

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Okkyana Kusuma Putri^{1*}, Poppy Indrianti², Alfian Fauzi³, Hafizh Baihaqi⁴

¹DIII Farmasi AKFAR BHUMI HUSADA

*Email Koresponden: okkyanakusuma@gmail.com

Abstrak

Antioksidan adalah senyawa yang dapat melambatkan atau mencegah kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Radikal bebas yang terus meningkat dalam tubuh dapat memicu penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, peradangan dan penyakit kardiovaskular. Sumber antioksidan dapat diperoleh secara alami dan sintetik. Salah satu bahan alami yang dapat dimanfaatkan adalah daun kelor. Senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun kelor yaitu polifenol dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Alat yang digunakan dalam pengujian adalah Spektrofotometer Uv-Vis, sedangkan bahan yang digunakan adalah ekstrak daun kelor yang didapat dengan metode maserasi dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm serta vitamin C sebagai kontrol positifnya. Berdasarkan hasil penelitian maka disimpulkan bahwa ekstrak etanol 96% daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ yang diperoleh sebesar 49,12 ppm sehingga dapat dinyatakan aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Kata kunci: Radikal Bebas, Daun Kelor, Uji Aktivitas Antioksidan, DPPH

Assessment of the Antioxidant Activity of a 96% Ethanol Extract of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* Lam.) Using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine) Method

Abstract

Antioxidants are compounds that can slow down or prevent damage caused by free radicals. A continuous increase in free radicals in the body can trigger degenerative diseases such as cancer, diabetes, inflammation, and cardiovascular disease. Antioxidants can be obtained from both natural and synthetic sources. One natural source that can be utilized is moringa leaves. The antioxidant compounds found in moringa leaves include polyphenols and flavonoids. This study aims to determine the antioxidant activity of a 96% ethanol extract of moringa leaves (*Moringa oleifera* Lam) using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. The instrument used in the testing was a UV-Vis spectrophotometer, while the materials used were moringa leaf extracts obtained via the maceration method at concentrations of 20, 40, 60, 80, and 100 ppm, with vitamin C serving as the positive control. Based on the research results, it was concluded that the 96% ethanol extract of moringa leaves (*Moringa oleifera* Lam) possesses antioxidant activity with an IC₅₀ value of 49.12 ppm, indicating very strong antioxidant activity.

Keywords: Free Radicals, Moringa Leaves, Antioxidant Activity Test, DPPH

PENDAHULUAN

Dalam kehidupan sehari-hari, radikal bebas tidak dapat dihilangkan. Sumber-sumber radikal bebas antara lain asap rokok, makanan yang digoreng atau dibakar, paparan sinar matahari berlebihan, asap kendaraan bermotor, racun, dan polusi udara. Jumlah radikal bebas yang terus meningkat dalam tubuh dapat memicu penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, peradangan dan penyakit kardiovaskular.

Untuk melindungi tubuh dari radikal bebas, tubuh memerlukan senyawa antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat melambatkan atau mencegah kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dengan menghambat aktivitas radikal bebas atau memutus rantai

reaksi oksidasi yang diinduksi oleh radikal bebas. Penggunaan antioksidan alami telah mendapat perhatian, terus ada dorongan untuk mengembangkan antioksidan alami yang aman dikonsumsi manusia. Jenis antioksidan yang paling banyak digunakan adalah jenis antioksidan alami yang banyak terkandung pada tanaman hijau (Hidayati dkk, 2023).

Salah satu tanaman hijau yang dimanfaatkan aktivitasnya sebagai antioksidan yaitu daun kelor (*Moringa oleifera* Lam). Beberapa penelitian terkait tanaman kelor yang sudah dilakukan di antaranya bahwa daun kelor mengandung senyawa flavonoid, fenolat, alkaloid, triterpenoida/steroida, tannin (Rima, dkk, 2023). Flavonoid utama yang terdapat pada *Moringa oleifera*, yaitu kuersetin (Makita et al, 2016). Konsentrasi kuersetin dalam daun kelor yaitu 384,61 mg/100 g (Bhagawan et al, 2017).

Kuersetin merupakan senyawa antioksidan kuat dibandingkan dengan vitamin C dan vitamin E (Jusnita dan Syurya, 2019). Pengujian antioksidan daun kelor perlu dilakukan untuk membuktikan bahwa daun kelor dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan alami. Aktivitas antioksidan daun kelor ditentukan dengan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*), Metode ini dipilih karena merupakan metode yang dapat mengukur aktivitas antioksidan secara cepat, sederhana, dan tidak membutuhkan biaya yang mahal.

Berdasarkan data tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “ Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak etanol 96% Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) dengan Metode DPPH ”.

METODE PENELITIAN

Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian adalah penelitian secara eksperimental yaitu suatu penelitian dengan melakukan kegiatan untuk mengetahui pengaruh yang timbul, sebagai akibat dari adanya perlakuan eksperimen tersebut

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan, blender, ayakan No.60, labu ukur, gelas ukur, *beaker glass*, batang pengaduk, botol semprot, pH universal, piknometer, *Stopwatch*, peralatan maserasi, rotary evaporator dan spektrofotometer Uv-Vis.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun kelor diperoleh dari Pasar Minggu-Jakarta Selatan, etanol 96%, metanol p.a, FeCl₃ 3%, Dragendorf LP, pereaksi Meyer, pereaksi Wagner, H₂SO₄ P, asam asetat anhidrat, aquadest, Asam Klorida 2N, silika gel, DPPH, tablet vitamin C, dimetil sulfoksida, magnesium, H₂SO₄ 2N, aquadest.

Prosedur Penelitian Skrining Fitokimia (Yulia, dkk.2022)

Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder dari daun kelor secara kualitatif. Senyawa yang diuji termasuk alkaloid, saponin, flavonoid, dan tannin

Uji Alkaloid

10 tetes larutan ekstrak dilarutkan dengan beberapa tetes asam sulfat 2N, kemudian dilakukan uji menggunakan beberapa reagen alkaloid meliputi Dragendorff, Meyer dan

Wagner. Hasil menunjukkan positif alkaloid jika pada pereaksi wagner menimbulkan endapan coklat, endapan putih-kekuningan pada pereaksi Meyer dan endapan merah-jingga pada pereaksi Dragendorff.

Uji Saponin

10 tetes larutan ekstrak dilarutkan dengan air panas dan kocok kuat hingga terbentuk busa. Hasil menunjukkan positif mengandung saponin jika didapatkan hasil sampel berupa busa yang stabil selama 10 menit dan tidak hilang jika ditambahkan 1 tetes HCl 2N.

Uji Flavonoid

Larutkan sampel dengan 1 ml etanol P, tambahkan 0,1 g serbuk magnesium P dan 10 tetes asam klorida pekat P, jika terjadi warna merah jingga sampai warna merah ungu, menunjukkan adanya flavonoid. Jika terjadi warna kuning jingga, menandai adanya flavon, kalkon dan auron.

Uji Tannin

10 tetes larutan ekstrak ditambahkan pereaksi FeCl_3 3%. Hasil berwarna hijau kehitaman menunjukkan sampel positif mengandung tannin

Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH (Molyneux,2004)

Pembuatan larutan DPPH

Pembuatan larutan DPPH ini dilakukan berdasarkan Syukrianto dengan sedikit miniaturisasi. Padatan DPPH ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dalam labu takar hingga volume 50 mL dengan pelarut metanol p.a sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 200 ppm. Selanjutnya, larutan DPPH 200 ppm dipipet sebanyak 20 mL ke dalam labu takar 100 mL kemudian ditepatkan hingga tanda batas menggunakan metanol p.a hingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 40 ppm

Pembuatan Larutan Blangko

Larutan blangko dibuat dengan 3 mL metanol p.a dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 3 mL DPPH 40 ppm kemudian dihomogenkan. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C

Pembuatan Larutan Uji

Larutan Induk Ekstrak 1000 ppm

Sebanyak 10 mg ekstrak ditimbang kemudian dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a kemudian dikocok sampai homogen

Larutan Seri Ekstrak 20, 40, 60, 80,100 ppm

Larutan induk ekstrak dipipet sebanyak 0,2 ml; 0,4 ml; 0,6ml; 0,8 ml dan 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10 mL, dikocok sampai homogen.

Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Sebanyak 10 mg asam askorbat ditimbang kemudian dilarutkan dalam 100 mL metanol p.a kemudian dikocok sampai homogen

Larutan Seri Vitamin C 2, 4, 6, 8, 10 ppm

Pipet masing-masing larutan tersebut sebanyak 2 mL, 4 mL, 6 mL, 8 mL dan 10 mL, lalu diencerkan kembali dengan metanol dalam labu ukur 100 mL sehingga diperoleh larutan ekstrak dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Kelor

Masing-masing larutan kerja dan larutan standar dari berbagai konsentrasi dipipet sebanyak 3 mL kemudian ditambahkan masing-masing 3 mL DPPH lalu dikocok hingga homogen. Setelah itu, masing-masing larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya, masing-masing larutan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Pembuatan Ekstrak Etanol 96 % Daun Kelor

Dibersihkan daun kelor menggunakan air mengalir, dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 48-72 jam, ditimbang simplisia yang telah halus untuk mendapatkan bobot akhir simplisia, Serbuk kering daun kelor sebanyak 200 g ditambah dengan 1000 mL etanol 96%, Dikocok / diaduk hingga homogen. Direndam selama ± 24 jam, pada 6 jam perendaman pertama sambil sesekali diaduk, disaring untuk memperoleh maserat dan ditampung. Residu direndam kembali dengan etanol 96% sebanyak 1000 mL, lakukan seperti langkah sebelumnya, ditampung maserat pada wadah yang sama. Selanjutnya, maserat yang telah diperoleh dipekatkan menggunakan rotary evaporator hingga memperoleh ekstrak kental.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil rendemen ekstrak etanol 96% dapat dilihat pada tabel daun kelor (*Moringa Oleifera* Lam) berikut:

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak

Ekstrak	Bobot serbuk simplisia	Bobot ekstrak	Rendemen
Daun kelor	200 gram	39,628 gram	19, 814 %

2. Hasil organoleptis ekstrak etanol 96% daun kelor (*Moringa Oleifera* Lam).

Hasil identifikasi organoleptis dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 2. Hasil Identifikasi Organoleptis

Ekstrak	Bentuk	Warna	Bau	Rasa
Daun Kelor	Kental	Hijau Tua	Khas	Pahit

3. Hasil uji skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 3. berikut:

Tabel 3. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun Kelor

Golongan Senyawa	Positif berdasarkan literatur	Hasil Pengamatan	Keterangan
Alkaloid	Terbentuk endapan cokelat	Ada endapan cokelat	+ (Positif)
Saponin	Terbentuk busa stabil	Terbentuk busa	+ (Positif)
Flavonoid	Terbentuk warna merah, atau kuning, atau jingga	Warna larutan menjadi kuning gelap	+ (Positif)
Tanin	Terbentuk larutan berwarna biru gelap	Larutan menjadi biru	+ (Positif)

4. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang

Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan cara mengukur Absorbansi Blanko DPPH yang memiliki Absorbansi tertinggi, sehingga diperoleh panjang gelombang maksimal adalah 517 nm. Jika suatu senyawa bersifat antioksidan, maka senyawa tersebut mampu menetralkan radikal bebas DPPH, sehingga nilai absorbansinya akan menurun saat diukur pada panjang gelombang 517 nm.

5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Kelor Dengan Metode DPPH

a. Pengujian Larutan Vitamin C sebagai Kontrol Positif

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan didapatkan hasil uji aktivitas antioksidan Vitamin C dengan menggunakan variasi berbagai konsentrasi. Nilai IC_{50} yang diperoleh adalah 4.725 ppm dapat dilihat pada Tabel dan Grafik berikut:

Tabel 4. Hasil Pengujian Larutan Vitamin C

PPM	Absorbansi			Rata-rata	%Inhibisi
B	0.46414	0.46359	0.46396	0.463897	
2	0.35201	0.32511	0.35028	0.34247	24.23600
4	0.25091	0.24995	0.25032	0.25039	46.02389
6	0.17600	0.17621	0.17611	0.17611	62.03752
8	0.16238	0.16219	0.16209	0.16222	65.03100
10	0.15707	0.15737	0.15763	0.15736	66.07937

b. Pengujian Larutan Uji

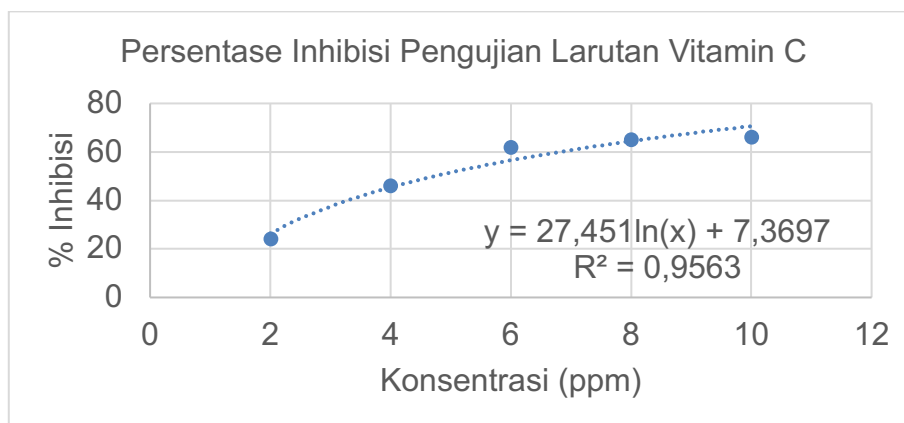
Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara mengukur absorbansi dari setiap variasi konsentrasi sampel menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Hasil pengujian aktivitas antioksidan untuk ekstrak etanol 96% daun kelor diperoleh nilai IC_{50} adalah 49.11967 ppm dapat dilihat pada Tabel berikut:

Tabel 5. Hasil Pengujian Larutan Uji aktivitas antioksidan

Sampel	Absorbansi			Rata-rata	% Inhibisi
Blangko	0,46521	0,46524	0,46544	0,465297	
20	0,33211	0,33245	0,33291	0,332491	28,5420771
40	0,25048	0,25014	0,25044	0,250355	46,19461419
60	0,21448	0,21450	0,21411	0,214364	53,92967927
80	0,17554	0,17544	0,17541	0,175464	62,28986525
100	0,15879	0,15844	0,15824	0,158490	65,93786043

Uji Aktivitas Antioksidan Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C

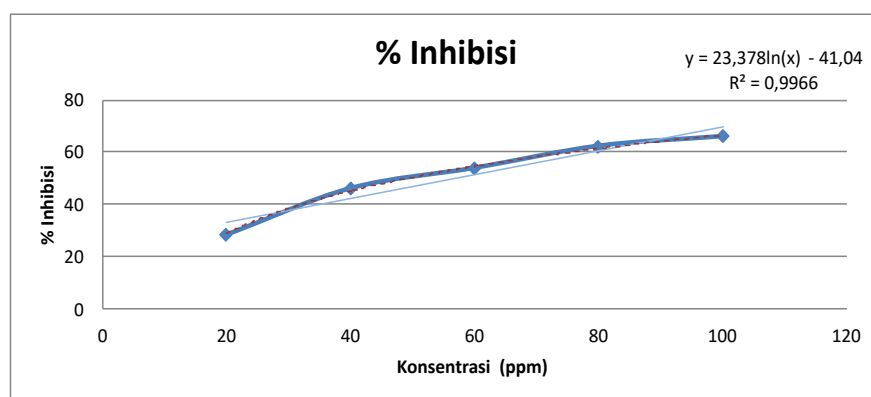
Setelah dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada vitamin C, diperoleh kurva linieritas dengan persamaan garis $y = 27,451 \ln(x) + 7,3697$ dengan regresi $R = 0,9563$, dengan Nilai Regresi diatas 0,9 dapat diketahui kurva linier dinyatakan baik. Dapat dilihat pada gambar di bawah ini :

**Gambar 4.**

Grafik Hubungan Log Konsentrasi dengan % Inhibisi Vitamin C

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Kelor.

Setelah dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% daun kelor, diperoleh kurva linieritas dengan persamaan garis $y = 23,378 \ln(x) - 41,04$ dengan regresi $R = 0,9966$ dengan nilai regresi diatas 0,9 dapat diketahui kurva linier dinyatakan baik. Dapat dilihat pada gambar dibawah ini:

**Gambar 5.**

Grafik Hubungan Log Konsentrasi dengan % Inhibisi Sampel

Nilai Inhibition Concentration 50%

Nilai IC₅₀ Vitamin C

Berdasarkan perbandingan yang telah dilakukan, aktivitas antioksidan dinyatakan dengan Inhibition Concentration 50% (IC₅₀) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam sebanyak 50% radikal bebas DPPH. Besarnya aktivitas antioksidan diperoleh dari nilai IC₅₀. Semakin rendah nilai IC₅₀ semakin tinggi aktivitas antioksidan. Pada penelitian ini didapat nilai IC₅₀ pada vitamin C sebesar 4.73 ppm dan masuk kedalam Aktivitas Sangat Kuat. Pada pembandingan vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dikarenakan nilai IC₅₀ yang dihasilkan <50.

Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol 96% Daun Kelor

Pada penelitian ini didapat nilai IC₅₀ pada ekstrak etanol 96% daun kelor, didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 49.096 ppm dan masuk ke dalam aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Aktivitas antioksidan yang sangat kuat di karenakan banyak mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan metabolit sekunder yang tersebar pada tumbuhan dan termasuk senyawa fenolik sehingga cenderung mudah larut dalam pelarut polar. (Novika, 2023)

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 96% daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ yang diperoleh sebesar 49,12 ppm sehingga dapat dinyatakan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dikarenakan nilai IC₅₀ yang dihasilkan <50.

Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka saran yang dapat diberikan adalah perlunya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% daun kelor menggunakan metode lain sehingga hasilnya dapat dibandingkan dengan hasil pada penelitian kali ini yang menggunakan metode DPPH.

DAFTAR PUSTAKA

- A. Saputra, F. Arfi, and M. Yulian. 2020. "Literature Review : Analisa Fitokimia Dan Manfaat Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*)". Jurnal Amina, Vol 2, No 3, Hal 114-119.
- A. H. Pratiwi and P. 2023. Analisa Kadar Aantioksidan Pada Ekstrak Daun Binahong Hijau *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. Bioma : Jurnal Biologi Makasar, Vol 8, No 3.
- Bhagawan, W. S., R. Atmaja, S. Atiqah. (2017). Optimization and Quercetin Release Test of *Moringa* Leaf Extract (*Moringa oleifera*) in Gel-Microemulsion Preparation. J. Islamic Pharm, 2: 34-42
- D. Putu and P. Satriyani. 2021. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.)," Jurnal Farmasi Malahayati, Vol 4, No 1, Hal 31-42.
- Jusnita, N dan Syurya W. (2019). Karakterisasi Nanoemulsi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.). Jurnal Sains Farmasi dan Klinis, 6: 16-24
- Makita, C., L. Chimuka, P. Steenkamp, E. Cukrowska, E. Madala. (2016). Comparative

Analyses of Flavonoid Content in *Moringa oleifera* and *Moringa ovalifolia* with The Aid of UHPLC-qTOF-MSFingerprinting. *South African Journal of Botany*, 105: 116-122

- Novika, Fitria dan S. Yelfira. 2023. Uji Aktivitas Antioksidan Pada Limbah Kulit Buah-Buahan Khas Indonesia. *Jurnal Analis Farmasi*. Volume 8, No. 1 April 2023, Hal 123 – 131
- Molyneux, P. (2004). The Use of Stable Free Diphenyl Picrylhdrozil(DPPH) for stimating Antioxidant Activity. *Songklanakar J. Seu Technol*. 26(2) : 211-219.
- Y. Yulia, M. Idris, R. Rahmadina.2022., “Skrining Fitokimia dan Penentuan Kadar Flavonoid Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Desa Dolok Sinumbah dan Raja Maligas Kecamatan Hutabayu Raja. *Klorofil : Jurnal Ilmu Biologi dan Terapan*. Vol 6. No 1. Hal 49-56.
- Rima Yulia Senja, Ine Suharyani , Muh. Yani Zamzam, Didi Rohadi, Widyani Herliyan. (2023). Formulasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Lotion Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lamk) Dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil). *Journal of Pharmacopolium*, Volume 6, No. 1, 58-72
- S. Hidayati, A. Masykuroh. 2023. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Pulutan (*Urena Lobata* L.) Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Komunitas Farmasi Nasional* . 3(1). 494-505.