AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN KELOR METODE DPPH DAN FRAP SEBAGAI SEDIAAN OBAT DAN MAKANAN

ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF MORAGE LEAF EXTRACT DPPH AND FRAP METHODS AS DRUG AND FOOD

Junie Suriawati^{1*}, Siti Rahayu Rachmawati¹

¹*Jurusan Analisis Farmasi dan Makanan, Poltekkes Kemenkes Jakarta II
Jalan Raya Ragunan No. 29 C, Pasar Minggu, Jakarta Selatan, 12540*

**Email Corresponding: junie.suriawati@poltekkesjkt2.ac.id*

Submitted: 16 September 2022 Revised: 9 January 2023 Accepted: 14 February 2023

ABSTRAK

Daun kelor banyak dibudidayakan oleh masyarakat karena diyakini dapat memberikan banyak manfaat, antara lain bidang farmasi dan makanan. Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolat, triterpenoida/steroida, dan tanin yang berfungsi sebagai antioksidan. Senyawa zat aktif pada daun kelor dapat diperoleh dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut air, karena pelarut air dapat diaplikasikan ke masyarakat sebagai sediaan yang aman untuk dikonsumsi. Umumnya penelitian ekstrak daun kelor menggunakan pelarut air dengan cara infusa atau pelarut organik. Penelitian ekstrak daun kelor yang diperoleh dengan cara pemerasan belum pernah dilakukan, terutama aktivitas antioksidan. Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak daun kelor dengan metode DPPH dan FRAP sebagai sediaan obat dan makanan. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil/DPPH serta metode aktivitas potensial reduksi besi (*Ferric Reduction Antioxidant Power/FRAP*) yang masing masing memiliki kelebihan pada metodenya. Hasil penelitian ekstrak daun kelor infusa dan pemerasan memiliki kadar fenol total 50,10331±0,005 mg GAE/g dan 47,55012±0,019 mg GAE/g sedangkan kadar flavonoid total 36,56286±0,026 mg QE/g dan 37,76643±0,025 mg QE/g. IC₅₀ ekstrak daun kelor infusa dan pemerasan dengan metode DPPH sebesar 4,12 ppm dan 26,13 ppm serta IC₅₀ ekstrak daun kelor infusa dan pemerasan dengan metode FRAP adalah 11140,06 ppm dan 21529,00 ppm. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan ekstrak daun kelor dengan metode DPPH memiliki aktivitas antioksidan kuat dan metode FRAP memiliki aktivitas antioksidan lemah, sehingga ekstrak daun kelor tersebut dapat digunakan sebagai sediaan obat dan makanan.

Kata kunci : daun kelor, antioksidan, sediaan obat dan makanan

ABSTRACT

*Moringa leaves are widely cultivated by the community because they are believed to provide many benefits, including in the pharmaceutical and food fields. Moringa leaf extract (*Moringa oleifera* L.) contains compounds of alkaloids, flavonoids, phenolics, triterpenoids/steroids, and tannins that function as antioxidants. The active compounds in Moringa leaves can be obtained by extraction using water solvents because water solvents can be applied to the public as preparations that are safe for consumption. Generally, research on Moringa leaf extract uses water as a solvent using infusion or organic solvents. Research on Moringa leaf extract obtained by squeezing has never been done, especially its*

antioxidant activity. This study aimed to determine the antioxidant activity of Moringa leaf extract using the DPPH and FRAP methods as drug and food preparations. The antioxidant activity test was carried out using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil/DPPH method and the Ferric Reduction Antioxidant Power (FRAP) method. The results of the infusion and squeezed Moringa leaf extract have total phenol content of 50.10331 ± 0.005 mg GAE/g and 47.55012 ± 0.019 mg GAE/g, while the total flavonoid content is 36.56286 ± 0.026 mg QE/g and 37.76643 ± 0.025 mg QE/g. The IC_{50} of infusion and squeezed Moringa leaf extract using the DPPH method was 4.12 ppm and 26.13 ppm, and the IC_{50} of infusion and squeezed Moringa leaf extract using the FRAP method was 11140.06 ppm and 21529.00 ppm, respectively. Moringa leaf extract can be utilized in food and medicine preparations because the DPPH method has great antioxidant activity. In contrast, the FRAP method has weak antioxidant activity.

Keywords: moringa leaves, antioxidant, drug and food preparations

PENDAHULUAN

Salah satu jenis tumbuhan tropis Indonesia adalah kelor (*Moringa oleifera* L.). Seluruh bagian dari tanaman kelor dapat dimanfaatkan sebagai sediaan bahan obat dan makanan. Obat tradisional telah dikenal dan digunakan secara turun menurun oleh masyarakat Indonesia, khususnya masyarakat yang jauh dari pelayanan kesehatan umumnya memanfaatkan tumbuhan sebagai obat. Menurut (Saputra, Arfi and Yulian, 2020) dalam bidang pangan daun kelor dapat ditambahkan sebagai fortifikan untuk memperkaya gizinya.

Daun kelor merupakan bagian tumbuhan yang kerap dimanfaatkan daripada bagian tumbuhan yang lain (Purba, 2020). Di dalam daun terdapat jaringan tempat senyawa aktif dan untuk memperolehnya diperlukan ekstraksi. Hasil ekstraksi dapat dalam bentuk kering, kental, atau cair. Ekstrak cair diperoleh dengan metode merebus daun kelor (infusa) dimana metode tersebut mudah dibuat, sangat murah serta terjamin sebab tidak ada endapan pada hasilnya sehingga aman untuk dikonsumsi. Secara tradisional di beberapa daerah Indonesia umumnya masyarakat mengolah daun kelor dengan direbus atau metode infusa. Air hasil rebusan digunakan untuk menyembuhkan berbagai penyakit (Ni Nyoman Yuliani, 2015), seperti menurunkan kadar glukosa darah pada penderita diabetes mellitus (Syamra, Indrawati and Warsyidah, 2018) dan menurunkan tekanan darah pada penderita hipertensi (Yanti and Nofia, 2019).

Kelor memiliki sifat antioksidan dalam bentuk ekstrak. Hasil penelitian (Djamil, 2017) ekstrak daun kelor yang diperoleh dengan metode infusa mengandung flavonoid, fenol, triterpenoid, steroid, saponin, tanin yang larut dalam air. Senyawa tersebut berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan substansi penting yang mampu mencegah tubuh dari penyakit degeneratif disebabkan karena adanya radikal bebas seperti diabetes mellitus, penyakit jantung, aterosklerosis, kanker, hipertensi, stroke, asam urat, artritis rheumatoid, dan osteoporosis. Konsumsi antioksidan dalam jumlah memadai mampu menurunkan resiko terkena penyakit degeneratif. Penelitian (Fachriyah *et al.*, 2020; Herdi *et al.*, 2020; Guntarti *et al.*, 2021) menyatakan daun kelor memiliki kandungan fenol dan flavonoid dalam jumlah besar serta dikenal sebagai penangkal senyawa radikal bebas. Senyawa fenol memiliki struktur yang dengan mudah dapat menyumbangkan hidrogen atau elektron terhadap akseptor seperti spesies oksigen reaktif atau gugus peroksida dari lemak, sehingga dapat meredam keaktifan oksigen dan radikal bebas. Daun kelor digunakan sebagai makanan alternatif pada kasus malnutrisi karena mengandung protein, lemak, karbohidrat, mineral, vitamin, dan asam amino (Dhakad *et al.*, 2019).

Ada beberapa uji aktivitas antioksidan, diantaranya adalah metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil/DPPH yang memiliki kelebihan hasil yang diperoleh akurat, reliabel dan praktis, sederhana, cepat, peka dan memerlukan sedikit sampel (Ni Nyoman Yuliani, 2015; Maryam, Baits and Nadia, 2016) serta metode aktivitas potensial reduksi besi (*Ferric Reduction Antioxidant Power/FRAP*) yang memiliki kelebihan yaitu metodenya murah, reagensinya mudah disiapkan, cukup sederhana dan cepat. Perbedaan metode DPPH dan

FRAP adalah pada kemampuan mekanisme reaksi senyawa antioksidan (Haeria, Tahar and Munadiyah, 2018; Maesaroh, Kurnia and Al Anshori, 2018).

Penelitian tentang daun kelor lebih banyak terfokus pada ekstraksi dengan menggunakan pelarut organik sehingga sulit jika diaplikasikan ke masyarakat baik sebagai sediaan obat tradisional maupun makanan. Ekstrak air daun memiliki sifat mudah larut dalam air, maka dalam penelitian ini dilakukan cara pemerasan (*pressing*) dan direbus (*infusa*) sesuai dengan kebiasaan masyarakat pada umumnya yang mengolah daun kelor yaitu direbus. Selain itu penelitian ekstrak daun kelor yang diperoleh dengan cara pemerasan (*pressing*) belum pernah dilakukan, terutama dalam menetapkan kadar fenol total, flavonoid total, dan aktivitas antioksidan sehingga menjadi alasan dalam melakukan penelitian ini. Berdasarkan hal tersebut penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak daun kelor dengan metode DPPH dan FRAP sebagai sediaan obat dan makanan. Hasil ekstraksi daun kelor menggunakan air ini sebagai dasar untuk penelitian lanjut agar mudah diaplikasikan ke masyarakat.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis (Simadzu UV 1602[®]), timbangan analitik (Mettler Toledo AL 204[®]), hot plate (Thermolyne[®]), vortex, dan peralatan gelas (Pyrex[®]).

Sampel berupa daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang tumbuh di lingkungan kampus Analisis Farmasi dan Makanan dan di determinasi di Pusat Penelitian Biologi LIPI Bogor. Teknik pengambilan sampel menggunakan *purposive sampling*, yaitu daun kelor berwarna hijau muda dan dipetik pukul 08.00-09.00 WIB.

Bahan kimia adalah pereaksi Folin Ciocalteu, Natrium Karbonat 7%, Asam Galat, Etanol 96% (Merck), Natrium Asetat (Merck), Kuersetin (Sigma-Aldrich), DPPH (Sigma-Aldrich), Metanol (Merck), Vitamin C (Sigma-Aldrich), Metanol (Merck), Natrium Hidroksida (Merck), Asam Oksalat (Merck), Kalium Ferrisianida (Merck), Alumunium Klorida (Merck), Kalium asetat (Merck), Asam Triklorasetat (Merck), Ferri Klorida (Merck), Kalium Feri Cianida (Merck), KH₂PO₄ (Merck).

Prosedur Penelitian

1. Pembuatan ekstrak air daun kelor infusa

Ditimbang 40 g daun kelor terpilih, dimasukkan ke dalam 200 mL akuades yang bertemperatur 90 °C dalam Erlenmeyer 400 mL di atas *hot plate*. Temperatur tersebut dipertahankan selama 15 menit sembari sesekali diaduk. Setelah 15 menit, air rebusan yang sudah dingin disaring dengan menggunakan kain flanel steril ke dalam erlenmeyer. Filtrat dipindahkan ke dalam botol coklat dan ditutup rapat.

2. Pembuatan ekstrak air daun kelor pemerasan

Ditimbang 40 g daun kelor terpilih, dimasukkan ke dalam 200 mL akuades, kemudian di blender. Setelah halus disaring dengan menggunakan kain flanel steril ke dalam erlenmeyer. Filtrat dipindahkan ke dalam botol coklat dan ditutup rapat.

3. Uji fenol total

Penetapan fenol total dilakukan dengan metode kolorimetri (Follin-Ciocalteu). Ditimbang 10 mg ekstrak air daun kelor dilarutkan dengan 10 mL etanol p.a. Sehabis itu dipipet 1 mL larutan tersebut ditambahkan 0,4 mL reagen Folin Ciocalteu dikocok dan dibiarkan 4-8 menit. Ditambahkan 4,0 mL larutan Na₂CO₃ 7%, dikocok hingga homogen, serta ditambahkan akuades sampai 10 mL serta diamankan sepanjang 2 jam pada temperature ruangan. Diukur pada panjang gelombang serapan maksimum 744,8 nm. Dibuat 3 ulangan sehingga isi fenol yang diperoleh sebagai mg ekuivalen asam galat/g ekstrak. Diuji juga penetapan fenol total larutan standar asam galat dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm (Fachriyah *et al.*, 2020).

4. Uji flavonoid total

Penetapan flavonoid total dilakukan dengan metode kolorimetri (Alumunium klorida). Ditimbang 100 mg ekstrak air daun kelor dilarutkan dengan 10 mL etanol p.a. Setelah itu dipipet 1 mL larutan tersebut ditambahkan 0,2 mL AlCl_3 10%; 0,2 mL kalium asetat, dan dicukupkan dengan akuades hingga 10 mL, ditaruh 30 menit pada tempat gelap pada temperatur kamar. Diukur pada panjang gelombang serapan 431 nm. Dibuat 3 ulangan sehingga isi flavonoid yang diperoleh sebagai mg ekuivalen kuersitin/g ekstrak. Dicoba juga penetapan flavonoid total larutan standar kuersitin dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm (Fachriyah *et al.*, 2020).

5. Uji aktivitas antioksidan metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas dengan menggunakan senyawa DPPH. Pembuatan larutan DPPH konsentrasi 35 $\mu\text{g/mL}$, ditimbang 3,5 mg serbuk DPPH dan dilarutkan dengan 100 mL metanol dalam labu tentukur.

Ekstrak air daun kelor 10% diencerkan menjadi 1000 $\mu\text{g/mL}$, ini sebagai larutan uji. Dibuat 5 larutan uji dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500 $\mu\text{g/mL}$. Larutan uji tersebut dipipet sebanyak 1 mL ditambahkan 2 mL larutan DPPH 35 $\mu\text{g/mL}$ di dalam tabung reaksi yang telah ditutup dengan alumunium foil, biarkan sepanjang waktu optimum 30 menit. Setelah itu diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 515 nm dan dibuat 3 ulangan.

Vit C digunakan sebagai larutan pembanding. Ditimbang 100 mg serbuk vit C dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 mL serta ditambahkan akuades sampai tanda batas (konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$). Larutan vit C 1000 $\mu\text{g/mL}$ diencerkan menjadi 100 $\mu\text{g/mL}$. Larutan uji vit C dibuat dengan variasi konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 $\mu\text{g/mL}$. Setelah larutan uji dibuat, dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah dilapisi dengan alumunium foil setelah itu dicampurkan dengan 2 mL larutan DPPH 35 $\mu\text{g/mL}$ serta dibiarkan sepanjang waktu optimum 30 menit. Setelah selesai, campuran tersebut diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm.

Perubahan nilai absorbansi DPPH kontrol awal yang terjadi setelah pereaksian dengan ekstrak daun kelor infusa membagikan data tentang kekuatan infusa tersebut dalam meredam sifat radikal dari larutan DPPH. Besarnya kekuatan tersebut dihitung dengan memakai persamaan dibawah ini:

$$\% \text{ inhibisi DPPH} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100\%$$

Parameter universal untuk mengetahui kekuatan aktivitas antioksidan dari sesuatu ekstrak bahan merupakan nilai konsentrasi bahan yang digunakan untuk meredam sebesar 50% sifat radikal dari sesuatu zat ataupun diketahui dengan nama *inhibition concentration* (IC_{50}). Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi linier antara % inhibisi dengan konsentrasi penghambatan 50% terhadap radikal bebas atau nilai x setelah mengganti $y = 50$. Setelah didapatkan hasilnya maka dicocokkan dengan kriteria yang dibuat oleh Blois, dengan syarat kriteria sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50; kuat untuk IC_{50} bernilai 50-100; sedang jika IC_{50} bernilai 100-150; dan lemah bila IC_{50} yakni 151-200 (Salim and Eliyarti, 2019).

6. Uji aktivitas antioksidan metode FRAP

Ekstrak daun kelor ditimbang dengan seksama 5 mg, 15 mg, dan 25 mg. Tiap-tiap penimbangan dilarutkan dalam 5 mL etanol 96%, kemudian dipipet 1 mL, ditambahkan 1 mL dapar fosfat 0,2 M (pH 6.6) dan 1 mL $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1% setelah itu, diinkubasi selama 20 menit dengan temperatur 50°C. Setelah diinkubasi ditambahkan 1 mL TCA kemudian disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifuge dipipet 1 mL lapisan bagian atas ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan 1 mL akuades serta 0,5 mL FeCl_3 0,1%. Larutan didiamkan selama 10 menit serta diukur absorbansinya pada 720 nm.

Dibuat 3 ulangan dan sebagai blangko digunakan campuran larutan oksalat. Kurva kalibrasi dibuat menggunakan larutan asam askorbat dengan berbagai konsentrasi. Nilai FRAP dinyatakan dalam mg equivalen asam askorbat/g ekstrak (Maryam, Baits and Nadia, 2016).

Analisis Data

Analisis data untuk persamaan regresi linear menggunakan program Microsoft Excel. Data IC_{50} dianalisis dengan uji ANOVA dan untuk melihat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dengan uji Tukey menggunakan program SPSS 16.00.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tumbuhan kelor di determinasi dengan tujuan untuk memperoleh kebenaran identitas dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan sampel sebagai bahan utama penelitian. Determinasi dilakukan di Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Hasil identifikasi tumbuhan menyatakan bahwa sampel valid, dengan spesies *Moringa oleifera* Lam. dan famili *Moringaceae*.

Daun kelor dipilih dengan metode *purposive sampling*. Daun yang digunakan merupakan daun yang masih muda, berwarna hijau segar tanpa terdapatnya bercak kuning, bercak-bercak putih, tidak terdapat cacat atau kerusakan, tidak terdapat ranting, serta diambil pada pagi hari (Yuliani and Dienina, 2015; Salim and Eliyarti, 2019). Menurut (Yuliani and Dienina, 2015) daun kelor yang baik diambil pada pagi hari karena senyawa aktifnya besar. Penelitian (Pradana and Wulandari, 2019) ekstrak air daun kelor yang dipetik pagi hari mengandung flavonoid total sebesar 7,79 mg/g. Pemetikan daun kelor pada siang hari pada tumbuhan terutama daun telah mengalami proses fotosintesis yang mengakibatkan senyawa aktif yang bakal ditarik tidak maksimal. Daun kelor terpilih, dicuci dengan air mengalir untuk menyingkirkan kotoran yang melekat pada daun kelor dan ditiriskan hingga kering.

Ekstrak daun kelor diproses untuk mendapatkan ekstrak metode infusa dan pemerasan dengan pelarut air. Pemilihan metode infusa dan pemerasan berdasarkan pertimbangan alat yang digunakan sangat sederhana dan dapat diaplikasikan ke masyarakat jika ingin membuat suatu produk obat atau makanan yang ditambahkan ekstrak air. Pemilihan air sebagai pelarut karena air bersifat polar, murah, mudah diperoleh, stabil, tidak beracun, tidak mudah menguap, mudah terbakar, dan merupakan salah satu pelarut yang umum dilakukan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Kerugian penggunaan air adalah ekstrak mudah ditumbuhi kapang (Sa'adah and Nurhasnawati, 2017). Selain itu air merupakan pelarut yang disarankan untuk industri obat dan makanan dan tidak meninggalkan residu pada hasil ekstraksi sehingga produk yang dihasilkan aman untuk dikonsumsi. Hasil rendemen ekstraksi daun kelor metode infusa dan pemerasan adalah 46,7% dan 82,1%, hal ini sesuai dengan penelitian bahwa hasil ekstraksi dengan air lebih tinggi dibandingkan dengan etanol serta hasil ekstraksi tumbuhan juga dipengaruhi oleh metode dan pelarut yang digunakan (Truong *et al.*, 2019).

Fenol total dan flavonoid total

Penelitian ekstrak daun kelor infusa dan pemerasan ini mengandung senyawa fenol dan flavonoid. Berdasarkan penelitian terdahulu, uji kualitatif fenol memberikan warna hijau dengan menggunakan larutan $FeCl_3$. Fenol yang ada di dalam ekstrak akan bereaksi dengan larutan $FeCl_3$ membentuk warna, hijau, biru sampai dengan kehitaman. Sedangkan uji kualitatif flavonoid memberikan warna jingga atau merah atau kuning kecoklatan dengan menambahkan larutan Mg dan HCl. Dengan penambahan HCl akan terjadi reaksi oksidasi reduksi antara logam Mg sebagai pereduksi dengan senyawa flavonoid (Rachmawati and Suriawati, 2019).

Penelitian ekstrak daun kelor infusa dan pemerasan untuk penetapan kadar fenol ini menggunakan asam galat sebagai baku. Asam galat merupakan senyawa fenol alami turunan asam hidroksibenzoat. Asam tersebut akan bereaksi dengan Folin-Ciocalteu membentuk warna hijau kehitaman dalam suasana basa, yang artinya menandakan adanya fenol (Nuri *et al.*, 2020). Sedangkan penetapan kadar flavonoid total menggunakan kuersitin sebagai baku.

Gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang berdekatan dari golongan flavon atau flavonol akan bereaksi dengan AlCl_3 membentuk ikatan kompleks warna kuning (Fachriyah *et al.*, 2020).

Gambar 1. Kurva standar asam galat

Gambar 2. Kurva standar kuersetin

Kurva kalibrasi dengan persamaan regresi asam galat adalah $y = 0,0141x + 0,0028$ yang dapat dilihat pada **Gambar 1** dan kurva kalibrasi dengan persamaan regresi kuersetin adalah $y = 0,014x - 0,0027$ pada **Gambar 2**. Sedangkan nilai koefisien korelasi asam galat dan kuersetin adalah 0,9997 dan 1 yang menunjukkan persamaan regresi tersebut linear antara absorbansi dengan konsentrasi. Hal tersebut sesuai dengan hukum Lambert-Beer yang menunjukkan hubungan antara peningkatan kadar analit terhadap kenaikan absorbansi.

Tabel I. Kadar Fenol Total Ekstrak Daun Kelor Cara Infusa dan Pemerasan

Ekstrak daun kelor	Replikasi	Absorbansi (y)	Fenol total (mg GAE/g ekstrak)	Rerata kandungan fenol total (mgGAE/g ekstrak)	Rerata fenol total (%)	± SD
Infusa	1	0,70920	50,09929	50,10331	5,01033	0,005
	2	0,70924	50,10213			
	3	0,70933	50,10851			
Pemerasan	1	0,67351	47,56809	47,55012	4,75501	0,019
	2	0,67328	47,55177			
	3	0,67298	47,53050			

Tabel II. Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kelor Cara Infusa dan Pemerasan

Ekstrak	Replikasi	Absorbansi (y)	Flavonoid total (mg QE/g ekstrak)	Rerata kandungan flavonoid total (mg QE/g ekstrak)	Rerata-flavonoid total (%)	± SD
Infusa	1	0,50908	36,55571	36,56286	3,65629	0,026
	2	0,50958	36,59143			
	3	0,50888	36,54143			
Pemerasan	1	0,52573	37,74500	37,76643	3,77664	0,025
	2	0,52594	37,76000			
	3	0,52642	37,79429			

Tabel I memperlihatkan penetapan kadar fenol total ekstrak daun kelor infusa dan pemerasan, diperoleh hasil $50,10331 \pm 0,005$ mg GAE/g dan $47,55012 \pm 0,019$ mg GAE/g. Kadar flavonoid total ekstrak daun kelor infusa dan pemerasan diperoleh hasil $36,56286 \pm 0,026$ mg QE/g dan $37,76643 \pm 0,025$ mg QE/g dapat dilihat pada **Tabel II**. Penelitian tentang pengaruh purifikasi ekstrak etanol 96%, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap fenol total diperoleh hasil $28,94 \pm 0,54$ mg GAE/g; $29,44 \pm 0,93$ mg GAE/g; $11,41 \pm 0,12$ mg GAE/g dan flavonoid total sebesar $3,19 \pm 0,13\%$; $9,92 \pm 0,06\%$; $5,81 \pm 0,18\%$ (Herdi *et al.*, 2020). Perbedaan hasil penelitian dapat berupa spesies sampel, daerah pengambilan sampel, proses perawatan tumbuhan, prosedur analisis, dan cara ekstraksi (Guntarti *et al.*, 2021).

Aktivitas antioksidan metode DPPH dan FRAP

Pada penelitian ini pemilihan uji aktivitas antioksidan metode penangkapan radikal bebas DPPH dan FRAP berdasarkan mekanisme kerja dari antioksidan yaitu secara non enzimatis, dapat digunakan untuk sampel tumbuhan ataupun bahan pangan, dan menggunakan basis air. Selain itu metode uji aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH sangat efektif serta efisien, dan korelasi antara metode uji untuk standar asam galat, asam askorbat/vit C, kuersitin sangat tinggi ($R = 0,98$) khususnya metode DPPH dan FRAP (Maesaroh, Kurnia and Al Anshori, 2018). Selain itu kedua metode ini simpel, cepat, murah, dan reagen mudah disiapkan (Maryam, Baits and Nadia, 2016).

Pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH dan FRAP dari ekstrak daun kelor infusa dan pemerasan menggunakan pembanding ataupun bakunya adalah vit C. Aktivitas antiradikal dari suatu senyawa dengan metode DPPH dapat diperkirakan dengan cepat dan

efektif. Saat substansi yang dapat memberikan hidrogen radikal (sampel) dicampurkan dengan larutan DPPH maka akan menyebabkan bentuk tereduksi dengan ditandai perubahan warna violet menjadi kuning. Sedangkan metode FRAP berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} dari suatu bahan, kemampuan mereduksi suatu senyawa dapat dianalogikan dari kekuatan antioksidan suatu senyawa ditandai perubahan warna biru intensif oleh antioksidan pada suasana asam (Pridatama, Ilza and Edison, 2021).

Tabel III. Aktivitas Antioksidan Metode DPPH dan FRAP pada Ekstrak Daun Kelor

Metode	Baku dan Sampel	Persamaan linear	R	IC ₅₀ (ppm)	Klasifikasi antioksidan
DPPH	Vitamin C	$y = 2,995x + 31,09$	0,9895	$6,30 \pm 9,52^a$	Sangat kuat
	Infusa	$y = 4,092x + 33,15$	0,9598	$4,12 \pm 16,51^b$	Sangat kuat
	Pemerasan	$y = 0,92x + 25,96$	0,9465	$26,13 \pm 2,89^c$	Sangat kuat
FRAP	Vitamin C	$y = 0,56x - 2,92$	0,9588	$94,50 \pm 2,50^a$	Kuat
	Infusa	$y = 0,0047x - 2,36$	1	$11140,06 \pm 6,67^b$	Lemah
	Pemerasan	$y = 0,0023x + 0,48$	0,8784	$21529,00 \pm 7,15^c$	Lemah

Keterangan:

a,b,c = huruf yang berbeda pada kolom IC₅₀ menunjukkan terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

Nilai IC₅₀ larutan vit C, ekstrak daun kelor infusa serta pemerasan diperoleh dari persamaan regresi linear antara % inhibisi dengan konsentrasi. Pada persamaan regresi % inhibisi berbanding lurus dengan konsentrasi, yang artinya semakin banyak jumlah partikel larutan vit C dan ekstrak daun kelor infusa serta pemerasan yang bertindak sebagai antioksidan maka semakin berkurang sifat radikal dari larutan DPPH dan Fe^{3+} . **Tabel III** memperlihatkan hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun kelor infusa dan pemerasan menggunakan metode DPPH dan FRAP secara statistik berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan vitamin C. Hasil penelitian dengan metode DPPH menunjukkan aktivitas antioksidan tergolong sangat kuat karena IC₅₀ kurang dari 50 ppm, sedangkan dengan metode FRAP menunjukkan aktivitas antioksidan tergolong lemah karena IC₅₀ lebih dari 150 ppm. Penelitian tentang karakteristik aktivitas antioksidan dari infusa daun kelor daun hijau muda sebesar 181, 45 $\mu\text{g/mL}$ dan tergolong sedang (Salim and Eliyarti, 2019), ekstrak daun kelor metode dekok sebesar 57,5439 ppm dan tergolong kuat (Rizkayanti, Diah and Jura, 2017). Sedangkan nilai IC₅₀ larutan vit C, dengan metode FRAP mempunyai aktivitas antioksidan tergolong kuat dan ekstrak daun kelor infusa serta pemerasan mempunyai aktivitas antioksidan tergolong lemah. Artinya ekstrak daun kelor infusa dan pemerasan memiliki kemampuan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} yang sangat lemah. Menurut (Rizkayanti, Diah and Jura, 2017) hal ini dapat terjadi karena proses preparasi yang belum sempurna, deret konsentrasi kurang, dan terdapatnya pengotor pada peralatan yang digunakan.

Diprediksi kuatnya aktivitas antioksidan pada ekstrak air daun kelor didukung oleh senyawa fenol dan flavonoid. Fenol dan flavonoid merupakan salah satu senyawa yang bersifat sebagai antioksidan karena memiliki gugus $-\text{OH}$ yang berikatan dengan cincin aromatik. Atom hidrogen dari hidroksi pada senyawa radikal berperan sebagai pendonor hidrogen, sehingga senyawa radikal dapat bersifat lebih stabil. Jumlah atom hidrogen yang banyak pada sesuatu senyawa dapat mempengaruhi kemampuan untuk meredakan senyawa radikal bebas. Perihal ini diperkuat oleh beberapa penelitian seperti ekstraksi etanol daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia*) sebagai antioksidan dan antilipase dengan tingginya kadar fenol dan flavonoid (Nuri *et al.*, 2020) dan ekstraksi etanol kulit batang kelor sebagai antioksidan (Haeria, Tahar and Munadiah, 2018).

KESIMPULAN

Ekstrak daun kelor infusa dan pemerasan dengan metode DPPH memiliki aktivitas antioksidan kuat dan metode FRAP memiliki aktivitas antioksidan lemah. Hal ini didukung dengan kadar fenol total dan flavonoid total yang terkandung di dalam ekstrak daun kelor, sehingga ekstrak daun kelor tersebut dapat diaplikasikan lebih lanjut sebagai sediaan obat dan makanan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Direktur Poltekkes Kemenkes Jakarta II yang telah memberikan pendanaan untuk Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT) Tahun Anggaran 2021, Hafizh Baihaqi, dan Civitas Jurusan Analisis Farmasi dan Makanan yang telah bekerjasama untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Dhakad, A. K. *et al.* (2019) 'Biological, Nutritional, and Therapeutic Significance of *Moringa oleifera* Lam', *Phytotherapy Research*, 33(11), pp. 2870–2903.
- Djamil, A. M. (2017) *Potensi Minuman Serbuk Daun Kelor (Moringa oleifera) Sebagai Sumber Antioksidan*. Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta.
- Fachriyah, E. *et al.* (2020) 'Phytochemical Test, Determination of Total Phenol, Total Flavonoids and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* Lam)', *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 23(8), pp. 290–294.
- Guntarti, A. *et al.* (2021) 'Determination of Total Phenolic Levels in Ethanol Extract of Moringa (*Moringa oleifera* L.) Leaves Based on Differences in Growing Sites', *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 9(1), pp. 403–411.
- Haeria, Tahar, N. and Munadiah (2018) 'Penentuan Kadar Flavonoid Dan Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L.) Dengan Metode DPPH, CUPRAC Dan FRAP', *JF FIK UINAM*, 6(2), pp. 88–97.
- Herdi, B. *et al.* (2020) 'Pengaruh Purifikasi terhadap Profil Organoleptis, Rendemen, Total Fenol dan Total Flavonoid dari Ekstrak Etanol 96 % Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)', *Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(2), pp. 188–198.
- Maesaroh, K., Kurnia, D. and Al Anshori, J. (2018) 'Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin', *Chimica et Natura Acta*, 6(2), pp. 93–100.
- Maryam, S., Baits, M. and Nadia, A. (2016) 'Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Menggunakan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), pp. 115–118. doi: 10.33096/jffi.v2i2.181.
- Ni Nyoman Yuliani, D. P. D. (2015) 'Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor dengan Metode 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)', *Jurnal Info Kesehatan*, 14(2), pp. 1060–1082.
- Nuri, N. *et al.* (2020) 'Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Kadar Fenol dan Flavonoid Total, Aktivitas Antioksidan serta Antilipase Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia*)', *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 7(2), p. 143. doi: 10.25077/jsfk.7.2.143-150.2020.
- Pradana, D. L. C. and Wulandari, A. A. (2019) 'Uji Total Flavonoid dari Ekstrak Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dan Secang (*Caesalpinia sappan* L.)', *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 2(2), pp. 272–278. doi: 10.36387/jifi.v2i2.407.
- Pridatama, Y., Ilza, M. and Edison (2021) 'Studi Komparatif Metode DPPH dan FRAP Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Telur Keong Mas (*Pomaceae cannaliculata*)'.
- Purba, E. C. (2020) 'Kelor (*Moringa oleifera* Lam.): Pemanfaatan Dan Bioaktivitas', *Pro-Life*, 7(1), pp. 1–12.
- Rachmawati, S. R. and Suriawati, J. (2019) 'Characterization Of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) Leaf Water Extracts By Chemical And Microbiology', *SANITAS: Jurnal Teknologi Dan Seni Kesehatan*, 10(2), pp. 102–116. Available at: <https://sanitas.e-journal.id/index.php/SANITAS/article/view/20191201-rachmawati/20191201-102-116>.

- Rizkayanti, R., Diah, A. W. M. and Jura, M. R. (2017) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* LAM)', *Jurnal Akademika Kimia*, 6(2), pp. 125–131.
- Sa'adah, H. and Nurhasnawati, H. (2017) 'Perbandingan Pelarut Etanol dan Air pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) Menggunakan Metode maserasi', *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), pp. 149–153.
- Salim, R. and Eliyarti, E. (2019) 'Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Terhadap Warna Daun', *Jurnal Katalisator*, 4(2), pp. 91–102. Available at: <https://ejournal.lldikti10.id/index.php/katalisator/article/view/4210>.
- Saputra, A., Arfi, F. and Yulian, M. (2020) 'Literature Review: Analisis fitokimia dan Manfaat Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*)', *Amina*, 2(3), pp. 114–119. Available at: <https://journal.ar-raniry.ac.id/index.php/amina/article/view/1220>.
- Syamra, A., Indrawati, A. and Warsyidah, A. A. (2018) 'Pemberian Rebusan Daun Kelor Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Pasien Penderita Diabetes Melitus (DM)', 8(2), pp. 50–55.
- Truong, D. H. *et al.* (2019) 'Evaluation of The Use of Different Solvents for Phytochemical Constituents, Antioxidants, and In Vitro Anti-Inflammatory Activities of *Severinia Buxifolia*', *Journal of Food Quality*, 2019, pp. 1–9.
- Yanti, E. and Nofia, V. R. (2019) 'Pengaruh Pemberian Rebusan Daun Kelor (*Moringa olifera*) Terhadap Tekanan Darah pada Penderita Hipertensi', *Jik : Jurnal Ilmu Kesehatan*, 3(1), pp. 24–29. doi: 10.33757/jik.v3i1.164.
- Yuliani, N. N. and Dienina2, D. P. (2015) 'Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lamk) dengan Metode 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)', *Jurnal Info Kesehatan*, 14, pp. 1060–1082.