 200-

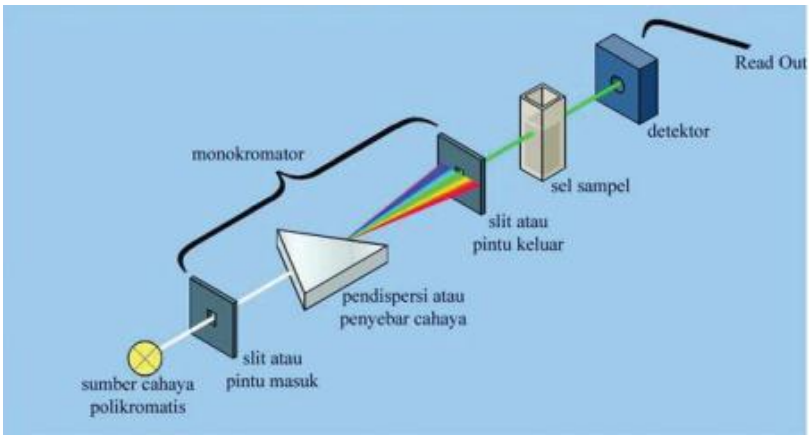
400 nm. Mata manusia tidak mampu melihat sinar ultraviolet, namun beberapa hewan seperti burung, reptil, dan beberapa serangga dapat melihat sinar ultraviolet. Interaksi antara senyawa organik dengan sinar ultraviolet serta sinar tampak, mampu digunakan sebagai penentuan struktur molekul suatu senyawa organik. Bagian molekul yang bereaksi lebih cepat dengan sinar tersebut adalah elektron pengikat dan elektron tidak terikat (elektron bebas). Sinar ultraviolet dan sinar tampak adalah energi ketika mereka bertabrakan dengan elektron, maka membangkitkan elektron dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Eksitasi elektron ini dicatat dalam spektrum yang dinyatakan dalam panjang gelombang dan absorbansi. Semakin mudah electron yang bereksitasi maka panjang gelombang yang diserap menjadi lebih besar, serta elektron yang semakin banyak tereksitasi nilai penyerapan atau absorban menjadi tinggi. (Suhartati, 2017)

Terdapat beberapa istilah pada spektrofotometri yang berkaitan dengan molekul, antara lain kromofor, efek batokromik atau pergeseran merah, auksokrom, dan hipokromik. Kromofor merupakan suatu bagian molekul yang menyerap sinar UV dengan kuat di daerah UV-Vis, seperti aseton, heksana, karbonil, asetilen, karbondioksida, benzena, karbonmonooksida, dan gas nitrogen. Auksokrom merupakan pasangan elektron yang berikatan secara kovalen dengan pasangan elektron tunggal yang terikat pada pembawa zat warna yang meningkatkan penyerapan sinar UV-Vis pada kromofor dalam hal panjang gelombang dan intensitasnya, seperti halide, amina, gugus hidroksi dan aloksi. (Suhartati, 2017)

Spektrofotometri mempunyai prinsip kerja dengan berinteraksi antara radiasi elektromagnetik dengan materi, seperti atom ion dan molekul. interaksi antara molekul yang memiliki gugus kromofor serta radiasi elektromagnetik pada wilayah ultraviolet (200 nm-400 nm) sedangkan sinar tampak (400 nm-800 nm) akan membentuk spektra serapan elektronika, spektra serapan ini bisa digunakan untuk menganalisis kuantitatif sebab jumlah radiasi elektromagnetik yang diserap berhubungan dengan jumlah molekul penyerap. (Suhartati, 2017)

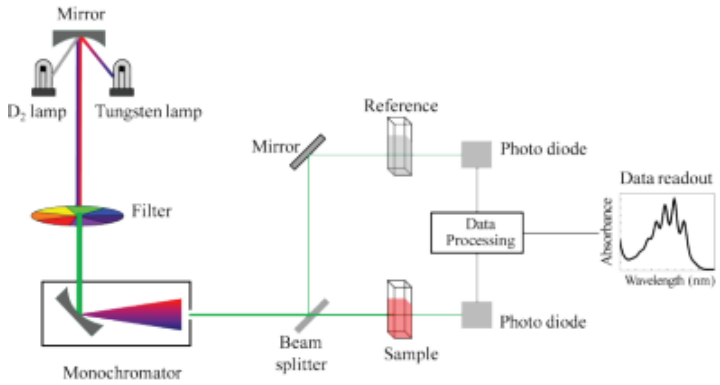
2.11.2 Tipe-Tipe

Secara umum spektrofotometer terdapat 2 tipe yaitu single beam dan double beam. Single beam mempunyai beberapa keunggulan yang nyata, seperti harganya yang murah, dilakukan dengan cara yang sederhana. Spekrofotometer single beam bisa digunakan untuk pengukuran kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Panjang gelombang yang mampu dideteksi pada single beam berkisar dari yang terendah 190-210 nm dan tertinggi 800-1000 nm, sedangkan double beam mampu mendeteksi pada panjang gelombang 190-750 nm. (Suhartati, 2017)



Gambar 2.7 Diagram alat spektrometer UV-Vis (single beam). (Suhartati, 2017)

Instrument dual beam merupakan dua sinar yang dibentuk oleh cermin berbentuk V yang disebut beambreaker atau pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara bersamaan melawati sampel. Sumber cahaya polikromatik untuk sinar UV yaitu lampu deuterium, sedangkan sinar tampak atau sinar visible adalah lampu wolfram. Monokromator pada spektrofotometer UV-Vis menggunakan lensa prisma dan filter optik. Sel sampel yang berupa kuvet terbuat dari kuarsa atau kaca dengan lebar yang beragam. Detector berupa fotodetektor atau detector termal atau detector fotodioda yang memiliki fungsi menangkap sinar yang ditransmisikan oleh sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik. (Suhartati, 2017)



Gambar 2.8 Skema spektrofotometer UV-Vis (Double-beam) (Suhartati, 2017).

2.11.3 Persyaratan Penggunaan

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam menganilis sampel pada spetrofotometri UV-Vis, antara lain :

a) Panjang gelombang yang dipilih harus sesuai

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif merupakan panjang gelombang dimana penyerapan maksimum terjadi. Kurva yang terbentuk antara absorbansi dan panjang gelombang dari

larutan standar pada konsentrasi tertentu, maka panjang gelombang serapan maksimum akan diperoleh.

b) Pembuatan kurva kalibrasi

Berbagai macam larutan standar dibuat dengan konsentrasi yang berbeda. Absorbansi masing-masing larutan dengan konsentrasi yang berbeda diukur dan dibuat kurva sebagai hubungan antara absorbansi dan konsentrasi.

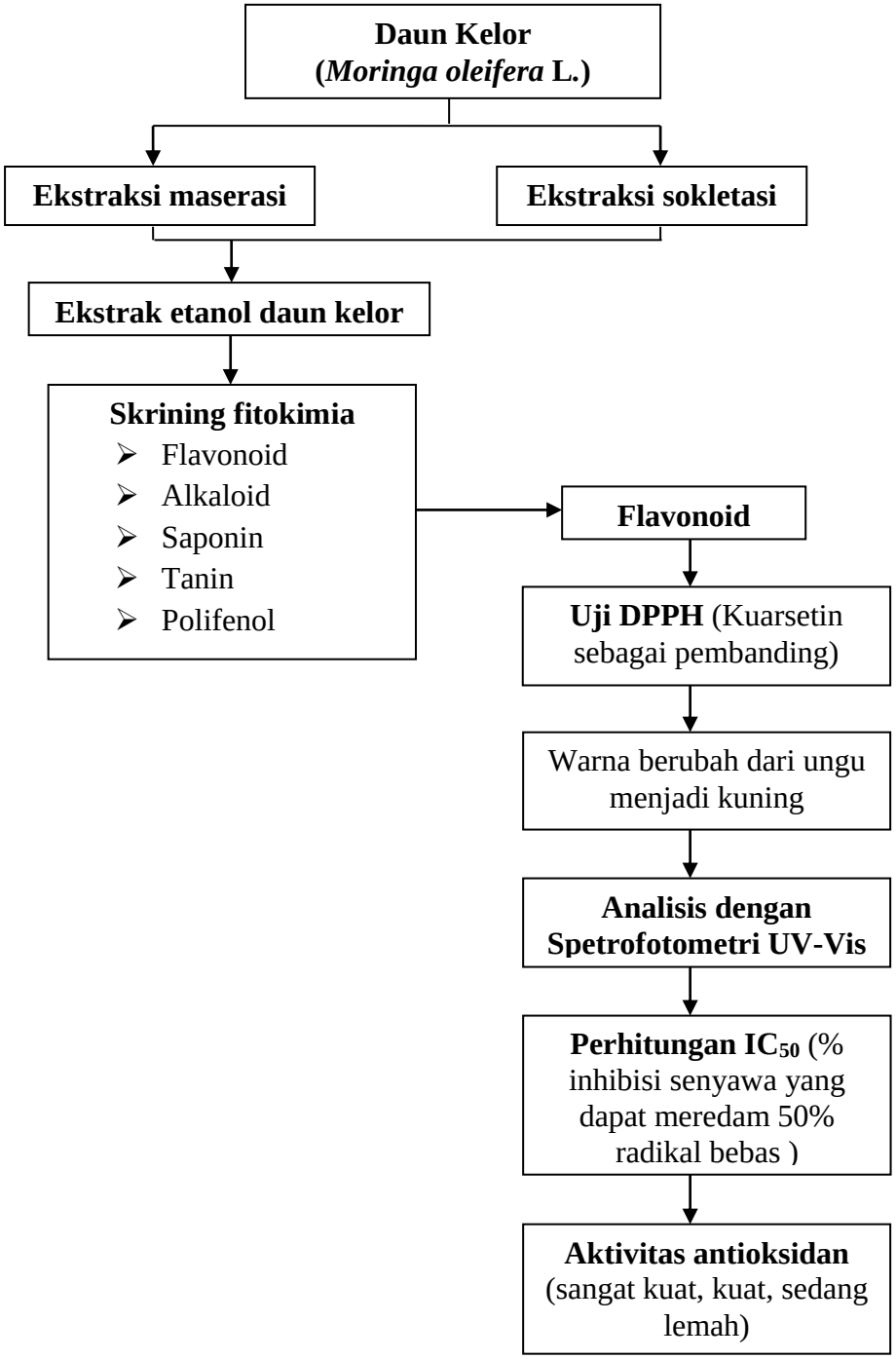
c) Pembacaan absorbansi sampel

Pembacaan absorbansi pada spekrofotometer harus berada di antara 0,2 hingga 0,6. Rekomendasi tersebut didasarkan pada asumsi bahwa pada kisaran nilai absorbansi, kesalahan fotometrik yang terjadi adalah minimal. (Prawirodihardjo, 2014)

Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk mengidentifikasi sampel dalam bentuk larutan, gas atau uap. Secara umum sampel harus dibuat menjadi larutan bening. Adapun persyaratan pelarut yang digunakan pada larutan sampel, antara lain sampel harus benar-benar larut, pelarut yang digunakan tidak terdapat ikatan rangkap terkonjugasi dalam struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak dapat menyerap cahaya), tidak berinteraksi dengan molekul senyawa yang dianalisis, serta tingkat kemurniannya tinggi. (Suhartati, 2017)

BAB 3 KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka konsep

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis adalah dugaan atau jawaban sementara terkait masalah yang menjadi penelitian. Berdasarkan kerangka konsep di atas, maka yang menjadi hipotesisnya adalah:

a) H0 : Tidak terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan menggunakan metode DPPH.
b) H1 : Terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan menggunakan metode DPPH.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrasil-radical*).

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi yang akan digunakan dalam penelitian ini merupakan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang berwarna hijau segar tanpa terdapat bintik putih, bercak kuning dan berlubang yang diperoleh dari Pasuruan, Jawa Timur diambil secara acak.

4.2.2 Sampel

Sampel yang dipakai dalam penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan berbagai macam konsentrasi (10 ppm, 50 ppm,100 ppm,150 ppm dan 200 ppm).

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang mempu mempengaruhi dan juga menjadi penyebab perubahan pada variabel terikat (dependen). Variabel bebas disebut juga sebagai variabel independen.(Surahman dkk, 2016)

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang dibuat dalam berbagai konsentrasi, yaitu 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat atau dengan sebutan lain variabel dependen adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat adanya variabel bebas. Variabel ini merupakan variabel dependen yang besarannya bergantung dari besar kecilnya variabel independen. (Surahman dkk, 2016)

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*).

4.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali merupakan variabel yang dapat dikendali sehingga variabel independen dan variabel dependen tidak dipengaruhi oleh faktor eksternal yang diteliti. (Surahman dkk, 2016)

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah cara pengujian aktivitas antioksidan, pelarut, serta cara ekstraksi serbuk simplisia.

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas dr. Soebandi Jember yang dimulai pada bulan Mei 2022.

4.5 Definisi Oprasional

Tabel 4.1 Definisi Oprasional

Variabel	**Pengertian**	**Cara ukur**	**Alat ukur**	**Skala**	**Hasil ukur**
Sampel ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.)	Proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut etanol dengan metode maserasi dan sokletasi	Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang diencerkan menggunkan etanol p.a	Timbangan dan volume	Skala rasio	Diperoleh angka dari masing-masing konsentrasi yang telah diukur kemudian dipipet dari

	kemudian dilakukan pengenceran menggunakan etanol p.a	sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi (10, 50, 100, 150 dan 200)			larutan induk dan dimasukkan kedalam larutan sampel
Aktivitas antioksidan	Hasil dari absorbansi pada sampel daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang kemudian dihitung persen perendaman dan ditentukan konsentrasi penghambatan 50% (IC_{50})	Memipet dari masing-masing larutan uji ekstrak kemudian ditambahkan dengan larutan DPPH hingga homogen. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum menggunakan instrument Spektro UV-Vis.	Spektro UV-Vis	Skala ordinal	➢ Sangat kuat, jika hasil yang didapat <50 µg/mL ➢ Kuat, jika yang didapat 50-100 µg/mL ➢ Sedang, jika yang didapat 101-150 µg/mL ➢ Lemah apabila hasil yang didapat >150 µg/mL

4.6 Tehnik dan Instrumen Pengumpulan Data

4.6.1 Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi timbangan analitik, batang pengaduk, kertas saring, blander, ekstraktor soxhlet, beaker glass, erlenmayer, alumunium foil, gelas corong, labu ukur, mikropipet, instrument spektrofotometer UV-Vis, Kuvet disposable, stopwatch, rotary evaporator, ultrasonik serta beberapa vial.

b. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang diambil dari kabupaten Pasuruan, Jawa Timur, etanol 96% etanol p.a, aquadest, senyawa DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) dan senyawa kuarsetin.

4.6.2 Teknik Pengumpulan Data

a. Determinasi Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Determinasi adalah langkah awal sebelum dilakukannya suatu penelitian dengan menggunakan tanaman. Determinasi daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember.

b. Pembuatan Simplisia Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan daun kelor yang masih segar dari pengotor yang melekat pada sampel. Sampel yang sudah bersih dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang sampai menjadi simplisia kering. Setelah menjadi simplisia kering sampel dihaluskan dengan menggunakan blander

dan diayak agar serbuk simplisia yang akan digunakan benar-benar halus. (Susanty dkk, 2019)

c. Ekstraksi Daun Kelor dengan Metode Maserasi

Serbuk simplisia daun kelor (*Moringa oleifera* L.) ditimbang sebanyak 100 gram kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass dan ditambah etanol 96% sebanyak 750 mL. Agar hasil ekstraksi sempurna, maka perlu dilakukan re-maserasi dengan cara maserasi kembali ampas daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang sudah dimaserasi pertama yang ditambah etanol 96% sebanyak 250 mL. Proses maserasi dilakukan selama 5 hari dengan sesekali dilakukan pengadukan agar konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel dapat merata. (Hasanah dkk, 2017)

c. Ekstraksi Daun Kelor dengan Metode Sokletasi

Rangkai alat sokletasi dan timbang serbuk simplisia daun kelor (*Moringa oleifera* L.) sebanyak 450 gram, bungkus sampel dengan kertas saring sebanyak 50 mg tiap bungkus dan dimasukkan ke dalam alat sokletasi. Ukur etanol 96% sebanyak 800 mL sebagai pelarut yang digunakan. Proses sokletasi dilakukan sampai sampel berubah warna menjadi bening. (Husnah dkk, 2019)

Penguapan pelarut bertujuan agar mendapatkan ekstrak kental pada suatu sampel. Penguapan ini menggunakan *rotary evaporator* di bawah tekanan 75 mbar dan suhu 40 derajat celcius, agar didapatkan ekstrak kental selanjutnya sampel diuapkan pada waterbath sampai menjadi kental. (Susanty dkk, 2019)

d. Skrining Fitokimia

1. Uji Flavonoid

   Ekstrak kental daun kelor diambil sebanyak 0,5 ml ditambah dengan 5 ml H_2SO_4 pekat dan 5 ml ammonia encer. Sampel diamati apabila mengandung senyawa flavonoid maka akan mengalami perubahan warna dari kuning kehijauan menjadi kuning. (Hasanah dkk, 2017)

2. Uji Alkaloid

   Penambahan pereaksi untuk mengetahui adanya kandungan senyawa alkaloid pada sampel dapat menggunakan pereaksi wagner (Iodium dan KI) hasil positif mengandung senyawa alkaloid jika adanya endapan berwarna coklat dan pereaksi meyer ($HgCl_2$ dilarutkan dalam aquadest dan KI dilarutkan dalam aquadest) hasil positif mengandung alkaloid adanya andapan berwana putih. (Putra dkk, 2016)

3. Uji Saponin

   Sebanyak 500 mg sampel ekstrak dimasukkan ke dalam labu ukur dilarutkan pada 20 mL aquadest, sampel dikocok hingga 15 menit. Apabila terdapat adanya busa setinggi 1 cm maka sampel tersebut mengindikasikan adanya senyawa saponin. (Prawirodihardjo, 2014)

4. Uji Polifenaol

   Sebanyak satu ml sampel ditambahkan dengan pereaksi $NaCl_3$ 1% dicampur hingga homogen. Jika larutan berubah warna kehitaman atau kebirutuaan maka sampel positif mengandung senyawa polifenol. (Putra dkk, 2016)

5. Uji tanin

Uji tanin dapat dilakukan dengan cara menambahkan larutan pereaksi $FeCl_3$ 1% sebanyak 2 sampai 3 tetes kedalam ekstrak sampel dan dicampur hingga homogen. Apabila hasil menunjukkan positif maka larutan uji akan berubah menjadi biru kehitaman atau kehijauan. (Yuliani & Dienina, 2015)

e. Pengujian Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

1. Pembuatan larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 1 mg dan dimasukkan kedalam labu ukur 20 mL tambahkan etanol p.a sebagian kemudian dikocok sampai homogen. Setelah serbuk DPPH melarut dengan sempurna ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas. (Yuliani & Dienina, 2015)

2. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Sebanyak 1 ml larutan DPPH ditambah dengan etanol p.a dan dicukupkan volumenya sampai 5 ml. Pencampuran larutan dapat menggunakan dengan bantuan getaran ultrasonic agar hasil yang diperoleh lebih homogen. Setelah homogen diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 510 sampai 520 nm. (Yuliani & Dienina, 2015) Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm (Retnaningtyas dkk, 2017).

3. Pembuatan larutan uji ekstrak

Pembuatan larutan induk 1000 ppm dengan menimbang sebanyak 10 mg ekstrak kental daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dilarutkan dengan etanol p.a diaduk hingga homogen dan dicukupkan hingga 10 ml. Penggunaan getaran ultrasonic dapat membantu proses pencampuran ekstrak semakin maksimal. Larutan induk 1000 ppm selanjutnya dibuat berbagai seri pengenceran 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm. Pengenceran dapat dilakukan dengan cara pipet larutan pada volume tertentu dan ditambah dengan etanol p.a sampai diperoleh konsentrasi larutan uji untuk masing-masing volume larutan uji. (Handayani dkk, 2014)

4. Pembuatan larutan pembanding kuersetin

Pembuatan larutan pembanding kuersetin dibuat konsentrasi sebesar 50 ppm dengan cara menimbang sebanyak 20 mg kuersetin yang dilarutkan dengan etanol p.a sebanyak 20 mL dan dibuat berbagai variasi pengenceran konsentrasi kuersetin 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm kemudian dicukupkan volume masing-masing konsentrasi pengenceran sebanyak 10 mL dengan etanol p.a. (Riskianto dkk, 2021)

5. Optimasi waktu inkubasi

Penentuan waktu inkubasi dapat dilakukan dengan cara memipet sebanyak 0,5 ml dari masing-masing larutan sampel yang ditambahkan dengan larutan DPPH sebanyak 3,5 ml. Seluruh larutan uji divortex agar larutan menjadi lebih homogen secara merata pada ruangan gelap.

Selanjutnya larutan uji dilakukan pengukuran absorbansi mulai dari menit 10 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit. Berlangsungnya waktu inkubasi optimum untuk bereaksi secara sempurna yaitu 20 menit. Waktu inkubasi pada setiap sampel dapat berbeda satu dengan yang lain, hal ini dikarenakan karakteristik dalam sampel terutama aktivitas antioksidan dapat berbeda. (Retnaningtyas dkk, 2017; Riskianto dkk, 2021)

6. Pengukuran aktivitas antioksidan larutan uji ekstrak etanol daun kelor dan larutan kuersetin

   Pengujian dapat dilakukan dengan cara memipet 0,5 ml larutan sampel (10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm) dan larutan kuersetin (2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm) dan ditambahkan 0,5 ml DPPH 50 ppm. Larutan uji dicampur hingga homogen dengan menggunakan vortex dan diinkubasi dengan hasil optimasi tertentu pada keadaan gelap dan menggunakan suhu ruang. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum. (Riskianto dkk, 2021)

7. Perhitungan nilai IC_{50}

   Inhibitory concentration ($IC_{50)}$ merupakan gambaran suatu konsentrasi senyawa uji yang mampu menghambat radikal bebas sebesar 50%. Hasil dari perhitungan tersebut dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan nlai persentase inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi sampel yang digunakan sebagai sumbu x. Semakin besar adanya aktivitas antioksidan maka nilai IC_{50} akan semakin kecil. (Sibuea, 2017)

Perhitungan besarnya persentase peredaman radikal bebas suatu sampel terhadap DPPH dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\%\ inhibisi = \frac{(Abs\ blanko - Abs\ sampel)}{(Abs\ blanko)} \times 100\%$$

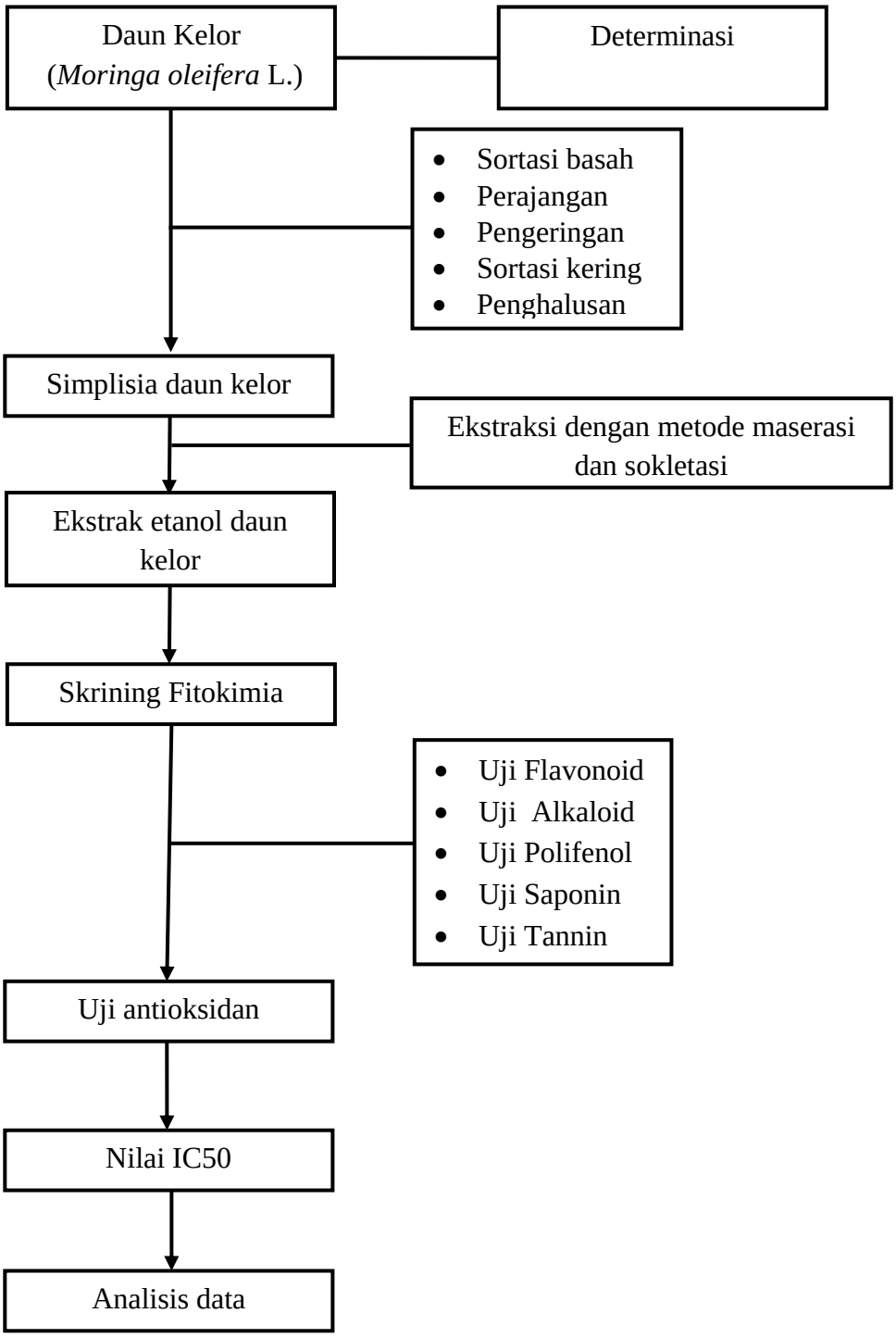
Dari persamaan regresi linear $y = bx + a$ dapat dihitung nilai IC_{50} menggunakan rumus:

$$IC50 = \frac{(50 - a)}{b}$$

4.7 Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan membandingkan aktivitas antioksidan (*Inhibisi Concentration* 50%) antara kuarsetin, ekstrak etanol daun kelor dengan metode maserasi dan sokletasi. Pertama-tama dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Jika data terdristribusi normal dan homogen maka dilanjutkan uji dengan *One Way ANOVA*. Apabila data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen maka dilakukan trasnformasi data terlebih dahulu, untuk kemudian dapat diuji dengan *One Way ANOVA*. Apabila data telah signifikan, maka analisis dilanjutkan dengan *post hoc* (LSD). Perbedaan dianggap signifikan apabila nilai p<0,05 dan tingkat kepercayaan 95%.

4.8 Kerangka Operasional



Gambar 4.1 Kerangka Oprasional

BAB 5. HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di UPT (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember. Hasil dari determinasi menunjukkan apabila daun kelor yang digunakan dalam penelitian dapat dipastikan bahwa tanaman yang diteliti adalah spesies *Moringa oleifera* L. yang tergolong dalam suku moringaceae. Hasil identifikasi daun kelor dapat dilihat pada (Lampiran 1).

5.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara acak di kabupaten Pasuruan, Jawa Timur. Bagian yang digunakan dalam penelitian yaitu daun kelor. Tahap selanjutnya dilakukan sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering, dan proses pengecilan ukuran partikel sampai simplisia dihaluskan menjadi serbuk halus. Berat simplisia kering sebanyak 800 gram (Lampiran 2).

5.3 Ekstraksi

Pembuatan ekstraksi daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dilakukan berdasarkan metode sokletasi dan metode maserasi secara umum. Ekstraksi maserasi dilakukan dengan menimbang serbuk simplisia sejumlah 100 gram kemudian dimasukkan dalam maserator dan ditambahkan pelarut etanlo 96% sebanyak 750 mL. Serbuk dan pelarut dimaserasi selama 5 hari dan dilanjutkan dengan re-masersi selama 3 hari dengan menggunakan pelarut 250 mL etanol 96%. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan sesering kali agar senyawa yang terdapat pada simplisia dapat tertarik dengan maksimal. Ekstrak selanjutnya disaring dengan kertas saring sehingga filtrat dan residu memisah.

Ekstrasi dengan metode sokletasi dilakukan dengan menimbang serbuk simplisia 50 gram dan dibungkus kertas saring disesuaikan dengan besarnya alat sokletasi kemudian dimasukkan kedalam alat sokletasi. Pelarut etanol 96% sebanyak 800 mL dimasukkan kedalam labu sokletasi dan sokletasi dihentikan sampai siklus hampir tidak berwarna. Ekstraksi sokletasi untuk mendapatkan siklus yang hampir tidak berwarna membutuhkan waktu ± 7 jam. Hasil sokletasi dan filtrat maserasi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* di bawah tekanan 75 mbar pada suhu 40°C. Agar didapatkan ekstrak kental sampel selanjtnya di uapkan pada waterbath sampai menjadi kental. Proses pembuatan ekstrak dapat dilihat pada (Lampiran 2) dan hasil perhitungan persen rendemen dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil Ekstrak Daun Kelor

Replikasi	Metode	Simplisia	Ekstrak kental ±SD	% Rendemen	Persyaratan
1	Maserasi	100 gram	20,34 gram ± 2	20,34%	>7,8%
	Sokletasi	450 gram	113 gram ± 7	25,11%	
2	Maserasi	100 gram	19,23 gram ± 2	19,23%	
	Sokletasi	450 gram	108 gram ± 7	24%	
3	Maserasi	100 gram	23 gram ± 2	23%	
	Sokletasi	450 gram	98,73 gram ± 7	21,94%	

5.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder yang terkandung pada masing masing sampel dan juga untuk memperkirakan senyawa apa saja yang memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan data yang dihasilkan, daun kelor memiliki golongan senyawa flavonoid yang merupakan senyawa antioksidan. Hasil skrining fitokimia duan kelor dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Skrining Fitokimia Daun Kelor

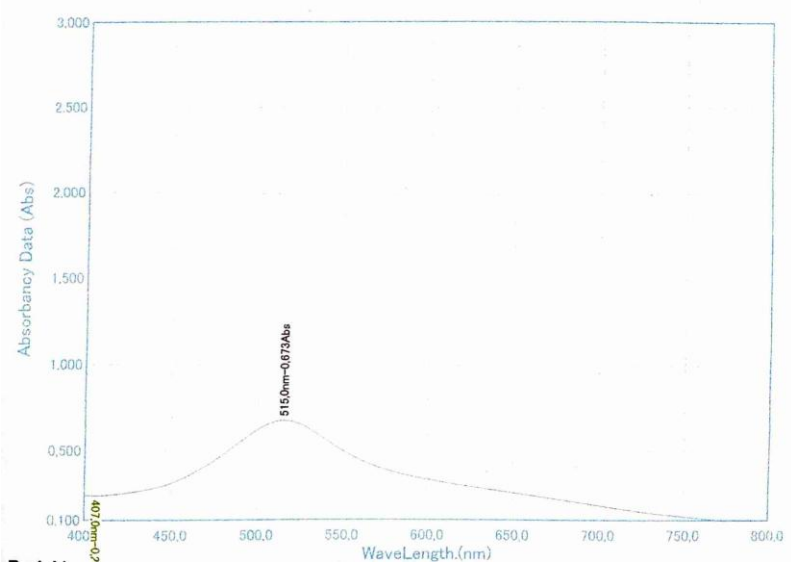
Senyawa	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Positif (+)	Berubah warna menjadi kuning
Alkaloid	Positif (+)	– Pereaksi wagner : terdapat endapan berwarna coklat – Pereaksi mayer : terdapat endapan berwarna putih
Saponin	Positif (+)	Terdapat busa setinggi 1 cm
Polifenol	Negatif (-)	Tidak mengalami perubahan
Tannin	Positif (+)	Positif mengandung tannin, larutan uji berubah menjadi biru kehitaman atau kehijauan

5.5 Pengukuran Antioksidan

5.5.1 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

Optimasi panjang gelombang perlu dilakukan sebelum pengukuran sampel pada spektrofotometer UV-Vis untuk memberikan kepekaan terhadap sampel dan mengetahui daerah serapan yang akan dihasilkan (Sukmawati dkk, 2018). Optimasi panjang gelombang dilakukan pada daerah panjang gelombang 400-800 nm dengan blanko yang digunakan adalah larutan DPPH 50 ppm. Hasil pengukuran optimasi panjang gelombang optimum menunjukkan puncak panjang

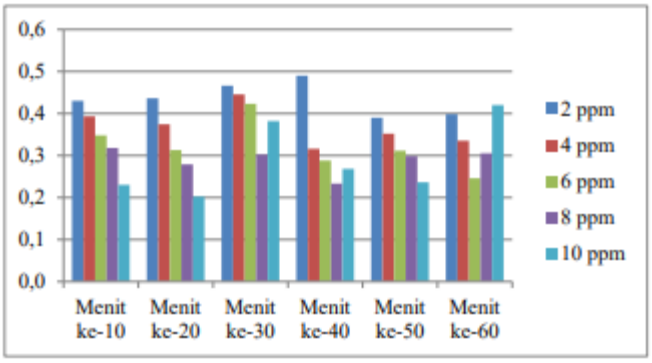
gelombang yang berada dititik 515 nm dengan absorbansi 0,673 sehingga panjang gelombang yang dapat digunakan dalam penelitian ini yaitu 515 nm. Hasil dapat dilihat pada gambar 5.1.



Gambar 5.1 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

5.5.2 Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui waktu yang paling optimum suatu zat atau sampel bereaksi dengan maksimal. Sampel yang digunakan dalam optimasi waktu inkubasi penelitian ini yaitu kuersetin 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Optimasi waktu inkubasi dilakukan pada menit ke-10, menit ke-20, menit ke-30, menit ke-40, menit ke-50 dan menit ke-60. Hasil pada gambar 5.2 yang menunjukkan absorbansi kuersetin menggunakan spektrofotometer UV-Vis.



Gambar 5.2 Absorbansi kuersetin dari menit ke-10 sampai menit ke-60

Dalam hal ini, hasil absorbansi kemudian diolah lalu diperoleh persamaan regresi linier dan nilai IC_{50} dari menit ke-10 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit seperti pada tabel 5.3. Keenam data tersebut R^2 yang paling baik ditunjukkan pada waktu inkubasi menit ke-20 dengan persamaan regresi yaitu y = 4,5997x + 19,984 dan nilai IC_{50} yaitu 6,526 µg/mL, sehingga waktu inkubasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 20 menit. Hasil serupa ditunjukkan dalam penelitian (Rizkayanti dkk, 2017).

Tabel 5.3 Persamaan regresi linier dan nilai IC_{50} kuersetin dari menit ke-10 sampai menit ke-60

Menit ke-	Persamaan Regresi	R^2	IC_{50} (µg/mL)
10	y = 3,8807x + 20,539	0,9607	7,592
20	y = 4,5997x + 19,984	0,9898	6,526
30	y = 2,9575x + 18,807	0,5766	12,277
40	y = 4,3065x + 22,042	0,6907	6,493
50	y = 2,9575x + 30,392	0,9699	6,630
60	y = -0,1144x + 45	0,001	-43,706

5.5.3 Pengukuran Absorbansi Kuersetin dan Ekstrak Etanol Daun Kelor

Pengujian ekstrak etanol daun kelor dan kuersetin dilakukan inkubasi selama 20 menit dan diukur pada panjang gelombang 515 nm sesuai dengan optimasi yang telah dilakukan. Hasil pengujian dihitung untuk mencari persentase

inhibisi pada setiap replikasi. Hasil pengukuran absorbansi pada larutan pembanding kuersetin dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil Absorbansi Kuersetin

Replikasi	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Absorbansi Blanko	% Inhibisi
1	2	0.484	0.673	28.08
	4	0.416	0.673	38.19
	6	0.354	0.673	47.40
	8	0.295	0.673	56.17
	10	0.235	0.673	65.08
2	2	0.474	0.673	29.57
	4	0.417	0.673	38.04
	6	0.352	0.673	47.70
	8	0.297	0.673	55.87
	10	0.236	0.673	64.93
3	2	0.474	0.673	29.57
	4	0.410	0.673	39.08
	6	0.351	0.673	47.85
	8	0.293	0.673	56.46
	10	0.232	0.673	65.53

Hasil pengukuran absorbansi ekstrak daun kelor dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi dapat dilihat pada tabel 5.5 sebagai berikut.

Tabel 5.5 Hasil Absorbansi Ekstrak Daun Kelor
Dengan Metode Maserasi

Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	Absorbansi Blanko	% Inhibisi
1	10	0.426	0,685	37.81
	50	0.373	0,685	45.55
	100	0.365	0,685	46.72
	150	0.246	0,685	64.09
	200	0.175	0,685	74.45
2	10	0.427	0,685	37.66
	50	0.376	0,685	45.11
	100	0.363	0,685	47.01
	150	0.247	0,685	63.94
	200	0.174	0,685	74.60
3	10	0.424	0,685	38.10

	50	0.371	0,685	45.84
	100	0.363	0,685	47.01
	150	0.245	0,685	64.23
	200	0.176	0,685	74.31

Hasil pengukuran absorbansi ekstrak daun kelor dengan menggunakan metode ekstraksi sokletasi dapat dilihat pada tabel 5.6 sebagai berikut.

Tabel 5.6 Hasil Absorbansi Ekstrak Daun Kelor
Dengan Metode Sokletasi

Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	Absorbansi Blanko	% Inhibisi
	10	0.361	0,667	45.88
	50	0.347	0,667	47.98
1	100	0.322	0,667	51.72
	150	0.311	0,667	53.37
	200	0.280	0,667	58.02
	10	0.365	0,667	45.28
	50	0.345	0,667	48.28
2	100	0.329	0,667	50.67
	150	0.314	0,667	52.92
	200	0.277	0,667	58.47
	10	0.364	0,667	45.43
	50	0.344	0,667	48.43
3	100	0.330	0,667	50.52
	150	0.316	0,667	52.62
	200	0.276	0,667	58.62

5.5.4 Hasil Analisis Nilai IC50 Kuersetin dan Ekstrak Daun Kelor

Nilai serapan larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan sampel dihitung sebagai persen inhibisi. Hasil perhitungan persen peredaman dimasukkan kedalam persamaan regresi linier dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai persen inhibisi sebagai ordinatnya (Sumbu Y). hasil analisis regresi linier berupa nilai x, dimasukkan ke dalam rumus IC_{50} x = 50 dan ditentukan tingkat kekuatan antioksidan berdasarkan nilai IC_{50}. Nilai IC_{50} dari perhitungan pada saat persentase inhibisi sebesar 50%. y = ax+b. Suatu senyawa

dikatakan sangat kuat jika nilai IC50<50 µg/mL, Kuat 50 µg/mL – 100 µg/mL, sedang 101 µg/mL – 150 µg/mL, Lemah 151 µg/mL – 200 µg/mL. Semakin tinggi aktivitas antioksidan yang terkandung pada suatu sampel nilai IC_{50} semakin kecil (Kate, 2014). Hasil analisis nilai IC_{50} ekstrak dan kuersetin dapat dilihat pada tabel 5.7

Tabel 5.7 Hasil Nilai IC_{50} Kuersetin dan Ekstrak Daun Kelor

Senyawa	**IC50 (Replikasi)**			$\overline{X}$ **±SD**	**Kategori**
	1	**2**	**3**		
Kuersetin	6,66	6,63	6,52	6,60±0,074	Sangat Kuat
Ekstraksi Maserasi Daun kelor	82,66	83,52	81,85	82,68±0,84	Kuat
Ekstraksi Sokletasi Daun Kelor	80,82	85,62	85,56	84±2,75	Kuat

5.5.5 Hasil Analisis Data

Pengolahan data IC_{50} kuersetin dan ekstrak etanol daun kelor dengan metode maserasi dan maserasi menggunakan SPSS. Uji normalitas menggunakan *Shapiro-wilk*. Pada uji normalitas data dikatakan terdistribusi normal karena nilai p yang dihasilkan >0,05. Pada uji homogenitas data dikatakan homogen karena nilai p yang dihasilkan >0,05 yaitu 0,055. Pada uji *Fisher Least Significant Difference* (LSD) nilai p yang dihasilkan <0,05 yaitu 0,00 maka menunjukkan bahwa adanya perbedaan signifikan pada taraf 95% antara kuersetin dan ektrsk etanol daun kelor metode maserasi dan sokletasi sehingga H0 ditolak atau H1 diterima. Hal tersebut menujukkan bahwa kuersetin memiliki antioksidan lebih baik dibandingkan ekstrak etanol daun kelor (Lampiran 8)

BAB 6. PEMBAHASAN PENELITIAN

6.1 Ekstraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Ekstraksi daun kelor dilakukan dengan dua metode eksraksi, yaitu metode maserasi dan sokletasi. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dilakukan selama 5 hari dan dilakukan re-maserasi selama 3 hari agar senyawa yang tertarik dalam pelarut menjadi maksimal. Ekstraksi menggunakan sokletasi dilakukan sampai larutan berubah menjadi hampir bening dengan 10-15 siklus. Penguapan larutan ekstrak dilakukan dengan rotary evaporator dengan suhu 40 derajat selsius di bawah tekanan 75 mbar. Setelah dilakukan penguapan didapat hasil ekstrak kental dari metode maserasi replikasi 1, replikasi 2, replikasi 3 sebanyak 20,34 gram, 19,23 gram, dan 23 gram dengan standar deviasi ±2 dan persen rendemen dari replikasi 1, replikasi 2 dan replikasi 3 adalah 20,34%, 19,23% dan 21,94%. Hasil dari ekstrak kental yang didapat dari metode sokletasi replikasi 1, replikasi 2, dan replikasi 3 adalah 113 gram, 108 gram dan 98,73 gram dengan standar deviasi ±7 dan persen rendemen dari replikasi 1, replikasi 2 dan replikasi 3 adalah 25,11%, 24% dan 21,94%. Dari penelitian Tukiran, dkk (2020) didapatkan persen rendemen daun kelor 24,23% dengan bobot ekstrak kental yang didapat sebanyak 24,23 gram dari daun kelor segar sebanyak 100 gram.

Perbedaan Hasil ekstrak yang diperoleh dapat disebabkan karena semakin tinggi suhu ekstraksi akan menyebabkan gerakan molekul semakin cepat, begitu juga dengan adanya sirkulasi (pergerakan) pelarut. Adanya faktor suhu dan sirkulasi pelarut dapat meningkatkan laju perpindahan massa senyawa kimia yang

terdapat dalam daun kelor, dengan demikian kontak zat terlarut (solute) dalam sampel dengan pelarut semakin sering dan diperoleh ekstrak yang lebih banyak (Silalahi, 2022).

6.2 Skrining Fitokimia Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Skrining fitokimia adalah salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder suatu bahan alam. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan yang dapat memberikan gambaran gambaran mengenai kandungan senyawa tertentu dalam bahan alam yang akan diteliti (Vifta & Advistasari, 2018). Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin. Skrining fitokimia daun kelor yang diperoleh di wilayah Denpasar Utara, Bali, mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, fenolat, triterpenoida/steroida, dan tanin (Putra dkk, 2016). Infusa daun kelor yang dilakukan oleh Yuliani & Dienina (2015) menunjukkan bahwa infusa daun kelor tidak mengandung senyawa alkaloid. Perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder pada suatu sampel dapat disebabkan oleh pelarut yang digunakan, tempat tumbuh dan iklim pada suatu daerah. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada biji kelor hanya terdapat senyawa flavonoid dan saponin (Nurliana dkk, 2018). Sedangkan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor menganandung senyawa steroid, flavonoid, alkaloid, fenol, dan tanin (Ikalinus dkk, 2015). Terpenoid merupakan senyawa non polar yang akan terlarut pada pelarut non polar sesuai dengan prinsip kerja maserasi yaitu *dissolved like*, senyawa polar akan terlarut pada pelarut polar dan

senyawa non polar akan terlarut pada pelarut non polar (Anjaswati dkk, 2021). Pada penelitian ini tidak melakukan skrining fitokimia senyawa terpenoid karena pelarut etanol yang digunakan bersifat polar dan tidak mudah menarik senyawa non polar.

6.3 Aktivitas Antioksidan

Penetapan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Metode DPPH merupakan metode in vitro yang sering dipilih sebagai metode pengujian aktivitas antioksidan karena sederhana, mudah, cepat, peka dan memerlukan sedikit sampel. DPPH atau 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil adalah suatu radikal bebas yang diperdagangkan, memiliki sifat stabil pada suhu ruang dengan bentuk serbuk ungu tua, cepat teroksidasi oleh temperatur dan udara serta sering digunakan untuk mengevaluasi peredaman radikal bebas pada bahan alam (Nugroho, 2021).

Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode peredaman terhadap radikal bebas DDPH yang diujikan terhadap ekstrak etanol daun kelor. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui besarnya aktivitas antioksidan pada ekstrak yang diujikan. Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH adalah adanya perubahan intensitas warna ungu pada DPPH yang sebanding dengan konsentrasi larutan DPPH tersebut. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan akan memberikan warna ungu. Warna akan berubah menjadi kuning saat elektronnya berpasangan. Perubahan intensitas warna ungu ini terjadi karena adanya peredaman radikal bebas yang dihasilkan oleh bereaksinya molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul senyawa sampel sehingga terbentuk senyawa Difenil

pikril hidrazin dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning. Perubahan warna ini akan memberikan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory concentration*). Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun kelor, beserta kontrol positif kuersetin dilakukan dengan berbagai seri konsentrasi menggunakan metode DPPH yang selanjutnya absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis. (Prawirodihardjo, 2014).

Pengukuran absorbansi ekstrak dengan DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang sebelumnya dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH. Panjang gelombang maksimum DPPH yang digunakan berada pada panjang gelombang 515 nm dengan absorbansi 0,673 (Lampiran 5). Panjang gelombang maksimum ini memberikan serapan paling maksimal dari larutan uji dan memberikan kepekaan paling besar. Panjang gelombang yang diperoleh sesuai dengan penelitian yang dilakukan Ikhlas (2013) yang menyebutkan bahwa panjang gelombang maksimum DPPH adalah 515,4 nm. Menurut penelitian Rizkayanti, dkk (2017) penentuan panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 517 nm. Pada penelitian yang dilakukan oleh Sibuea (2017) menunjukkan hasil panjang gelombang maksimum DPPH 516 nm. Perbedaan panjang gelombang maksimum disebabkan karena senyawa DPPH

sensitif terhadap beberapa basa Lewis dan jenis pelarut, serta oksigen. Metode DPPH didasarkan pada penurunan nilai absorbansi akibat perubahan warna larutan. Larutan yang mula-mula berwarna ungu akan berubah menjadi warna kuning. Perubahan ini terjadi saat radikal DPPH ditangkap oleh antioksidan yang melepas atom hidrogen untuk menangkap DPPH-H stabil.

Optimasi waktu inkubasi dilakukan bertujuan agar reaksi antara larutan sampel dengan larutan DPPH berlangsung sempurna sebelum dilakukan pengukuran aktivitas antioksidannya menggunakan spektrofotometer UV-Visible (Andi dkk, 2014). Pengukuran waktu inkubasi optimum dilakukan pada panjang gelombang 515 nm selama 60 menit dengan selang waktu 10 menit, dari hasil waktu inkubasi optimum yang didapat pada menit ke-20 dengan nilai R^2= 0,942. Penentuan waktu optimasi terbaik dapat ditentukan dengan mencari nilai koefisien nilai R^2 yang mendekati 1 dan nilai IC_{50} yang terendah. Penelitian yang dilakukan oleh (Yuliani & Dienina, 2015) menunjukkan hasil waktu inkubasi optimum pada menit ke-30 dengan pembanding vitamin C

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan membuat lima konsentrasi kuersetin dan sampel ekstrak daun kelor dengan tiga kali replikasi. Pengukuran absorbansi larutan pereaksi DPPH yang direaksikan dengan larutan uji (sampel dan pembanding) pada panjang gelombang maksimum. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan instrumen spektrofotometri UV-Vis. Nilai serapan DPPH sebelum dan sesudah penambahn larutan uji dihitung sebagai persen perdaman. Nilai IC_{50} didapat dari perhitungan regresi linier yang telah diperoleh.

Hasil analisis peredaman radikal bebas oleh ekstrak etanol daun kelor dapat dilihat pada tabel 5.5 dan tabel 5.6 yang menunjukkan bahwa semakin meningkat konsentrasi ekstrak maka semakin meningkat aktivitas peredaman DPPH karena semakin banyak atom hidrogen dari ektrak etanol daun kelor yang berpasangan dengan elektron pada radikal bebas DPPH sehingga serapan semakin menurun yang ditandai dengan pembentukan kompleks *diphenylpycrilhidrazil* warna kuning yang bersifat non radikal.

Nilai IC_{50} diperoleh berdasarkan persamaan regresi linier yang didapatkan dengan memplotkan konsentrasi larutan uji dan persen rendemen DPPH, dengan konsentrasi larutan uji (µg/mL) sebagai absis dan nilai persen peredaman sebegai ordinat. Berdasarkan hasil persen peredaman DPPH dan IC_{50} larutan uji diproleh rata-rata nilai R^2 untuk ekstrak etanol daun kelor dengan metode maserasi, sokletasi dan kuersetin sebagai kontrol positif yaitu masing-masing 0,941, 0,968, 0,999. Penelitian yang dilakukan oleh Susanty, Ridnugrah, dkk (2019) menunjukkan kadar flavonoid yang terkandung dalam daun kelor diperoleh persamaan regresi linier y = 0,916x + 5,142 dengan R^2 = 0,985. Perbedaan nilai R^2 yang diperoleh dpat disebabkan oleh 3 hal, antara lain kurang baiknya pembuatan deret konsentrasi larutan uji yang digunakan, instrumen (spektrofotometri UV-Vis) yang tidak dikalibrasi secara benar, dan terdapat pengotor dalam tabung reaksi yang digunakan. Jika grafik hasil perhitungan memiliki nilai R^2 mendekati 1 atau sama dengan 1, maka data hasil penelitian yang diperoleh sangat baik (Rizkayanti dkk, 2017).

Hasil nilai IC_{50} yang diperoleh dari ekstrak daun kelor menggunakan metode maserasi mempunyai IC_{50} sebesar 82,677 µg/mL, untuk ekstrak etanol daun kelor menggunakan metode sokletasi mempunyai nilai IC_{50} sebesar 84µg/mL, sedangkan IC_{50} yang dihasilkan kuersetin sebesar 6,601µg/mL. Hal ini menjelaskan bahwa kemampuan menangkap radikal bebas ekstrak etanol daun kelor dengan menggunakan metode maserasi termasuk dalam golongan kuat. Meskipun kedua metode tersebut tergolong memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, namun metode maserasi memiliki aktivitas antioksidan terbaik dibandingkan metode sokletasi yang dilihat dari besarnya nilai IC_{50}. Hal ini kemungkinan disebabkan senyawa metabolit yang dihasilkan dari metode soklet awalnya memiliki asam lemak tidak jenuh serta mempunyai ikatan rangkap yang stabil. Karena sokletasi sendiri merupakan metode dengan cara pemanasan sehingga dari pemanasan itulah yang dapat mengakibatkan senyawa metabolit yang tidak jenuh terkonversi atau mudah terurai menjadi asam lemak jenuh dalam arti mempunyai ikatan tunggal yang tidak stabil dibandingkan dengan maserasi (Laha, 2018)

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Hasanah, dkk (2017) menunjukkan hasil aktivitas daun kelor dengan kategori lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 363,75 µg/mL. Menurut Tukiran, dkk (2020) yang menggunakan infusa daun kelor menunjukkan hasil IC_{50} sebesar 122,742 µg/mL dengan kategori sedang. Hal yang dapat mempengaruhi kadar aktivitas antioksidan dalam tanaman diantaranya adalah letak geografis tanaman, faktor iklim yang meliputi suhu, udara dan kelembaban, faktor esensial seperti cahaya, air, dan unsur hara tanah. Serta faktor gangguan hama atau penyakit dan gulma (A. Aminah dkk, 2016).

Uji aktivitas antioksidan pada minyak biji kelor dari hasil metode maserasi dan sokletasi menggunakan metode DPPH dan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh nilai IC_{50} minyak biji kelor dengan metode maserasi sebesar 36.184 ± 2,582 µg/mL dengan kategori kuat, sedangkan minyak biji kelor dengan metode sokletasi diperoleh nilai IC_{50} sebesar 45.378 ± 3,705 µg/mL dengan kategori sedang (Laha, 2018).

Pada pengujian aktivitas antioksidan digunakan larutan pembanding kuersetin. Kuersetin sering digunakan sebagai larutan pembanding dalam pengukuran aktivitas antioksidan karena kuersetin merupakan antioksidan kuat, dengan kekuatan 4-5 kali lebih tinggi dibandingkan vitamin C dan vitamin E yang dikenal sebagai antioksidan potensial (Hardiyanthi, 2015). Aktivitas antioksidan dari pembanding kuersetin dengan konsentrasi 2 µg/mL, 4 µg/mL, 6 µg/mL, 8 µg/mL, dan 10 µg/mL diperoleh hasil optimasi waktu inkubasi optimum pada menit ke-20 pada panjang gelombang 515 nm. Analisis persen inhibisi pada masing masing replikasi konsentrasi kuersetin dapat dilihat pada (Lampiran 7.) bahwa kenaikan konsentrasi berbanding lurus dengan peningkatan persen peredaman. Kuersetin memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan ditunjukkan nilai rata-rata IC_{50} sebesar 6,603 µg/mL.

Kuersetin memiliki aktivitas antioksidan yang jauh lebih tinggi daripada ekstraknya karena kuersetin merupakan isolat yang terdiri dari satu kelompok senyawa dan telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Aktivitas antioksidan ekstrak lebih rendah karena mengandung berbagai kelompok senyawa yang aktivitas antioksidannya belum diketahui secara pasti.

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Kandungan kimia yang terdapat pada daun kelor (*Moringa oleifera* L.) adalah Flavonoid, Saponin, Alkaloid dan Tannin.
2. Nilai aktivitas antioksidan IC_{50} dari daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang dihasilkan dari metode maserasi dan sokletasi sebesar 82,677 µg/mL dan 84 µg/mL yang merupakan antioksidan kuat.

7.2 Saran

Bagi peneliti selanjutnya dapat melakukan pengujian aktivitas antioksidan pada daun kelor dengan proses ekstraksi, pelarut ekstraksi serta yang metode uji aktivitas antioksidan yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

Aminah, A., Maryam, S., Baits, M., & Kalsum, U. (2016). Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Berdasarkan Tempat Tumbuh Dengan Metode Peredaman DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, *3*(1), 146–150. https://doi.org/10.33096/jffi.v3i1.175

Aminah, S., Ramdhan, T., & Yanis, M. (2015). Kandungan Nutrisi dan Sifat Fungsional Tanaman Kelor (Moringa oleifera). *Buletin Pertanian Perkotaan*, *5*(2), 35–44.

Andi, Pratiwi, L., & Bambang Wijayanto. (2014). Uji Efektivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Pada Sediaan Krim Terhadap Dpph *(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil)*. 2–8.

Angelina, C., Swasti, Y. R., & Pranata, F. S. (2021). Peningkatan Nilai Gizi Produk Pangan Dengan Penambahan Bubuk Daun Kelor (Moringa oleifera): REVIEW. *Jurnal Agroteknologi*, *15*(01), 79. https://doi.org/10.19184/j-agt.v15i01.22089

Anjaswati, D., Pratimasari, D., & Nirwana, A. P. (2021). Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol , Fraksi n- Heksana , Etil Asetat , dan Air Daun Bit (Beta vulgaris L .) Menggunakan Fraksinasi Bertingkat. *Stikes*, *1*(1), 1–6.

Habibah, P. (2018). Karakteristik Kimia Ekstraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Dengan Berbagai Variasi Suhu Ekstraksi. http://repository.uin-suska.ac.id/15591/

Handayani, D. N. M. (2019). Upaya Pengurangan Konsumsi Junk Food untuk Menurunkan Risiko Penyakit Tidak Menular. https://doi.org/10.31227/osf.io/2dyj6

Handayani, V., Ahmad, A. R., & Sudir, M. (2014). Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Bunga Dan Daun Patikala (Etlingera elatior (Jack) R. M.Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Pharmaceutical Sciences and Research*, *1*(2), 86–93.

Harahap, A. S. (2019). Isolasi Golongan Senyawa Flavonoid Dari Daun Kelapa Sawit *(Elaeis guineensis Jacq.)*. Universitas Sumatera Utara.

Hardiyanthi, F. (2015). Pemanfaatan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Dalam Sediaan Hand And Body Cream. UIN Syarif

Hidayatullah Jakarta.

Hasanah, N., Susilo, J., & Oktianti, D. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dau Kelor (Moringa oleifera Lamk.) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Gizi Dan Kesehatan*, *9*(21), 97–102.

Husnah, Effendi, T., & Ompusunggu, F. (2019). Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Kelor Terhadap Warna, Aroma, Tekstur, Daya Buih, pH, Pada Pembuatan Sabun Padat. *Jurnal Redoks Program Studi Teknik Kimia Universitas PGRI Palembang*, *4*(1), 44–51. https://jurnal.univpgri-palembang.ac.id/index.php/redoks/article/view/3074

Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., & Setiasih, N. L. E. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, *4*(1), 71–79.

Ikhlas, N. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum* Linn) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.

Isnan, W., & M, N. (2017). Ragam Manfaat Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Bagi Masyarakat. *Info Teknis Eboni*, *14*(1), 63–75.

Istiqomah. (2013). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa *(Piperis retrofracti fructus.* UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.

Kate, D. I. (2014). Penetapan Kandungan Fenolik Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Dpph (1,1-Diphenyl-2-Pikrilhydrazil) Ekstrak Metanolik Umbi Bidara Upas *(Merremia mammosa (Lour) Hallier f.)*. Universitas Sanata Dharma.

Katrin, K., & Bendra, A. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi dan Golongan Senyawa Kimia Daun Premna oblongata Miq. *Pharmaceutical Sciences and Research*, *2*(1), 21–31. https://doi.org/10.7454/psr.v2i1.3332

Kondoj, S. T., Suryanto, E., & Runtuwene, M. (2018). Aktivitas Antifotooksidasi Dan Penghambat Pembentukan Ages (Advanced Glycation End-Products) Dari Fraksi Alga Padina australis. *Pharmacon*, *7*(4), 51–61. https://doi.org/10.35799/pha.7.2018.21422

Krisnadi Dudi A. (2015). Kelor Super Nutrisi. In *Morindo*.

Kuş, C., Uğurlu, E., Özdamar, E. D., & Can-Eke, B. (2017). Synthesis and Antioxidant Properties of New Oxazole-5(4H)-one Derivatives. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, *14*(2), 174–178. https://doi.org/10.4274/tjps.70299

Laha, K. M. (2018). Aktivitas Antioksidan Minyak Biji Kelor (*Moringa oleifera* L.) Yang Di Peroleh Dari Sokletasi Dan Maserasi Dengan Metode DPPH *(1,1diphenyl-2-Phycrylhydrazyl)*. Politeknik Kesehatan Kemenkes.

Laras. (2018). Efektivitas Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera L.) Dalam Pengendalian Ulat Krop*(Crocidolomia pavonana F.)* Pada Tanaman Kubis *(Brassica oleracea L. var. capitata)*. UIN Raden Intan Lampung.

Lisi, A. K. F., Runtuwene, M. R. J., & Defny S. Wewengkang. (2017). Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Metanol Bunga Soyogik (Saurauia bracteosa DC.). *Pharmacon*, *6*(1), 53–61.

Ma'ruf, A., Supriadi, & Nuryanti, S. (2017). Pemanfaatan Biji Kelor (Moringa oleifera L.) Sebagai Pasta Gigi. *Jurnal Akademika Kimia*, *5*(2), 61–66. https://doi.org/10.22487/j24775185.2016.v5.i2.8010

Mustikaningrum, M. (2015). Aplikasi Metode Spektrofotometri Visibel Genesys-20 Untuk Mengukur *(Curcuma Xanthorrhiza)*. Universitas Diponegoro.

Nugroho, W. F. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mangga Arum Manis Daerah Kabupaten Banyuwangi Dengan Metode DPPH *(1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil)*.

Nurbaya, S., & Silalahi, yossy c. e. (2017). Penggunaan Daun Kelor (Moringao oleifera) Sebagai Sediaan Hair Tonic. *Jurnal Farmanesia*, *4*(1), 1–9.

Nurliana, Rahman, N., & Ratman. (2018). Skrining Fitokimia Dan Uji Efektivitas Tepung Biji Kelor (Moringa. *J. Akademika Kim*, *6*(1), 122–129.

Pramita, O. E. (2017). Pengaruh Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) Terhadap Mda (*Malondialdehid*) Hati Tikus Jantan (*Rattus Norvegicus*) Strain Wistar Hiperkolesterol. Universitas Muhammadiyah Malang.

Prawirodihardjo, E. (2014). Uji aktivitas antioksidan dan uji toksisitas ekstrak etanol 70% dan ekstrak air laut batang kayu jawa (Lannea coromandelica). In

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Uin Syarif Hidayatullah Jakarta. UIN Syarif Hidayatullah.

Putra, I. wayan D. P., Dharmayudha, A. A. G. O., & Sudimartini, L. M. (2016). Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (Moringa oleifera L) di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*, *5*(5), 464–473.

Retnaningtyas, Y., Hamzah, M. H., & Kristiningrum, N. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Indonesia*, *9*(1), 26–32. https://doi.org/10.35617/jfi.v9i1.565

Rini, A. A., Supriatno, & Rahmatan, H. (2017). Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Kawista (*Limonia Acidissima* L.) dari Daerah Kabupaten Aceh Besar terhadap Bakteri Escherichia Coli. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Unsyiah*, *2*(1), 1–12.

Riskianto, Kamal, S. E., & Aris, M. (2021). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Kelor (Moringa oleifera Lam.) Terhadap DPPH. *Jurnal Pro-Life*, *8*(2), 168–177.

Rizkayanti, R., Diah, A. W. M., & Jura, M. R. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* LAM). *Jurnal Akademika Kimia*, *6*(2), 125. https://doi.org/10.22487/j24775185.2017.v6.i2.9244

Sandi, A., Sangadji, M. N., & Samudin, S. (2019). Morfologi dan Anatomi Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* L.) pada berbagai Ketinggian tempat Tumbuh. *Agrotekbis*, *7*(1), 28–36.

Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). Antioksidan Alami dan Sintetik (Cetakan-1). Andalas University Press.

Setiani, L. A., Sari, B. L., Indriani, L., & Jupersio. (2017). Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol 70% Kulitbawang Merah (Allium cepa L.) Dengan Metode Maserasi Dan Mae *(Microwave Assisted Extraction)*. *7*(2), 15–22.

Sibuea, R. D. (2017). Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Dan Penentuan Kandungan Total Flavonoid Dari Fraksi Etil Asetat Daun Bangun-Bangun (*Plectranthus amboinicus* L.). In *Medan: Universitas Sumatera Utara*.

Universitas Sumatera Utara.

Silalahi, E. N. M. P. (2022). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Ekstrak Etanol Daun Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Terhadap Aktivitas Antibakteri Pada Bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Simbolon, N. (2019). Pengaruh Pemberian Cookies Dengan Penambahan Tepung Daun Kelor (Moringa oleifera) Terhadap Kenaikan Bb Balita Di Desa Kubah Sentang. Politeknik Kesehatan Medan.

Sitepu, J. S. G. (2015). Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Secara Maserasi dan dengan Alat Soxhlet terhadap Kandungan Kurkuminoid dan Minyak Atsiri dalam Ekstrak Etanolik Kunyit *(Curcuma domestica Val.)*. Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.

Suaskara, I. B. M., Joni, M., Ariwati, P., Sumardika, P. A., & Maulana, A. G. (2016). Efek Seduhan Daun Kelor Terhadap Pertumbuhan Dan Perkembangan Anak Tikus Putih. *Journal of Biological Science*, *4*(2).

Suhartati, T. (2017). Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-VIS Dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik. Anugrah Utama Raharja.

Sukmawati, Sudewi, S., & Pontoh, J. (2018). Optimasi dan Validasi Metode Analisis Dalam Penentuan Kandungan Total Flavonoid Pada Ekstrak Daun Gedi Hijau (*Abelmoscus manihot* L.) yang Diukur Menggunakan Spektrofotomter UV-Vis. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*, *7*(3), 32–41.

Surahman, Rachmat, M., & Supriadi, S. (2016). *Metodologi Penelitian* (Cetakan Pe). Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.

Susanty, Ridnugrah, N. A., Chaerrudin, A., & Yudistirani, S. A. (2019). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Sebagai Zat Tambahan Pembuatan Moisturizer. *Seminar Nasional Sains Dan Teknologi 2019 1 Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah Jakarta , 16 Oktober 2019*, 1–7.

Susanty, Yudistirani, S. A., & Islam, M. B. (2019). Metode Ekstraksi Untuk Perolehan Kandungan Flavonoid Tertinggi Dari Ekstrak Daun Kelor

(*Moringa oleifera* Lam). *Jurnal Konversi*, *8*(2), 31–36.

Trisnawati, Y., & Mutaqien, I. (2021). Berjuta Manfaat KELOR. In O. Steviano, S. Sutriswanto, & E. Kustanti (Eds.), *Pusat Perpustakaan dan penyebaran Teknologi Pertanian* (Cetakan-1). Kementrian Pertanian Republik Indonesia.

Tukiran, , Miranti, M. G., Dianawati, I., & Sabila, F. I. (2020). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera Lam.) Dan Buah Bit (Beta vulgaris L.) Sebagai Bahan Tambahan Minuman Suplemen. *Jurnal Kimia Riset*, *5*(2), 113. https://doi.org/10.20473/jkr.v5i2.22518

Tutik, Dwipayana, I. N. A., & Elsyana, V. (2018). Identifikasi dan Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor pada Variasi Pelarut dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Malahayati*, *1*(2), 80–87.

Ulfa, M., Hendrarti, W., & Muhram, P. N. (2016). Formulasi Gel Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera Lam.) Sebagai Anti Inflamasi Topikal Pada Tikus (Rattus novergicus). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, *1*(2), 30–35.

Vifta, R. L., & Advistasari, Y. D. (2018). Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (Medinilla speciosa B.). *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, *1*, 8–14.

Violita, A. H. (2020). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi *(Ocimum citriodorum)* Terhadap Kadar Mda Tikus Setelah Paparan Asap Rokok. UIN Maulana Malik Ibrahim.

Werdhasari, A. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, *3*(2), 59–68.

Widayati, E. (2012). Oxidasi Biologi, Radikal Bebas, dan Antioxidant. *Jurnal Majalah Ilmiah Sultan Agung*, *50*(128).

Yuliani, N. N., & Dienina, D. P. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (Moringa oleifera, Lamk) Dengan Metode 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). *Jurnal Info Kesehatan*, *14*(2), 1060–1082.

Yuslianti, E. R. (2017). Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan. Deepublish.

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tumbuhan

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0

KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET DAN TEKNOLOGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
UPT. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax.(0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : http//www.Polije.ac.id

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 099/PL17.8/PG/2022

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi S1 Farmasi No: 1200/FIKES.UDS/U/V/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama	: Indra Wahyu Ismi Dwi N
NIM	: 18040046
Jur/Fak/PT	: Prodi S1 Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

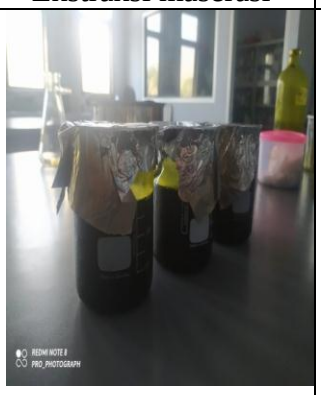
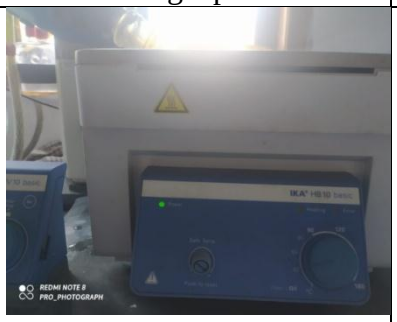
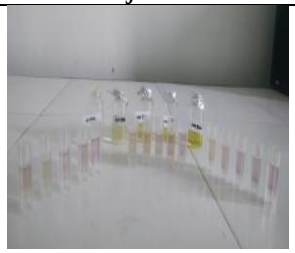
maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah: *Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio:Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Dilleniidae; Ordo: Capparales* (*Brassicales*); *Famili: Moringaceae*; *Genus: Moringa; Spesies: Moringa Oleifera*, Lamk.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 20 Juni 2022
Ka. UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu

Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
NIP. 197106212001121001

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian

Pencucian daun kelor	Sortasi basah	Pengeringan
Penghalusan	Ekstraksi maserasi	Ekstraksi sokletasi
		
Penguapan	Larutan kontrol positif	Optimasi waktu inkubasi
		
Larutan sampel daun kelor	Larutan uji daun kelor	Larutan DPPH
		

Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Ekstrak

Rendemen Ekstrak

$$Rendemen = \frac{Bobot\ Ekstrak}{Bobot\ Simplisia} \times 100\%$$

Metode Maserasi

Replikasi 1 :

$$Rendemen = \frac{20{,}34\ gram}{100\ gram} \times 100\% = 20{,}34\%$$

Replikasi 2 :

$$Rendemen = \frac{19{,}23\ gram}{100\ gram} \times 100\% = 19{,}23\%$$

Replikasi 3 :

$$Rendemen = \frac{23\ gram}{100\ gram} \times 100\% = 23\%$$

Metode Sokletasi

Replikasi 1 :

$$Rendemen = \frac{113\ gram}{450\ gram} \times 100\% = 25{,}11\%$$

Replikasi 2 :

$$Rendemen = \frac{108\ gram}{450\ gram} \times 100\% = 24\%$$

Replikasi 3 :

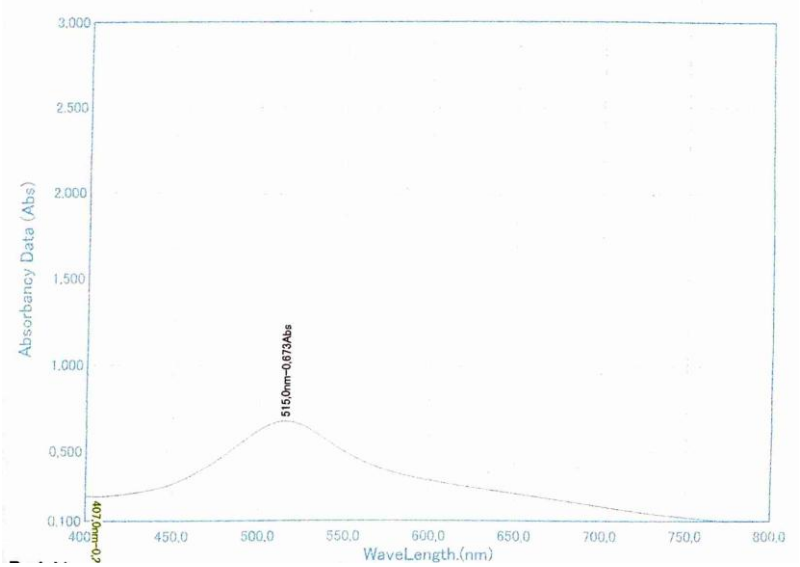
$$Rendemen = \frac{98{,}73\ gram}{450\ gram} \times 100\% = 21{,}94\%$$

Lampiran 4. Skrining Fitokimia

Pengujian	Dokumentasi	Pereaksi	Keterangan
Flavonoid		H2SO4 pekat dan ammonia encer	Positif mengandung flavonoid larutan berubah dari kuning kehijauan menjadi kuning
Alkaloid		Pereaksi mayer dan wagner	– Pereaksi wagner (Campuran Iodium dan KI) : terdapat endapan berwarna coklat – Pereaksi mayer ($HgCl_2$ dilarutkan dalam aquadest dan KI dilarutkan dalam aquadest) : terdapat endapan berwarna putih
Saponin		Aquadest	Positif mengandung saponin, terdapat busa

Polifenol		NaCl3 1%	Tidak terjadi perubahan
Tannin		FeCl3 1%	Positif mengandung tannin, larutan uji berubah menjadi biru kehitaman atau kehijauan

Lampiran 5. Grafik Panjang Gelombang Maksimum DPPH



Lampiran 6. Perhitungan Larutan dan Hasil Absorbansi Larutan Uji

Perhitungan DPPH

$$1\ mg\ dilarutkan\ pada\ 20\ mL\ etanol\ pa = \frac{1\ mg \times 1000\ {}^{ml}/_{L}}{20\ ml} = 50\ ppm$$

Perhitungan sampel daun kelor

Lautan induk : 10 mg ekstrak dilarutkan pada etanol pa 10 ml:

$$= \frac{10\ mg\ \times 1000\ {}^{ml}/_{L}}{10\ ml}$$

= 1000 ppm

Dilakukan pengenceran diberbagai konsentrasi

10 ppm : $\frac{10\ ppm \times 10\ ml}{1000\ ppm} = 0{,}1\ ml$

50 ppm : $\frac{50\ ppm \times 10\ ml}{1000\ ppm} = 0{,}5\ ml$

100 ppm : $\frac{100\ ppm \times 10\ ml}{1000\ ppm} = 1\ ml$

150 ppm : $\frac{150\ ppm \times 10\ ml}{1000\ ppm} = 1{,}5\ ml$

200 ppm : $\frac{200\ ppm \times 10\ ml}{1000\ ppm} = 2\ ml$

Perhitungan Kuersetin

Larutan Induk : 2 mg kuersetin dilarutkan dalam 20 ml etanol pa

$$= \frac{2\ mg\ \times 1000\ {}^{ml}/_{L}}{20\ ml}$$

= 100 ppm

Dilakukan pengenceran diberbagai konsentrasi

2 ppm : $\frac{2\ ppm \times 10\ ml}{100 ppm} = 200\ \mu L$

4 ppm : $\frac{4\ ppm \times 10\ ml}{100 ppm} = 400\ \mu L$

6 ppm : $\frac{6\ ppm \times 10\ ml}{100 ppm} = 600\ \mu L$

8 ppm : $\frac{8\ ppm \times 10\ ml}{100 ppm} = 800\ \mu L$

10 ppm : $\frac{10\ ppm \times 10\ ml}{100 ppm} = 1000\ \mu L$

Lampiran 7. Perhitungan Persen Peredaman DPPH dan IC_{50} LarutanUji

$$\%\ Inhibisi = \frac{A\ Blanko - A\ sampel}{A\ Blanko} \times 100\%$$

Sampel	IC_{50} (µg/mL)	Rata-rata (µg/mL)	SD	CV %
Kuersetin	6,66 6,62 6,52	6,60	0,07	1,13
Ekstrak etanol daun kelor metode maserasi	82,66 83,52 81,85	82,68	0,84	1,01
Ekstrak etanol daun kelor metode sokletasi	80,82 85,63 85,56	84	2,75	3,28

1. Hasil Pengujian Kuersetin

(Replikasi 1)

Konsentrasi (ppm)	A Blanko	A sampel	% Inhibisi	IC_{50}
2	0,673	0.484	28.08	
4	0,673	0.416	38.19	
6	0,673	0.354	47.40	6,60
8	0,673	0.295	56.17	
10	0,673	0.235	65.08	

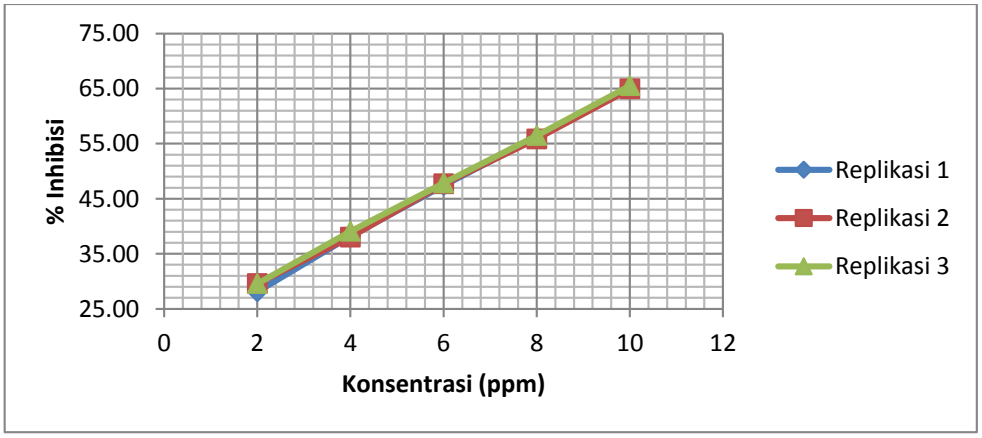
(Replikasi 2)

Konsentrasi (ppm)	A Blanko	A sampel	% Inhibisi	IC_{50}
2	0,673	0.474	29.57	
4	0,673	0.417	38.04	
6	0,673	0.352	47.70	5,67
8	0,673	0.297	55.87	
10	0,673	0.236	64.93	

(Replikasi 3)

Konsentrasi (ppm)	A Blanko	A sampel	% Inhibisi	IC_{50}
2	0,673	0.474	29.57	
4	0,673	0.410	39.08	
6	0,673	0.351	47.85	5,77
8	0,673	0.293	56.46	
10	0,673	0.232	65.53	

Replikasi	Persamaan	R^2	IC_{50} (µg/mL)
1	y = 4,598x + 19,39	0,999	6,66
2	y = 4,427x + 20,65	0,999	6,63
3	y = 4,465x + 20,90	0,999	6,52



Kurva peredaman kuersetin

2. Perhitungan IC_{50} Kuersetin

a) Replikasi 1

$y = 4{,}598x + 19{,}39$

$50 = 4{,}598x + 19{,}39$

$x = \frac{50-19{,}39}{4{,}598} = 6{,}65$

IC_{50} = 6,65 µg/mL

b) Replikasi 2

$y = 4{,}427x + 20{,}65$

$50 = 4{,}427x + 20{,}65$

$x = \frac{50-20{,}65}{4{,}427} = 6{,}65$

IC_{50} = 6,63 µg/mL

c) Replikasi 3

$y = 4{,}465x + 20{,}90$

$50 = 4{,}465x + 20{,}90$

$x = \frac{50-20{,}90}{4{,}465} = 6{,}65$

IC_{50} = 6,52µg/mL

3. Hasil Pengujian Ekstrak Etanol Daun Kelor Metode Maserasi

(Replikasi 1)

Konsentrasi (ppm)	A Blanko	A sampel	% Inhibisi	IC_{50}
10	0,685	0.484	37.81	
50	0,685	0.416	45.55	
100	0,685	0.354	46.72	82,66
150	0,685	0.295	64.09	
200	0,685	0.235	74.45	

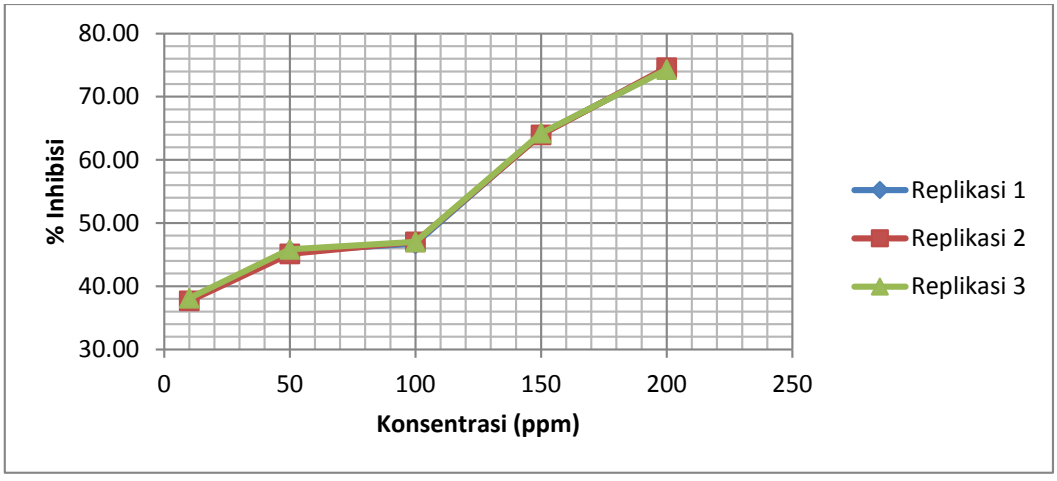
(Replikasi 2)

Konsentrasi (ppm)	A Blanko	A sampel	% Inhibisi	IC_{50}
10	0,685	0.427	37.66	
50	0,685	0.376	45.11	
100	0,685	0.363	47.01	83,52
150	0,685	0.247	63.94	
200	0,685	0.174	74.60	

(Replikasi 3)

Konsentrasi (ppm)	A Blanko	A sampel	% Inhibisi	IC_{50}
10	0,685	0.424	38.10	
50	0,685	0.371	45.84	
100	0,685	0.363	47.01	81,85
150	0,685	0.245	64.23	
200	0,685	0.176	74.31	

Replikasi	Persamaan	R^2	IC_{50} (µg/mL)
1	y = 0,192x + 34,13	0,939	82,66
2	y = 0,193x + 33,88	0,945	83,52
3	y = 0,189x + 34,53	0,939	81,85



Kurva peredaman ekstrak etanol daun kelor metode maserasi

4. Perhitungan IC_{50} ekstrak etanol daun kelor metode maserasi

a) Replikasi 1

$y = 0{,}192x + 34{,}13$

$50 = 0{,}192x + 34{,}13$

$x = \frac{50-0{,}192}{34{,}13} = 82{,}66$

IC_{50} = 82,66 µg/mL

b) Replikasi 2

$y = 0{,}193x + 33{,}88$

$50 = 0{,}193x + 33{,}88$

$x = \frac{50-0{,}193}{33{,}88} = 83{,}52$

IC_{50} = 83,88 µg/mL

c) Replikasi 3

$y = 0{,}189x + 34{,}53$

$50 = 0{,}189x + 34{,}53$

$x = \frac{50-0{,}189}{34{,}53} = 81{,}85$

IC_{50} = 81,85 µg/mL

5. Hasil pengujian ekstrak daun kelor daun kelor metode sokletasi

(Replikasi 1)

Konsentrasi (ppm)	A Blanko	A sampel	% Inhibisi	IC_{50}
10	0,667	0.361	45.88	
50	0,667	0.347	47.98	
100	0,667	0.322	51.72	80,82
150	0,667	0.311	53.37	
200	0,667	0.280	58.02	

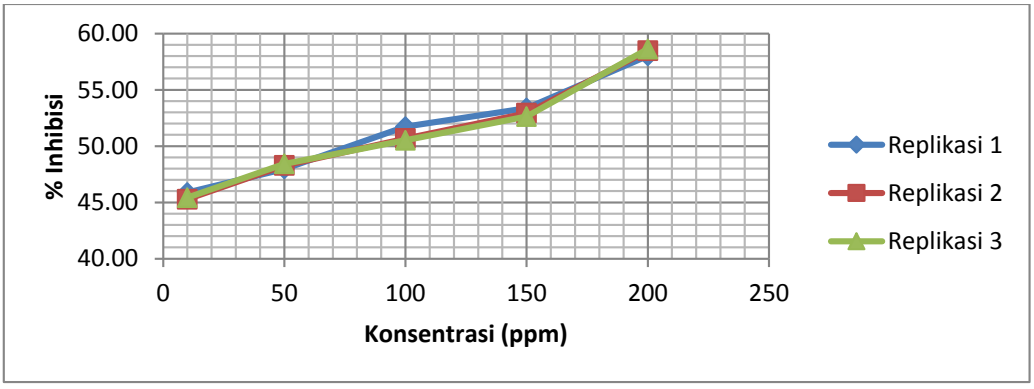
(Replikasi 2)

Konsentrasi (ppm)	A Blanko	A sampel	% Inhibisi	IC_{50}
10	0,667	0.365	45.28	
50	0,667	0.345	48.28	
100	0,667	0.329	50.67	85,62
150	0,667	0.314	52.92	
200	0,667	0.277	58.47	

(Replikasi 3)

Konsentrasi (ppm)	A Blanko	A sampel	% Inhibisi	IC_{50}
10	0,667	0.364	45.43	
50	0,667	0.344	48.43	
100	0,667	0.330	50.52	85,56
150	0,667	0.316	52.62	
200	0,667	0.276	58.62	

Replikasi	Persamaan	R^2	IC_{50} (µg/mL)
1	y = 0,061x + 45,07	0,982	82,82
2	y = 0,064x + 44,52	0,968	85,62
3	y = 0,063x + 44,61	0,953	85,56



Kurva peredaman ekstrak etanol daun kelor metode sokletasi

6. Perhitungan IC_{50} ekstrak etanol daun kelor metode sokletasi

a) Replikasi 1

$y = 0{,}061x + 45{,}07$

$50 = 0{,}061x + 45{,}07$

$x = \frac{50-0{,}061}{45{,}07} = 80{,}82$

IC_{50} = 80,82 µg/mL

b) Replikasi 2

$y = 0{,}064x + 44{,}52$

$50 = 0{,}064x + 44{,}52$

$x = \frac{50-0{,}064}{44{,}52} = 85{,}62$

IC_{50} = 85,62 µg/mL

c) Replikasi 3

$y = 0{,}063x + 44{,}61$

$50 = 0{,}063x + 44{,}61$

$x = \frac{50-0{,}063}{44{,}61} = 85{,}56$

IC_{50} = 85,56 µg/mL

Lampiran 8. Hasil Analisis Data Dengan SPSS

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Konsentrasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50	Kuersetin	,308	3	.	,902	3	,391
	Maserasi Kelor	,177	3	.	1,000	3	,967
	Sokletasi kelor	,381	3	.	,759	3	,921

a. Lilliefors Significance Correction

Data terdistribusi normal dengan nilai signifikasi >0,05

2. Uji Homogenitas dan *One Way Anova*

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4,079	2	9	,055

ANOVA

IC50

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15705,580	2	7852,790	4263,667	,000
Within Groups	16,576	9	1,842		
Total	15722,157	11			

Data terdistribusi homogen dengan nilai signifikansi >0,05

3. Uji *Fisher Least Significant Difference* (LSD)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: IC50

LSD

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kuersetin	Maserasi Kelor	-76,073500*	,959633	,000	-78,24434	-73,90266
	Sokletasi kelor	-77,396750*	,959633	,000	-79,56759	-75,22591
Maserasi Kelor	Kuersetin	76,073500*	,959633	,000	73,90266	78,24434
	Sokletasi kelor	-1,323250	,959633	,201	-3,49409	,84759
Sokletasi kelor	Kuersetin	77,396750*	,959633	,000	75,22591	79,56759
	Maserasi Kelor	1,323250	,959633	,201	-,84759	3,49409

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Terdapat perbedaan yang signifikan antara kuersetin dengan ekstrak etanol daun kelor dengan metode maserasi dan sokletasi dengan nilai signifikansi >0,05.