



UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) YANG DIEKSTRAKSI MENGGUNAKAN TEKNIK SOXHLETASI

Siti Nurjanah¹, Haeruddin², Nurlansi²

¹Alumni Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Universitas Halu Oleo, Kendari

²Pengajar Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Universitas Halu Oleo, Kendari

(*) Corresponding author: haeruddinkimia658@gmail.com

Article History

Received:

Revised:

Published:

Abstract

Antioxidant Activity Tests of Moringa (Moringa oleifera) leaves which Extracted Using Soxhletation Technique has been carried out. This research aims to determine what types of secondary metabolites are contained in Moringa leaves using soxhletation technique and the antioxidant activity of Moringa leaves extracted using soxhletation technique. The secondary metabolites contained in the methanol extract of Moringa leaves were determined by the phytochemical method, while the antioxidant activity was tested by the DPPH method. Moringa leaves used are dried Moringa leaves which have been mashed. Total of 150 g of Moringa leaves were soxhletated for 7 hours with methanol as solvent. Then the extracts were collected and concentrated to obtain a thick extract of 30.624 g. The extracts were tested for phytochemicals and antioxidants. Phytochemical test results showed that the methanol extract of Moringa leaves extracted using the soxhletation technique contained alkaloids, flavonoids, steroids, Polifenols and saponins. Moringa leaves methanol extract extracted using the soxhletation technique has very weak antioxidant activity with an IC50 value of 857.6894 ppm.

Keywords: *Moringa Leaves, Soxhletation, Phytochemicals, Antioxidants, DPPH.*

1. PENDAHULUAN

Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan salah satu tanaman yang telah lama dikenal, dibudidayakan, dan digunakan oleh masyarakat Wolio di Baubau, Provinsi Sulawesi Tenggara. Dalam bahasa Wolio tanaman kelor (*Moringa oleifera*) disebut dengan nama kaudhawa. Istilah ini berasal dari dua kata, yaitu “kau” dan “dhawa”. Kata kau berarti kayu, atau pohon ber kayu, sedangkan dhawa berarti perekat atau lem yang berasal dari getah (polo) pohon. Tanaman kelor merupakan tanaman yang paling banyak populasinya, dan paling digemari lidah masyarakat Wolio. Pengenalan kelor sejak dini dalam wujud sayur telah menjadikan kelor sulit dipisahkan dalam kehidupan masyarakat Wolio (Sofyani, 2019).

Seluruh bagian dari tanaman kelor telah dimanfaatkan sebagai bahan pangan maupun obat-obatan. Bagian tanaman ini yang sering digunakan sebagai obat adalah biji, daun, dan kulit kayu, dan berkhasiat sebagai anti diabetes dan antioksidan (Jaiswal, 2009). Daun kelor mengandung metabolit primer seperti protein, lemak, karbohidrat, berbagai mineral, vitamin dan asam amino sehingga dapat dimanfaatkan sebagai makanan alternatif pada kasus malnutrisi, dan mengandung metabolit sekunder. Penduduk Indonesia terutama di pedesaan, juga sering menggunakan daun kelor sebagai obat. Secara tradisional, umumnya masyarakat menggunakan daun kelor dalam bentuk rebusan untuk mengobati berbagai macam penyakit tradisional (Wihastuti, 2007).

Bagian tumbuhan ini yang sering digunakan masyarakat wolio di Baubau Sulawesi Tenggara sebagai bahan pangan sehari-hari dalam bentuk sayur adalah daunnya yang diolah dengan cara di rebus sampai mendidih. Data mengenai kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun kelor sebelumnya sudah pernah ada yang meneliti, menurut (Putra dkk, 2016) daun kelor yang diambil dari kawasan Denpasar Utara, Bali kemudian diekstraksi menggunakan teknik maserasi memiliki kandungan senyawa alkaloida, flavonoida, fenolat, triterpenoida dan steroida dan tanin, dan juga menurut (Agung, 2011) daun kelor yang di ambil dari daerah Medan kemudian diekstraksi dengan pelarut metanol 80% menggunakan refluks memiliki kandungan senyawa alkaloid, fenol hidroquinin, flavonoid steroid, triterpenoid, tanin dan saponin. Adapun Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun kelor yang dilaporkan oleh (Tutik dkk,

2018) mempunyai nilai IC50 sebesar 103,98 ppm yang termasuk dalam tingkat kekuatan aktivitas antioksidan sedang.

Informasi kandungan senyawa metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan daun kelor yang tumbuh di daerah pulau Buton khususnya di Bau-bau yang menggunakan teknik ekstraksi panas belum pernah ada yang meneliti. Mengingat kebiasaan masyarakat wolio mengkonsumsi daun kelor dalam bentuk sayur yang di olah dengan cara panas sehingga pemilihan ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode Soxhletasi. Dan juga dilihat dari kondisi geografis masing-masing daerah berbeda bisa saja ada perbedaan kandungan senyawa metabolit sekundernya dan aktivitas antioksidannya. Kondisi lingkungan dimana tempat tumbuh, dapat mempengaruhi terjadinya perubahan morfologi dan kandungan senyawa metabolitnya. Salah satu kondisi lingkungan yang dimaksud adalah perbedaan atau perubahan ketinggian dimana tanaman tersebut tumbuh. Perbedaan topografi atau lokasi tumbuh daun kelor dapat berpengaruh terhadap kuantitas kandungan nutrisinya, termasuk kandungan vitamin C nya (Sarni dkk, 2020). Oleh karena itu maka perlu dilakukan penelitian mengenai Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) yang di Ekstraksi menggunakan Teknik Sokletasi.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Penyiapan Sampel

Sampel daun kelor yang diambil dari Baubau, dibersihkan kemudian dibiarkan kering di udara pada suhu kamar. Setelah kering, sampel dihaluskan dengan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk daun tumbuhan kelor lalu dibawa ke Laboratorium Jurusan Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Halu Oleo untuk diteliti.

2.2 Ekstraksi Sampel Teknik Soxhletasi

Serbuk halus daun kelor ditimbang sebanyak 25 gram. Alat sokletasi dipasang. Serbuk daun kelor dibungkus dengan kertas saring dan diikat dengan benang, kemudian dimasukkan ke selongsong pada alat sokhlet. Pelarut metanol sebanyak 250 mL dimasukan kedalam labu alas bundar. Sokletasi dilakukan selama 7 jam sampai tetesan siklus berubah warna sebelumnya hijau pekat menjadi tidak pekat. Ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan *vakum rotary evaporator* dan diuapkan kembali di *water bath* sehingga didapatkan ekstrak kental daun kelor sebanyak 30,624 gram (Manasa *et al.*, 2013) dalam (Laksmiani dkk, 2020).

2.3 Pembuatan Pereaksi Uji Fitokimia

2.3.1 Pereaksi Meyer

Ditimbang sebanyak 1,35 gram $HgCl_2$ dan 50 gram KI dilarutkan dengan air sampai 1000 mL (Rivai dkk, 2010).

2.3.2 Pereaksi Wagner

Dilarutkan 1 g I_2 dan 2 g KI dalam air sampai 50 mL (Rivai dkk, 2010).

2.3.3 Pereaksi Dragendorff

Larutan A : Ditimbang 4 g $Bi(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$ kemudian dilarutkan dengan asam nitrat sampai 10 mL. Larutan B : Ditimbang 13,6 g KI kemudian dilarutkan dengan air sampai 25 mL. Campurkan larutan A dan B diamkan sampai memisah, diambil cairan jernih (*orange*) dilarutkan dengan air sampai 50 mL (Rivai dkk, 2010).

2.4 Uji Fitokimia Ekstrak Daun Tumbuhan Kelor

2.4.1 Uji Golongan terpenoid dan steroid

Uji golongan terpenoid dan steroid dengan cara, 0,1 gram ekstrak kental daun kelor ditempatkan pada tabung reaksi lalu ditambahkan N-heksan setelah itu larutan dikocok. Kemudian ekstrak ditambahkan 3-4 tetes pereaksi Liberman-Buchard. Perubahan warna yang terjadi diamati, adanya terpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah sampai ungu sedangkan adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau sampai biru (Meigaria dkk, 2016).

2.4.2 Uji golongan alkaloid

Uji golongan alkaloid Sebanyak 0,1 g ekstrak kental metanol daun kelor ditambahkan 10 mL kloroform amoniakal. Kloroform amoniakal dibuat dari kloroform dan amoniak pekat dengan perbandingan 9:1. Kemudian ditambahkan asam sulfat 2 N lalu dimasukan dalam corong pisah dan dikocok kuat-kuat, dibiarkan hingga larutan terbentuk menjadi dua lapisan. Lapisan asam sulfat diambil dan dibagi 3 tabung, lalu masing-masing tabung diuji dengan: Pereaksi Mayer, terdapat endapan putih menunjukkan positif ada alkaloid. Pereaksi Wagner, terdapat endapan

coklat menunjukkan positif ada alkaloid. Pereaksi Dragendrof, terdapat endapan coklat kemerahan menunjukkan positif ada alkaloid (Harborne, 1987). Pereaksi Mayer terbentuk warna cream (putih kekuning kuning) positif alkaloid. Pereaksi Dragendrof, terbentuk endapan orange. Pereaksi Wagner, terbentuk endapan coklat kemerahan (Doughari, 2012).

2.4.3 Uji golongan flavonoid

Uji golongan flavonoid dengan cara, 0,1 gram ekstrak kental methanol daun kelor ditempatkan pada tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,01 gram logam Mg kemudian dibagi menjadi 2 tabung. Tabung 1 ditambahkan 0,5 mL HCl 2N lalu dipanaskan. Terjadi perubahan warna menjadi merah tua terkadang hijau dan biru setelah beberapa menit menunjukkan adanya flavonoid. tabung kedua digunakan sebagai kontrol (La Suroto dkk, 2019).

2.4.4 Uji tanin dan polifenol

Uji golongan tannin dengan cara, disiapkan 3 buah tabung reaksi kemudian sebanyak 0,1 gram ekstrak kental daun kelor dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan air panas. Untuk tabung I di tambahkan FeCl_3 jika terbentuk warna kuning, hitam, coklat biru sampai merah menunjukkan adanya tanin/polifenol Untuk Tabung II ditambahkan larutan gelatin 10%, jika terbentuk endapan putih menunjukkan adanya tanin dan tabung III sebagai Kontrol (Robinson, 1991).

2.4.5 Uji saponin

Uji saponin dilakukan dengan metode foam test, larutan ekstrak metanol daun kelor ditambahkan air/aquadest dan dikocok kuat-kuat. Adanya busa yang stabil selama ± 1 menit menunjukkan adanya saponin (Mulyono dan Abdulgani, 1996).

2.5 Uji Antioksidan Ekstrak Daun Kelor dengan Metode DPPH

2.5.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,3 mM

Sebanyak 5,95 mg serbuk DPPH dilarutkan dalam 50 mL etanol (p.a). kemudian larutan dikocok sampai homogen (Mailandari, 2012) dalam (Dali dkk, 2017).

2.5.2 Penentuan panjang gelombang maksimum larutan induk DPPH 0,3 mM

Sebanyak 4 mL larutan DPPH 0,3 mM diukur absorbansinya pada rentang 512-518 nm Pengambilan rentang panjang gelombang tersebut didasarkan pada serapan untuk komplemen warna DPPH, yaitu ungu tua.

2.5.3 Pembuatan larutan kontrol DPPH 0,3 mM

Sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,3 mM ditambahkan 4 mL metanol (p.a). kemudian larutan dikocok sampai homogen. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C . Absorbansi larutan Kontrol diukur pada panjang gelombang maksimum DPPH 0,3 mM yang telah diperoleh sebelumnya, yaitu 517 nm (Mailandari, 2012 dalam Dali dkk, 2017).

2.5.4 Pembuatan larutan induk ekstrak metanol daun kelor 1000 ppm

Sebanyak 0,1 gram ekstrak kental metanol daun kelor dilarutkan dalam 100 mL metanol (p.a). kemudian larutan dikocok sampai homogen (Mailandari, 2012 dalam Dali dkk, 2017).

2.5.5 Pembuatan larutan seri sampel ekstrak metanol daun kelor 300, 350, 400, 450, dan 500 ppm

Masing-masing di pipet sebanyak 7,5, 8,75, 10, 11,25, dan 12,5 mL larutan induk ekstrak daun kelor yang telah dibuat setelah itu, masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL lalu ditambahkan metanol (p.a). sampai tanda garis, kemudian larutan dikocok sampai homogen (Mailandari, 2012 dalam Dali dkk, 2017).

2.5.6 Pembuatan larutan induk pembanding vitamin C 50 ppm

Sebanyak 0,005 gram vitamin C dilarutkan dalam metanol (p.a) kemudian dimasukan kedalam labu takar 100 mL hingga batas tera. kemudian larutan dikocok sampai homogen (Mailandari, 2012 dalam Dali dkk, 2017).

2.6 Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelor dengan metode DPPH

Larutan seri sampel dan larutan seri pembanding vitamin C masing-masing dipipet sebanyak 4 mL lalu ditambahkan 1,0 mL DPPH 0,3 mM, kemudian larutan dikocok sampai homogen. Selanjutnya l arutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C . Absorbansi larutan masing-masing diukur pada panjang gelombang maksimum DPPH 0,3 mM yang telah diperoleh sebelumnya, yaitu 517 nm (Mailandari, 2012 dalam Dali dkk, 2017).

2.7 Analisis data

Perhitungan nilai IC50 Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan Inhibition Concentration 50% (IC50), yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC50 dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(A \text{ kontrol (DPPH)} - (A \text{ sampel atau vit.C}))}{(A \text{ kontrol (DPPH)})} \times 100\%$$

di mana A = absorbansi.

Harga persentase inhibisi diplotkan dalam sebuah grafik. Dari grafik tersebut diperoleh persamaan garis regresi linear $y = a + bx$, di mana y = persentase inhibisi (%), a = kemiringan (slope), b = gradien, dan x = konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$). Selanjutnya nilai IC50 diperoleh dari nilai x setelah mengganti nilai $y = 50$ (Valentao, *et.al.*, 2001 dalam Dali dkk, 2017).

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Penyiapan Sampel

Daun tumbuhan kelor yang diambil dari Baubau dibersihkan agar bebas dari kotoran-kotoran yang bisa saja menempel pada daun kemudian dibiarkan kering di udara pada suhu kamar, pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam sampel sampai batas dimana mikroorganisme dan kegiatan enzim yang dapat menyebabkan pembusukan akan terhenti, dengan demikian sampel yang dikeringkan dapat mempunyai waktu simpan yang lama (Riansyah dkk, 2013). Pengeringan pada suhu kamar bertujuan agar senyawa yang terkandung dalam sampel daun kelor tidak rusak oleh suhu matahari yang terlalu tinggi. Setelah kering, sampel dihaluskan hingga diperoleh serbuk daun kelor. Tujuannya adalah untuk memperbesar luas permukaan sehingga pada saat proses ekstraksi sokletasi memudahkan tertariknya komponen-komponen kimia yang terdapat dalam sampel daun kelor.

3.2 Ekstraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Sampel halus daun kelor sebanyak 25 gram disokletasi dengan 250 mL pelarut metanol selama 7 jam sampai tetesan siklus berubah warna dari hijau pekat menjadi tidak pekat. Ekstraksi sokletasi daun kelor dilakukan sebanyak 6 kali. Ekstrak yang diperoleh disatukan kemudian diuapkan dari pelarutnya menggunakan vakum rotary evaporator setelah itu ekstrak daun kelor diuapkan lagi menggunakan waterbath dan diperoleh 30,624 gram ekstrak metanol kental berwarna hijau pekat.

Tabel 1. Hasil Validitas Item Soal

| Serbuk Daun kelor (gram) | Ekstrak Kental Hasil Evaporasi (gram) | Rendemen (%) | Warna Ekstrak Kental |
|--------------------------|---------------------------------------|--------------|----------------------|
| 150 | 30,624 | 20,42 | Hijau Pekat |

Ekstraksi bertujuan untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam tumbuhan. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi sokletasi. Proses pemisahan metode sokletasi suatu komponen yang terdapat dalam zat padat berlangsung dengan cara penyaringan yang berulang-ulang dengan menggunakan pelarut metanol, sehingga komponen-komponen kimia yang terdapat pada daun kelor akan terisolasi. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metanol. Menurut Thompson (1985) dalam Salamah (2015) metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan nonpolar. metanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin dan flavonoid dari tanaman.

Mardawati dkk (2008) melaporkan bahwa ekstraksi dengan pelarut metanol menghasilkan rendemen ekstrak kulit manggis yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut etanol dengan konsentrasi yang sama. Demikian juga yang dilaporkan juga oleh Zulharmitta dkk (2010) pada ekstrak herba miniran, daya antioksidan yang paling kuat dari berbagai jenis pelarut adalah pelarut metanol di bandingkan etanol dan aseton dilihat dari IC50 yang diperoleh.

Proses ekstraksi sokletasi dilakukan selama 7 jam sampai tetesan siklus berubah warna menjadi tidak pekat. Lama proses sokletasi bertujuan untuk memaksimalkan interaksi pelarut dengan sampel

sehingga senyawa kimia yang terkandung dalam sampel dapat terekstrak secara optimal. Daun kelor dibungkus dengan kertas saring dan diikat dengan benang agar saat melakukan proses ekstraksi sampel daun kelor tidak keluar dan menyumbat pipa kapiler. Setelah didapatkan ekstrak hasil sokletasi daun kelor kemudian dilanjutkan dengan proses evaporasi. Tujuan dari evaporasi untuk memekatkan larutan yang terdiri dari zat terlarut yang tidak mudah menguap dan pelarut yang mudah menguap (Praptiningsih, 1999). Sehingga didapatkan ekstrak kental daun kelor kemudian ditempatkan dalam toples kaca kecil. Ekstrak diuapkan kembali menggunakan waterbath agar sisa pelarut metanol yang masih ada didalam ekstrak hasil evaporasi menguap, sehingga ekstraknya menjadi padat dan pekat.

3.3 Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Uji fitokimia adalah metode pengujian untuk menentukan kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam suatu tumbuhan. Ekstrak metanol daun kelor kemudian diuji fitokimia untuk diketahui kandungan senyawa metabolit sekundernya. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun kelor dapat dilihat pada tabel 2. Berdasarkan data secara kualitatif dapat dilihat bahwa ekstrak metanol daun kelor (*Moringa oleifera*) positif mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan plifenol. Sedangkan senyawa metabolit sekunder yang lain seperti terpenoid, dan tanin dalam ekstrak metanol daun kelor tidak terdeteksi.

Agung, (2011) mengemukakan bahwa daun kelor yang di ambil dari daerah Medan kemudian diekstraksi dengan pelarut metanol 80% menggunakan refluks memiliki kandungan senyawa alkaloid, fenol hidrokuinin, flavonoid, steroid, triterpenoid, tanin dan saponin. Perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder ini menurut Sarni dkk (2020) Perbedaan topografi atau lokasi tumbuh daun kelor dapat berpengaruh terhadap kuantitas kandungan metabolit sekundernya, salah satu kondisi lingkungan yang dimaksud adalah perbedaan atau perubahan ketinggian dimana tanaman tersebut tumbuh. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun kelor dapat di lihat pada Tabel 2 sebagai berikut

Tabel 2. Hasil uji fitokimia daun kelor (*Moringa oleifera*) metode sokletasi

| Senyawa Uji | Pereaksi/perlakuan | Pengamatan | Keterangan |
|-------------|---|---|--|
| Alkaloid | Mayer | Tidak ada endapan putih | - |
| | Dragendorf | Ada endapan jingga | + |
| | Wagner | Ada endapan coklat kemerahan | + |
| Flavonoid | Logam Mg + HCl 2N | Terjadi perubahan warna menjadi kuning | + |
| Steroid | N-Heksan + pereaksi Lieberman- Burchard | Terjadi perubahan warna menjadi hijau kebiruan ada endapan hijau kebiruan | + |
| | | N-Heksan + Liebermen- Burchard | Tidak menunjukkan perubahan warna merah-ungu |
| Saponin | Aquades + HCl 2N | Terbentuk busa selama 1 menit | + |
| Polifenol | FeCl ₃ 10% | Terjadi perubahan warna menjadi kuning kecoklatan | + |
| Tanin | Gelatin 10% | Tidak terbentuk endapan putih | - |

Keterangan: (+) = mengandung senyawa uji

(-) = tidak mengandung senyawa uji

Berdasarkan hasil data Tabel 2 ekstrak metanol daun kelor positif mengandung alkaloid. Hal ini diperkuat oleh (Agung, 2011) dan (Meigaria dkk., 2016) yang mengatakan bahwa daun kelor positif mengandung senyawa alkaloid. Uji alkaloid ekstrak daun kelor diidentifikasi dengan menambahkan kloroform amoniakal. Karena alkaloid pada tumbuhan biasanya ditemukan sebagai ikatan garam organik sehingga perlu dibebaskan menggunakan pelarut kloroform amoniakal, namun alkaloid yang dihasilkan belum stabil sehingga di tambahkan H₂SO₄ untuk membebaskan alkaloid tersebut menjadi alkaloid yang lebih stabil (Purnamasari, 2018). Untuk pengujian alkaloid pada penelitian ini menggunakan 3 pereaksi sebagaimana yang tertulis pada tabel 1 yaitu pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorf dan pereaksi Wagner.

Uji alkaloid menggunakan pereaksi mayer menunjukkan negatif alkaloid dikarenakan tidak terbentuknya endapan putih. Menurut Svehla (1990) dalam Marlina dkk (2005) Hasil positif alkaloid pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Diperkirakan endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid.

Uji alkaloid menggunakan pereaksi Dragendorff menunjukkan positif alkaloid dikarenakan terbentuknya endapan jingga. Menurut Ergina dkk (2014) hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning (jingga). Endapan tersebut adalah kalium alkaloid.

Uji alkaloid menggunakan pereaksi wagner menunjukkan positif alkaloid dikarenakan terbentuknya endapan coklat kemerahan. Menurut Marlina dkk (2005) hasil positif alkaloid pada uji Wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid.

Uji flavonoid ekstrak metanol daun kelor positif mengandung flavonoid, hal ini ditandai dengan terjadinya perubahan warna ekstrak dari hijau menjadi kuning setelah di tambahkan Mg dan HCl. Sebagaimana yang dilaporkan oleh Ikalinus dkk (2015) larutan ekstrak yang ditambahkan logam Mg dan HCl jika terbentuk menjadi warna kuning maka positif mengandung flavonoid. Penambahan serbuk Mg dan HCl pada uji flavonoid dilakukan karena senyawa flavonoid bereaksi dengan logam Mg, dan asam kuat. Warna kuning jingga hingga merah yang terbentuk disebabkan oleh terbentuknya garam flavilium (Pardede dkk., 2013). Hal ini diperkuat oleh Agung (2011) dan Meigaria dkk., (2016) yang melaporkan bahwa daun kelor positif mengandung senyawa flavonoid.

Uji steroid dan terpenoid pada ekstrak metanol daun kelor positif mengandung steroid, dan negatif terpenoid. Adanya steroid ditunjukkan dengan perubahan warna hijau kebiruan. Hal ini diperkuat oleh Meigaria dkk (2016) yang mengatakan bahwa uji positif adanya steroid dengan menggunakan pereaksi Liebermann-Buchard adalah terbentuknya warna hijau-biru. Penambahan asam asetat anhidrat bertujuan untuk membentuk turunan asetil, Penambahan asam sulfat pekat adalah untuk menghidrolisis air yang akan bereaksi dengan turunan asetil membentuk cincin merah keunguan maupun hijau sampai biru. uji yang dilakukan pada ekstrak metanol daun kelor, setelah ditambahkan pereaksi Liebermann-Buchard perubahan warna yang timbul yaitu hijau kebiruan, sehingga sampel dinyatakan positif mengandung steroid dan tidak mengandung triterpenoid. Hal ini diperkuat oleh Agung, (2011) yang melaporkan bahwa daun kelor positif terkandung steroid. Dan juga didukung kembali oleh Meigaria dkk., (2016) yang melaporkan bahwa adanya steroid tetapi tidak terdeteksi terpenoid pada daun kelor.

Uji saponin pada ekstrak metanol daun kelor positif mengandung saponin. Adanya saponin ditunjukkan dengan adanya busa stabil selama 1 menit setelah pengocokan. Menurut Harbone (1987), terbentuknya busa karena adanya glikosida pada senyawa saponin yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air. Saponin merupakan glikosida yang tersusun dari gula yang berikatan langsung dengan aglikon. Munculnya busa pada uji saponin ekstrak metanol daun kelor menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk busa setelah di kocok dengan air. Air merupakan pelarut yang memiliki kepolaran tertinggi sehingga memiliki daya melarutkan saponin lebih besar, saponin memiliki sifat yang sangat larut dalam air membentuk busa koloidal (Nurzaman dkk, 2018). Adanya saponin pada daun kelor juga diperkuat oleh Agung, (2011) yang mengatakan bahwa daun kelor positif terkandung saponin.

Uji polifenol pada ekstrak metanol daun kelor positif mengandung polifenol. Uji polifenol dilakukan dengan cara menambahkan FeCl_3 10% pada ekstrak metanol daun kelor (*Moringa oleifera*), perubahan warna yang terjadi dari hijau menjadi kuning kecoklatan. Menurut Robinson (1991) dalam La Suroto dkk, (2019) Adanya polifenol ditandai dengan terbentuknya warna kuning, hitam, coklat, biru sampai merah setelah ditambahkan FeCl_3 . Didukung juga oleh pernyataan Sriwahyuni (2010) dalam Suhaenah (2017) pada senyawa polifenol terdapat banyak gugus OH sehingga menyebabkan sifatnya polar oleh karena itu polifenol dapat larut dalam pelarut polar seperti metanol.

3.4 Hasil Pengukuran Absorbansi dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelor dilakukan pengukuran menggunakan metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazil). Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel yang akan diuji dengan melihat kemampuannya dalam menangkal radikal bebas DPPH. Kelebihan dari metode DPPH ini adalah caranya yang sederhana, mudah, cepat, peka, serta memerlukan sampel dalam jumlah kecil. Prinsip dari metode.

Ini adalah adanya donasi dari atom hidrogen dari substansi yang diujikan kepada radikal DPPH menjadi senyawa non radikal difenil pikril hidrazin yang akan ditunjukkan oleh perubahan warna. Perubahan warna yang terjadi adalah perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Rahmawati dkk, 2015).

Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelor dibuat dengan menggunakan lima variasi konsentrasi dengan tiga kali pengulangan pengukuran untuk mengetahui keaktifan antioksidan sampel yang di uji. Variasi konsentrasi yang digunakan pada pengukuran ini adalah 300 ppm, 350 ppm, 400 ppm, 450 ppm, dan 500 ppm. Untuk melihat kemampuan ekstrak sebagai antioksidan digunakan vitamin C sebagai pembanding. Vitamin C dijadikan sebagai pembanding. Karena merupakan senyawa antioksidan alami yang sering digunakan sebagai senyawa pembanding dalam pengujian aktivitas antioksidan, senyawa antioksidan alami relative aman dan tidak menimbulkan toksisitas (Lung dan Dika, 2017). Vitamin C dibuat dengan variasi konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm. Vitamin C.

Setiap variasi konsentrasi ekstrak metanol daun kelor dan pembanding vitamin C di tambahkan masing-masing DPPH, deret warna yang dihasilkan dari tiap konsentrasi ekstrak metanol daun kelor dari 300 ppm sampai 500 ppm warnanya semakin kuning memudar, perubahan warna ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kelor mempunyai aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH. Hal ini diperkuat oleh (Rahmawati dkk, 2015) yang mengatakan bahwa radikal DPPH menjadi senyawa non radikal difenil pikril hidrazin akan menunjukkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning, dimana intensitas perubahan warna DPPH berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan untuk meredam radikal bebas.

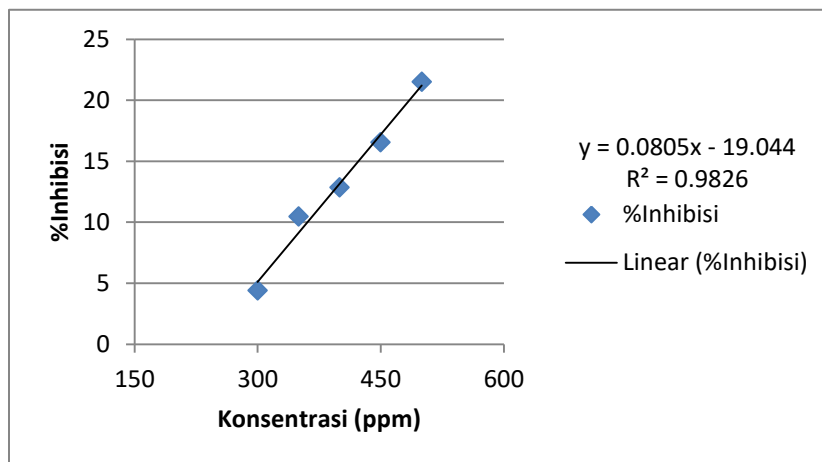
Ekstrak diinkubasi selama 30 menit setelah ditambahkan DPPH, sebagaimana waktu optimal terjadinya reaksi antara radikal bebas DPPH dengan antioksidan yang terkandung dalam ekstrak. Inkubasi dilakukan dengan cara menyimpan sampel ditempat gelap tanpa cahaya dikarenakan DPPH yang sensitive terhadap cahaya. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 517 nm. Dapat dilihat pada tabel 3. Nilai absorbansi yang terbaca saat pengukuran merupakan nilai absorbansi dari DPPH penetralan ekstrak metanol daun kelor.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Rata-rata Absorbansi dan % Inhibisi Ekstrak Metanol Daun Kelor dan Vitamin C

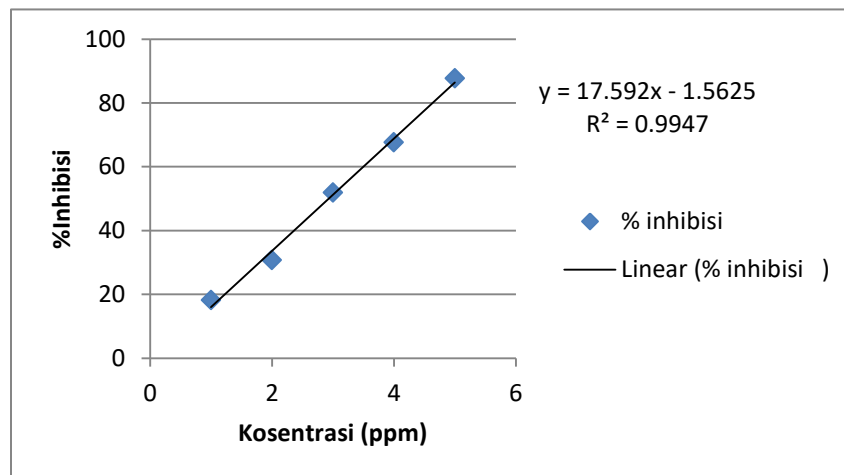
| Ekstrak Metanol Daun Kelor | | | Vitamin C | | |
|----------------------------|------------|-----------|-------------------|------------|------------|
| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi | %Inhibisi | Konsentrasi (ppm) | Absorbansi | % Inhibisi |
| 300 | 0,520 | 4,4117 | 1 | 0,445 | 18,1985 |
| 350 | 0,487 | 10,4779 | 2 | 0,377 | 30,6985 |
| 400 | 0,474 | 12,8676 | 3 | 0,262 | 51,8382 |
| 450 | 0,454 | 16,5441 | 4 | 0,176 | 67,6470 |
| 500 | 0,427 | 21,5073 | 5 | 0,067 | 87,6838 |
| Blanko | 0.544 | | | | |

Berdasarkan hasil data Tabel 3 dapat dilihat bahwa terjadi penurunan nilai absorbansi sampel yang diberi DPPH dalam setiap kenaikan konsentrasi. Turunnya nilai tiap absorbansi ekstrak dalam variasi konsentrasi menunjukkan bahwa telah terjadi penangkapan atau peredaman radikal bebas DPPH oleh sampel yang diuji. Turunnya nilai absorbansi tiap variasi konsentrasi menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol daun kelor dan vitamin C. Dapat dilihat juga bahwa terjadi kenaikan persen Inhibisi setiap bertambahnya nilai konsentrasinya, Hal ini menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi sampel uji dengan peningkatan peredaman radikal bebas, semakin tinggi konsentrasi sampel maka persen Inhibisinya juga semakin besar. Hal ini diperkuat oleh Ananda (2009) yang menyatakan bahwa pemudaran warna yang terjadi akan mengakibatkan penurunan nilai absorbansi sehingga semakin rendah nilai absorbansi maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya, karena pada konsentrasi yang tinggi kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas semakin besar, sehingga nilai absorbansi yang dihasilkan akan semakin turun.

Berdasarkan nilai absorbansi yang didapatkan setelah diukur dapat dilihat pada data Tabel 3. Kemudian dihitung persen Inhibisi ekstrak metanol daun kelor yang dihubungkan dengan konsentrasi sampel pada (Lampiran 8). Sehingga membentuk persamaan regresi yang dapat digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ (Inhibitor Concentration 50) sampel yang telah diukur. Adapun grafik hubungan antara konsentrasi antioksidan yang direaksikan dengan DPPH dapat dilihat pada Gambar 1. dan grafik hubungan konsentrasi vitamin C dengan DPPH pada Gambar 2.



Gambar 1. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak metanol daun kelor dengan DPPH



Gambar 2. Grafik hubungan antara konsentrasi Vitamin C dengan DPPH

Kedua grafik tersebut diperoleh persamaan regresi ekstrak metanol daun kelor dan pembanding vitamin C yang dapat digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ merujuk pada analisis data pada lampiran 9. Hasil penentuan IC₅₀ ekstrak metanol daun kelor diperoleh sebesar 857,68 ppm. Menurut Molyneux (2004), Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ < 50, Kuat (50-100), Sedang (100-150), Lemah (150 – 200), Sangat lemah > 200. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kelor memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah. Sedangkan hasil penentuan nilai IC₅₀ pembanding vitamin C diperoleh sebesar 2,93 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa pembanding Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Berdasarkan kedua hasil IC₅₀ antara ekstrak metanol daun kelor dan vitamin C, dapat dilihat bahwa daun kelor yang memiliki aktivitas antioksidan jauh lebih rendah dibandingkan aktivitas antioksidan dari vitamin C. Hal ini dikarenakan vitamin C secara kimia mampu bereaksi dengan sebagian besar radikal bebas. Hal ini diperkuat oleh (Carita dkk, 2020) dalam (Wibawa dkk, 2020) yang mengatakan bahwa Vitamin C mampu menetralkan stress oksidatif melalui proses donasi transfer elektron, dan juga vitamin C yang digunakan dalam penelitian ini dalam keadaan murni sehingga dapat menetralkan DPPH secara maksimal. Dibandingkan dengan ekstrak metanol daun kelor masih merupakan ekstrak kasar bukan senyawa murni. Dilihat dari teknik ekstraksi yang dilakukan menggunakan teknik sokletasi, dimana ekstrak metanol daun kelor sudah melalui tahap pemanasan yang cukup lama dan juga alat sokletasi yang digunakan tidak mempunyai pengaturan suhu, sehingga

pada saat diekstraksi kemungkinan senyawa-senyawa kimia yang berpeluang sebagai antioksidan menjadi rusak dikarenakan ekstraksi pemanasan yang dilakukan tidak menggunakan pengaturan suhu maksimal sesuai titik didih pelarut yang digunakan.

Hal ini diperkuat oleh (Yuliantari dkk, 2017) yang mengatakan bahwa komponen bioaktif seperti flavonoid, tanin, dan fenol rusak pada suhu di atas 50°C karena dapat mengalami perubahan struktur serta menghasilkan ekstrak yang rendah. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan adalah senyawa flavonoid. Hal ini juga didukung oleh pernyataan (Rompas, 2012) bahwa senyawa flavonoid merupakan golongan senyawa yang tidak tahan panas dan mudah teroksidasi pada suhu tinggi. Sehingga kemungkinan besar inilah yang menyebabkan perbedaan aktivitas antioksidan pembanding vitamin C lebih kuat dibandingkan dengan aktivitas antioksidan ekstrak daun kelor yang diekstraksi menggunakan teknik sokletasi tergolong sangat lemah.

4 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

Ekstrak metanol daun kelor (*Moringa oleifera*) asal kota Baubau yang diekstraksi menggunakan teknik sokletasi positif mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, polifenol dan saponin. Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa Ekstrak metanol daun kelor (*Moringa oleifera*) yang diekstraksi menggunakan teknik sokletasi memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah, dengan nilai IC_{50} sebesar 857,68 ppm. dikarenakan ekstraksi pemanasan yang dilakukan tidak menggunakan pengaturan suhu maksimal sesuai titik didih pelarut yang digunakan.

REFERENSI

- Agung, Abadi Kiswandono. 2011. Perbandingan Dua Ekstraksi Yang Berbeda pada Daun Kelor (*Moringa Oleifera, Lamk*) Terhadap Rendemen Ekstrak dan Senyawa Bioaktif Yang Dihasilkan. *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*. 1(1).
- Ananda, AD. 2009. Aktivitas Antioksidan dan Fungsinya The Hijau (*Camelia sinensis*) Rempah Instant. *Skripsi*. Program Studi Gizi Masyarakat dan Sumber Daya.
- Dali, Arniah., Haeruddin., Wa Ode Yusmita Miranda., dan Nasriadi Dali. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Pecah Beling (*Strobilanthes crispus*). *Jurnal Al-Kimia*. 5(2).
- Drastinawati dan Rozanna Sri Irianty. 2013. Pemanfaatan Ekstrak Nikotin Limbah Puntung Rokok sebagai Inhibitor Korosi. *Jurnal Teknologi*. 4(2).
- Ergina., Siti Nuryanti dan Indarini Dwi Pursitasari. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol . *Jurnal Akad.Kim*. 3(3).
- Harborne, J., 1996. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Cetakan kedua. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Ikalinus, Robertino., Sri Kayati Wisyastuti dan Ni Luh Eka Setiasih. 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*. 4(1).
- Jaiswal D, Rai PK, Kumar A, Mehta S, Watal G. 2009. Effect of *Moringaoleifera* Lam. Leaves aqueous extract therapy in hyperglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacol*. 123:392-296.
- Lung, Jackie Kang Sing dan Dika Pramita Destiani. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmaka*. 15(1).
- La Suroto., Arniah Dali, dan Nurlansi. 2019. Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Daun Gamal (*Gliricidia sepium L.*) Terhadap Kutu Beras (*Sitophylus oryzae L.*). *Jurnal Pendidikan Kimia Universitas Halu Oleo*. 4(2).
- Laksmiani, N. P. L., dkk. 2020. Optimasi Metode Ekstraksi Kuersetin Dari Daun Kelor (*Moringa Oleifera L.*). *Jurnal Kimia*. 14(1).
- Marliana, Soerya Dewi., Venty Suryanti dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi*. 3(1).
- Meigaria, Komang Mirah., I Wayan Mudianta dan Ni Wayan Martiningsih. 2016. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Aseton Daun Kelor (*Moringa Oleifera*). *Jurnal Wahana Matematika dan Sains*. 10(2).

- Mardawati, E., C.S. Achyar dan H. Marta. 2008. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L*) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis Di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. *Laporan Akhir Penelitian Peneliti Muda*. Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjajaran, Bandung.
- Molyneux, P. 2004. The Use Of The Stable Free Radikal Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH), For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 26(2).
- Moelyono, M.W. (1996). Panduan Praktikum Analisis Fitokimia. Laboratorium Farmakologi Jurusan Farmasi FMIPA. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Nurzaman, Fulka., Joshita Djajadisastro dan Berna Elya. 2018. Identifikasi Kandungan Saponin dalam Ekstrak Kamboja Merah (*Plumeria rubra L.*) dan Daya Surfaktan dalam Sediaan Kosmetik. *Jurnal Biotek Kefarmasian Indonesia.* 8(2).
- Pardede, A., dkk. 2013. “Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol dari Kulit Batang Manggis (*Garcinia cymosa*)”. *Media Sains*, Volume 6, Nomor 2 (hlm. 60-66).
- Putra, I Wayan Dwika Pratama., Anak Agung Gde Oka Dharmayudha., Luh Made Sudimartini. 2016. Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera L*) di Bali. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus.* 5(5).
- Purnamasari, Sriwulan. 2018. Skringing Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Tumbuhan Kaobula (*Pisonia alba* Span.). *Skripsi F-KIP*. Universitas Halu Oleo. Kendari.
- Praptiningsih, Yulia. *Buku Ajar Teknologi Pengolahan*. (FTP Universitas Jember, Jember, 1999)
- Rahmawati, A., Muflihunna dan La Ode Muhammad Sarif. 2015. Analisis Aktivitas Antioksidan Produk Sirup Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) . *Jurnal Fitofarmaka Indonesia.* 2(2).
- Riansyah, Angga., Agus Supriadi dan Rodiana Nopianti. 2013. Pengaruh Perbedaan Suhu dan Waktu Pengeringan Terhadap Karakteristik Ikan Asin Sepat Siam (*Trichogaster pectoralis*) dengan Menggunakan Oven. *Jurnal Fishtech.* 2(1).
- Rivai, Harrizul., Meliyana, dan Dian Handayani. 2010. Karakterisasi Ekstrak Spon Laut *Axinella carteri* Dendy Secara Fisika, Kimia Dan Fisikokimia. *Jurnal Farmasi Higea.* 2(1).
- Rompas, R.A., H.J. Edy, A. Yudistira. 2012. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dalam Daun Lamun (*Syringodium isoetifolium*). *Jurnal Pharmacon.* 1(2).
- Salamah, Nina dan Erlinda Widyasari. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan (L) Steud.*) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2 –Difenil-1-Pikrilhidrazil. *Jurnal Pharmacia.* 5(1).
- Sarni., dkk. 2020. Analisis Kandungan Vitamin C Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam.*) Pada Ketinggian Berbeda di Kota Baubau. *Jurnal Techno.* 9(1).
- Suhaenah, Asriani., dan Siska Nuryanti. 2017. Skringing Fitokimia Ekstrak Jamur Kancing (*Agaricus bisporus*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia.* 4(1).
- Sofyani, Wa Ode Winesty. 2019. Sistem Klasifikasi Kelor dalam Etnobotani Masyarakat Wolio. *Jurnal Sosiologi Walisongo.* 3(1).
- Tutik., I Nyoman Agus Dwipayana dan Vida Elsyana. 2018. Identifikasi dan Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor pada Variasi Pelarut dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Malahayati.* 1(2).
- Wihastuti, T, A., Sargowo, D., dan Rohman, M, S., 2007. Efek Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Dalam Menghambat Aktifasi NF κ b, Ekspresi Tnf- α dan Icam-1 pada HUVECS yang Dipapar LDL Teroksidasi. *Jurnal Kardiologi Indonesia.* 28(1)
- Wibawa, Junian Cahyanto., Muhammad Zainul Arifin dan Lilik Herawati. 2020. Mekanisme Vitamin C Menurunkan Stres Oksidatif Setelah Aktivitas Fisik. *Journal Of Sport Science and Education.* 5(1).
- Yuliantari, Ni Wayan Ayuk., I wayan Rai Widarta dan I Dewa Gede Mayun Permana. 2017. Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) *Jurnal Ilmiah Teknologi Pangan.* 4(1).
- Zulharmitta., Derisa Elrika dan Harrizul Rivai. 2010. Penentuan Pengaruh Jenis Pelarut Ekstraksi Terhadap Perolehan Kadar Senyawa Fenolat dan Daya Antioksidan dari Herba Miniran (*Phyllanthus niruri L.*) *Jurnal Farmasi Higea.* 2(1).