**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KANDUNGAN TOTAL FENOLIK**

**EKSTRAK DAUN KELOR (MORINGA OLEIFERA LAM).**

**Shintia Susanti Toripah, Jemmy Abidjulu, Frenly Wehantouw**

Program Studi Farmasi Fakultas MIPA UNSRAT Manado

**ABSTRACT**

*Moringa lam olifera* is a herbaceous plant that consist of phytochemicals such as flavonoids, saponins cytokinins, acid-caffeolylquinat and contain unsaturated fatty acids such as linoleic (omega 6) and alfalinolenat (omega 3). The purpose of this study was to examine antioxidant activity and determine total phenolic content of Moringa leaf extracts of Moringa Lam Oliefera. Extraction was done by solvent fractionation with methanol, chloroform and ethyl acetate. Testing of antioxidant activity was done by DPPH method (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) using spectrophotometer at wavelength 517 nm. Total phenolic content test was conducted using Folin, ciocateau metnod, shows that IC50  value of ethyl acetate fraction was 117.19 ppm, chloroform-methanol was 189.09 ppm, 286.75 ppm chloroform and methanol at 111.7 ppm. Total Phenolic content of Moringa leaves methanol fraction was 126.52 mg / kg equivalents of gallic acid.

Key words : *Moringa olifera* Lam, Total phenolics, antioxidant, DPPH.

**ABSTRAK**

Kelor (*Moringa oliefera* Lam) merupakan tanaman perdu yang mengandung flavonoid, saponin sitokinin, asam-*caffeolylquinat* dan mengandung asam lemak tak jenuh seperti linoleat (omega 6) dan alfalinolenat (omega 3). Tujuan penelitian yaitu menguji aktivitas antioksidan dan menentukan kandungan total fenolik dari ekstrak daun kelor *Moringa Oliefera* Lam. Ekstraksi dilakukan dengan cara fraksinasi menggunakan pelarut metanol, kloroform dan etil asetat. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yang diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Uji fitokimia total fenolik dilakukan menggunakan metode folin Ciocalteav. Berdasarkan hasil yang diperoleh, nilai IC50 fraksi etil asetat sebesar 117,19 ppm, kloroform-metanol sebesar 189,09 ppm, kloroform sebesar 286,75 ppm dan metanol 111,7 ppm. Kandungan total fenolik dari fraksi metanol daun kelor sebesar 126,52 mg/kg ekivalen asam galat

Kata kunci : Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam), Total Fenolik, antioksidan, DPPH.

**PENDAHULUAN**

 Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan di kulit terluarnya (Winarsi, 2007). Radikal bebas terbentuk pada saat molekul yang kehilangan elektron menjadi tidak stabil. Radikal bebas juga merupakan produk alamiah hasil metabolisme sel.

 Tubuh memiliki sistem pertahanan alami untuk menetralisir radikal bebas agar tidak berkembang dan menjadi berbahaya bagi tubuh. Pengaruh lingkungan dan kebiasaan buruk seperti radiasi ultraviolet, polusi, kebiasaan mengonsumsi “junk food” dan merokok, dapat membuat sistem pertahanan tubuh tidak mampu menghadapi radikal bebas yang berjumlah besar. Adanya radikal bebas didalam tubuh manusia berperan dalam patologi dari berbagai penyakit degeneratif yakni kanker, aterosklerosis, rematik, jantung koroner, katarak, dan penyakit degenerasi saraf seperti perkinson (Silalahi, 2006). Radikal bebas dapat ditangkal atau diredam dengan pemberian antioksidan atau dengan mengkonsumsi antioksidan (Halliwel, 2007).

 Menurut Cockell dan Knowland (1999) Efek radikal bebas dapat menyebabkan peradangan dan penuaan serta memacu zat karsinogenik yang menyebabkan kanker. Untuk menetralisir radikal bebas, tubuh membutuhkan antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredam dampak negatifnya. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang sangat berguna bagi kesehatan manusia. Senyawa antioksidan dapat menginaktifasi bekembangnya reaksi oksidasi sehingga sering digunakan sebagai radikal bebas (Winarsi,2007).

 Ada banyak bahan pangan yang dapat menjadi sumber antioksidan alami, misalnya rempah- rempah, teh, coklat, biji-biji serelia, sayur- sayuran, enzim dan protein. Kebanyakan sumber antioksidan alami ialah tumbuhan dan umumnya merupakan senyawa fenolik yang tersebar di seluruh bagian tumbuhan (Sarastani dkk., 2002). Senyawa fenolik atau polifenolik antara lain dapat berupa golongan flavonoid. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan telah banyak diteliti belakangan tahun ini, dimana flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Giorgio, 2000).

 Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai tumbuhan obat ialah kelor, Tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam) telah dikenal selama berabad-abad sebagai tanaman multiguna padat nutrisi dan berkhasiat obat. Kelor dikenal sebagai *The Miracle Tree* atau pohon ajaib karena terbukti secara alamiah merupakan sumber gizi berkhasiat obat yang kandungannya di luar kebiasaan kandungan tanaman pada umumnya.

 Kelor diketahui mengandung lebih dari 90 jenis nutrisi berupa vitamin esensial, mineral, asam amino, antipenuaan, dan antiinflamasi. Kelor mangandung 539 senyawa yang dikenal dalam pengobatan tradisional afrika dan india serta telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mencagah lebih dari 300 penyakit, berbagai bagian dari tanaman kelor bertindak sebagai stimulan jantung dan peredaran darah, memiliki antitumor, antipiretik, antiepilepsi, antiinflamasi, antiulcer, diuretik, antihipertensi, menurunkan kolesterol, antioksidan, antidiabetik, antibakteri dan antijamur.

**METODOLOGI PENELITIAN**

**Alat**

 Alat yang digunakan yaitu sudip, blender, timbangan analitik, kertas saring Whatman No. 42, spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800, spatula, tabung reaksi (*pyrex*), erlenmeyer (*pyrex*), labu ukur, mikropipet, corong pisah, pipet tetes, *evaporator, waterbath, vortex, beaker glass, hot plate,* rak tabung.

**Bahan**

 Sampel yang digunakan pada penelitian yaitu daun kelor yang berasal disekitar kota Manado. Bahan kimia yang digunakan yaitu Metanol, Kloroform, Etil asetat, larutan natrium karbonat 2%, reagen Folin-Ciocalteu 50%, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yang diperoleh dari Merck Darnstad Germany.

**Prosedur Kerja**

1. **Determinasi tanaman**

 Identifikasi Tanaman dilakukan di laboratorium Taksonomi Tumbuhan Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi, Manado, Dengan nama tanaman *Moringa oleifera* Lam

1. **Persiapan Sampel**

 Daun dibersihkan dari kotoran yang menempel dengan air yang mengalir sampai benar-benar bersih. Kemudian daun dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dalam suhu kamar sampai benar-benar kering. Setelah kering daun kelor dihaluskan menjadi serbuk dengan menggunakan blender, dan kemudian di ayak, agar sampel dapat dipastikan sudah benar-benar halus.

1. **Ekstraksi dan Fraksinasi** (Harbone,1987)

Sampel yang telah halus ditimbang sebanyak 50 gram dan direndam dengan metanol dengan perbandingan (4:1). Hasil rendaman disaring untuk memisahkan filtrat dan residunya, sehingga diperoleh filtrat metanol.

Debris diangin-anginkan agar terbebas dari metanol. Debris kering direndam dengan etil asetat. Hasil rendaman disaring untuk memisahkan filtrat dan debrisnya. Filtrat dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi etil asetat.

Filtrat metanol diasamkan dengan penambahan beberapa tetes asam sulfat hingga pH larutan 4. Kemudian diekstraksi dengan menambahkan kloroform. sehingga didapatkan ekstrak kloroform dan lapisan air-asam. Ekstrak kloroform dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator*, sehingga diperoleh fraksi kloroform.

Lapisan air-asam ditambahkan beberapa tetes amoniak hingga pH larutan 10. Kemudian diekstraksi dengan kloroform-metanol dengan perbandingan 3:1 sehingga diperoleh ekstrak kloroform-metanol dan lapisan air-basa. Ekstrak kloroform dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator*, sehingga diperoleh fraksi kloroform-metanol.

Lapisan air-basa diekstraksi dengan metanol, Sehingga didapatkan ekstrak metanol kemudian dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator*, sehingga diperoleh fraksi metanol.

1. **Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan DPPH**

 Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas menurut Burda dan Olezek (2001). Sebanyak 1 mL ekstrak dengan konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm masing-masing ditambahkan 2 mL larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 93 µM dalam etanol dan divorteks selama 2 menit. Berubahnya warna larutan dari ungu ke kuning menunjukan efisiensi penangkal radikal bebas. Selanjutnya pada 5 menit terakhir menjelang 30 menit inkubasi, absorbansi diukur pada λ 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas penangkal radikal bebas dihitung sebagai presentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan :

Aktivitas penangkal radikal bebas (%) = $1-\frac{Absorbansi sampel}{Absorbansi control}x 100\%$ ......persamaan 1

1. **Penentuan Nilai IC50**

 Nilai IC50 merupakan konsentrasi dimana ekstrak dapat menangkap radikal bebas sebesar 50% yang diperoleh dengan memakai persamaan regresi linear y = a + bx. Grafik dibuat dengan konsentrasi sampel uji (ppm) sebagai absis (sumbu x) terhadap persen inhibisi sebagai ordinat (sumbu y). Menurut Blois (2005) suatu senyawa memiliki antioksidan yang sangat kuat bila nilai IC50 < 50 ppm, kuat bila nilai IC50 bernilai 50-100 ppm, sedang bila nilai IC50 bernilai 100-150 ppm, dan lemah bila nilai IC50 bernilai 151-200 ppm.

1. **Penentuan Kandungan Total Fenolik**

Kandungan total fenolik ekstrak daun kelor *Moringa oleifera* Lam ditentukan menggunakan metode Folin Ciocalteu (Conde *et al*., 1997). Sebanyak 0,1 mL larutan ekstrak dengan konsentrasi 10, 50, 100, 150 dan 200 ppm dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan masing- masing 0,1 reagen Folin Ciocalteu 50%, campuran tersebut divortex, lalu ditambahkan 2 mL larutan natrium karbonat 2%. Selanjutnya campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit, kemudian Absorbansinya dibaca pada 750 nm.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Aktivitas Penangkal Radikal Bebas DPPH**

 Aktivitas penangkal radikal bebas dari daun kelor dapat diketahui melalui perubahan warna yang terjadi, yaitu dari warna ungu menjadi kuning. Pada penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH ini memakai metode Burda dan Olezek (2001) yang sedikit dimodifikasi. Metode DPPH sebagai pengukur kemampuan suatu senyawa antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Kemampuan penangkapan radikal berhubungan dengan kemampuan komponen senyawa dalam menyumbangkan elektron atau hidrogen. Setiap molekul yang dapat menyumbangkan elektron atau hidrogen akan bereaksi dan akan memudarkan DPPH. Konsentrasi DPPH pada akhir reaksi tergantung pada konsentrasi awal dan struktur komponen senyawa penangkal radikal (Naik *et al*., 2003). Senyawa yang aktif sebagai antioksidan mereduksi radikal bebas DPPH menjadi senyawa *diphenil picryl hydrazine* (Amic *et al*., 2003). Aktivitas penangkal radikal bebas kemudian dihitung sebagai presentase berkurangnya warna DPPH.

 Prinsip metode penangkapan radikal ialah pengukuran penangkapan radikal bebas dalam pelarut organik polar seperti etanol atau metanol pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan (Pokorny, 2001). Proses penangkapan radikal ini melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas (Pire, 1988) sehingga radikal bebas menangkap satu elektron dari antioksidan. Radikal bebas yang digunakan yakni DPPH. Senyawa DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron (Pokorny, 2001).

 Masing-masing ekstrak daun kelor dibuat larutan induk 200 ppm, dari larutan induk tersebut tiap ekstrak dilakukan pengenceran dengan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm. Dari masing-masing larutan uji dengan konsentrasi tesebut, diambil 1ml lalu ditambahkan 2 ml larutan DPPH. Campuran tersebut di homogenkan, lalu diinkubasi selama 30 menit di ruang gelap. Hal ini dilakukan untuk mengoptimumkan aktuvitas DPPH agar terjadi reaksi antara DPPH dengan sampel yang diuji (Hatano *et al*., 1998). Senyawa yang bereaksi sebagai penangkal radikal akan mereduksi DPPH yang dapat diamati dengan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkal radikal bebas yang akan membentuk DPPH-H tereduksi (Molyneux, 2004). Semakin banyak atom H dari antioksidan yang didonorkan pada DPPH maka semakin banyak radikal antioksidan yang terbentuk (Suryanto, 2012)

 Setelah inkubasi, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Semakin besar konsetrasi sampel maka semakin banyak elektron yang didonorkan untuk merendam radikal bebas, dalam hal ini DPPH, sehingga absorbansinya yang diberikan pun semakin menurun.

 Dari hasil pengukuran diperoleh absorbansi yang dapat di lihat di lampiran 4,dapat di lihat pada pelarut metanol memiliki aktivitas paling tinggi pada 200 ppm yaitu 71,86, kemudian etil asetat 15,58, kloroform metanol 52,09 dan kloroform 38,68, kemudian dibuat persamaan regresi linear. Parameter yang dipakai untuk menunjukan aktivitas antioksidan adalah *inhibition Concentration* (IC50) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan persen penghambatan 50% (Suryanto, 2012). Dari persamaan linear tersebut dapat ditentukan nilai IC50, untuk mendapatkan nilai IC50.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **No.** | **Sampel** | **Persamaan Regresi** | **R2** | **IC50 ppm** |
| 1 | Metanol  | Y= 0,299x + 16,58 | 0,974 | 111,7 ppm |
| 2 | Etil asetat | Y=0,035x+ 8,981 | 0,937 | 117,19 ppm |
| 3 | Kloroform - metanol | Y= 0,199x + 12,37 | 0,989 | 189,09 ppm |
| 4 | Kloroform | Y= 0,125x + 14,16 | 0,676 | 286,75 ppm |

 Berdasarkan hasil perhitungan IC50 menunjukan bahwa ekstrak metanol dibutuhkan konsentrasi 111,7 ppm untuk menangkal radikal bebas 50%, kemudian pada etil asetat dibutuhkan konsentrasi 117,19 ppm untuk menangkal radikal bebas 50%, sedangkan pada kloroform-metanol dibutuhkan konsentrasi 189,09 ppm dan pada kloroform dibutuhkan konsentrasi 286,75 ppm untuk menangkal radikal bebas 50%.

 Menurut Blois (2005) suatu senyawa memiliki antioksidan yang sangat kuat bila nilai IC50 < 50 ppm, kuat bila nilai IC50 bernilai 50-100 ppm, sedang bila nilai IC50 bernilai 100-150 ppm, dan lemah bila nilai IC50 bernilai 151-200 ppm. Berdasarkan hasil penelitian menunjukan bahwa pada metanol dan etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang cukup baik.

 Antioksidan tidak hanya berperan dalam industri makanan, mengurangi kerusakan makanan yang mengandung lipida, tetapi antioksidan juga merupakan penangkal bebas sekaligus pelindung kulit karena antioksidan membatasi dan memperbaiki kerusakan sel kulit yang terjadi sebagai akibat dari paparan sinar ultraviolet, juga faktor-faktor eksternal lain yang bisa merusak kulit, misalnya nikotin dan alkohol. Salah satu efek yang paling terlihat dari antioksidan adalah kemampuannya dalam merangsang produksi kolagen yang merupakan bagian penting dari struktur dan proses peremajaan kulit (Jadhav *et al.,* 1996)

**Penentuan Kandungan total Fenolik**

 Berdasarkan pengujian dapat dilihat ekstrak metanol daun kelor dengan pelarut metanol konsentrasi 200 ppm memiliki kandungan fenolik rata – rata yang paling tinggi sebesar 126,52 kemudian pada pelarut etanol konsentrasi 150 ppm mempunyai perbedaan yang jauh dengan konsentrasi 200 ppm yaitu 57,95, diikuti dengan pelarut etanol konsentrasi 100 ppm yaitu 26,12, kemudian pada pelarut metanol dengan konsentrasi 50 ppm sebesar 16,52, dan yang terakhir pada pelarut metanol dengan konsentrasi 10 ppm yang mempunyai kandungan lebih sedikit dibandingkan konsentrasi 200, 150, 100 dan 50 ppm yaitu 4,28

.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | Sampel | Kandungan total fenolik  |
| 1 | 10 ppm | 4,28 |
| 2 | 50 ppm | 16,52 |
| 3 | 100 ppm | 26,12 |
| 4 | 150 ppm | 57,95 |
| 5 | 200 ppm | 126,52 |

 Ekstrak daun kelor mengalami perubahan warna dari kuning menjadi biru pada saat direaksikan antara reagen Folin-Ciocaltcu Nely (2007) menyatakan, penambahan Na2 CO3 pada uji fenolik bertujuan untuk membentuk suasana basa agar terjadi reaksi reduksi Folin-Ciocaltcu oleh gugus hidroksil dari fenolik di dalam sampel ekstrak. Maka dapat dilihat semakin besar intensitas warna biru maka semakin besar juga kandungan fenolik yang terdapat pada sampel.

 Berdasarkan hasil pengukuran, kadar total fenol dapat dilihat pada Tabel 3. Pengujian total fenolik merupakan dasar dilakukannya pengujian aktivitas antioksidan, karena diketahui bahwa senyawa fenolik berperan dalam mencegah terjadinya peristiwa oksidasi. Pengukuran total antioksidan bahan pangan asal tanaman dapat dilakukan dengan mengukur kadar total fenolik menggunakan reagen *Folin-ciocalteau*. Hal ini disebabkan karena sebagian besar antioksidan dalam bahan asal tanaman merupakan senyawa polifenol.

 Menurut Shahidi dan Marian (1995) pengujian total fenol bertujuan untuk menentukan total senyawa fenolik yang terkandung di dalam sampel, sehingga diduga bila kandungan senyawa fenolik di dalam sampel tinggi maka aktivitas antioksidannya akan tinggi. Diduga dengan adanya peningkatan total fenol maka terdapat aktivitas antioksidan yang berlangsung. Kandungan total fenol dapat dihasilkan dari sejumlah molekul sederhana yaitu senyawa fenolik, sampai dengan molekul yang kompleks (Stevi. dkk., 2012). Hal ini menunjukkan adanya senyawa – senyawa fenolik pada ekstrak daun kelor.

**KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian Uji aktivitas antioksidan dan fitokimia dari ekstrak daun kelor *Moringa oleifera* Lam maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Fraksi etil asetat, kloroform, kloroform-metanol dan metanol memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 pada fraksi metanol 111,7 ppm, etil asetat 117,19 ppm, kloroform-metanol 189,09 ppm dan kloroform 286,75 ppm.
2. Kandungan fenolik dari fraksi metanol daun kelor sebesar 126,52 mg/kg ekivalen asam gala**t.**

**DAFTAR ISI**

Giorgio. P., (2000), Flavonoid an Antioxidant. *Journal National Product*. 63. 1035-1045.

Halliwel B. 2007. *Dietary polyphenols: good, bad, or indifferent for your health.* J. Cardiovascular Research 73:341-347.

Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. ITB, Bandung

Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., *dkk* 1996. Lipid Oxidation in Biological and Food System. Dalam D.L Madhavi, S.S. Deshpandeand D.K Salunkhe (eds.) *Food Antioksidan Technological, Toxicological*

Stevi G. Dungira., Dewa G. Katja., Vanda S. Kamu. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik Dari Buah Manggis ( Garcinia mongostana L). Jurnal MIPA ONLINE 1 (1) 11 – 15 . UNSRAT Manado.

Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan.* Putra Media Nusantara. Surabaya

Winarsi H.M.S. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas.* Kansius : Yogyakarta