

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK AIR, ETANOL 70% DAN ETIL ASETAT DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L) DENGAN METODE DPPH

Aulia Atiqah, Nita Fajaryanti*, Melani Dewi

Program Studi DIII Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Kendal, Jln Laut 31 Kendal, Jawa Tengah 51311, Indonesia

*nitafajaryanti@gmail.com

ABSTRAK

Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) mengandung senyawa flavonoid, antosianin dan fenolik, yang berperan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan antioksidan ekstrak air, etanol 70% dan etil asetat daun kelor. Penelitian menggunakan sampel daun kelor dan desain penelitian yang digunakan adalah post test only control group design. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dan dekok. Masing-masing ekstrak dilakukan replikasi 5x berbagai konsentrasi (100 μ L, 300 μ L, 500 μ L, 700 μ L, 900 μ L). Pengukuran nilai % inhibisi dilakukan pada panjang gelombang 515nm. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ditandai perubahan warna dari ungu menjadi kuning pucat. Hasilnya dinyatakan dengan nilai Inhibition Concentration 50 (IC50). Dilakukan analisis regresi linier antara konsentrasi ekstrak air, etanol 70% dan etil asetat (sumbu x) dengan % inhibisi (sumbu y) untuk mencari nilai IC50. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rata-rata IC50 ekstrak air sebesar 32,634 mg/ml, ekstrak etanol 70% sebesar 26,764 mg/ml dan ekstrak etil asetat sebesar 23,242 mg/ml. Ketiganya memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena mempunyai nilai IC50 < 50 μ g/ml. Tetapi ketiganya tidak ada perbedaan yang signifikan berdasarkan nilai IC50.

Kata kunci: antioksidan; DPPH; *moringa oleifera* L

COMPARISON OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EXTRACTS WATER, ETHANOL 70% AND ETHYL ACETATE OF (*Moringa oleifera* L) WITH DPPH METHOD

ABSTRACT

Moringa leaves (Moringa oleifera L) contain flavonoid, anthocyanin and phenolic compounds, which act as antioxidants. This study aims to determine the ratio of antioxidant water extract, 70% ethanol and ethyl acetate of Moringa leaves. The study used a sample of Moringa leaves and the research design used was a post test only control group design. Extraction was carried out using maceration and decoction methods. Each extract was replicated 5 times at various concentrations (100 μ L, 300 μ L, 500 μ L, 700 μ L, 900 μ L). The % inhibition value was measured at a wavelength of 515 nm. The antioxidant activity test using the radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) was characterized by a color change from purple to pale yellow. The result is expressed by the value of Inhibition Concentration 50 (IC50). A linear regression analysis was performed between the concentration of aqueous extract, 70% ethanol and ethyl acetate (x-axis) with % inhibition (y-axis) to find the IC50 value. The results showed that the average IC50 value of aqueous extract was 32,634 mg/ml, 70% ethanol extract was 26,764 mg/ml and ethyl acetate extract was 23,242 mg/ml. All three have very strong antioxidant activity because they have an IC50 value of < 50 g/ml. But the three there is no significant difference based on the IC50 value.

Keywords: antioxidant; DPPH; *moringa oleifera* L

PENDAHULUAN

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah tanaman kelor (*Moringa oleifera* L), termasuk tanaman herbal yang tumbuh di Indonesia, merupakan sumber daya alam yang sering digunakan bagi kesehatan. Tanaman herbal digunakan untuk mengobati penyakit dan meningkatkan kesehatan tubuh. Ekstrak tanaman herbal kelor yang mengandung berbagai *phytochemical* seperti alkaloid, flavonoid, steroid, glikosida dan lain-lain dapat digunakan sebagai antimikroba, antioksidan, antikanker, antidiabetes dan manfaat lainnya. Kelor tidak beracun dan ramah lingkungan, di Indonesia tanaman kelor dikenal sebagai jenis tanaman sayuran yang sudah dibudidayakan (Berawi, dkk., 2019). Semua bagian tanaman dari kelor baik biji, daun, bunga, akar dan korteks memiliki nilai sebagai obat, namun daun lebih banyak digunakan. Tingginya aktivitas antioksidan pada daun kelor karena adanya kandungan senyawa polifenol dan flavonoid (Asisi, dkk., 2021)

Tanaman kelor disebut pohon ajaib karena setiap bagian dari tanaman ini berguna, memiliki nilai gizi tinggi, dan memiliki banyak khasiat obat yang dapat digunakan dalam mengobati atau mengelola berbagai penyakit. Tanaman kelor merupakan tanaman yang dapat dikonsumsi sebagai sayuran, minuman dan obat. Berbagai macam potensi nutrisi dan obat telah dikaitkan dengan akarnya, kulit kayu, daun, bunga, buahbuahan dan biji-bijian. Tanaman kelor telah digunakan untuk pengobatan tradisional seperti antihipertensi, antioksidan, antimikroba, antibakteri, antispasmodik, antijamur, antiinflamasi, anti-TB, analgesik, antidiabetes, diuretik, menurunkan kolesterol, dan sifat hepatoprotektif. Selain itu dapat menunjukkan efek hipolipidemik, antiaterosklerotik dan meningkatkan kekebalan tubuh (Berawi, dkk.,2019).

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dan sangat reaktif sehingga untuk menjadi stabil cenderung akan mengambil elektron dari molekul yang menimbulkan tidak normalnya molekul dan dapat merusak jaringan. Diperlukan senyawa yang dapat meredam efek negatif dari radikal bebas yaitu antioksidan. Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan berbagai macam metode seperti DPPH, FRAP, dan lain lain. Metode DPPH merupakan metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel dengan melihat kemampuannya dalam menangkal radikal bebas senyawa 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. Metode DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan metanol DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Terdapat beberapa keunggulan dalam uji antioksidan menggunakan metode DPPH di antaranya metode analisis sederhana, cepat, mudah serta sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil. Selain itu, metode ini lebih mudah diterapkan karena senyawa radikal yang digunakan bersifat lebih stabil dibandingkan dengan metode lainnya (Laksono, dkk., 2023). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak air, etanol 70% dan etil asetat daun kelor (*moringa oleifera* L) dengan metode DPPH.

METODE

Alat

Neraca analitik, beaker glass, batang pengaduk, labu ukur, gelas ukur, kertas saring, corong kaca, tabung reaksi, *spektrofotometer uv-vis*, spuit, kantong plastik hitam, cawan, tisu, blender, kuvet, waterbath.

Bahan

Daun kelor, air, etanol 70%, etil asetat, reagen DPPH.

Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Air Daun Kelor

1. Serbuk daun ditimbang 50 gram (replikasi 5x) masukan dalam beaker glass
2. Ditambahkan larutan penyari 375 ml air, dipanaskan sampai mendidih dan mencapai suhu 100°C
3. Hasil ekstrak yang didapat disaring dengan menggunakan kertas saring *whatman*
4. Dilakukan pengenceran ekstrak dengan mengambil sebanyak 0,5 ml ekstrak, dimasukkan ke dalam vial 10 ml dan ditambah dengan metanol sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Etanol 70% Daun Kelor

1. Serbuk daun kelor ditimbang sebanyak 50 gram (replikasi 5x) masukan dalam beaker glass
2. Ditambahkan larutan penyari 375 ml etanol 70% dan tutup dengan kantong plastik. Dimaserasi selama 5 hari sambil diaduk setiap harinya.
3. Hasil ekstrak yang didapat disaring dengan menggunakan kertas saring *whatman*.
4. Fitrat yang sudah diperoleh dipisahkan diatas waterbath pada suhu 70°C hingga diperoleh ekstrak pekat dan kental.
5. Dilakukan pengenceran ekstrak dengan mengambil sebanyak 0,5ml ekstrak, dimasukkan ke dalam vial 10 ml dan ditambahkan dengan metanol sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Etil Asetat Daun Kelor

1. Serbuk daun kelor ditimbang sebanyak 50 gram (replikasi 5x) masukan dalam beaker glass
2. Tambahkan larutan penyari 375 ml etil asetat dan tutup dengan kantong plastik. Dimaserasi selama 5 hari sambil diaduk setiap harinya.
3. Hasil ekstrak yang didapat disaring dengan menggunakan kertas saring whatman.
4. Fitrat yang sudah diperoleh dipekatkan diatas waterbath pada suhu 70°C hingga diperoleh ekstrak pekat dan kental.
5. Dilakukan pengenceran ekstrak dengan mengambil sebanyak 0,5ml ekstrak, dimasukkan ke dalam vial 10 ml dan ditambahkan dengan metanol sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan DPPH

1. Ditimbang sebanyak 5,6 mg DPPH dimasukkan ke dalam labu ukur 250 ml.
2. Ditambahkan dengan metanol sampai tanda batas (larutan DPPH konsentrasi 56,8 μM).

Pembuatan Larutan Uji

1. Masing- masing larutan sampel digojog selama 30 detik dan didiamkan selama 15 menit
2. Dipipet carian metanolik (bagian atas) dari masing-masing sampel sebanyak 100 μL , 300 μL , 500 μL , 700 μL dan 900 μL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda-beda.
3. Ditambahkan dengan metanol pada masingmasing tabung reaksi hingga volume akhir 1,0 ml.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

1. Dipipet sebanyak 0,95 ml, 1,9 ml dan 3,8 ml larutan DPPH, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda-beda.
2. Ditambahkan dengan metanol hingga volume akhir 4,0 ml.
3. Larutan digojog selama 30 detik dan di inkubasi selama 20 menit di tempat gelap
4. Diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm.

Penentuan OT (*Operating Time*)

1. Penentuan OT DPPH
 - a) Dipipet sebanyak 0,95 ml larutan DPPH dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
 - b) Ditambahkan dengan metanol hingga volume akhir 4,0 ml.
 - c) Larutan digojog selama 30 detik dan diinkubasi selama 20 menit di tempat gelap.
 - d) Diukur serapan dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 515 nm selama 60 menit.
2. Penentuan OT Sampel
 - a) Dipipet sebanyak 0,95 ml larutan DPPH, dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
 - b) Ditambahkan masing-masing larutan sampel sebanyak 900 μL .
 - c) Dicukupkan volumenya dengan metanol hingga 4,0 ml.
 - d) Larutan digojog selama 30 detik dan diinkubasi selama 20 menit di tempat gelap.
 - e) Diukur serapan dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 515 nm selama 60 menit.

Pembuatan Larutan Kontrol

1. Dipipet sebanyak 0,2 ml metanol, dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
2. Ditambahkan larutan DPPH konsentrasi 56,8 μM sebanyak 3,8 ml.
3. Digojog selama 30 detik dan diinkubasi selama 20 menit di tempat gelap.
4. Diukur serapan dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 515 nm.

Uji Radikal Bebas

1. Masing-masing seri konsentrasi larutan uji dipipet sebanyak 0,2 ml, dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
2. Ditambahkan larutan DPPH konsentrasi 56,8 μM sebanyak 3,8 ml.

3. Digojog selama 30 detik dan diinkubasi selama 20 menit di tempat gelap.
4. Diukur serapan dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 515 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1
Data Penurunan Absorbansi DPPH pada Penambahan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Air

Rep.	Konsentrasi ekstrak air dalam 4,0 ml (mg/ml)	Absorbansi kontrol	Absorbansi sampel 515 nm	% inhibisi	Persamaan Regresi Linier
1	5,37	0,516	0,472	8,527	A=2,814
	15,69	0,516	0,395	23,449	B=1,393x
	25,95	0,516	0,296	42,635	R=0,979
	35,84	0,516	0,227	56,007	
	46,8	0,516	0,185	64,147	
2	5,37	0,622	0,570	8,038	A=3,200
	15,69	0,622	0,452	27,331	B=1,422x
	25,95	0,622	0,355	42,926	R=0,989
	35,84	0,622	0,284	54,340	
	46,8	0,622	0,200	67,845	
3	5,37	0,682	0,587	13,929	A=8,030
	15,69	0,682	0,485	28,885	B=1,358x
	25,95	0,682	0,367	46,187	R=0,991
	35,84	0,682	0,288	57,771	
	46,8	0,682	0,208	69,501	
4	5,37	0,648	0,572	11,728	A=6,576
	15,69	0,648	0,474	26,851	B=1,328x
	25,95	0,648	0,351	45,833	R=0,983
	35,84	0,648	0,297	54,166	
	46,8	0,648	0,217	66,512	
5	5,37	0,563	0,500	11,190	A=1,418
	15,69	0,563	0,438	22,202	B=1,481x
	25,95	0,563	0,360	36,056	R=0,964
	35,84	0,563	0,215	61,811	
	46,8	0,563	0,181	67,850	

Tabel 2
Data Penurunan Absorbansi DPPH pada Penambahan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol 70%

Rep.	Konsentrasi ekstrak etanol dalam 4,0 ml (mg/ml)	Absorbansi kontrol	Absorbansi sampel 515 nm	% inhibisi	Persamaan Regresi Linier
1	5,18	0,516	0,435	15,697	A=6,822
	15,51	0,516	0,382	25,968	B=1,591x
	25,4	0,516	0,231	55,232	R=0,964
	35,77	0,516	0,198	61,627	
	46,71	0,516	0,102	80,232	
2	5,18	0,622	0,533	14,308	A=4,004
	15,51	0,622	0,466	25,080	B=1,672x
	25,4	0,622	0,309	50,321	R=0,986
	35,77	0,622	0,225	63,926	
	46,71	0,622	0,116	81,350	
3	5,18	0,682	0,570	16,422	A=7,719
	15,51	0,682	0,482	29,325	B=1,645x
	25,4	0,682	0,304	55,425	R=0,982
	35,77	0,682	0,235	65,542	
	46,71	0,682	0,113	83,431	
4	5,18	0,648	0,513	20,833	A=8,249
	15,51	0,648	0,487	24,845	B=1,612x
	25,4	0,648	0,304	53,086	R=0,963
	35,77	0,648	0,218	66,358	
	46,71	0,648	0,107	83,487	

Rep.	Konsentrasi ekstrak etanol dalam 4,0 ml (mg/ml)	Absorbansi kontrol	Absorbansi sampel 515 nm	% inhibisi	Persamaan Regresi Linier
5	5,18	0,563	0,493	12,433	A=3,150
	15,51	0,563	0,401	28774	B=1,698x
	25,4	0,563	0,311	44,760	R=0,999
	35,77	0,563	0,199	64,653	
	46,71	0,563	0,091	83,836	

Tabel 3
Data Penurunan Absorbansi DPPH pada Penambahan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etil Asetat

Rep.	Konsentrasi ekstrak etil asetat dalam 4,0 ml (mg/ml)	Absorbansi kontrol	Absorbansi sampel 515 nm	% inhibisi	Persamaan Regresi Linier
1	5,26	0,516	0,474	9,139	A=4,489
	15,81	0,516	0,347	32,751	B=1,624x
	25,15	0,516	0,262	49,224	R=0,985
	36,4	0,516	0,189	63,372	
	46,98	0,516	0,111	78,488	
2	5,26	0,622	0,484	22,186	A=17,95
	15,81	0,622	0,351	43,569	B=1,443x
	25,15	0,622	0,274	55,948	R=0,986
	36,4	0,622	0,174	72,025	
	46,98	0,622	0,105	83,118	
3	5,26	0,682	0,499	26,832	A=21,70
	15,81	0,682	0,384	43,695	B=1,345x
	25,15	0,682	0,281	58,797	R=0,991
	36,4	0,682	0,207	69,648	
	46,98	0,682	0,109	84,017	
4	5,26	0,648	0,489	24,537	A=22,11
	15,81	0,648	0,333	48,611	B=1,340x
	25,15	0,648	0,276	57,407	R=0,972
	36,4	0,648	0,193	70,216	
	46,98	0,648	0,107	83,487	
5	5,26	0,563	0,485	13,854	A=13,10
	15,81	0,563	0,304	46,003	B=1,529x
	25,15	0,563	0,267	52,575	R=0,946
	36,4	0,563	0,170	69,804	
	46,98	0,563	0,104	81,527	

Tabel 4.
Nilai IC50 Ekstrak Air, Etanol dan Etil Asetat Daun Kelor

Ekstrak	IC50(mg/ml)					Rata-rata (mg/ml)	SD	CV
	Rep I	Rep II	Rep III	Rep IV	Rep V			
Air	33,87	32,91	30,90	32,69	32,80	32,634	1,077	30,298
Etanol	27,13	27,50	25,70	25,90	27,59	26,764	0,899	29,754
EtilAsetat	28,02	22,21	21,04	20,81	24,13	23,242	2,976	7,807

Keterangan Rep = Replikasi
SD = Standar Deviasi
CV = Coefisien of Variation

Tabel 5.
Hasil Uji Anova

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hasil Aktivitas Antioksidan	Between Groups	225.118	2	112.559	31.177	.062
	Within Groups	43.324	12	3.610		
	Total	268.443	14			

Hasil Pengumpulan Bahan

Daun kelor yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Ds. Poncorejo Kec. Gemuh Kab. Kendal yang diambil pada sore hari. Sebelumnya daun kelor yang diperoleh disortasi basah untuk memisahkan dari pengotor kemudian dilakukan pencucian menggunakan air mengalir untuk membersihkan daun dari kotoran. Daun kelor kemudian dikeringkan dibawah panas matahari dengan ditutup kain hitam agar tidak terkena sinar matahari secara langsung. Daun kelor yang sudah kering kemudian di blender, diperoleh serbuk simplisia daun kelor. Penyerbukan bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel dan mengoptimalkan proses ekstraksi. Dalam penelitian ini diambil daun kelor yang sudah tua, bertujuan untuk mengoptimalkan pengujian antioksidan ekstrak air, etanol 70% dan etil asetat daun kelor, karena daun yang tua memiliki senyawa antioksidan yang lebih optimal dibandingkan daun yang muda.

Hasil Pembuatan Ekstrak Air, Etanol 70% Dan Etil Asetat

Serbuk yang diperoleh kemudian dilakukan ekstraksi dengan menggunakan pelarut air, etanol 70% dan etil asetat. Ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi dingin yaitu maserasi dan metode panas yaitu dekok. Maserasi merupakan metode ekstraksi menggunakan proses perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai dan dekok merupakan metode ekstraksi menggunakan proses perebusan bahan dengan pelarut yang sesuai. Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi antara lain waktu, suhu, jenis pelarut, perbandingan bahan dan pelarut dan ukuran partikel. Ekstraksi dengan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak. Pada saat proses perendaman bahan akan terjadi pemecahan dinding sel dan membrane sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut pada pelarut organik yang digunakan. Ekstraksi dilakukan selama 5 hari dan setiap hari dilakukan pengadukan, ekstrak disaring menggunakan kertas saring, kemudian diuapkan menggunakan water bath dengansuhu $\pm 70^{\circ}\text{C}$, Sedangkan ekstraksi metode dekok yaitu direbus sampai mendidih hingga suhu 100°C kemudian disaring menggunakan kertas saring.

Hasil Penentuan Operating Time (OT) Dan Panjang Gelombang

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. Panjang gelombang DPPH berkisar antara 515-520 nm. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor electron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning. Sebelum penelitian dilakukan orientasi terlebih dahulu untuk mengetahui serapan atau absorbansi dari ekstrak air, etanol 70% dan etil asetat pada panjang gelombang 515 nm. Sebelum dilakukan penentuan aktivitas antioksidan ekstrak air, etanol 70% dan etil asetat daun kelor dengan metode DPPH dilakukan optimasi terlebih dahulu untuk menentukan *Operating Time* (OT) dan Panjang Gelombang.

1. Penentuan Operating Time

Operating time (OT) didapatkan saat bahan uji sudah mereduksi DPPH dengan sempurna sehingga didapat nilai absorbansi yang stabil. Dalam penelitian ini penentuan operating time dilakukan tidak hanya pada larutan DPPH, melainkan pada sampel ekstrak air, etanol 70% dan etil asetat daun kelor. Pengukuran pada panjang gelombang 515 nm selama 60 menit (Uliani, 2009). Larutan DPPH menghasilkan *operating time* (OT) dalam menit ke 18. Rentang waktu yang didapat sama dengan hasil larutan sampel ekstrak air, etanol 70% dan etil asetat. Larutan sampel ekstrak air, etanol 70% dan ekstrak etil asetat menghasilkan pada *operating time* menit ke

12.

2. Penentuan Panjang Gelombang

Penentuan panjang gelombang maksimum ini digunakan untuk mengetahui pada serapan berapa zat yang dibaca oleh spektrofotometri UV-Vis secara optimum (Dewi, 2016). Pada penelitian ini konsentrasi DPPH yang digunakan adalah 13,49 μM ; 26,98 μM ; dan 53,96 μM dari ketiganya diperoleh panjang gelombang maksimum yaitu pada 515,5 nm pada konsentrasi 53,96 μM .

Hasil Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH bertujuan untuk mengetahui secara kualitatif keberadaan senyawa yang berperan sebagai senyawa antioksidan dalam ekstrak daun kelor. Uji pendahuluan sebagai pengujian secara kualitatif ini penting dilakukan sebagai dasar sebelum melakukan pengujian secara kualitatif. Uji pendahuluan dilakukan dengan prinsip reaksi antara radikal DPPH dengan senyawa antioksidan didalam ekstrak daun kelor. Senyawa antioksidan akan berubah radikal DPPH dari violet menjadi kuning karena kemampuannya untuk mengikat elektron bebas yang tidak berpasangan dari senyawa radikal.

Ekstrak induk diencerkan terlebih dahulu agar sewaktu bereaksi dengan DPPH memiliki absorbansi 0,2-0,8. Pengenceran dilakukan dengan memasukan masing- masing 0,5 ml ekstrak air, ekstrak etanol dan etil asetat dalam vial 10,0 ml kemudian ditambahkan dengan methanol hingga ad 10,0 ml. Ekstrak yang sudah diencerkan digunakan sebagai bahan uji. Pada saat penambahan methanol terbentuk 2 lapisan, dimana lapisan atas berupa cairan dan lapisan bawah endapan. Bagian yang digunakan dalam penelitian ini adalah lapisan bagian atas. Metanol selain digunakan sebagai pelarut untuk mengencerkan ekstrak juga berperan dalam mempercepat pengendapan sehingga diperoleh ekstrak yang berwarna hijau pekat. Pengukuran aktivitas antiosidan ekstrak air, etanol dan etil asetat pada penelitian ini dilakukan pada berbagai konsentrasi yaitu 100 μL , 300 μL , 500 μL , 700 μL dan 900 μL . Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi sampel terhadap daya antioksidan yang dimiliki oleh ekstrak air, ekstrak etanol dan etil asetat daun kelor. Semakin banyak ekstrak air, etanol dan etil asetat daun kelor maka semakin besar aktivitas antioksidan dan terjadi penurunan absorbansi DPPH pada panjang gelombang 515 nm.

Diketahui bahwa larutan kontrol memiliki absorbansi yang lebih tinggi dibandingkan larutan sampel. Hal ini disebabkan karena pada larutan control tidak mempunyai senyawa yang berperan sebagai antioksidan. Ekstrak air, etanol dan etil asetat daun kelor memiliki aktivitas antioksidan yang dapat dilihat dari terjadinya penurunan absorbansi DPPH. Salah satu parameter hasil dari metode DPPH adalah nilai aktivitas perendaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory concentration*). Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat merendam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas perendaman radikal bebas semakin tinggi. Nilai IC_{50} diperoleh dari regresi linier antara konsentrasi ekstrak air, ekstrak etanol dan etil asetat daun kelor (sumbu x) vs sumbu % inhibisi (sumbu y). Nilai IC_{50} digunakan untuk membandingkan besarnya daya antioksidan. Untuk mengetahui hubungan linieritas antara konsentrasi sampel dengan daya antioksidan yang dinyatakan dengan % inhibisi dapat dilihat dari nilai korelasi (r) masing- masing replikasi yang mendekati satu. Pada penelitian ini replikasi ketiga ekstrak air dengan nilai $r = 0,991$ mendekati satu ekstrak etanol 70% replikasi kelima dengan nilai $r = 0,999$ ekstrak etil asetat replikasi ketiga dengan nilai $r = 0,991$.

Berdasarkan hasil persamaan regresi linier antara masing- masing konsentrasi ekstrak air, etanol dan etil asetat daun kelor (sumbu x) vs sumbu % inhibisi (sumbu y) dari % inhibisi. Hasil dari tabel nilai IC_{50} ekstrak air, etanol dan etil asetat daun kelor memiliki rata-rata ekstrak air sebesar 32,634 mg/ml ekstrak etanol 70% sebesar 26,764 mg/ml dan ekstrak etil asetat sebesar 23,242 mg/ml. Semakin kecil nilai IC_{50} maka sampel uji memiliki keaktifan sebagai antioksidan lebih baik. Untuk mengetahui perbedaan nilai IC_{50} secara pasti dapat dilakukan pengujian. Selanjutnya dilakukan analisa untuk melihat perbedaan signifikan nilai IC_{50} antara ekstrak air, etanol 70% dan etil asetat daun kelor menggunakan Uji *Anova*. Dari tabel hasil pengujian tersebut menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak air, etanol 70% dan etil asetat menghasilkan nilai $\text{Sig} = 0,062 > 0,05$. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak air, ekstrak etanol 70% dan etil asetat daun kelor tidak ada perbedaan

yang signifikan. Dilihat dari nilai IC50 Ekstrak air sebesar 32,634 mg/ml (32.634µg/ml), ekstrak etanol 70% sebesar 26,764 mg/ml (26.764µg/ml) sedangkan ekstrak etil asetat memiliki nilai IC50 lebih kecil yaitu 23,242 mg/ml (23.242µg/ml) . Dapat disimpulkan ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak air dan ekstrak etanol 70%.

SIMPULAN

Nilai IC50 ekstrak air sebesar 32,634 mg/ml ekstrak etanol 70% sebesar 26,764 mg/ml dan ekstrak etil asetat sebesar 23,242 mg/ml. Ekstrak etil asetat daun kelor memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dengan nilai IC50 sebesar 23,242 mg/ml dibandingkan ekstrak etanol 70% dan ekstrak air. Tidak ada perbedaan yang signifikan antara ketiga ekstrak dan kandungan antioksidan yang relatif sama.

DAFTAR PUSTAKA

- Berawi Khairun Nisa, Riyan W, Annisa AP (2019). Potensi Terapi oleifera (kelor) Pada Penyakit Degeneratif. *Jurnal Unila Vol 3 No1 Maret 2019*, Universitas Lampung.
- Broto Anung Laksono, Nawal Ariqoh Rif'at, Tsabitah 'Afiy Arsyah, dkk. (2019). Evaluasi Sediaan Vitamin E Oral sebagai Antioksidan menggunakan Metode DPPH (Diphenyl picrylhydrazyl). *Jurnal Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, Vol.10 No.1 Juni Hal 12 – 16. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
- Chairunnisa, S., Wartini, M.N, &Suhendra, L. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin, *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri Vol. 7, No. 4, 551-560*, Universitas Udayana Jimbaran- Badung.
- Hartati & Halifah, P. (2018). Perbedaan Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Lada (*Piper nigrum*) terhadap Aktivitas Antimikroba, *Jurnal Sainsmat Halaman 1-7 Vol. VII, No. 1*, Universitas Negeri Makassar.
- Hermawan Heri, Bina Lohita Sari, Husein Nashrianto (2018). Kadar Polifenol Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Dan Metanol Buah Ketapang (*Terminalia catappa* L), *Jurnal Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Pakuan Bogor*.
- Istiqomah, Yahdi, Yuli Kusuma D (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Kulit Batang Kesambi (*Schleichera oleosa* Lour Oken) Menggunakan Metode Ekstraksi Bertingkat, *Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia, Fakultas Taarbiyah Dan Keguruan UIN Mataram*.
- Jati Anisa Rahma (2018). Perbedaan Kadar Total Protein Berdasarkan Penggunaan Kuvet Dan Tbung Reaksi Baru, *Manuseript Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Keperawatan Dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang*.
- Jami'ah Siti R , Muas Ifaya, Jastria P & Eny N. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisicara sapientum*) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharmacon Indonesia, Vol 4 No 1 Juni 2018*, Akademi Farmasi Bina Husada Kendari.
- Julianawati Tinta, Hendy Hendarto, Widijati (2019). Penetapan Total Flavonoid, Aktivitas Antioksidan dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Kelor, *Skripsi Universitas Airlangga*.
- Nur Asisi, Uliyah, Nurul Fitrah Amaliyah, A. Hasrawati. (2021). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L.) Dan Pengembangannya Menjadi Bentuk Sediaan Gel. *As-Syifaa Jurnal Farmasi* Juli 2021;13(1):01-06
- Putri, W.S., Warditiani, N.K., Larasanty, L. P.F (2018). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.), *Jurnal Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana*.
- Rahmatia Angela Risky (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl.) Dengan Metode DPPH, *Karya Tulis Ilmiah Kementrian Kesehatan Republik Indonesia Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang Program Studi Farmasi Kupang*.
- Wulandari Tri Ratna (2021). Uji Antioksidan Ekstrak N- Heksan Dari Kulit Umbi Wortel (*Daucus curota* L) Dengan Metode DPPH, *Skripsi Bhakti Husada Madiun*.