

**PERBEDAAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
DAN FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KELOR (*Moringaoleifera* Lam)
SERTA PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL**

***DIFFERENCE OF ACTIVITY ANTIOXIDANT EXTRACT ETHANOL &
ETHYL ACETATE FRACTION LEAF MORINGA (Moringaoleifera Lam)
AND THE DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID
CONCENTRATION***

**Sari R. Djahilape, Agus Suprijono, A. A. Hesti Wulan S.
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi “Yayasan Pharmasi” Semarang**

SARI

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang dimiliki flavonoid dari ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor, mengetahui keefektifan dari pemakaian ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor yang dinyatakan dalam EC_{50} dengan menggunakan metode DPPH serta mengetahui kandungan total flavonoidnya. Ekstraksi daun kelor menggunakan metode refluks. Pelarut yang digunakan adalah etanol 80%. Analisis kualitatif digunakan reaksi warna dan metode KLT, diantaranya yaitu uji fenolik, polifenol, flavonoid, tanin, saponin. Analisis kuantitatif flavonoid dan penentuan aktivitas antioksidan secara kuantitatif dari daun kelor dilakukan secara spektrofotometri UV-Vis. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor masing-masing dibuat seri deret konsentrasi 1000, 1500, 2000, 2500 dan 3000 ppm. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan kesimpulan bahwa ada aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor. Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa nilai EC_{50} untuk sampel ekstrak etanol daun kelor adalah sebesar 2165,6337 ppm dan untuk fraksi etil asetat 2231,4012 ppm. Selain itu juga diperoleh kandungan rata-rata flavonoid dalam ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor berturut-turut adalah sebesar 8,3323 mg/100 g dan 6,2542 mg/100 g.

Kata kunci : Ekstrak etanol daun kelor, Fraksi etil asetat daun kelor, Flavonoid, Antioksidan, DPPH.

ABSTRAK

The aim of this research is to determine the antioxidant activity of flavonoids in ethanol extract and ethyl acetate fraction of moringa, find out the effectiveness of the use of the ethanol extract and ethyl acetate fraction of moringa leaves in the EC_{50} by using DPPH and know the

content of the total flavonoids. Leaves of moringa of extraction using the reflux method. The solvent used is 80% ethanol. A quantitative analysis color reactions and TLC methods, among which are of phenolic test, polyphenols, flavonoids, tannins, saponins. The quantitative analysis of flavonoids and antioxidant activity is quantitative determination of the from the leaves of Moringa is done UV-Vis spectrophotometry. The ethanol extract and ethyl acetate fraction of leaves of moringa respectively created the series concentrations rows of 1000, 1500, 2000, 2500 and 3000 ppm. By popularity The result showed conclusion that there are the antioxidant activity in extracts of ethanol and ethyl acetate fraction of leaves of moringa. From the research results it is known that the EC₅₀ value of the ethanol extract leaves of moringa amounted 2165.6337 ppm and for ethyl acetate fraction of 2231.4012 ppm. Result further exhibits the average content flavonoids in the ethanol extract and ethyl acetate fraction of leaves of Moringa row amounted to 8.3323 mg/100 g and 6.2542 mg/100 g.

Keywords: Ethanol Extract of Leaves of Moringa, Moringa Leaves Fraction Ethyl Acetate, Flavonoid, Antioxidant, DPPH.

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan molekul dengan kekurangan elektron (tak berpasang) di kulit luarnya. Pembentukan radikal bebas dalam tubuh pada hakikatnya adalah suatu hal yang normal, malah dibentuk secara kontinu karena dibutuhkan untuk proses tertentu, antara lain oksida lipida. Radikal bebas dibentuk di hati secara enzimatis dengan maksud memanfaatkan toksisitasnya untuk merombak obat-obat dan zat-zat asing beracun lainnya (Tjay & Kirana, 2007 : 844).

Namun tubuh memiliki suatu sistem pelindung ampuh yang berfungsi mengendalikan reaksi

radikal tersebut agar jangan sampai merugikan organ tubuh yaitu antioksidan alamiah. Bila pengendalian ini gagal, karena pembentukan radikal bebas terlalu banyak sehingga terdapat kelebihan radikal bebas dan kekurangan relatif dari antioksidan, maka dapat terjadi stress oksidatif dengan kemungkinan kerusakan sel dan organ (Tjay & Kirana, 2007 : 844). Oleh karena itu, tubuh juga memerlukan asupan antioksidan dari luar.

Salah satu sumber antioksidan dari luar yaitu tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam). Bagian tanaman yang paling menonjol dari kandungan tanaman kelor (*Moringa*

oleifera Lam) yaitu pada daunnya yang mengandung antioksidan yang tinggi. Berdasarkan uji fitokimia daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) mengandung tanin, steroid dan triterpenoid, flavonoid, saponin, antarquinon, dan alkaloid (Kasolo dkk., 2010). Salah satu grup flavonoid yang dimiliki kelor (*Moringa oleifera* Lam) yaitu kuersetin, dimana kuersetin merupakan antioksidan kuat (Hardiyanthi, 2015).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Erika dkk. (2014) untuk menguji aktivitas antioksidan daun kelor digunakan metode ekstraksi maserasi. Pada penelitian ini digunakan metode refluks karena kandungan flavonoid dalam daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) yaitu kuersetin tahan terhadap pemanasan (Daud dkk., 2011). Namun, suhu yang digunakan pada proses ekstraksi yaitu suhu yang rendah (50-70°C). Kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan air.

Hasil penelitian oleh Erika dkk. (2014) membuktikan bahwa fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa*

oleifera Lam) mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih besar dibanding fraksi n-heksan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) dalam melawan radikal bebas DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*).

Sedangkan fraksi air tidak diteliti dalam penelitian ini karena kuersetin yang merupakan flavonoid dengan jumlah terbanyak dalam daun kelor dan berperan sebagai antioksidan kuat, memiliki kelarutan yang buruk dalam air sehingga kemungkinan berada dalam fraksi air kecil (Syofyan dkk., 2008).

Berdasarkan uraian pada latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) serta penetapan kandungan total flavonoidnya. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Prinsip metode ini yaitu mengukur besarnya peredaman warna yang terjadi karena adanya reduksi radikal DPPH oleh antioksidan yang membentuk *1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*. Perubahan

warna ini diukur secara spektrofotometri visibel pada panjang gelombang maksimal. Alasan digunakan metode ini yaitu sederhana, murah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel (Prakash dkk., 2001).

METODE PENELITIAN

Obyek yang diteliti dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan secara *in vitro* ekstrak etanol & fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) dengan menggunakan metode DPPH dan kandungan total flavonoid pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) yang dianalisa menggunakan spektrofotometer Visibel

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kondensor, labu alas bulat, corong pisah, labu takar, *beaker glass*, pipet volume, timbangan analitik, *waterbath*, klem dan statif, pipa kapiler, bejana pengembang, spektrofotometer UV-Vis Shimadzu mini 1420, tabung reaksi, mikropipet, *blue tip*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk daun kelor,

etanol, aquades, n-heksan, etil asetat, lempeng silica gel 60 GF₂₅₄, asam asetat glasial, n-butanol p.a, metanol p.a, Aluminium klorida p.a, baku kuersetin p.a., dan larutan DPPH.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelor

Proses penyarian daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) dilakukan dengan cara refluks. Serbuk daun kelor yang sudah diayak, ditimbang sebanyak 100 g. Direfluks dengan 500 mL etanol 80 % selama 2 jam di atas *waterbath* dengan suhu 50-70 °C. Diserakai selagi panas dengan kain flannel. Filtrat kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *waterbath* sampai didapat ekstrak kental.

Pembuatan Fraksi Etil Asetat Daun Kelor

Ekstrak kental daun kelor ditimbang seksama sebanyak 10 g, dilarutkan dalam 25 mL aquades, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah. Lalu difraksinasi dengan n-heksan sebanyak 5 x 25 mL dan diambil fase air-nya. Fraksi air difraksinasi lagi dengan etil asetat sebanyak 5 x 25 mL, diambil fase etil

asetatnya. Masing-masing fraksi diuapkan di atas *waterbath*.

Pengujian Kuantitatif Flavonoid Total secara Spektrofotometri Visibel

Diawali dengan pengukuran baku kuersetin 4, 6, 8, 10 dan 12 ppm. Kemudian ekstrak etanol dan fraksi etil asetat ditimbang seksama masing-masing $\pm 100,0$ mg dimasukkan labu takar 100,0 mL, ditambah dengan metanol p.a. hingga tanda batas, dihomogenkan. Diambil sebanyak 1,0 mL, dimasukkan labu takar 10,0 mL lalu ditambah dengan 1,0 mL AlCl_3 10%, ditambah 3,0 mL aquades. Ditambah metanol p.a. hingga tanda batas, didiamkan 15 menit pada *operating time*. Selanjutnya absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimal yaitu 434,5 nm. Dilakukan 5 kali pengulangan.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Secara Kualitatif

Pengujian dilakukan dengan menyemprotkan larutan DPPH 0,07 mM terhadap lempeng hasil totalan sampel (ekstrak etanol dan fraksi etil

asetat daun kelor), yang telah dielusikan dengan larutan n-butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5). Pada senyawa yang dapat berkhasiat sebagai antioksidan akan terbentuk suatu zona berwarna kuning dengan latar belakang berwarna ungu.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Secara Kuantitatif Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara sebanyak 4,0 mL DPPH 0,07 mM dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan 200 μL larutan ekstrak dengan konsentrasi 1000, 1500, 2000, 2500 dan 3000 ppm, selanjutnya campuran dihomogenkan dengan cara divortex selama 1 menit. Didiamkan sesuai *operating time* masing-masing larutan uji yaitu 15 menit. Absorbansi larutan dibaca pada panjang gelombang (λ) maksimum (516 nm). Dilakukan pula pembacaan absorbansi larutan kontrol (larutan DPPH 0,07 mM) dan fraksi etil asetat daun kelor.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil uji KLT

Senyawa	Bahan Uji	Hasil	Gambar Hasil Uji KLT
Flavonoid	Baku kuersetin (A)	(+) Ungu (Rf =0,8)	
	Ekstrak etanol (B)	(+) Ungu (Rf =0,77)	
	Fraksi etil asetat (C)	(+) Ungu (Rf =0,76)	
	Fraksi air (D)	(+) Ungu (Rf =0,61)	
	Fraksi n-heksan (E)	(-)	

Hasil KLT yang didapat dibandingkan dengan baku kuersetin karena di dalam daun kelor terdapat kandungan flavonoid yaitu kuersetin yang jumlahnya paling banyak dibandingkan dengan jenis flavonoid lainnya (Rahmat, 2009). Dari

keempat sampel, hanya ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi air yang diduga ada kandungan flavonoid. Dilihat dari hasil identifikasi KLT yang dibandingkan terhadap baku kuersetin.

Penetapan kadar Flavonoid Total

Tabel 2. Kadar Flavonoid total dalam ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor

Sampel	Fraksi etil asetat		ekstrak etanol	
	Penimbangan (gram)	Kadar (mg/100g)	Penimbangan (gram)	Kadar (mg/100g)
Replikasi				
1	0,0965	6,3099	0,1030	8,4235
2	0,1060	6,6469	0,0997	8,2296
3	0,0997	6,1029	0,1052	8,3448

4	0,1003	6,1169	0,0986	8,4669
5	0,0963	6,0943	0,1011	8,1967
Rata-rata kadar		6,2542		8,3323

Dari hasil perhitungan yang diperoleh pada tabel 3 dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor mengandung senyawa flavonoid dengan rata-rata kadar berturut-turut sebesar 6,2542 mg/100 gram dan 8,3323 mg/100 gram.

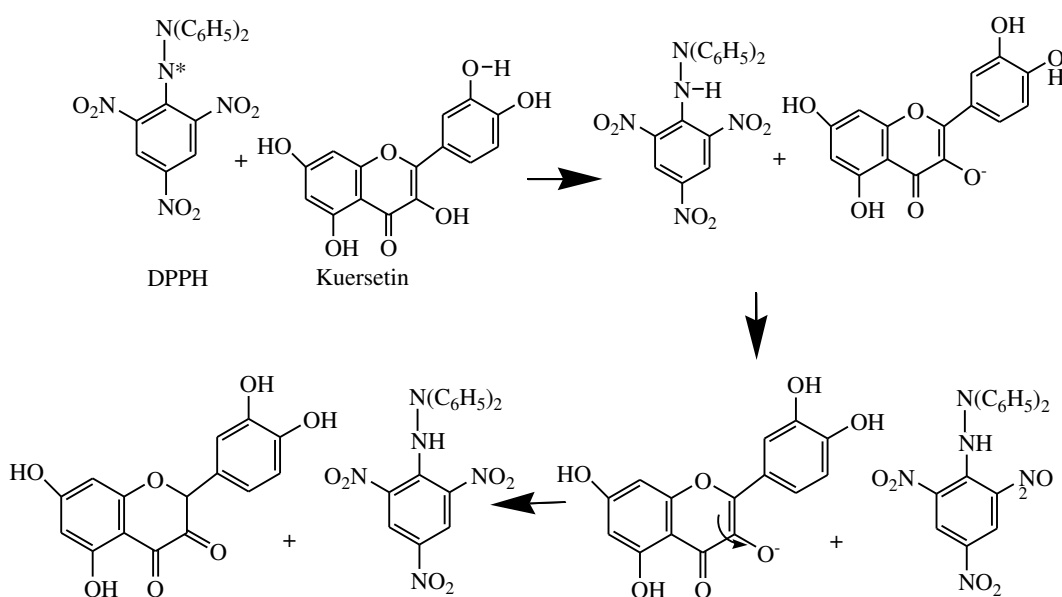
Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam)

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antioksidan

Sampel	Hasil Pengamatan	Simpulan
Ekstrak etanol daun kelor	Zona kuning latar belakang ungu	Mempunyai aktivitas antioksidan
Fraksi etil asetat daun kelor	Zona kuning latar belakang ungu	Mempunyai aktivitas antioksidan

Hasil KLT menunjukkan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor mempunyai aktivitas antioksidan, karena memberikan noda berwarna kuning pada lempeng setelah disemprot dengan larutan DPPH.

Uji Kuantitatif Aktivitas Antioksidan Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam)



Gambar 1. Reaksi antara kuersetin dengan DPPH

Tabel 4. Hasil rerata aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor

Konsentrasi (ppm)	1000	1500	2000	2500	3000
Sampel Ekstrak etanol daun kelor	25,18%	35,75%	53,77%	59,02%	63,43%
Fraksi etil asetat daun kelor	28,62%	38,98%	45,28%	53,96%	64,02%

Tabel 5. Rerata EC₅₀ ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor

Sampel Ekstrak etanol daun kelor	Rata-rata nilai EC ₅₀ (ppm)
	2165,6337
Fraksi etil asetat daun kelor	2231,4012

Berdasarkan hasil pengukuran secara kuantitatif aktifitas antioksidan dari ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor, maka diperoleh nilai EC₅₀ untuk ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor secara berturut-turut adalah 2165,6337 ppm dan 2231,4012 ppm. Dari nilai EC₅₀ tersebut dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor lebih besar dibanding fraksi etil asetat-nya. Hal ini dikarenakan jumlah flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak lebih besar dibanding fraksi-nya sehingga

ekstrak dengan konsentrasi yang lebih kecil dari fraksi sudah memberikan efek penurunan 50% dari zat radikal tersebut.

Perhitungan statistik dengan menggunakan uji *Independent Samples Test* (uji t). Tujuan uji ini adalah untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antara ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor dalam aktivitas antioksidan. Hasil uji t menunjukkan nilai signifikansi 0,749 nilai tersebut lebih besar dari 0,05 maka tidak ada perbedaan antara ekstrak etanol dan

fraksi etil asetat daun kelor dalam aktivitas antioksidan.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Ada aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor ditunjukkan dari nilai EC_{50} yang diperoleh untuk ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor berturut-turut diperoleh sebesar 2165,6337 ppm dan 2231,4012 ppm.
2. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($P > 0,05$) antara aktivitas antioksidan ekstrak etanol dengan fraksi etil asetat daun kelor dengan metode DPPH.
3. Kandungan total flavonoid dalam ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor diperoleh berturut-turut sebesar 8,3323 mg/100 gram dan 6,2542 mg/100 gram.

SARAN

Disarankan bagi peneliti lain untuk melanjutkan penelitian lebih lanjut

mengenai uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kelor secara *in-vitro* dengan menggunakan sediaan dalam bentuk yang sesuai.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Drs. Agus Suprijono, M.Kes., Apt. dan A. Ariani Hesti Wulan S., S.Si., Apt. yang telah sabar membimbing penulis dalam menyelesaikan penelitian ini, Intan Martha Cahyani, M.Sc., Apt., Ketua Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi "YAYASAN PHARMASI.

DAFTAR PUSTAKA

- Daud, M. F., Esti, R. S., dan Endah, R. 2011. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Berdaging buah Putih. *Prosiding NaPP2011 Sains, Teknologi, dan Kesehatan Program Studi Farmasi, Universitas Islam Bandung*. (No. 63) : 56-57.
- Erika, B. R., Marita, D., dan Rini, S. 2014. Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH oleh Fraksi n-heksan dan Fraksi Etil Asetat Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lamk). *Media Farmasi*. Vol. 11. (No.1Maret 2014) :1-6.

- Hardiyanti, F.2015. Pemanfaatan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Dalam Sediaan Hand and Body Cream. *Skripsi*. Jakarta : Program Studi Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Prakash, A., Rigelhof, F., and Miller, E. 2001. Antioxidant Activity. *Journal of Medalliaon Laboratories Analitical Progress*. **Vol10**.(No 2).
- Rahmat, Hardianzah. 2009. Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Sayuran Indegenous Jawa Barat.*Skripsi*. Bogor: IPB.
- Syofyan, H. Lucidia dan A. Bakhtiar. 2008. Peningkatan Kelarutan Kuersetin melalui Pembentukan Kompleks Inklusi dengan β -Siklodekstrin. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. **Vol. 13**. (No. 2) : 43-48.
- Tjay, T. H. dan Kirana, R.2007. *Obat-Obat Penting*. Edisi ke-enam. Jakarta : PT Elex Media Komputindo.