

KARYA TULIS ILMIAH
SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK METANOL BIJI KELOR (*Moringa oleifera* Lam.)
MENGGUNAKAN METODE DPPH



OLEH
YULIA MUTIARA
NIM : 2019E0B024

PROGRAM STUDI DIII FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
MATARAM
2022

**HALAMAN PERSETUJUAN DOSEN PEMBIMBING
KARYA TULIS ILMIAH**

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK METANOL BIJI KELOR (*Moringa oleifera* Lam.)
MENGUNAKAN METODE DPPH**



Dosen Pembimbing Utama

(apt. Dzun Haryadi Ittiqo, M.Sc)
NIDN: 0822088101

Dosen Pembimbing Pendamping

(apt. Abdul Rahman W, M.Farm)
NIDN: 0817038601

HALAMAN PENGESAHAN

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK METANOL BIJI KELOR (*Moringa oleifera* Lam.)
MENGUNAKAN METODE DPPH**

**KARYA TULIS ILMIAH INI TELAH DISEMINARKAN
DAN DIUJI OLEH TIM PENGUJI PADA SELASA, 12 JULI 2022**

**OLEH
DEWAN PENGUJI**

Ketua

apt. Dzun Haryadi Ittigo', M.Sc
NIDN:0822088101

Anggota I

Irmatika Hendriyani, M.Sc
NIDN:0805059202

Anggota II

apt. Abdul Rahman Wahid, M.Farm
NIDN:0817038601

Mengetahui,

Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas Muhammadiyah Mataram

Dekan,

apt. Nurul Oivaam, M.Farm.Klin

NIDN:0827108402

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Dengan ini menyatakan :

1. KTI yang berjudul :

“SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL BIJI KELOR (*Moringa oleifera* Lam.) MENGGUNAKAN METODE DPPH”. Ini merupakan hasil karya tulis asli yang saya ajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Ahli Madya Farmasi pada Program Studi DIII Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Mataram.

2. Semua sumber yang saya gunakan dalam penulisan KTI tersebut telah saya cantumkan sesuai dengan ketentuan yang berlaku di Program Studi DIII Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Mataram.

3. Jika dikemudian hari terbukti bahwa karya saya tersebut bukti hasil karya tulis asli saya atau jiplakan dari orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi yang berlaku di Program Studi DIII Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Mataram.

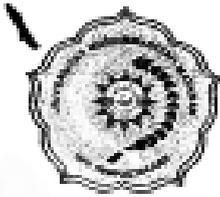
Mataram. 16 Agustus 2022

Yang membuat pernyataan



(Yulia Mutiara)

Nim: 2019E0B024



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN DAN
PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN H. LALU MUDJITAHID, UMMAT

Jl. K.H.A. Dahlan No.1 Telp.(0370)633725 Fax. (0370) 641906 Kotak Pos No. 108 Mataram
Website : <http://www.lib.ummat.ac.id> E-mail : pt.perustak.wang@ummat.ac.id

SURAT PERNYATAAN BEBAS
PLAGIARISME

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Mataram, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yulia Mutiara
NIM : 2019E08024
Tempat/Tgl Lahir : Bengkulu / 07 Juli 2000
Program Studi : D III FARMASI
Fakultas : Ilmu Kesehatan
No. Hp : 00311919840
Email : yulia.mutiara20@gmail.com

Dengan ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Skripsi/KTI/Tesis* saya yang berjudul :

SKRIPSI FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
METANOL BISI KELOR (*Moringa oleifera Lam.*) MENGGUNAKAN METODE
DPPH

Bebas dari Plagiarisme dan bukan hasil karya orang lain. 49%

Apabila dikemudian hari ditemukan seluruh atau sebagian dari Skripsi/KTI/Tesis* tersebut terdapat indikasi plagiarisme atau bagian dari karya ilmiah milik orang lain, kecuali yang secara tertulis disitir dan disebutkan sumber secara lengkap dalam daftar pustaka, saya bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Muhammadiyah Mataram.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya tanpa ada paksaan dari siapapun dan untuk dipergunakan sebagai mana mestinya.

Mataram, 16 Agustus2022

Pi



Yulia Mutiara
NIM. 2019E08024

Mengetahui,



Iskandar, S.Sos.,M.A. Pt

NIDN. 0802048904



**MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN DAN
PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN H. LALU MUDJITAHID UMMAT**

Jl. K.H.A. Dahlan No.1 Telp.(0370)633723 Fax. (0370) 641906 Kotak Pos No. 108 Mataram
Website : <http://www.lib.ummat.ac.id> E-mail : rcs@staf.ummat.ac.id

**SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Mataram, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yulia Mutiara
 NIM : 2019E03024
 Tempat/Tgl Lahir : Bengkabes / 07 Juli 2000
 Program Studi : D III FARMASI
 Fakultas : Ilmu Kesehatan
 No. Hp/Email : 083119199390 / yulia.mutiara.10@gmail.com
 Jenis Penelitian : Skripsi KTI Tesis

Menyatakan bahwa demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada UPT Perpustakaan Universitas Muhammadiyah Mataram hak menyimpan, mengalih-media/format, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Repository atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama *tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta* atas karya ilmiah saya berjudul:

SKRIPING FITOKEMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL BISI KELOR (Moringa oleifera Lam) MENGGUNAKAN METODE DPPH

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh-sungguh. Apabila dikemudian hari terbukti ada pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah ini menjadi tanggungjawab saya pribadi

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya tanpa ada unsur paksaan dari pihak manapun.

Mataram, 16 Agustus2022

dis



Yulia Mutiara
NIM. 2019E03024



Iskandar, S.Sos.,M.A.
NIDN. 0802048904

MOTO HIDUP

“HIDUP DAPAT DIPAHAMI DENGAN BERPIKIR KE
BELAKANG. AKANTETAPI, IA JUGA HARUS DIJALANI
DENGAN BERPIKIR KEDEPAN ”



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Robbil'alamin puji syukur peneliti panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga peneliti dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini, dengan judul “Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Menggunakan Metode DPPH” sesuai dengan waktu yang telah ditentukan.

Shalawat serta salam juga tidak lupa peneliti haturkan kepada Nabi Muhammad SAW, keluarga dan para sahabat serta orang-orang yang mengikutinya. Karya tulis ilmiah ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Ahli Madya Farmasi pada Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.

Karya tulis ilmiah ini dapat diselesaikan tentunya tidak lepas dari dorongan dan uluran tangan berbagai pihak. Peneliti menyadari banyaknya kendala yang dihadapi dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini, namun berkat do'a serta motivasi dan kontribusi dari berbagai pihak kendala tersebut mampu teratasi dan terkendali dengan baik. Peneliti mengucapkan terima kasih yang sebesar- besarnya kepada:

1. apt. Nurul Qiyaam, M.Farm. Klin selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
2. Cahaya Indah Lestari M.Keb selaku Wakil Dekan 1 Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
3. apt. Abdul Rahman Wahid, M.Farm selaku Wakil Dekan II Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram, serta selaku

Pembimbing II yang dengan sabar mengarahkan serta membantu peneliti dalam penelitian dan penyusunan karya tulis ilmiah ini.

4. apt. Cyntiya Rahmawati, M.KM selaku Ketua Prodi DIII Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram
5. apt. Dzun Haryadi Ittiqo, M.Sc selaku Pembimbing I yang dengan sabar mengarahkan serta membantu peneliti dalam penelitian dan penyusunan karya tulis ilmiah ini.
6. Irmatika Hendriyani, M.Sc selaku penguji yang telah memberikan saran dan masukan dalam penelitian dan penyusunan karya tulis ilmiah ini.
7. Orang tua dan saudara-saudara saya atas segala doa, sarana, dukungan dan kepercayaan yang telah diberikan kepada saya sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan dengan baik.
8. Teman-teman DIII Farmasi yang telah memberikan banyak dukungan dan bantuan dalam karya tulis ilmiah ini.

Dengan segala kerendahan hati, peneliti menyadari penelitian karya tulis ilmiah ini jauh dari kata sempurna, maka saran dan kritik sangat dibutuhkan guna menyempurnakan karya tulis ilmiah ini. Bersama dengan ini disampaikan mohon maaf yang sebesar-besarnya atas kekurangan yang ada pada karya tulis ilmiah ini

Mataram, Juli 2022

Peneliti

**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
FAKULTAS ILMU KESEHATAN PROGRAM DIII FARMASI
TAHUN 2022**

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK METANOL BIJI KELOR (*Moringa oleifera* Lam.)
MENGUNAKAN METODE DPPH**

Yulia Mutiara, 2022

Pembimbing: (1) Dzun Haryadi Ittiqo, (2) Abdul Rahman W, (3) Irmatika H

ABSTRAK

Tumbuhan kelor memiliki banyak aktivitas secara farmakologis, menjadikan tumbuhan kelor sangat berkontribusi dalam pengobatan secara tradisional di masyarakat. Berbagai bagian dari tumbuhan kelor seperti akar, daun, bunga, buah, dan biji diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder yang dikenal mempunyai peranan sebagai antioksidan alami. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak metanol biji kelor dan pengaruh konsentrasi pada ekstrak metanol biji kelor (*Moringa oleifera* Lam) terhadap aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Metode penelitian ini menggunakan eksperimen laboratorium dengan cara membuat 4 konsentrasi ekstrak metanol biji kelor yang diujikan pada panjang gelombang 515 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan yang diperoleh dari konsentrasi 100, 200, 400, dan 800 ppm dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 69.167 ppm dengan kategori kuat ($IC_{50} < 100$ ppm). Kesimpulannya bahwa biji kelor memiliki aktivitas antioksidan yang baik, sehingga dapat digunakan sebagai salah satu sumber antioksidan alami.

Kata kunci: Biji Kelor, *Moringa oleifera* Lam., Skrining Fitokimia, Antioksidan, DPPH.

**MUHAMMADIYAH UNIVERSITY OF MATARAM
FACULTY OF HEALTH SCIENCE DIII PHARMACEUTICAL PROGRAM
THE YEAR 2022**

**PHYTOCHEMICAL SCREENING AND ANTIOXIDANT ACTIVITY
TESTING OF MORINGA SEED (*Moringa oleifera* Lam.) METHANOL
EXTRACT USING DPPH METHOD**

Yulia Mutiara, 2022

Consultant : (1) Dzun Haryadi Ittiqo, (2) Abdul Rahman W, (3) Irmatika H

ABSTRACT

Because of its numerous pharmacological properties, moringa plants have made a substantial contribution to local traditional medicine. Secondary metabolites found in the Moringa plant's roots, leaves, flowers, fruits, and seeds are recognized to be natural antioxidants. This study's objectives were to ascertain the number of secondary metabolites present in the methanol extract of Moringa seeds and the impact of concentration on the DPPH-measured antioxidant activity of the methanol extract of Moringa seeds (*Moringa oleifera* Lam). This study examined four concentrations of the methanol extract from Moringa seeds using a UV-Vis spectrophotometer at 515 nm. The results of phytochemical screening showed the presence of alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. The measurement results of antioxidant activity obtained from concentrations of 100, 200, 400, and 800 ppm can increase antioxidant activity with an IC₅₀ value of 69,167 ppm with a strong category (IC₅₀ <100ppm) as a source of natural antioxidants.

Keywords: Moringa Seeds, *Moringa oleifera* Lam., Phytochemical Screening, Antioxidants, DPPH.



DAFTAR ISI

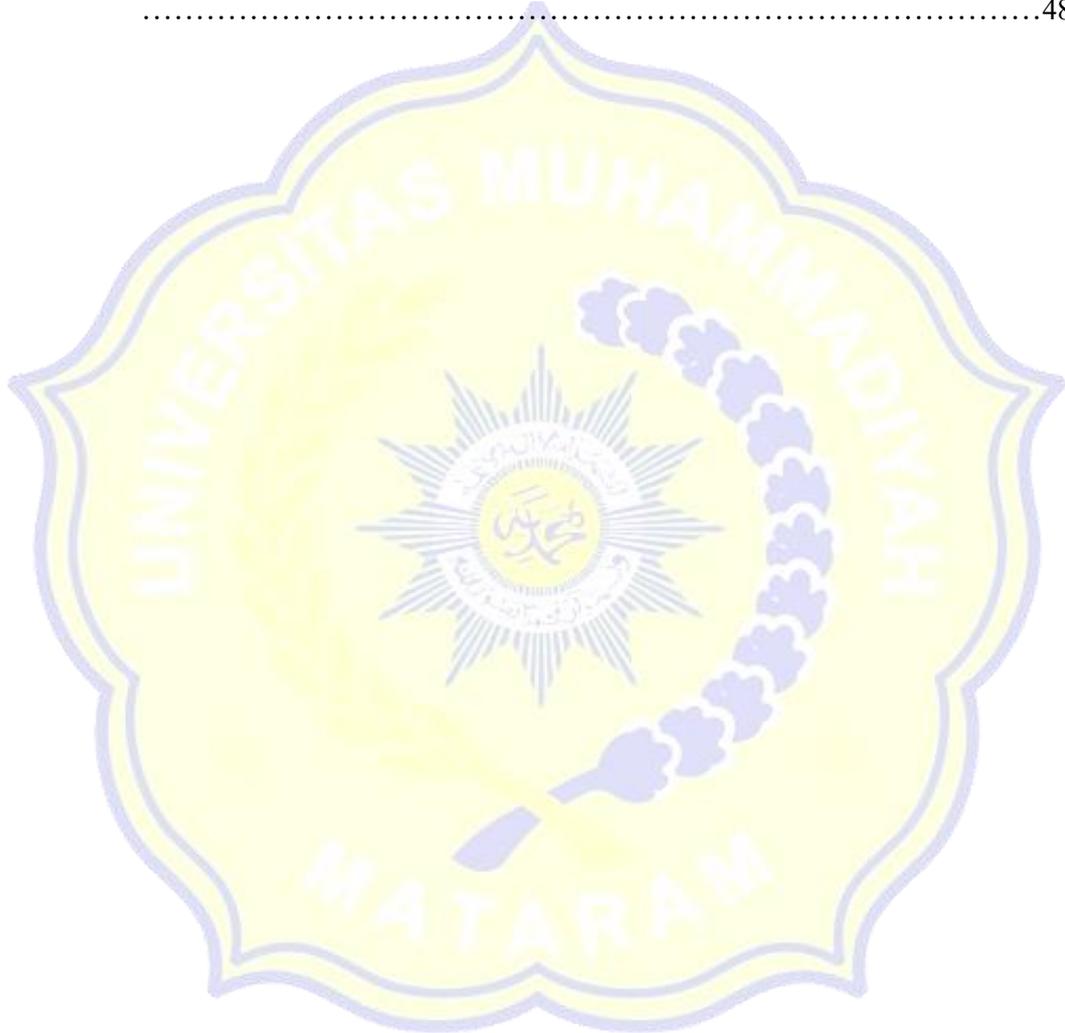
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN DOSEN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS.....	iv
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	v
SURAT PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vi
MOTO HIDUP	vii
KATA PENGANTAR	viii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Keaslian Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tinjauan Teori.....	6
2.1.1 Tanaman Kelor (Moringa oleifera Lam).....	6

2.1.2. Biji Kelor.....	8
2.1.3 Skrining Fitokimia.....	9
2.1.4 Flavonoid.....	10
2.1.5 Alkaloid.....	12
2.1.6 Terpenoid	13
2.1.7 Saponin.....	13
2.1.8 Tanin.....	14
2.1.9 Antioksidan	14
2.1.10 Metode peredaman radikal 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH)	16
2.1.11 Spektrofotometer UV–Vis	18
2.1.12 Ekstraksi.....	19
2.1.13 Refluks	20
2. 2 Kerangka Teori.....	23
2. 3 Kerangka Konsep	24
2.4 Hipotesis	25
BAB III METODE PENELITIAN	27
3. 1 Desain Penelitian.....	27
3. 2 Tempat dan Waktu Penelitian	27
3. 3 Variabel Penelitian	26
3. 4 Definisi Operasional.....	27
3.5 Populasi dan Sampel.....	29
3. 5. 1 Populasi	29
3. 5. 2 Sampel.....	29
3.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	29
3. 6. 1 Alat	30

3. 6. 2 Bahan.....	30
3.7 Metode Pengumpulan Data.....	30
3. 7. 1 Tehnik Pengolahan Data	30
3.7.2 Ujiktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	33
3.8 Metode Pengolahan dan Analisi Data	36
3.8. 1 Metode Pengolahan Data	36
3. 8. 2 Analisis Data.....	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	37
4.1 Pembuatan Ekstrak Metanol Biji Buah Kelor (<i>Moringa oleifera</i> Lam.)....	37
4.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Biji Buah Kelor.....	38
4.2.1 Uji Alkaloid.....	39
4.2.2 Uji Flavonoid	40
4.2.3 Uji Steroid dan terpenoid	41
4.2.4 Uji Saponin	42
4.2.5 Uji Tanin	43
4.3 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Kelor Dengan Metode DPPH	45
4.4 Keterbatasan Penelitian.....	52
BAB V PENUTUP	53
5.1 Kesimpulan	53
5.2 Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	58

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1Tingkat Kekuatan Antioksidan Dengan Metode DPPH	18
Tabel 4.1Hasil Uji Skrining Fitokimia metanol biji kelor (<i>Moringa oleifera</i> lam)	39
Tabel 4.2Hasil nilai absorbansi dan IC ₅₀ larutan Perbandingan.....	47
Tabel 4.3Hasil nilai absorbansi dan IC ₅₀ larutan sampel ekstrak metanol biji kelor	48



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Biji <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	6
Gambar 2.2. Senyawa Flavonoid (Redha, 2010).....	10
Gambar 2.3 Struktur Senyawa Flavonoid (Redha, 2010).....	11
Gambar 2.4 <i>Diphenyl picrylhydrazyl free radical dan nonradical</i>	17
Gambar 2.5 Reaksi DPPH dan Antioksidan.....	17
Gambar 2.6 Kerangka Teori.....	23
Gambar 2.7 Kerangka Konsep.....	24
Gambar 3. 1 Alur penelitian.....	36
Gambar 4.1 Reaksi Uji Alkaloid Menggunakan Preaksi Dragendroff.....	40
Gambar 4.2 Reaksi Pengujian Flavonid (Krisin) + NaOH.....	41
Gambar 4.3 Reaksi Hidrolisis Saponin didalam Aquadest.....	43
Gambar 4.4 Reaksi antara Tanin dan FeCl ₃ (Sa'adah, 2010).....	44
Gambar 4.5 Hubungan antara (%) inhibisi terhadap konsentrasi (ppm) larutan pembeding.....	46
Gambar 4.6 Hubungan antara (%) inhibisi terhadap konsentrasi (ppm) larutan uji ekstrak.....	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.Lembar Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Larutan Uji.....	58
Lampiran 2.Perhitungan % Rendemen.....	59
Lampiran 3.Perhitungan % Inhibisi dan IC ₅₀ Larutan Uji.....	60
Lampiran 4.Proses Pembuatan Ekstrak Metanol Biji Kelor	61
Lampiran 5.Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Biji Kelor.....	62
Lampiran 6.Proses Uji Aktivitas Antioksidan Larutan Sampel.....	63
Lampiran.7.Hasil Analisis Statistik pengaruh konsentrasi terhadap nilai absorbansi: Normalitas, Homogenitas, <i>Anova One Way</i> , dan <i>R Square</i>	64
Lampiran.8.Analisis SPSS <i>Post Hoc Test</i> Konsentrasi dengan Absorbansi.....	66
Lampiran.9.Analisis SPSS <i>Post Hoc Test Turkey HSD</i> Perbandingan Antara Konsentrasi dengan Absorbansi.....	69

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sangat kaya akan tumbuhan yang mengandung senyawa fitokimia yang dapat dimanfaatkan masyarakat sebagai sumber obat tradisional. Pencarian obat-obatan baru untuk mengobati berbagai penyakit mendorong banyak peneliti untuk menemukannya pada tanaman. Tanaman yang memiliki potensi dalam pengobatan tradisional antara lain tanaman kelor atau *Moringa oleifera* Lam (Siddhuraju dkk., 2003)

Tanaman kelor memiliki banyak aktivitas farmakologi, dan tanaman kelor telah memberikan kontribusi yang signifikan terhadap pengobatan tradisional di masyarakat setempat. Berbagai bagian tanaman kelor seperti bunga, buah, akar, daun dan biji mengandung alkaloid dan flavonoid yang diketahui mengandung metabolit sekunder seperti karotenoid, tanin, antrakuinon, antosianin, prosianidin (Goyal dkk., 2007), Saponin dan Steroid, triterpenoid, kumarin, fenol, kina (Kasolo dkk., 2010). Hasil penelitian Kiswandono (2011) menunjukkan bahwa kelompok senyawa dalam ekstrak biji kelor mengandung alkaloid, fenol hidrokuinon, flavonoid dan saponin. Penelitian (Nurliana dkk., 2017) menjelaskan bahwa biji kelor mengandung senyawa flavonoid. Berdasarkan hasil keempat penelitian tersebut, biji kelor terbukti mengandung metabolit sekunder, khususnya flavonoid.

Flavonoid tergolong senyawa fenolik dengan banyak gugus -OH yang berbeda keelektronegatifannya tinggi, sehingga flavonoid memiliki sifat polar. Gugus senyawa ini mudah diekstraksi oleh pelarut polar karena adanya

gugus hidroksil yang membentuk ikatan hidrogen (Ikalinus dkk., 2015). Flavonoid merupakan antioksidan alami yang membantu menetralkan dan menstabilkan radikal bebas, menjaga sel jaringan tetap utuh dan melindungi dari sel kanker, penyakit jantung, diabetes, dan penyakit lainnya (Munadiah, 2018).

Umumnya pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal bebas (*free radicalscavenging*) terhadap senyawa radikal *1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*(DPPH). Metode ini dipilih karena kelebihan yakni mempunyai aktivitas penangkapan senyawa radikal yang kuat pada pelarut organik dengan suhu ruangan (25°C), cepat, serta terbilang gampang untuk mengidentifikasi dan mengevaluasi adanya aktivitas antioksidan secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometri, selain itu metodenya yang sederhana, sensitif serta sampel yang dibutuhkan tergolong sedikit (Aryantini, 2021)

Dengan demikian diperlukan sebuah penelitian lanjutan mengenai kandungan senyawa bioaktif, dan aktivitas antioksidan biji kelor (*Moringa oleifera* Lam.). Penelitian ini akan melakukan skrining senyawa metabolit ekstrak biji kelor menggunakan pelarut metanol 80%, dengan metode ekstraksi refluks, dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH yang bertujuan untuk melihat aktivitas antioksidan pada ekstrak biji kelor dan *quercetin* sebagai kontrol positif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang maka dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Apa saja kandungan senyawa metabolit skunder dan yang terkandung pada ekstrak metanol 80% biji kelor atau *Moringa oleifera* Lam dengan metode Refluks ?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera* Lam) dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*) konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, dan 800 ppm?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui komponen bioaktif yang terdapat dalam biji kelor yang telah diekstraksi menggunakan pelarut metanol 80% dan kapasitas antioksidan yang terkandung didalamnya dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*).

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui kekuatan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam ekstrak metanol 80% biji kelor dengan menghitung nilai IC_{50} yang didasarkan pada persen peredaman radikal bebas dari biji kelor dan *quercetin*.

1.4 Manfaat Penelitian

Diharapkan dapat di jadikan sebagai bukti ilmiah tentang aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol 80% biji buah kelor menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*), serta dapat meningkatkan nilai guna dan nilai ekonomi pada biji kelor yang telah terekstraksi.

1.5 Keaslian Penelitian

1. Penelitian Agung Abadi Kiswandono (2011) dengan judul “Skrining senyawa metabolit skunder terhadap pengaruh metode maserasi dan refluks biji kelor terhadap hasil ekstrak”. Jenis penelitian ini adalah eksperimental dan bertujuan dapat mengetahui adanya pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen ekstrak biji kelor yang dihasilkan serta kandungan metabolit sekundernya melalui uji fitokimia. Dilakukannya skrining fitokimia alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin, dan tanin. Hasil penelitan ini menemukan perbedaan nilai rendemen antara ekstraksi biji kelor dengan perendaman refluks dengan pelarut heksana dan metanol adalah 1,808% dan 0,901%, komponen kimia dalam ekstrak biji kelor refluks adalah alkaloid, fenol hidrokuinon, flavonoid dan saponin, sedangkan pencelupan hanya mengandung alkaloid dan saponin.. Penelitian ini dengan penelitian saya memiliki perbedaan yang terletak pada variable-variabel penelitiannya yaitu pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, serta lokasi pengambilan sampel biji kelor yang diperoleh di desa Golong Lombok Tengah.
2. Penelitian oleh Munadiah (2017) dengan judul “Penentuan Kadar Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Dengan Metode DPPH, CUPRAC dan FRAP”. Penelitian ini berjenis eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan flavonoid serta kapasitas antioksidan ekstrak kulit batang kelor menggunakan metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan flavonoid total dalam ekstrak etanol 96%

kulit batang kelor adalah 20,17 mg/g ekstrak. Dan 96% ekstrak etanol kulit batang kelor metode DPPH memiliki kapasitas antioksidan sebesar 20,978 mg/g ekstrak, pada metode CUPRAC sebesar 4,82 mg/g ekstrak dan kapasitas antioksidan yang diperoleh dengan metode FRAP adalah 2,49 mg/g ekstrak Senyawa d dan saponin. Penelitian ini dengan penelitian saya memiliki perbedaan yang terletak pada bahan ekstrak yaitu biji buah kelor, serta metode ekstraksi dengan menggunakan metode refluks.

3. Penelitian Riskianto, dkk (2021), berjudul “Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap senyawa radikal bebas DPPH”. Penelitian ini berjenis eksperimental yang dirancang untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun kelor terhadap DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% *Moringa oleifera* memiliki kandungan metabolit sekunder seperti fenol, flavonoid, alkaloid dan tanin. Ekstrak etanol 70% daun kelor memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC₅₀ (50,595 g/mL) dan nilai AAI (0,98), sedangkan kuersetin memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ (0,538 g/mL) dan AAI (92,36). Letak perbedaan penelitian ini dengan penelitian yang saya akan lakukan ialah penggunaan bahan ekstrak yaitu menggunakan biji buah kelor, serta metode ekstraksi yang menggunakan metode refluks.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Teori

2.1.1 Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lam)

Negara Indonesia merupakan salah satu negara dengan keanekaragaman hayati yang sangat tinggi, hampir 90% jenis tumbuhan tumbuh di tanah Indonesia. Tanaman kelor termasuk salah satunya, dan kelor dalam bahasa latin diberi nama *Moringa oleifera* Lam. Tanaman ini sangat familiar dan dikenal hampir semua orang di Indonesia (Krisnadi Dudi A, 2015)..



Gambar 2.1Biji *Moringa oleifera* Lam.

Klasifikasinya adalah sebagai berikut;

Regnum: *Plantae*

Divisi: *Spermatophyta*

Subdivisi : *Angiospermae*

Kelas: *Dicotyledoneae*

Ordo: *Capparales*

Famili : *Moringaceae*

Genus : *Moringa*

Spesies: *Moringa oleifera* Lam(Direktorat, 2017)

Menurut Kurniasih (2010) Kelor yang memiliki nama latin *Moringa oleifera* Lam. Adapun nama tanaman kelor diberbagai wilayah Indonesia seperti: Munggai (Minangkabau); Marongghi (Madura); Kelor (Bali); Parongge (Bima);Kelor (Jawa Tengah); Kawona (Sumba); Kelor(Melayu); Kirol (Buru); Kelor (Sunda); Kelo (Ternate); Kelo (Tidore); Murong (Aceh); Kilor(Lampung).

Tanaman kelor memiliki morfologi dengan bentuk pohon yang tingginya mencapai 7-12 m. Kelor adalah tanaman berumur panjang (abadi). Tanaman kelor memiliki batang berkayu (*Lignosus*), tegak, berbintik putih, dengan kulit tipis dan luas permukaan yang besar. Ada dua cara menanam kelor: biji (reproduksi) dan stek (*vegetatif*). Kelor bisa tumbuh disegala jenis dataran baik dataran rendah maupun dataran tinggi yang kurang lebih tingganya mencapai 1000 mdpl. Keunikan tanaman kelor merupakan bisa bertahan pada keadaan ekstrim semacam wilayah yang sangat panas, teduh serta bersalju dan bisa dengan gampang berkembang di seluruh tipe tanah serta keadaan lingkungan Kelor banyak digunakan di kebun dan ladang.ditanam sebagai pagar tanaman(Kasang, 2020).

Tanamana kelor dapat dimanfaatkan hampir semua bagianya termasuk daun, akar, biji, kulit kayu, buah, bunga dan polong dewasa. Khasiatnya antara lain: stimulan kardiovaskular, antitumor, antipiretik, antiepilepsi, antiinflamasi, antiulkus, antispasmodik, diuretik, hipotensi, penurunan

kolesterol, antioksidan, antidiabetes, hepatoprotektan, antibakteri, dan antijamur (F. Anwar dkk., 2007).

Daun kelor sangat kaya akan nutrisi, antara lain kalsium, besi, protein, vitamin A, vitamin B, dan Vitamin C. bersama dengan itu juga, daun kelor memiliki kandungan asam amino yang beragam antara lain asam amino yang berbentuk asam aspartat, asam glutamat, alanin, valin, leusin, isoleusin, histidin, lisin, arginin, venilalanin, triptopan, sistein serta methionin (Aminah dkk., 2015). berdasarkan penelitian (Verma dkk., 2009), daun kelor mengandung sebagian besar senyawa fenol, yang dikenal berkhasiat sebagai penangkal radikal bebas. Kandungan fenolik daun kelor segar artinya 3,4% dan kandungan fenolik daun kelor yang diekstraksi ialah 1,6%. Daun kelor mengandung vitamin karotenoid, flavonoid, alkaloid, glukosinolat, tanin, dan saponin (Leone dkk., 2015). berdasarkan uji fitokimia (Ikalinus dkk., 2015), ekstrak etanol kulit batang kelor mengandung senyawa steroid, flavonoid, alkaloid, fenol serta tanin. Kandungan kimia flavonoid mempunyai fungsi antidiabetes, antioksidan, antikanker, antiseptik serta antiinflamasi

2.1.2. Biji Kelor

Biji kelor memiliki morfologi yang berbentuk bulat dan memiliki cangkang semi permeabel berwarna coklat kehitaman ketika kering. Biji itu sendiri memiliki tiga sayap putih yang membentang dari atas ke bawah. Satu pohon dapat menghasilkan 15.000 hingga 25.000 biji per tahun. Berat rata-rata per biji adalah 0,3 (Krisnadi Dudi A, 2015).

Adapun senyawa bioaktif yang terkandung dalam biji kelor adalah fenol, flavonoid, saponin, terpenoid, *proanthocyanidins*, dan glikosida kardiotonik(Sharma dkk., 2012). Hasil penelitian dari (Kiswando, 2011)menemukan bahwa kelas senyawa kimia dalam ekstrak biji kelor, termasuk senyawa alkaloid, fenolhidrokuinin, flavonoid dan saponin, mengurangi kerusakan oksidatif terkait usia dan dikaitkan dengan kanker (Goyal dkk., 2007).

2.1.3 Skrining Fitokimia

Senyawa organik pada tumbuhan dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer merupakan senyawa utama yang berfungsi untuk pertumbuhan dan perkembangan suatu organisme, seperti karbohidrat, lemak dan protein. Metabolit sekunder merupakan senyawa nonnutrisi yang dihasilkan oleh tanaman yang dapat melindungi tanaman dari serangan serangga, bakteri, jamur, dan organisme patogen lainnya(Julianto, 2019).

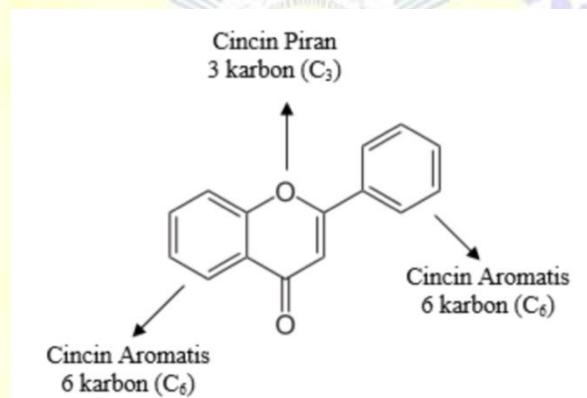
Proses identifikasi kandungan metabolit sekunder merupakan langkah awal yang penting dalam penelitian dalam pencarian senyawa bioaktif baru dari bahan alam yang dapat menjadi prekursor untuk sintesis obat baru atau prototipe dengan aktivitas tertentu(Rasyid, 2012).

Identifikasi ini merupakan uji fitokimia. Metode yang digunakan merupakan modifikasi dari metode penelitian berbasis uji (Sahara, 2019 & Tiwari, dkk., 2011).Penelitian ini akan melakukan pengujian senyawa

metabolit skunder yang meliputi flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin dan tanin.

2.1.4 Flavonoid

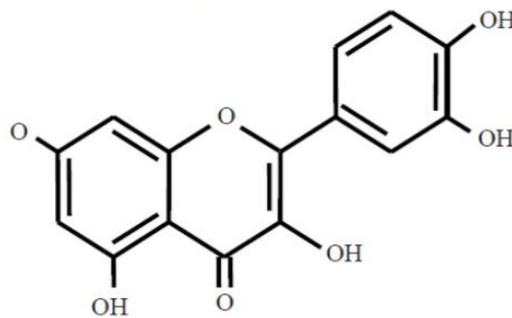
Flavonoid merupakan metabolit sekunder dengan struktur inti C₆-C₃-C₆, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom C, dengan ikatan atom O, biasanya berupa ikatan oksigen heterosiklik. Senyawa-senyawa tersebut dapat dimasukkan sebagai senyawa polifenol karena mengandung dua atau lebih gugus hidroksil, bersifat asam lemah, dan larut dalam basa sehingga senyawa tersebut lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, butanol dan etil asetat (Hanani dkk., 2005).



Gambar 2.2. Senyawa Flavonoid (Redha, 2010)

Senyawa flavonoid berasal dari unit C₆-C₃ (fenilpropana) yang berasal dari asam shikimat dan unit C₆ dari jalur poliketida. Fragmen poliketida terdiri dari tiga molekul malonil-KoA yang dihubungkan dengan unit C₆-C₃ (sebagai tioester CoA) untuk membentuk unit triketida induk. Dengan demikian, flavonoid yang berasal dari biosintesis gabungan terdiri dari unit turunan shikimat dan jalur poliketida (Heinrich, M. dkk., 2012). Flavonoid

dapat ditemukan di semua bagian tanaman termasuk daun, akar, pohon, kulit kayu, bunga, buah dan biji. Flavonoid terdiri dari beberapa kelompok besar, antara lain antosianin, flavanol, dan flavon yang tersebar luas pada tumbuhan. Di sisi lain, *distribusi chalcone, aurone, flavonol, dihydrochalcone*, dan *isoflavon* hanya terbatas pada kelompok tertentu saja (Malik, 2012).



Gambar 2.3 Struktur Senyawa Flavonoid (Redha, 2010).

Flavonoid yang terkandung dalam makanan sangat bermanfaat karena senyawa ini merupakan antioksidan kuat berupa senyawa fenolik. Banyak keadaan penyakit dapat diperparah dengan adanya radikal bebas seperti superoksida dan hidrosil. Diketahui bahwa flavonoid memiliki kemampuan untuk menghilangkan zat tersebut. spesies pengoksidasi berbahaya. Oleh karena itu, makanan kaya flavonoid diyakini memainkan peran penting dalam pengobatan penyakit seperti kanker dan penyakit jantung (Heinrich, M. dkk., 2012).

Flavonoid bersifat antioksidan, karena senyawa ini mengandung gugus hidroksil, ia bertindak sebagai penangkal radikal bebas. Flavonoid dapat bertindak sebagai agen pereduksi sebagai donor hidrogen untuk radikal bebas.

Senyawa flavonoid seperti *quercetin*, *morin*, *myricetin*, *kaempferol*, asam malat, dan asam *ellagic* merupakan antioksidan kuat yang melindungi makanan dari kerusakan oksidatif (Silalahi, 2006).

Flavonoid merupakan senyawa polar karena mengandung gugus hidroksil dan larut dalam pelarut polar seperti metanol, etil asetat, aseton dimetil sulfoksida, etanol, butanol, dan air. Kelompok flavonoid yang kurang polar cenderung lebih larut dalam pelarut semipolar seperti eter dan kloroform. (Ilyas, 2013).

2.1.5 Alkaloid

Alkaloid sebagian besar merupakan senyawa basa dan tidak berwarna. Sifat dasar ini memfasilitasi dekomposisi oleh panas dan cahaya, terutama dengan adanya oksigen. Alkaloid hasil isolasi terdapat dalam bentuk padatan kristalin yang tidak larut, meskipun beberapa, seperti kerucut, ada dalam bentuk cair, sementara yang lain, seperti nikotin, bersifat amorf (Mukhriani, 2014).

Alkaloid merupakan turunan dari asam amino. Fungsi alkaloid dalam bidang farmakologi adalah sebagai analgesik, mengatur kerja jantung, berperan dalam sistem peredaran darah dan pernapasan, serta memiliki efek antimalaria (Arifuddin, 2013).

Alkaloid dan turunannya yang terkandung dalam tumbuhan yang digunakan secara klinis sebagai: Agen antineoplastik, analgesik, agen antivirus, relaksan otot, agen antikolinergik, agen anti-inflamasi, agen sitotoksik, agen *antinociceptive*, agen pengikat DNA, dan beberapa di

antaranya telah dikaitkan dengan penyakit, miopati, *myogravis*. Telah digunakan untuk mengobati *asthenia*(Seifu dkk., 2012).

2.1.6 Terpenoid

Terpenoid umumnya dikenal sebagai minyak esensial, dan senyawa ini memberikan aroma unik pada bagian tanaman yang berbeda. Ahli botani berasumsi bahwa minyak atsiri diekskresikan dalam sel minyak dalam ruangan (saluran ekskresi), sehingga minyak atsiri dapat didefinisikan sebagai rahasia tanaman yang memiliki bau yang kuat dan terlokalisasi pada lokasi tertentu (Mukhriani, 2014).

Terpenoid ditemukan pada tumbuhan berdasarkan famili tumbuhannya. Misalnya, saluran minyak (*Apiaceae*) dan rambut kelenjar (*Lamiaceae*). Pembentukan protoplasma minyak atsiri dengan mendegradasi lapisan resin dari dinding sel atau dengan menghidrolisis glikosida tertentu. Fungsi minyak atsiri ini adalah untuk mengusir serangga dan mencegah kerusakan bunga dan daun melalui aromanya (Mukhriani, 2014).

2.1.7 Saponin

Saponin adalah senyawa triterpen dan glikosida steroid yang terbentuk dari jalur mevalonat (saponin). Saponin tersebar merata di batang, daun, akar dan buah. Saponin digunakan sebagai agen antibakteri dan antijamur untuk menurunkan kadar kolesterol serta menghambat perkembangan sel tumor (Yanuartono dkk., 2017). Senyawa saponin tersebar luas pada tumbuhan dan rata-rata memiliki satu gugus $-OH$ (Bintoro dkk., 2017), senyawa saponin akan

menimbulkan busa jika dikocok dalam air, saponin merupakan senyawa bersifat polar yang dimana senyawa ini dapat larut dalam air serta alkohol akan tetapi tidak larut dalam eter (Illing, 2020).

2.1.8 Tanin

Tanin merupakan senyawa organik yang sangat kompleks, tersusun dari senyawa fenolik yang umum ditemukan di berbagai tanaman. Secara umum tanin tersebar di hampir semua bagian tanaman, termasuk kulit batang, daun, batang dan buah (Amelia, 2015).

Mukhriani (2014), menyatakan bahwa tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang berkhasiat sebagai antidiare, antioksidan, astringen dan antibakteri. Tanin merupakan salah satu senyawa bioaktif yang komponennya kompleks, karena tersusun dari fenolik yang sifatnya sulit untuk terurai.

2.1.9 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mendonor elektron (donor elektron) atau reduktor. Meskipun senyawa ini memiliki berat molekul rendah, senyawa ini dapat menonaktifkan kemajuan reaksi oksidasi dengan mencegah pembentukan radikal. Antioksidan juga menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul reaktif. Hal ini mengurangi kerusakan sel (Winarsih, 2007). Senyawa antioksidan seperti asam fenolat, polifenol, dan flavonoid mengurangi radikal bebas, peroksida, hidroperoksida, dan peroksid lipid, menghambat mekanisme oksidatif yang menyebabkan penyakit degeneratif. (Prakash, 2011).

Antioksidan terbagi menjadi antioksidan enzimatik dan non-enzimatik berdasarkan sifatnya. Antioksidan enzimatik ialah sistem pertahanan sel terhadap kerusakan oksidatif. Model antioksidan enzimatik adalah superoksida dismutase (SOD), katalase, glutathion reduktase, dan glutathion peroksidase. Antioksidan non enzimatik antara lain ubiquinolifase lipid, vit C, vit E, karotenoid (β -karoten), glutathione, bilirubin, albumin, transferrin atau laktoferin atau ceruloplasmin, feritin, sistein, serta flavonoid (Ardhie, 2011).

Jika sesuai dengan sumbernya, antioksidan dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu alami dan antioksidan. Antioksidan sintetis merupakan antioksidan yang disintesis secara kimia seperti TBHQ, BHT, dan propil galat. Antioksidan alami dapat ditemukan dalam makanan sehari-hari seperti buah-buahan dan sayuran dan mengandung berbagai senyawa fenolik dan nitrogen dan karotenoid. Antioksidan alami melindungi tubuh manusia dari radikal bebas, dapat mengurangi perkembangan penyakit kronis (Sing, 2007). Menurut Werdhari (2014), bahan alam mengandung banyak antioksidan dengan berbagai senyawa aktif seperti vitamin C, vitamin E, provitamin A, sulfur organik, dan flavonoid.

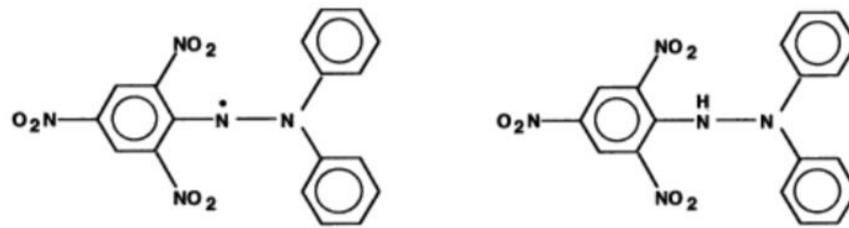
Antioksidan memiliki 2 fungsi berdasarkan mekanis kerjanya. Fungsi pertama adalah fungsi utama antioksidan, yaitu sebagai donor atom hidrogen. Antioksidan (AH) dengan fungsi primer sering disebut antioksidan primer. Senyawa ini dapat dengan cepat mendonorkan atom hidrogen ke radikal lipid ($R\cdot$, $ROO\cdot$) atau mengubahnya menjadi bentuk yang lebih stabil, sedangkan turunan radikal antioksidan (A^+) lebih stabil daripada radikal lipid. Fungsi

kedua adalah fungsi sekunder antioksidan. Artinya, memperlambat laju autooksidasi melalui berbagai mekanisme selain yang memotong rantai autooksidasi dengan mengubah radikal lipid menjadi bentuk yang lebih stabil. Penambahan antioksidan primer (AH) dengan konsentrasi lipid yang rendah dapat menghambat atau mencegah terjadinya autooksidasi lipid (Mailandari,2012).

2.1.10 Metode peredaman radikal 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH)

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan umumnya digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan dari beberapa senyawa atau ekstrak tumbuh-tumbuhan atau bahan alam. Interaksi DPPH dengan antioksidan melalui donor elektron DPPH atau radikal hydrogen yang dapat menetralkan sifat radikal bebas DPPH. Prinsip uji DPPH adalah dekolorisasi, yang mengukur kekuatan antioksidan yang langsung dicapai oleh radikal DPPH dengan menentukan nilai absorbansi pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer. Radikal DPPH organik kaya akan nitrogen sehingga radikal bebas berwarna ungu stabil yang berubah menjadi kuning ketika tereduksi menjadi bentuk non-radikal oleh antioksidan (Yu, 2008).

Metode radikal bebas DPPH merupakan metode yang paling umum digunakan untuk skrining aktivitas antioksidan berbagai tanaman obat. Metode ini didasarkan pada reduksi radikal DPPH berwarna oleh inhibitor radikal bebas terhadap antioksidan (Shivaprasad, 2005).



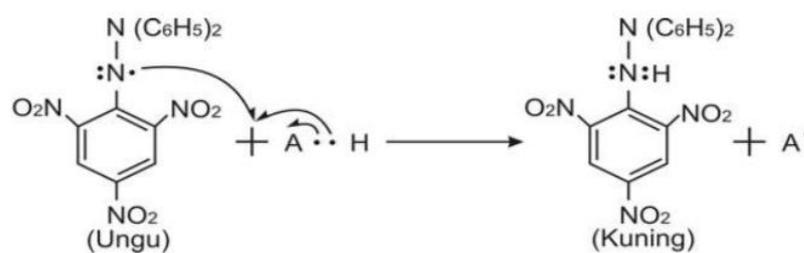
1: Diphenylpicrylhydrazyl (free radical)

2: Diphenylpicrylhydrazine (nonradical)

Gambar 2.4 Diphenylpicrylhydrazyl free radical dan nonradical

(Molyneux, 2004)

Tidak berpasanganya elektron pada senyawa DPPH akan mengakibatkan warna ungu yang menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm. Pasangan elektron berubah warna menjadi kuning, hal ini terkait dengan jumlah elektron. Penurunan intensitas warna menunjukkan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menetralkan radikal bebas. Dengan kata lain, absorbansi larutan uji (Prakash A. R., 2001). Mekanisme kerja radikal bebas DPPH terhadap antioksidan sebagai berikut:



1,1-difenil-2-pikrilhidrazil + Antioksidan → *1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*

Gambar 2.5 Reaksi DPPH dan Antioksidan (Tristantini dkk., 2016).

Tingkat kekuatan antioksidan senyawa uji menggunakan metode DPPH dapat diklasifikasikan menurut nilai IC_{50} (Bambang & dkk, 2019).

Tabel 2.1 Tingkat Kekuatan Antioksidan Dengan Metode DPPH

Intensitas	Nilai IC ₅₀
Sangat kuat	<50
Kuat	50-100
Sedang	101-150
Lemah	151-200
Sangat lemah	>200

2.1.11 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrum UV-Vis adalah hasil interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dan molekul. REM adalah bentuk energi radiasi dengan sifat gelombang dan partikel (fotonik). Karena merupakan gelombang, maka kita perlu mengetahui beberapa parameter seperti panjang gelombang, frekuensi, bilangan gelombang dan serapan. REM memiliki vektor listrik dan magnet yang berorientasi dalam bidang yang saling tegak lurus, masing-masing tegak lurus terhadap arah rambat radiasi. Spektrofotometer UV-Vis terutama digunakan untuk analisis kuantitatif, tetapi juga dapat digunakan untuk analisis kualitatif (Harmita, 2015).

Spektrofotometer berfungsi untuk mengukur energi relatif yang dipantulkan, ditransmisikan, atau ditolak sebagai fungsi panjang gelombang. Keuntungan spektrofotometer dibandingkan dengan metode fotometer ialah pemilihan panjang gelombang cahaya putih yang lebih selektif, yang dapat diperoleh dengan perangkat analitik seperti prisma, kisi, dan celah optik. Spektrofotometer juga terdiri dari sumber spektral kontinu, monokromator, sel absorpsi untuk larutan sampel atau blanko, dan alat untuk mengukur perbedaan absorbansi antara sampel dan blanko atau kontrol (Khopkar 2008).

Mekanisme kerja spektrofotometer adalah cahaya inframerah ditransmisikan melalui sampel, ditransmisikan ke monokromator, dan dideteksi oleh detektor yang terhubung ke komputer. Komputer membaca hasil analisis dan menampilkannya dalam bentuk spektrum. Hal ini dapat dibaca dalam analisis elucidasi struktur kimia sampel yang diuji dan bentuk ikatan molekul dan gugus fungsi. (Sari, 2011).

2.1.12 Ekstraksi

1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu senyawa dari simplisia atau matriks dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi memainkan peran yang sangat penting dalam analisis fitokimia karena adanya proses ekstraksi yang mencakup pemurnian serta fraksinasi pada tahap awal dan akhir. Istilah yang berbeda digunakan untuk ekstraksi. Ekstraktan adalah pelarut yang digunakan untuk ekstraksi, rafinat adalah larutan dari senyawa atau bahan yang akan diekstraksi, dan pelarut adalah senyawa atau zat yang diinginkan yang terlarut dalam rafinat. Penerapan metode ekstraksi tergantung pada jenis, sifat fisik dan kimia dari senyawa yang akan diekstraksi (Hanani, 2015).

2. Mekanisme Kerja Ekstraksi

Pada proses ekstraksi zat aktif pada tumbuhan, terdapat perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan pelarut organik di luar sel, karena pelarut organik menembus dinding sel dan memasuki rongga sel yang mengandung zat aktif, dimana zat aktif terkandung dalam sel. Larutan

pekat berdifusi keluar sel dan proses ini diulang sampai konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel mencapai kesetimbangan. (Alam, 2006).

3. Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah untuk memutuskan sambungan dari Simplisia. Seperti yang kita semua tahu, ada berbagai jenis metode ekstraksi, serta setiap metode mempunyai kekurangan dan keunggulan masing-masing. Pemilihan prosedur dibuat dengan mempertimbangkan jenis senyawa, pelarut yang digunakan dan alat yang tersedia, struktur masing-masing senyawa, suhu dan tekanan. Ini adalah faktor yang perlu dipertimbangkan saat melakukan ekstraksi. Metode ekstraksi yang umum digunakan meliputi maserasi, perkolasi, refluks, soxletasi, infusa, destilasi (Hanani, 2015).

2.1.13 Refluks

Ekstraksi refluks adalah ekstraksi sejumlah tertentu pelarut untuk jangka waktu tertentu pada titik didih pelarut dengan adanya pendingin (kondensor). Umumnya proses diulang 3-5 kali pada rafinat pertama. Keuntungan dari proses refluks adalah dapat digunakan untuk mengekstrak padatan bertekstur kasar yang tahan terhadap pemanasan langsung. Kelemahan metode ini adalah membutuhkan pelarut yang banyak dengan 3 kali pergantian pelarut selama 3-4 jam (Irawan, 2010).

Refluks adalah teknik di mana uap dikondensasi dan kondensat ini dikembalikan ke sistem semula. Digunakan untuk penyulingan industri dan laboratorium. Campuran reaksi cair ditempatkan dalam wadah atas terbuka. Bejana ini dihubungkan dengan kondensor yang sudah diaktifkan, sehingga

uap yang dilepaskan kembali menjadi cairan yang didinginkan dan kembali ke bejana reaksi(A. Anwar, 2010).

Prinsip metode refluks adalah memasukkan sampel bersama filtrat ke dalam labu alas bulat dan memanaskannya untuk menghilangkan komponen kimia, mengembunkan uap filtrat menjadi bentuk molekul dengan kondensor berbentuk bola, dan menyaring filtrat yang tenggelam ke dalam labu alas panci Kemudian lakukan 3 kali penggantian pelarut setiap 3-4 jam, seperti mengembalikan sampel ke labu alas panci, sampai penyaringan selesai. Filtrat dikumpulkan dan dipekatkan(A. Anwar, 2010)

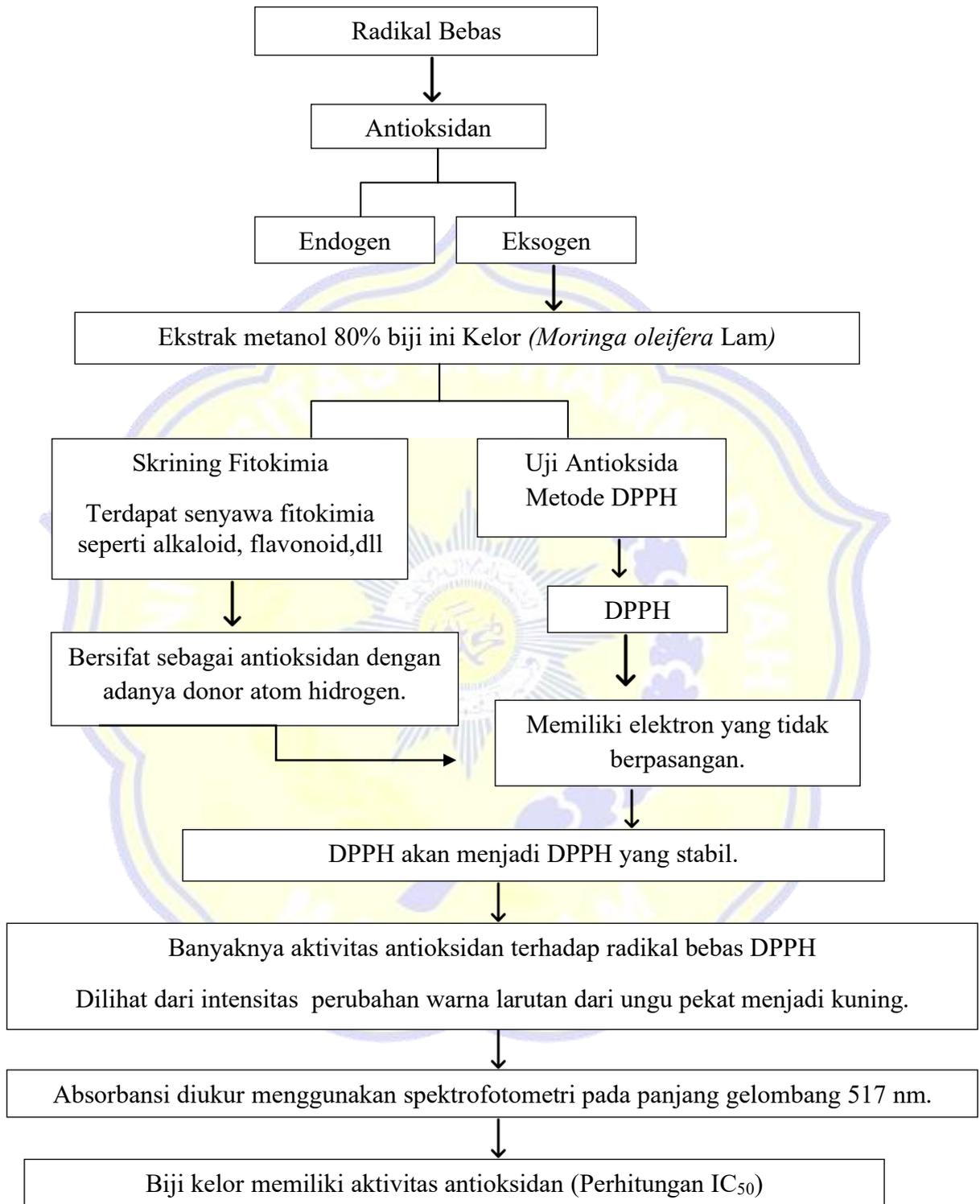
Menurut A.Anwar, (2010) kelebihan metode refluks adalah untuk mengekstraksi sampel yang bertekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan langsung. Sedangkan kekurangan dari metode refluks adalah membutuhkan volume total pelarut yang besar dan sejumlah manipulasi dari operator.

2.1.14 Pelarut

Kadar senyawa yang terkandung dalam tumbuhan dapat diperoleh melalui pelarut selama proses ekstraksi. Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor kunci dalam proses ekstraksi. Jenis pelarut yang sesuai mempengaruhi kelarutan zat warna. Pelarut organik dengan titik didih rendah seperti etanol biasanya digunakan. Prinsip utama kelarutan artinya senyawa polar lebih praktis larut pada pelarut polar serta senyawa non polar lebih praktis larut dalam pelarut non polar. contoh pelarut polar merupakan senyawa alkohol serta turunannya seperti metanol, etanol, aseton, etil asetat, serta pelarut non polar adalah heksana (Nababan, 2020).

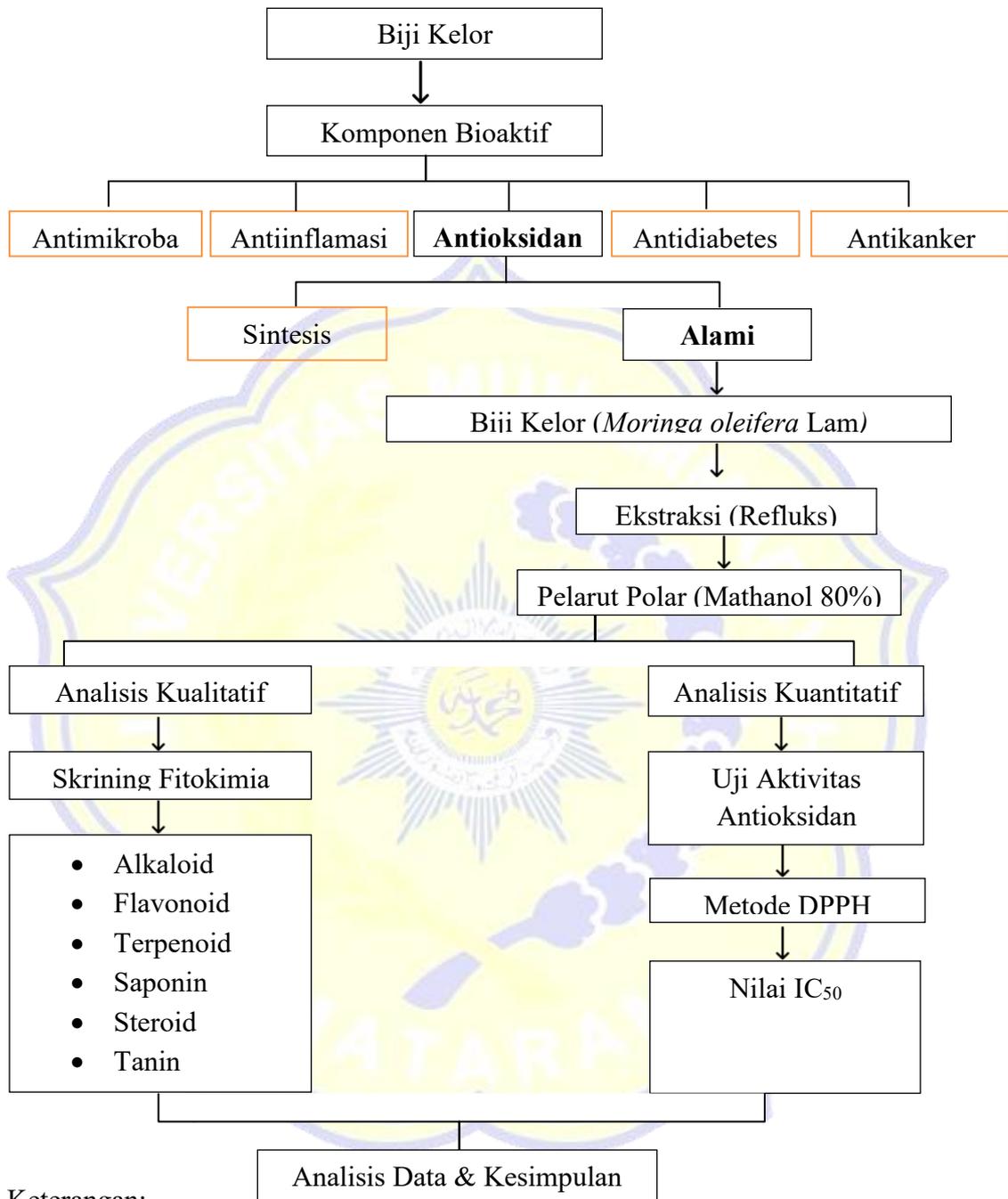
Dalam penelitian ini, peneliti menggunakan metanol sebagai pelarut. Metanol merupakan pelarut universal, tidak menyebabkan pembengkakan sel, menghambat aktivitas enzimatik, meningkatkan stabilitas zat obat terlarut, mengendapkan protein dan sukar larut, sehingga memiliki beberapa keunggulan sebagai pelarut ekstraksi. Ini menghasilkan semua senyawa organik (baik polar, semi-polar dan non-polar) dan menghasilkan bahan aktif yang optimal (Arifin dkk., 2006). Senyawa flavonoid yang memiliki sifat polar sehingga memerlukan pelarut polar (Gillespie & Paul, 2001). Pengaruh pelarut terhadap efektivitas ekstrak sangat penting karena pelarut bergantung terhadap kelarutan senyawa ekstrak dalam pelarut, ini sesuai dengan prinsip *like dissolve like* yang berarti senyawa akan terlarut dengan pelarut yang memiliki sifat sama. Contoh pelarut polar yakni etanol, metanol, aseton dan air (Sudarmadji dkk., 1997) berdasarkan hasil penelitian Kiswandono (2011) pelarut metanol menghasilkan flavonoid tertinggi di ekstrak biji buah kelor (*Moringa oleifera* Lam). Penggunaan pelarut metanol maupun etanol akan memberikan hasil yang maksimal pada penggunaan DPPH karena kedua pelarut ini tidak dapat mengubah hasil reaksi antara sampel uji antioksidan menggunakan DPPH (Molyneux, 2004)

2. 2 Kerangka Teori



Gambar 2.6 Kerangka Teori.

2.3 Kerangka Konsep



Gambar 2.7 Kerangka Konsep

2.4 Hipotesis

Berdasarkan penjelasan dari kerangka teori dan konsep di atas, maka hipotesis pada penelitian ini diduga konsentrasi ekstrak metanol 80% biji buah kelor (*Moringa oleifera* Lam) dapat meningkatkan aktivitas antioksidan.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini bersifat Eksperimental Laboratorium dengan menggunakan metode kualitatif dan kuantitatif. Pengujian skrining fitokimia menggunakan kualitatif dan uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini di laksanakan di Laboratorium Fitokimia dan Farmakologi Universitas Muhammadiyah Mataram. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan April 2022 sampai Juni 2022.

3.3 Variabel Penelitian

A. Variabel Utama

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak methanol 80% biji buah kelor (*Moringaoleifera* Lam) yang di buat dalam variasi konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, dan 800 ppm.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan ekstrakbiji buah kelor (*Moringa oleifera* Lam) dengan indikator pengujian hasil absorpsi pada panjang gelombang serapan maksimal DPPH dengan spektrofotometer UV-Vis atau Nilai IC₅₀.

B. Variabel Pengacau

1. Variabel Pengacau Terkendali

Variabel pengacau terkendali dalam penelitian ini adalah tempat tumbuh tanaman, waktu panen, umur tanaman, cara pemanenan, suhu oven dalam pengeringan, suhu evaporasi, dan lama penyimpanan ekstrak.

2. Variabel Pengacau Tidak Terkendali

Variabel pengacau tidak terkendali dalam penelitian ini adalah kelembaban udara, keadaan tanah, dan cuaca lingkungan.

3.4 Definisi Operasional

- a. Biji buah kelor adalah biji tua berwarna coklat.
- b. Identifikasi kandungan metabolit sekunder merupakan langkah awal yang penting dalam penelitian, pencarian senyawa bioaktif baru dari bahan alam yang dapat menjadi prekursor bagi sintesis obat baru atau prototipe obat beraktivitas tertentu
- c. Flavonoid memiliki sifat antioksidan. Senyawa ini mengandung gugus hidroksil dan dengan demikian bertindak sebagai penangkap radikal. flavonoid bertindak sebagai agen pereduksi sebagai donor hidrogen untuk radikal bebas.
- d. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua pelarut diuapkan.. Ekstrak biji buah kelor (*Moringa oleifera* Lam) merupakan hasil ekstrak yang dibuat dengan

mengekstraksi menggunakan pelarut metanol 80% dengan metode refluks, lalu pelarutnya diuapkan dan didapatkan ekstrak kental.

- e. Kapasitas antioksidan adalah kemampuan molekul yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi.
- f. DPPH adalah metode pengujian aktivitas antioksidan yang menggunakan *1,1-difenil-2-pikrilhidrazin* sebagai sumber radikal bebas. Prinsipnya adalah reaksi penangkapan hydrogen oleh DPPH dari zat antioksidan.
- g. Spektrofotometri merupakan salah satu metode analisis yang berdasarkan pada hasil interaksi atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik. Interaksi tersebut akan menghasilkan peristiwa berupa hamburan, serapan, dan emisi.

3.5 Populasi dan Sampel

3.5.1 Populasi

Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lam) yang berada di desa Beleka golong, Lombok Tengah, Nusa Tenggara Barat.

3.5.2 Sampel

Biji buah kelor (*Moringa oleifera* Lam) yang merupakan bagian inti biji dari buah kelor.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian,

3.6.1 Alat.

Alat yang digunakan adalah satu set alat– alat gelas skrining fitokimia, alat ekstraksi refluks, spektrofotometri, oven, labu alas datar, kondensor, blender, neraca analitik, *water bath laboratory*, corong, *beaker glass*, batang pengaduk, dan satu sddkat untuk uji fitokimia

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji buah kelor (*Moringa oleivera* Lam) yang diambil di Desa Beleka golong Lombok tengah, bahan kimia yang digunakan H_2SO_4 pekat, Dragendroff, HCL pekat, kloroform, aquadest, asetat anhidrat, $FeCl_3$, Metanol 80%, etanol 70%, kertas saring, dan lain sebagainya.

3.7 Metode Pengumpulan Data

3.7.1 Tehnik Pengolahan Data

a) Pengambilan Sampel

Pengambilan Biji buah kelor dilakukan padapagi hari yang diperoleh dari Desa Beleka golong, Lombok Tengah, Nusa Tenggara Barat.

b) Preparasi Sampel

Sampel biji buah kelor yang didapatkan, kemudian dibersihkan dari kotoran-kotoran lalu dikeringkan menggunakan oven dengan suhu $50^{\circ}C$. Sampel yang telah kering lalu dihaluskan dengan menggunakan blender kemudinan diayak dengan ayakan ukuran mesh no.12.

c) Ekstraksi Sampel Menggunakan Metode Refluks

Timbang 100 g serbuk sampel Biji buah kelor dimasukkan kedalam labu alas bulat yang diisi dengan cairan penyari metanol 80% hingga serbuk simplisia terendam kurang lebih 2 cm diatas permukaan simplisia, atau 2/3 volume labu lalu labu alas bundar dipasang kuat pada statif dan ditempatkan diatas water bath, kemudian dipasang kondensor pada labu alas bundar yang dikuatkan pada klem dan statif. sirkulasi air serta pemanas dijalankan sesuai dengan suhu pelarut yang dipergunakan. sesudah 4 jam dilakukan penyaringan, filtrat ditampung dalam wadah penampung serta ampasnya ditambah lagi menggunakan metanol 80% dan dikerjakan mirip semula. Ekstraksi dilakukan selama 3-4 jam. Filtrat yang diperoleh dipisahkan menggunakan rotavapor yang akan mendapat ekstrak kental/ekstrak kasar (Rusmiati, 2016).

Ekstrakkasar yang diperoleh kemudian dilakukan beberapa pengujian diantaranya; perhitungan rendemen ekstrak, skrining fitokimia, serta pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan radikal bebas DPPH. Berikut merupakan rumus rendemen ekstrak:

$$\% \text{Redemen} = \frac{\text{Jumlah berat ekstrak berupa pasta(g)}}{\text{Jumlah berat kering(g)}} \times 100\%$$

d) Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia terhadap ekstrak kasar biji buah kelor dengan menggunakan metode perekasi kimia, yaitu;

a. Uji Alkaloid

Ambil 0,2 gram ekstrak kasar biji buah kelor ditambah dengan 2 ml H₂SO₄ serta diaduk hingga homogen. campuran reaksi tadi di filtrasi. Filtrat yang diperoleh ditambah beberapa tetes reagen *Dragendroff*. Adanya pembentukan endapan orange merah (*orange red precipitate*) menandakan adanya senyawa alkaloid(Sahara, 2019).

b. Uji Flavonoid

Ambil 0,5 gram ekstrak kasar dilarutkan menggunakan 2 ml etanol 70% dan ditetaskan 3 tetes larutan NaOH. Adanya perubahan intensitas warna kuning menjadi tak berwarna di penambahan asam sulfat menandakan adanya senyawa flavonoid (Tiwari dkk., 2011).

c. Uji Terpenoid

Ambil 5 ml ekstrak sampel ditambah dengan 2 ml kloroform serta 3 ml H₂SO₄ pekat terbentuknya cincin berwarna coklat kemerahan (*reddish brown*) menandakan adanya terpenoid(Sahara, 2019)

d. Uji Saponin

Ambil 0,5 gram ekstrak sampel dilarutkan menggunakan aquades di pada tabung reaksi dan di aduk. Bila terbentuk busa menandakan adanya saponin(Sahara, 2019).

e. Uji Steroid

Uji steroid dilakukan menggunakan reaksi Lieberman-Burchard, 2 ml asetat anhidrat serta 2 ml H₂SO₄ pekat ditambahkan ke dalam 5 ml

ekstrak sampel. Perubahan warna dari violet mejadi biru menandakan adanya steroid(Sahara, 2019).

f. Uji Tanin

Ambil 0,2 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambah aquades dan diaduk hingga homogen. Sampel larutan dipanaskan didalam *waterbath* serta di filtrasi. Filtrat yang di peroleh ditetaskan beberapa tetes Ferri Klorida ($FeCl_3$) pembentukan rona larutan hijau gelap (*dark green*) menandakan adanya tanin (Sahara, 2019).

3.7.2 Ujiktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Metode DPPH dipergunakan karena keunggulannya yangcepat, sensitive, sederhana, dan bisa reproduibel. Pengujian ini dilakukan dengan cara mengukur penangkap radikal sintetik yaitu DPPH dalam pelarut polar. Senyawa DPPH yang stabil berwarna ungu dan Jika tereduksi akan berubah menjadi warna kuning. Metode ini berprinsip dengan menangkap elektron bebas yang berasal dari senyawa donor. Dengan tujuan untuk mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen yang bernilai 50% efek aktivitas antioksidan atau nilai IC_{50} dari sampel.

Penetapan aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol 80% biji buah kelor (*Moringa oleifera* Lam) (sampel) dan *quercetin* (pembeding) dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas dengan memakai DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*) secara spektrofotometri UV-Visible.

Nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) adalah taraf penilaian aktivitas antioksidan sampel ekstrak biji buah kelor pada penelitian ini. Nilai IC_{50} merupakan tolak ukur dari nilai konsentrasi senyawa sampel yang dapat menangkap radikal bebas sebanyak 50% semakin rendah nilai IC_{50} maka senyawa uji tersebut semakin efektif sebagai penangkap radikal bebas (Wahyuni, dkk., 2016).

1) Pembuatan Larutan DPPH

Bubuk DPPH (BM 394,32) 15 mg dilarutkan dengan 100 mililiter metanol lalu dimasukkan ke dalam labu ukur, volumenya dicukupkan menggunakan metanol sampai tanda batas. Larutan dijaga di suhu kamar, terlindungi dari cahaya untuk segera dipergunakan (Sihombing & Kuncayono 2007).

2) Penentuan Panjang Gelombang (λ) Maksimum DPPH

Larutan DPPH sebanyak 1 mililiter dipipet ke dalam vial kemudian dicukupkan volumenya hingga 5 mililiter dengan methanol p.a, dihomogenkan kemudian dibiarkan selama 30 mnt, selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm memakai *spektrofotometri UV-Visibel* dan diperoleh panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 515 nm (Sihombing & Kuncayono 2007).

3) Pengukuran Aktivitas Antioksidan *Quercetin*

Ditimbang *quercetin* sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan metanol 100 mililiter, diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 100 ppm. asal larutan stok masing-masing dipipet 0,5 mililiter, 1 mililiter, 1,5

mililiter, serta 2 mililiter, kemudian diteteskan 1 mililiter larutan DPPH serta dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 5 mililiter sehingga diperoleh konsentrasi *quercetin* 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm. campuran tersebut dikocok dan dibiarkan selama 30 mnt di suhu kamar. Masing-masing larutan tadi diukur serapannya di panjang gelombang 515 nm, dilakukan sebanyak tiga replikasi (Irwanta, 2014).

4) Pengukuran Kegiatan Antioksidan Biji buah kelor

Ditimbang ekstrak metanol biji buah kelor sebanyak 100 mg lalu dilarutkan dengan metanol p.a 100 mililiter, diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. asal larutan stok masing-masing dipipet 0,5 mililiter, 1 mililiter, 2 mililiter, dan 4 mililiter, kemudian ditambahkan larutan DPPH sebanyak 1 mililiter dan dicukupkan volumenya menggunakan metanol sampai 5mililiter sebagai akibatnya diperoleh konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, serta 800 ppm. adonan tadi dikocok serta dibiarkan selama 30 mnt pada suhu kamar. Masing-masing larutan tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm, dilakukan sebanyak 3 replikasi (Sihombing & Kunchayono 2007).

5) Pengukuran Serapan Blangko

Pengukuran dilakukan dengan mempipet 1 mililiter larutan DPPH serta dicukupkan volumenya dengan metanol p.a sampai 5 mililiter. campuran dikocok dan dibiarkan selama 30 mnt pada suhu kamar lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm, dilakukan sebanyak 3 replikasi(Sihombing dkk., 2007)

6) Penentuan Nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*)

Parameter yang sangat umum digunakan untuk menentukan hasil dari pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah dengan nilai *efficient concentration* (EC₅₀) atau umumnya dikenal dengan nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH, Perlu dilakukan perhitungan %inhibisi untuk dapat menentukan nilai IC₅₀ pada sampel yang diuji. Rumus %Inhibisi sebagai berikut :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansisampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

3.8 Metode Pengolahan dan Analisa Data

3.8.1 Metode Pengolahan Data

Pengolahan data pada penelitian ini menggunakan perangkat analisis *statistic* SPSS versi 25 dengan $p < 0.05$ dipilih sebagai tingkat minimal signifikasinya.

3.8.2 Analisis Data

Diperoleh data hasil pengukuran absorbansi terhadap Ekstrak metanol 80% biji buah kelor (*Moringa oleifera* Lam) dan *Quercetindengan* menggunakan spektrofotometri UV-Vis kemudian dilakukan analisis data secara statistik menggunakan sistem regresi linear pada microsoft excel.

$$Y = bx + a$$

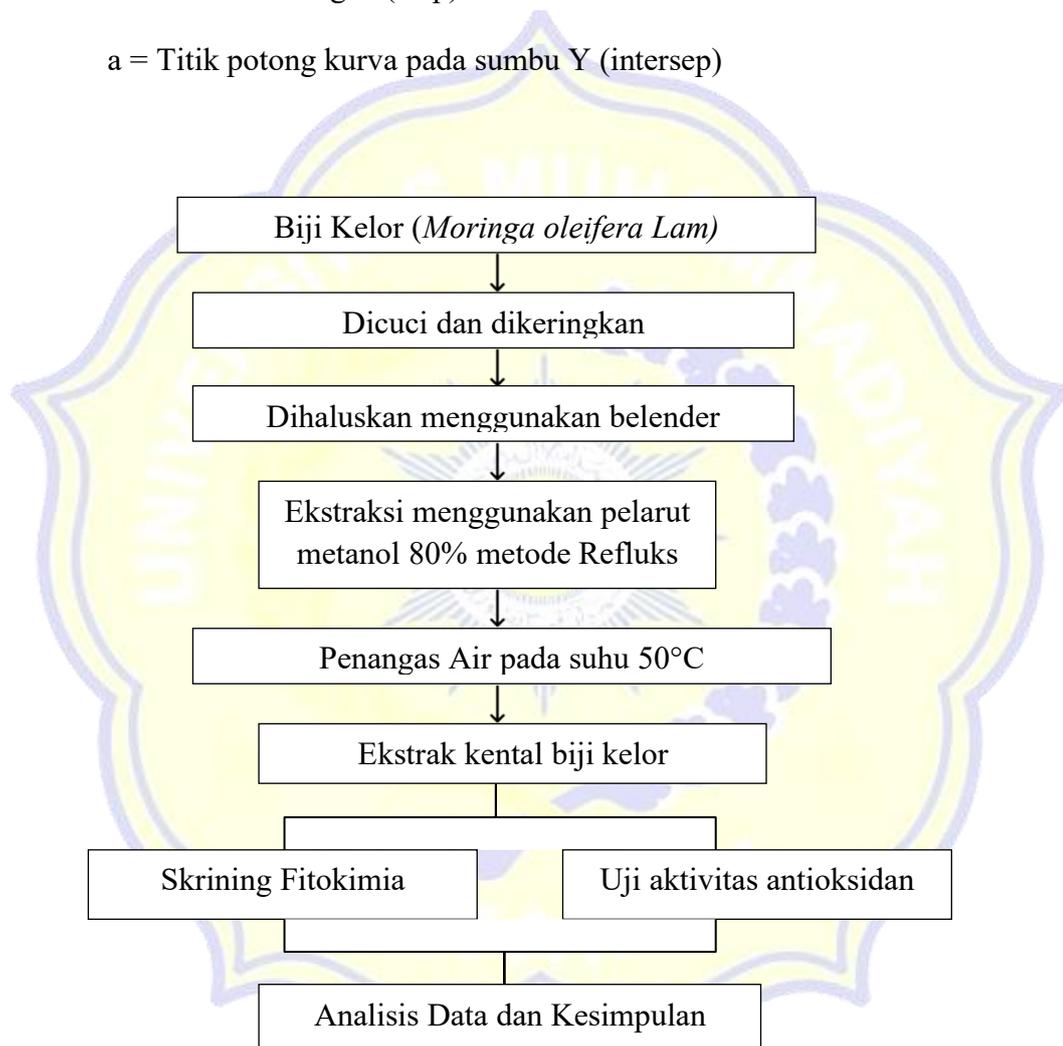
Keterangan:

Y = Persen penangkapan radikal bebas sebesar 50

x = Nilai IC₅₀

b = Nilai kemiringan (slop)

a = Titik potong kurva pada sumbu Y (intersep)



Gambar 3.1 Alur penelitian