

UJI ANTIOKSIDAN EKSTRAK HEKSANA, ETIL ASETAT, ETANOL, METANOL 80% DAN AIR DAUN KELOR (*Moringa oleifera*, Lamk)

Agung Abadi Kiswandono^{1*}, Mamay Maslahat²

¹Universitas Prima Indonesia, Medan

²Jurusan Kimia FMIPA Universitas Nusa Bangsa, Bogor
Jl. K. H. Sholeh Iskandar, Cimanggu, Tanah Sareal-Bogor 16166

*e-mail : nau_shila@yahoo.com

ABSTRACT

Antioxidant Test of Hexane, Ethyl Acetate, Ethanol, Methanol 80% and Water Extract in Moringa oleifera

By. Agung Abadi Kiswandono and Mamay Maslahat

Antioxidant is a substance that can protect a materials from its destruction. Sources of antioxidant could be from plants. Alkaloid compounds in the Moringa oleifera leaves have potential antioxidant source. This research aimed to examine antioxidant potential from Moringa oleifera leaves extract of hexane, ethyl acetate, methanol 80% and water . The extraction methodes was meseration, and antioxidant test used the DPPH free radical scavenging effect. The result showed that extract ethanol had the best potential antioxidant with the value of 118.19 µg/mL and R² was 99.9%, from hexanes was 692.39 µg/mL (R²=99.9%), in ethyl acetate was 247.5 µg/mL (R²=99.9%), in methanol 80% was 121.79 µg/mL (R²= 0.998) and in water extract 189.21 µg/mL (R²=99.8%). Antioxidant standart as kuersetin that gave value of 15.84 µg/mL (R² = 99.9%).

Keywords : Bioactives compound, moringa oleifera, antioxidant

ABSTRAK

Antioksidan merupakan substansi yang dapat mencegah atau memperlambat kerusakan suatu zat. Sumber antioksidan dapat diperoleh dari suatu tumbuhan. Senyawa alkaloid yang terdapat pada daun kelor berpotensi sebagai sumber antioksidan. Penelitian ini bertujuan menguji antioksidan ekstrak heksana, etil asetat, etanol, metanol 80% dan air pada daun kelor (*Moringa oleifera*, Lamk). Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dan uji antioksidan menggunakan metode "DPPH free radical scavenging effect". Hasil uji antioksidan terbaik terdapat pada ekstrak etanol, yaitu sebesar 118.19 µg/mL dengan harga R² sebesar 99.9%, sedangkan pelarut yang lain, yaitu pelarut heksana sebesar 692.39 µg/mL (R²=99.9%), etil asetat 247.5 µg/mL (R²=99.9%), metanol 80% 121.79 µg/mL (R²= 0.998) dan air 189.21 µg/mL (R²=99.8%), sebagai pembanding antioksidan digunakan kuersetin, yaitu 15.84 µg/mL (R²= 99.9%).

Kata kunci : Senyawa bioaktif, *moringa oleifera*, antioksidan

PENDAHULUAN

Antioksidan adalah suatu substansi yang dapat mencegah atau memperlambat kerusakan substansi dengan cara peroksidasi. Sumber antioksidan dapat berasal dari dalam tubuh atau dapat juga berasal dari luar tubuh. Antioksidan yang berasal dari luar tubuh dapat diperoleh dari tumbuhan yang mengandung senyawa alkaloid (Benabdesselam *et.al.* 2007). Flavonoid, fenol hidrokuinon, tanin juga telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan (Pratt and Hudson 1990). Senyawa tersebut berperan sebagai antioksidan dengan cara menghambat peroksida lipid sehingga dapat melindungi tubuh dari penyakit kanker.

Beberapa penelitian menyatakan bahwa tumbuhan *Moringa oleifera* L mempunyai

kandungan bioaktivitas dan berfungsi sebagai antiinflamasi (Sashidhara *et al.* 2007), dan antibiotik (Eilert *et al.* 1981).

Kumar dan Pari (2003) menyatakan bahwa ekstrak batang *Moringa oleifera* L mempunyai efek yang bersifat menurunkan peroksida lipid pada hati dan meningkatkan aktivitas antioksidan. Chumark *et al.* dalam penelitiannya terhadap daun *Moringa oleifera* L yang diambil dari Propinsi Trang, Thailand, menunjukkan bahwa ekstrak air panas *Moringa oleifera* L mempunyai aktivitas sebagai antioksidan secara *in vivo* dan *ex vivo*. Pengujian aktivitas antioksidan ini dilakukan dengan metode DPPH free radical scavenging effect.

Senyawa aktif antioksidan menghasilkan tingkat hambatan *inhibition concentration* (IC₅₀). IC₅₀ adalah konsentrasi antioksidan (µg/ml) yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Semakin

banyak radikal bebas yang dihambat oleh antioksidan, maka semakin kecil IC_{50} . Nilai IC_{50} diperoleh dengan membandingkan serapan radikal bebas sebelum dan sesudah direaksikan dengan antioksidan yang terdapat dalam zat uji untuk setiap konsentrasi. Ekstrak dikatakan aktif sebagai antioksidan jika memiliki IC_{50} kurang dari 100 $\mu\text{g/mL}$.

METODE PENELITIAN

Bahan

Sampel daun kelor diambil pada bulan Maret 2008 dari desa Cikarang kecamatan Dramaga Bogor, etanol, metanol, etil asetat, heksan, kuersetin, pereaksi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil, kertas saring, aquades, aluminium foil, kapas bebas lemak dan tissue.

Peralatan

Peralatan yang digunakan adalah satu set alat-alat gelas, alat ekstraksi maserasi, oven, rotary evaporator, blender, neraca analitik, desikator, refrigerator.

Prosedur Kerja

Sampel daun kelor yang didapatkan, kemudian dibersihkan dari kotoran-kotoran dan dikeringkan di udara terbuka pada suhu kamar. Sampel yang telah kering (mengandung kadar air $\pm 10\%$) lalu dihaluskan dengan menggunakan *blender*, lalu dilakukan proses maserasi.

Sebanyak 400 - 500 g sampel kering yang telah dihaluskan dimaserasi dengan heksana sampai bebas lemak ditandai dengan larutan yang telah jernih. Ekstrak yang dihasilkan disaring, kemudian filtratnya di pekatkan dengan menggunakan labu penguap putar pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kasar. Ampasnya dikering anginkan lalu setelah kering, dimaserasi kembali selama 1 minggu dengan berturut-turut menggunakan etil asetat, etanol, metanol 80% dan terakhir dengan air dengan cara yang sama seperti heksana. Filtrat yang dihasilkan lalu dipekatkan dan didapatkan ekstrak kasar kemudian uji antioksidan terhadap ekstrak heksana, etil asetat, methanol 80% dan air yang dihasilkan menggunakan metode DPPH *free radical scavenging effect*.

Uji Antioksidan

Pembuatan larutan blanko

Larutan yang digunakan adalah metanol. Pembuatan larutan blanko dilakukan dengan cara memipet 800 μL metanol, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 200 μL larutan DPPH lalu dikocok sampai homogen, inkubasi pada suhu ruang selama 30 menit.

Pembuatan Larutan Kuersetin

- Pembuatan larutan induk 1000 $\mu\text{g/mL}$, sebanyak 1.0 mg kuersetin ditimbang dan dilarutkan dalam 1 mL metanol, kemudian dikocok hingga homogen.
- Pembuatan larutan seri 10, 50, 100 dan 200 ppm, Inkubasi pada suhu kamar selama 30 menit, setelah itu ditambahkan 1 mL metanol dan dikocok kembali hingga homogen. Setelah itu diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada $\lambda : 515 \text{ nm}$.

Persiapan Larutan Bahan Uji

- Pembuatan larutan induk bahan uji 1000 $\mu\text{g/mL}$ Sebanyak 1.0 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam 1 mL metanol, kemudian dikocok hingga homogen
- Pembuatan larutan seri 10, 50, 100 dan 200 ppm, Inkubasi pada suhu kamar selama 30 menit, setelah itu ditambahkan 1 mL metanol dan dikocok kembali hingga homogen. Setelah itu diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada $\lambda : 515 \text{ nm}$.

Perhitungan

- Pengukuran aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100\%$$

Inhibisi adalah besar aktivitas yang dihasilkan oleh sampel.

- b. Perhitungan IC_{50} dengan menggunakan regresi linier $Y = a + bX$

$$b = \frac{n\sum(X_i Y_i) - \sum X_i \sum Y_i}{n\sum X_i^2 - (\sum X_i)^2} \quad a = \frac{\sum Y_i - b\sum X_i}{n}$$

$$r = \frac{n\sum(X_i Y_i) - \sum(X_i)(Y_i)}{\sqrt{(\sum X_i^2 - (\sum X_i)^2)(\sum Y_i^2 - (\sum Y_i)^2)}}$$

Keterangan :

Y_i : Inhibisi

X_i : Konsentrasi larutan uji

a : Harga intersep yang menunjukkan faktor kesalahan sistematis

b : Harga slope yang menunjukkan hubungan antara perubahan absis dan ordinat

r : Koefisien korelasi Nilai IC_{50} dicari dengan menggunakan regresi linier $Y = a + bX$

Keterangan :

Y : 50

X : IC_{50}

a : Harga intersep yang menunjukkan faktor kesalahan sistematis

b : Harga slope yang menunjukkan hubungan antara perubahan absis dan ordinat

IC_{50} pada uji antioksidan artinya adalah konsentrasi larutan uji yang dapat menghambat 50% radikal bebas DPPH.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini merupakan bahan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, sehingga sampel mengandung air dalam jumlah relatif tinggi. Oleh karena itu, dalam tahap persiapan sampel harus dilakukan penentuan kadar air yang terkandung dalam sampel, karena akan mempengaruhi daya tahan bahan pangan terhadap serangan atau aktivitas mikroorganisme.

Kadar air ditetapkan dengan cara gravimetri, yaitu diperoleh dengan cara menghitung bobot bahan sebelum dan sesudah dikeringkan pada temperatur di atas titik didih air, sehingga diharapkan semua air akan menguap pada suhu tersebut dan pada periode waktu tertentu. Kadar air pada sampel diperoleh sebesar 9.67%.

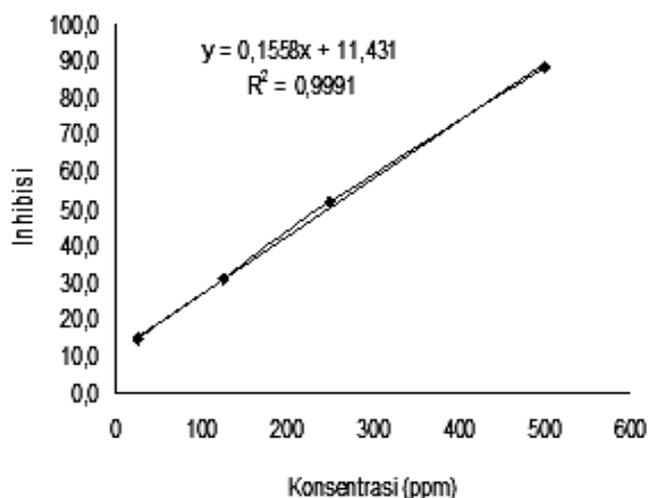
Ekstrak kasar pada penelitian ini diperoleh dengan cara perendaman (maserasi) sampel. Mekanisme metode maserasi adalah proses difusi pelarut ke dalam dinding sel tumbuhan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang ada dalam tumbuhan tersebut. Metode maserasi digunakan untuk mengekstrak senyawa yang kurang tahan terhadap panas, biasanya digunakan untuk sampel yang belum diketahui karakteristik senyawanya.

Pelarut yang digunakan adalah heksana, etil asetat, etanol, metanol dan terakhir menggunakan air. Pemisahan pertama terhadap sampel digunakan pelarut heksana dengan tujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa non polar termasuk lemak yang terkandung pada sampel. Kemudian larutan yang dihasilkan di kentalkan menggunakan vakum evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental. Ampas dari ekstraksi lalu dikeringkan dan dilakukan ekstraksi kembali menggunakan pelarut berturut-turut etil asetat, etanol, metanol dan terakhir dengan air.

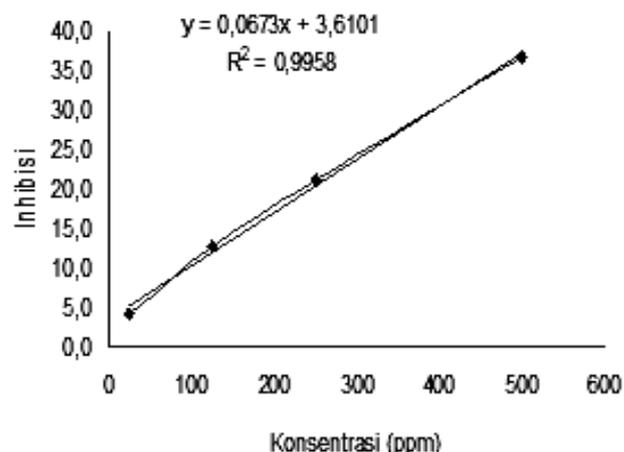
Ekstrak kasar yang dihasilkan dari masing-masing pelarut kemudian diuji aktivitas antioksidan. Pada penelitian ini aktivitas antioksidan diukur dengan metode DPPH *Free Radical Scavenger*.

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil. Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH, prinsipnya adalah penangkapan hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas DPPH (warna ungu) dan diubah menjadi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (warna kuning), kemudian sisa DPPH diukur intensitas warna ungunya pada panjang gelombang 515 nm. Reaksi uji antioksidan disajikan pada Gambar 1.

Nilai IC_{50} dari Ekstrak etanol adalah yang terkecil dari ke 5 ekstrak yang dilakukan pada penelitian ini, yaitu 118.19 $\mu\text{g/mL}$ dengan harga $R^2 = 0,9996$ (Gambar 3), disusul kemudian oleh pelarut lainnya. Pelarut tersebut adalah metanol 80% sebesar 121,79 $\mu\text{g/mL}$ (Gambar 4), pelarut air sebesar 189,21 $\mu\text{g/mL}$ (Gambar 5), pelarut etil-asetat sebesar 247,5 $\mu\text{g/mL}$ (Gambar 6) dan pelarut heksana sebesar 692,39 $\mu\text{g/mL}$ dengan harga $R^2 = 99,5\%$ (Gambar 7). Standar antioksidan yang digunakan sebagai pembanding adalah kuersetin dengan nilai 15,84 $\mu\text{g/mL}$ (Gambar 2). Ekstrak dikatakan aktif sebagai antioksidan jika memiliki IC_{50} kurang dari 100 $\mu\text{g/mL}$ (Artanti *et.al.* 2000), artinya bahwa kandungan senyawa-senyawa yang mampu meredam radikal bebas DPPH pada sampel daun kelor adalah sedikit (kandungannya sedikit).



Gambar 6. Hasil Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak Etil-Asetat pada Daun Kelor



Gambar 7. Hasil Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak Heksana pada Daun Kelor

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji antioksidan terbaik terdapat pada ekstrak etanol, yaitu sebesar 118,19 $\mu\text{g/mL}$ dengan harga R^2 sebesar 99.9%, sedangkan pelarut yang lain, yaitu pelarut heksana sebesar 692.39 $\mu\text{g/mL}$ ($R^2=99.9\%$), etil asetat 247.5 $\mu\text{g/mL}$ ($R^2=99.9\%$), metanol 80% 121.79 $\mu\text{g/mL}$ ($R^2= 0.998$) dan air 189.21 $\mu\text{g/mL}$ ($R^2=99.8\%$), sebagai pembanding antioksidan digunakan kuersetin, yaitu 15.84 $\mu\text{g/mL}$ ($R^2=99.9\%$).

DAFTAR PUSTAKA

- Artanti, N. et al. Evaluasi Aktivitas Antioksidan Berbagai Ekstrak Daun Benalu (*Dendrophthoe pentandra L*) yang Tumbuh pada Inang Belimbing dan mangga. *Laporan Penelitian*. Pusat Penelitian Kimia LIPI. Hal 1-7.
- Benabdesselam, FM. et. al. 2007. Antioxidant Activities of Alkaloid Extracts of Two Algerian Species of Fumaria : Fumaria Capreolatan and Fumaria bastard. ACG Publication rec.nat.Prod 1 : 28-35.
- Budiman, A. 2001. *Senyawa Bioaktif Golongan Kumin Artemisia Sacrorum Ledeb*. Skripsi. Bogor : FMIPA. IPB.
- Dalimarta, S. 2003. Karakteristik Tumbuhan Obat. *Prosiding Seminar dan Pameran Nasional Tumbuhan Obat Indonesia*
- XXIV. Pusat Studi Biofarmaka IPB. Bogor.
- Eilert U, et. al. 1981. The Antibiotic Principle of Seeds of Moringa oleifera and moringa stenopetala. *J. Medicinal Plant res.* 42 (55-61).
- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia. Cara modern menganalisa Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih Patmawinata dan Iwang Soediro. Edisi ke 3. Penerbit ITB. Bandung.
- Hermawan, H. 2002. Isolasi dan Pencirian Senyawa Aktif dari Tumbuhan Anting-anting (*Acalypha indica L.*) yang Berpotensi Menurunkan Kadar Glukosa Darah. Skripsi. FMIPA. IPB. Bogor.
- Hidayat MG. 2004. Perbandingan Metode Ekstraksi Flavonoid dan Terpenoid dari Sidaguri Serta Daya Inhibisi Ekstrak Terhadap Aktivitas *Xantin Oxidase*. Skripsi. FMIPA. IPB. Bogor.
- Joni, MS, M. Sitorus, Nelly Katharina. 2008. *Cegah Malnutrisi Dengan Kelor*. Yogyakarta. Penerbit Kanisius.
- Prat DE, B.J.F. Hudson. 1990. *Natural Antioxidant not Exploited Commercially*. Di dalam B.J.F Hudson. Editor *Food Antioxidant*. London. Elsevier Science.

- Putri, LD. 2004. Pemisahan dan Pencirian Pektin Dari Kulit Buah Kakao. Skripsi. FMIPA. IPB. Bogor.
- Rafi, M. 2003. Identifikasi Fisik dan Senyawa Kimia Pada Tumbuhan Obat Fokus Untuk Tumbuhan Obat Diabetes Melitus. *Makalah Pelatihan Tanaman Tradisional (swamedikasi) Pengobatan Penyakit Diabetes Melitus*. Pusat Studi Biofarmaka. IPB. Bogor.
- Sashidhara KV. et. al. 2007. Rare Dipeptida and Urea Derivatives from Roots of Moringa oleifera as Potential Anti-Inflammatory and Antinoniceptive Agents. Short Communication *European Journal of Medicinal Chemistry*.
- Sidik M. 1997. Antioksidan Alami Asal Tumbuhan. *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XII*. ITB. Bandung.
- Simanjuntak, P. 1988. Metode Isolasi dan Pemurnian Ekstrak Air dari Tumbuhan. *Warta AKAB*.