

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN
KELOR (*Moringa Oleifera Lamk*) DENGAN METODE DPPH**

Nur Hasanah, Jatmiko Susilo, Dian Oktianti
Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo

ABSTRAK

Seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan diketahui bahwa radikal bebas dapat menjadi penyebab sejumlah penyakit seperti kardiovaskuler, neurogeneratif, kanker dan lain sebagainya radikal bebas akan terhenti apabila reaktifitasnya diredam oleh senyawa yang bersifat antioksidan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek antioksidan dari ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera Lamk*) menggunakan metode DPPH (*2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl*) yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} ,

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni, dimana metode yang digunakan adalah metode pengukuran serapan radikal DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*) tereduksi pada panjang gelombang 500 -525 nm, pada penelitian ini analisa data dengan menghitung nilai IC_{50} . Konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera Lamk*) adalah 450 ppm, 600 ppm, dan 750 ppm. Dan konsentrasi vitamin E sebagai pembanding adalah 2 ppm, 4 ppm dan 6 ppm

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor (*Moringa Oleifera Lamk*) memiliki kemampuan sangat lemah untuk menangkap radikal bebas ditunjukkan dengan nilai IC_{50} 363,75 ppm dibandingkan dengan vitamin E yang memiliki IC_{50} 4,91 ppm yang termaksud dalam aktivitas antioksidan sangat kuat.

Kata kunci : Daun kelor (*Moringa Oleifera Lamk*), flavonoid, Aktivitas antioksidan, IC_{50} .

ABSTRACT

Along with the development of science it was known that free radicals can cause several diseases such as cardiovascular, neurodegenerative, cancer, etc. Free radicals will be interrupted when the reactivity is muffled by any antioxidants compounds. The purpose of this study is to find the antioxidant effect of the ethanol extract of Moringa leaves (*Moringa oleifera Lamk*) by using DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) method which indicated by IC₅₀ value.

This was a purely experimental study, used the method of measuring the absorption of radical DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) reduced at a wavelength of 500-525 nm. The data analysis in this study was conducted by calculating the IC₅₀ value. The concentration of ethanol extract of Moringa leaves (*Moringa oleifera Lamk*) were 450 ppm, 600 ppm and 750 ppm. And the concentrations of vitamin E as a comparator were 2 ppm, 4 ppm and 6 ppm, respectively.

The results of this study indicate that the ethanol extract of Moringa leaves (*Moringa oleifera Lamk*) has a very weak ability to capture free radicals that indicated by IC₅₀ of 363.75 ppm, compared to vitamin E which has IC₅₀ value of 4.91 ppm was included in the very strong antioxidant activity.

Keywords : Moringa leaves (*Moringa oleifera Lamk*), flavonoid, antioxidant activity, IC₅₀

PENDAHULUAN

Seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan diketahui bahwa radikal bebas dapat menjadi penyebab sejumlah penyakit seperti kardiovaskuler, neurogeneratif, kanker dan lain sebagainya (Winarsi, 2007).

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai suatu molekul atau senyawa yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya sehingga bersifat sangat reaktif mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron yang berada disekitarnya. Tingginya reaktifitas senyawa radikal bebas ini akan mengakibatkan terbentuknya senyawa radikal baru. Bila senyawa radikal baru tersebut bertemu dengan molekul lain, maka akan terbentuk senyawa radikal baru lagi dan seterusnya hingga terjadi reaksi berantai. Reaksi ini akan terus berlanjut dan akan terhenti apabila reaktifitasnya diredam oleh senyawa yang bersifat antioksidan (Winarsi, 2007).

Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai antioksidan adalah daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk) (Tilong, 2012). Daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk) mengandung flavonoid yang bisa berfungsi sebagai antioksidan serta kaya akan pro vitamin A, C, E, khususnya β -karoten yang akan diubah menjadi vitamin A dalam tubuh dan secara nyata berpengaruh terhadap hepatoprotektif, (Bharali, 2003). Kandungan senyawa glukosianat dan isotiosianat dalam tumbuhan kelor diketahui masyarakat sebagai hipotensif, anti kanker, penghambat aktivitas bakteri dan jamur (Anwar dkk, 2007). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Immi Sucy Rohyani, Evi Aryanto, Suropto menunjukkan daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk) mengandung senyawa golongan flavanoid.

Berdasarkan uraian di atas peneliti ingin melakukan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan bahwa daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk) memiliki aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

(2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} , serta membandingkan aktivitasnya dengan antioksidan alami yaitu vitamin E.

METODE PENELITIAN

Bahan Dan Cara

Alat yang digunakan untuk ekstraksi seperangkat alat maserasi (beker gelas, gelas ukur, labu takar, corong kaca, kain flanel, batang pengaduk, termometer, botol berwarna gelap), blender, timbangan elektrik dan *waterbath*, Alat untuk penentuan aktivitas antioksidan seperangkat alat gelas (tabung reaksi, pipet ukur, stopwatch), mikropipet dan spektrofotometer UV-VIS dan Alat untuk uji reaksi kimia seperangkat alat gelas (tabung reaksi, gelas ukur, pipet tetes), penangas air.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Simplisia kering daun kelor (*Moringa Oleifera Lamk*) yang diperoleh dari sekitar wilayah Ungaran Barat, Kabupaten Semarang, Etanol teknis H_2SO_4 , metanol dan amonia encer DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazil), etanol p.a, vitamin E.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera Lamk*)

Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa Oleifera Lamk*) diperoleh menggunakan metode maserasi. Sebanyak 100 g serbuk simplisia dimasukkan dalam panci kemudian diberi etanol 70% sebanyak 1000 ml. Maserasi dilakukan selama 7 hari dalam ruangan yang terlindung dari cahaya matahari. Maserasi dilakukan selama dua kali, maserasi pertama dengan melarutkan simplisia kering kedalam 750 ml pelarut etanol 70% sedangkan maserasi kedua dengan melarutkan ampas dari maserasi pertama kedalam 250 ml pelarut etanol 70%. Dalam maserasi dilakukan pengadukan yang bertujuan untuk meratakan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel, setelah itu

ekstrak yang diperoleh disaring dengan menggunakan kain flanel. Setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, kemudian dilakukan remaserasi. Remaserasi berarti dilakukan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Ekstrak yang diperoleh dibiarkan hingga menjadi jernih dan ekstrak tersebut diuapkan dengan menggunakan *waterbath* pada temperatur 50 °C hingga diperoleh ekstrak kental.

Uji Kualitatif Senyawa Flavonoid

Filtrat ekstrak kental daun kelor sebanyak 0,5 ml ditambahkan 5 ml ammonia encer dan 5 ml H₂SO₄ pekat. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna dari kuning kehijauan menjadi kuning karena penambahan H₂SO₄ pekat (Markham, 1988).

Pembuatan Seri Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun kelor (*Moringa Oleifera* Lamk)

Ekstrak etanol daun kelor dan vitamin E masing-masing dibuat dalam 3 seri konsentrasi. Konsentrasi ekstrak kelor adalah 450 ppm, 600 ppm, 750 ppm dan vitamin E adalah 2 ppm, 4 ppm dan 6 ppm.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun kelor dan vitamin E diambil sebanyak 100 µl dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ke dalam tiap tabung reaksi ditambahkan 1 ml larutan DPPH 0.4 mM dalam etanol p.a, volume dicukupkan dengan etanol p.a sampai 5 ml, Selanjutnya dihomogenkan dengan sentrifuge selama 1 menit dan diinkubasi pada suhu 37⁰ C sesuai hasil penentuan *operating time* yang diperoleh yaitu selama 10 sampai 20 menit. Selanjutnya serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang antara 514 nm sesuai hasil penentuan panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Sebagai kontrol digunakan

larutan DPPH. Nilai IC₅₀ dihitung masing-masing dengan menggunakan rumus persamaan regresi dan dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali.

Analisis Data

Data yang diperoleh berupa nilai absorbansi dari ekstrak etanol daun kelor (*Moringa Oleifera* Lamk) dan vitamin E yang didapat dari pengukuran serapan radikal DPPH (*2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl*) menggunakan spektrofotometer UV-VIS tereduksi pada panjang gelombang maksimum 514 nm, kemudian dihitung persentase aktivitas antioksidannya dengan rumus :

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

Setelah didapatkan persentase aktivitas antioksidan dari masing-masing konsentrasi, dilanjutkan dengan perhitungan secara regresi linier (x,y) untuk mendapatkan nilai IC₅₀, dimana x sebagai konsentrasi (ppm) dan y sebagai persentase aktivitas antioksidan. Nilai IC₅₀ menunjukkan konsentrasi yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. IC₅₀ ekstrak etanol daun kelor dan vitamin E diperoleh dengan rumus:

$$Y = BX + A$$

Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk) adalah sebagai berikut: 1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14a, 15b, golongan 9: Tanaman dengan daun-daun majemuk tersebar, 197b, 208a, 209b, 210b, 211b, 214a, family 55 :Moringaceae, Genus 1.Moringa, species : *Moringa oleifera* Lamk. (kelor).

Metode pembuatan ekstrak etanol daun rumput kelor (*Moringa oleifera* Lamk) menggunakan metode maserasi menggunakan etanol 70 %. Hasil ekstrak kental daun rumput kelor diperoleh sebanyak 17,6 gram dengan perhitungan rendemen sebanyak 17,6 % yang

berarti kandungan zat aktif yang tersari cukup bagus karena memenuhi standar minimum yaitu lebih dari 10 %. Ekstrak kental daun rumput kelor yang diperoleh berwarna hijau tua dan berbau khas.

Hasil pengujian kualitatif senyawa flavonoid menunjukkan daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk) mengandung senyawa flavonoid yang ditunjukkan dengan perubahan warna dari kuning tua menjadi warna merah karena penambahan metanol dan H₂SO₄ pekat, pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk) diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH pada rentang λ 500-525 nm. Hasil yang diperoleh yaitu DPPH 0,4 mM dalam etanol p.a memiliki panjang gelombang maksimum sebesar 514 nm dengan absorbansi sebesar 0,536. Langkah selanjutnya yaitu penentuan *operating time*. Berdasarkan hasil penentuan *operating time* diperoleh bahwa pengujian antioksidan akan sangat baik jika dilakukan inkubasi pada suhu 37^o C dengan rentang waktu dari 10 sampai 20 menit, dimana hal ini menunjukkan bahwa pada menit 20 menunjukkan bahwa sampel yang mengandung antioksidan telah optimum dalam meredam radikal bebas DPPH. Hal ini ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang stabil.

Tabel Pengujian Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lamk) dan Vitamin E

Replik asi	% aktivitas antioksidan					
	Konsentrasi ekstrak kelor (ppm)			Konsentrasi vitamin E (ppm)		
	450	600	750	2	4	6
1	53,92	57,64	60,26	40,11	44,03	54,19
2	51,12	56,90	57,84	36,01	43,84	53,73
3	50,19	56,90	58,77	44,40	44,40	55,22
4	51,49	58,21	59,51	37,69	48,32	50,93
5	52,24	58,21	59,51	38,99	44,96	55,59
Rata-rata±SD	51,79± 1,399	57,57± 0,656	59,18± 0,915	39,44± 3,16	45,11± 1,844	54,92± 1,839
IC ₅₀ (ppm)	363,75			4,91		

Data tabel diatas dapat dilihat pada konsentrasi 2 ppm vitamin E memiliki aktivitas antioksidan (%) yang rendah yaitu 39,4% kemudian diikuti konsentrasi 4 ppm 45,11% dan konsentrasi 6 ppm 54,92%. Sedangkan ekstrak etanol daun

kelor memiliki aktivitas antioksidan (%) pada konsentrasi 450 ppm 51,8% kemudian konsentrasi 600 ppm 57,6% dan konsentrasi 750 ppm 59,2%.

Data tabel diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi vitamin E dan ekstrak etanol daun kelor maka semakin tinggi aktivitas antioksidan hal itu ditunjukkan oleh semakin kecil absorbansi yang diperoleh. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi, maka semakin besar kemampuan antioksidan untuk meredam radikal bebas DPPH. Tabel nilai IC₅₀ diatas didapat dari *regresi linier* ($Y = BX+A$) kemudian didapatkan persamaan $Y = 0,024X + 41,27$ untuk ekstrak etanol daun kelor dan $Y = 3,87X + 31,01$ untuk vitamin E, dihasilkan IC₅₀ ekstrak etanol daun kelor 363,75 ppm dan vitamin E 4,91 ppm dimana nilai Y diganti dengan 50 sebagai persen inhibitory.

Nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun kelor lebih tinggi dibandingkan dengan vitamin E, Sementara hubungan antara nilai IC₅₀ dengan daya aktivitas antioksidan adalah semakin tinggi nilai IC₅₀ maka daya aktivitas antioksidan semakin kecil. Sesuai dengan kategori daya aktivitas antioksidan untuk ekstrak etanol daun kelor dengan nilai IC₅₀ 363,75 termasuk dalam kategori lemah karena nilai IC₅₀ sangat tinggi sedangkan untuk vitamin E kategori daya antioksidannya sangat kuat karena IC₅₀ kecil yaitu 4,91 selain itu dapat dilihat dari perubahan warna yang ditimbulkan menurut Molyneux,(2004) pada vitamin E terjadi perubahan warna dari ungu menjadi kuning jernih sedangkan untuk ekstrak etanol daun kelor tidak terjadi perubahan warna seperti yang terjadi pada vitamin E Dapat disimpulkan bahwa daya aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor sangat kecil bila dibandingkan dengan daya aktivitas antioksidan vitamin E , bila dilihat dari nilai IC₅₀.

KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol daun kelor memiliki aktivitas antioksidan tetapi sangat lemah dikarenakan kandungan senyawa yang bersifat sebagai antioksidan seperti flavonoid, vitamin E dan vitamin C dari ekstrak etanol daun kelor jumlahnya sangat kecil.
2. Pada konsentrasi tertentu ekstrak etanol daun kelor tidak mempunyai aktivitas antioksidan yang sebanding dengan vitamin E bila dilihat dari nilai IC_{50}

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, F., Said, L., Ashraf, M., dan Gilani, A.H., 2007, *Moringa oleifera: a Food Plant with Multiple Medicinal Uses*, *Phytotherapy Research*, 21: 17-25.
- Bharali R, Tabassum J, Azad MR., 2003. *Chemomodulatory effect of M. oleifera, Lam, on hepatic carcinogen metabolizing enzymes, antioxidant parameters and skin papillomagenesis in mice*. *Asian Pac J Cancer Prev* 4:131-9.
- Immi Sucy Rohyani , Evi Aryanto, Suripto., 2015, Kandungan fitokimia beberapa jenis tumbuhan lokal yang sering dimanfaatkan sebagai bahan baku obat di Pulau Lombok *Jurnal Universitas Mataram Fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam*.
- Molyneux, P., 2004, *The Use Of The Stable Free Radical (Dpph) For Estimating Antioksidn Activity*, *J. Sci. Technol*, 28.
- Tilong, A.D., 2012, *Kelor Penakluk Diabetes*, 10-39, Penerbit Diva press, Yogyakarta.
- Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Cetakan Pertama, 15, 77, 79-81 Kanisius, P., Yogyakarta.