

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DARI DAUN KELOR (Moringa oleifera) DAN UJI AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains program studi Kimia

> Oleh Masruroh Zana Undatul Faroh 4311415024

PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2020

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini bebas plagiat, dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan

Semarang, 11 Februari 2020

Yang membuat pernyataan,

Masruroh Zana U. F

NIM. 4311415024

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi dengan judul "Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Kelor (Moringa oleifera) dan Uji Aktivitasnya sebagai Antioksidan" telah disetujui oleh pembimbing untuk di sajikan dihadapan sidang panitia ujian skripsi Jurusan Kimia Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

Semarang, 18 Januari 2019 Dosen Pembimbing

Dr. Sri Mursiti, M.Si

NIP. 196709131999032001

iii

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Kelor (Moringa oleifera) dan Uji Aktivitasnya sebagai Antioksidan

disusun oleh

Nama

Masruroh Zana Undatul Faroh

NIM

4311415024

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi FMIPA Universitas Negeri Semarang pada tanggal 11 Februari 2020

Semarang, 11 Februari 2020

Sckretaris

Dr. Sigit Priatmoko, M.Si

NIP. 196504291991031001

Penguji I

Dante Alighiri S.Si., M.Sc

NIP.198506102015041003

Penguji II

Dr. Triastuti Sulistyaningsih M.Si

NIP.197704112005012014

Pembimbing I

Dr. Sri Mursiti, M.Si

NIP.196709131999032001

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO:

"Satu-satu nya hal yang harus kita takuti adalah ketakutan itu sendiri"

- Franklin D. Roosevelt

"Jangan pernah takut untuk mencoba sebelum tahu hasilnya"

"Keluh kesah adalah sampah"

PERSEMBAHAN

Untuk Bapak, Ibu, dan Adik-Adik
Untuk Nandia Apriliana, Erni Susilowati, Luzy Ika Itaqillah dan Aditia Dwipawarman, S.T
Untuk teman-teman Jurusan Kimia Unnes 2015

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan Skripsi ini dengan Judul "Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antioksidan". Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Program Strata I Jurusan Kimia pada Universitas Negeri Semarang.

Penyusunan Skripsi ini tidak lepas dari dukungan orang-orang disekitar kami, sehingga kami ingin mengucapkan terima kasih kepada:

- Prof. Dr. Fathur Rokhman, M.Hum selaku Rektor Universitas Negeri Semarang
- 2. Dr. Sugianto M.Si selaku Dekan FMIPA Universitas Negeri Semarang
- 3. Dr. Sigit Priatmoko M. Si selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang
- 4. Dr. Sri Mursiti, M.Si selaku dosen pembimbing atas arahan dan motivasi yang membangun dalam penyusunan Skripsi
- 5. Dante Alighiri S.Si., M. Sc dan Dr. Triastuti Sulistyaningsih S.Si, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan arahan dan koreksi dalam penyempurnaan penyusunan Skripsi
- 6. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia yang telah banyak memberikan ilmunya dan membantu penulis menyelesaikan studi
- Seluruh laboran di Laboratorium Kimia di Universitas Negeri Semarang dan Universitas Wahid Hasyim atas bantuan yang diberikan selama pelaksanaan penelitian
- 8. Orangtua dan saudara/saudari, beserta keluarga lainnya yang telah memberi dukungan baik moril dan materil, serta doa yang tulus
- 9. Teman teman mahasiswa Jurusan Kimia Unnes Angkatan 2015
- 10. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksaan dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, maka dari itu penulis mengharapkan saran untuk menyempurnakannya. Penulis berharap Skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca yang membutuhkan informasi mengenai masalah yang dibahas dalam Skripsi ini, khususnya terkait bidang Kimia.

Semarang, 11 Februari 2020

Penulis

ABSTRAK

Faroh, M.Z.U.F. 2020. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Kelor (Moringa oleifera) dan Uji Aktivitasnya sebagai Antioksidan*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Dr. Sri Mursiti M.Si

Kata kunci: daun kelor, isolasi, flavonoid, antioksidan

Daun Kelor (Moringa oleifera) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa fenol seperti alkaloid, tanin, saponin, steroid, dan flavonoid yang berkhasiat sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode isolasi senyawa flavonoid dan aktivitas antioksidannya terhadap radikal 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrasil (DPPH). Serbuk dimaserasi 1200 \mathbf{g} menghasilkan ekstrak kental etanol 166,2 g. Partisi 10 g ekstrak kental etanol menggunakan etil asetat dan air menghasilkan 8,8 g ekstrak etil asetat. Pemisahan ekstrak fraksi etil asetat dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam G-F₂₅₄ dan fase gerak *n*-heksana : etil asetat menghasilkan perbandingan eluen yang sesuai. Pemurnian fraksi etil asetat dengan menggunakan KKG dengan eluen n-heksana : etil asetat. Ekstrak etanol dilakukan penetapan kadar flavonoid total dengan metode AlCl₃. Hasil penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun kelor menunjukkan kadar yang dihasilkan yaitu sebesar 5,17%. Analisis FTIR isolat fraksi 4 mengandung gugus O-H, C-H alifatik, C=O karbonil, C=C aromatik, C-O eter, dan C-H aromatik. Analisis UV-Vis isolat fraksi 4 menghasilkan 2 peak pada λ 409 nm (pita I) dan pada λ 268 nm (pita II) diduga senyawa flavonoid golongan auron. Hasil uji ekstrak etil asetat daun kelor (Moringa oleifera) memiliki aktivitas antioksidan dengan IC₅₀ sebesar 85,66 ppm.

ABSTRACT

Faroh, M.Z.U.F. 2020. *Isolation and Identification of Flavonoid Compounds from (Moringa oleifera) Leaves and Their Activity as Antioxidants*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Dr. Sri Mursiti M.Si

Keywords: Moringa oliefera, Isolation, Flavonoid, Antioxidant, DPPH

Moringa oleifera leaves are one of the plants that contain phenol compounds such as alkaloids, tannins, saponins, steroids and flavonoids which have antioxidant properties. This study aims to determine the method of isolation of flavonoid compounds and their antioxidant activity against free radicals 2,2-Diphenyl-1-Pikrilhydrasil (DPPH). 1200 g macerated powder yields 166.2 g thick ethanol extract. Partition 10 g of thick ethanol extract using ethyl acetate and water to produce 8.8 g of ethyl acetate extract. Separation of ethyl acetate extract by thin layer chromatography (TLC) with the stationary phase G-F254 and the mobile phase n-hexane: ethyl acetate produces fractions that contain positive flavonoids. The results of the determination of total flavonoid content of Moringa leaf extract showed that the resulting level was 5.17%. FTIR analysis of isolate fraction 4 contained the O-H, C-H aliphatic, C = O carbonyl, C = C aromatic, C-O ether, and C-H aromatic groups. UV-Vis analysis of isolate fraction 4 produced 2 peaks at λ 409 nm (band I) and at λ 268 nm (band II) suspected auron group flavonoids. Moringa acetate leaf Moringa (Moringa oleifera) extract test results have antioxidant activity with IC₅₀ of 85.66 ppm

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN	ii
PERSETUJUAN PEMBIMBING	iii
PENGESAHAN	iv
MOTTO	v
PERSEMBAHAN	v
PRAKATA	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	X
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	XV
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Radikal Bebas	4
2.2. Antioksidan	6
2.3. Daun Kelor	7
2.3.1. Kandungan Kimia Daun Kelor	9
2.4. Ekstraksi	10
2.5. Flavonoid	11
2.6. Uji Aktivitas Antioksidan	14
BAB III METODE PENELITIAN	17
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian	17

3.2. Variabel Penelitian	17
3.3. Alat dan Bahan	17
3.3.1. Alat	17
3.3.2. Bahan	17
3.4. Prosedur Penelitian	18
3.4.1. Pengambilan Sampel	18
3.4.2. Uji Fitokimia Daun Kelor	18
3.4.2.1. Uji Flavonoid	18
3.4.2.2. Uji Tanin	18
3.4.2.3. Uji Saponin	18
3.4.2.4. Uji Terpena dan Steroid	19
3.4.2.5. Uji Alkaloid	19
3.4.3. Ekstraksi Daun Kelor	19
3.4.4. Total Flavonoid Content	19
3.4.5. Isolasi Daun Kelor	19
3.4.6. Kromatografi Lapis Tipis	20
3.4.7. Kromatografi Kolom Gravitasi	20
3.4.8. Pengujian Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH	21
3.4.8.1. Pembuatan Larutan DPPH	21
3.4.8.2. Pengukuran Panjang Gelombang	
Serapan Maksimm DPPH	21
3.4.8.3. Pembuatan Larutan Induk Sampel Uji	22
3.4.8.4. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Daun Kelor	22
3.4.8.5. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin	22
3.4.8.6. Pengujian Aktivitas Antioksidan	22
3.4.9. Analisis Pemerangkapan Radikal Bebas DPPH	22
3.4.10. Analisis IC ₅₀	. 22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1. Preparasi Daun Kelor	24
4.2. Ekstraksi Daun Kelor	24
A.3. Total Flavonoid Content	25

4.4. Uji Fitokimia Daun Kelor	26
4.5. Isolasi Daun Kelor	28
4.6. Analisis Hasil Spektrofotometer UV-Vis	30
4.7. Analisis Senyawa Flavonoid menggunakan Spektrometer FTIR	32
4.8. Uji Aktivitas Daun Kelor	34
BAB V PENUTUP	38
5.1. Kesimpulan	38
5.2. Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	45

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Analisis Spektrum Inframerah (IR) Isolat	13
Tabel 2.2. Parameter Pengukuran Aktivitas Antioksidan	16
Tabel 4.1. Hail Skrinning Uji Fitokimia Daun Kelor	25
Tabel 4.2. Data Absorbansi Pengukuran Total Flavanoid Content	27
Tabel 4.3 . Absorbansi Isolat Fraksi 4 dengan Penambahan Pereaksi Geser	30
Tabel 4.4. Serapan FTIR Gugus Fungsi Isolat Fraksi 4 Daun Kelor	33
Tabel 4.5 . Data Absorbansi dan % Inhibisi Isolat Fraksi 4 Daun Kelor	34
Tabel 4.6. Data Absorbansi dan % Inhibisi Kuersetin	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Daun Kelor	8
Gambar 2.2. Struktur Kimia Flavonoid (Auron)	12
Gambar 2.3. Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksdian	14
Gambar 2.4. Reaksi antara DPPH dengan Antioksidan	
membentuk DPPH-H	15
Gambar 4.1. Kurva Hubungan Konsentrasi & Absorbansi TFC	25
Gambar 4.2. Kromatogram KLT berbagai Eluen	29
Gambar 4.3. Spektrum UV Isolat Fraksi 4	31
Gambar 4.4. Struktur 4' 67 dihidroauron	32
Gambar 4.5. Spektrum IR Isolat Fraksi 4 Daun Kelor	32
Gambar 4.6. Kurva Hubungan Konsentrasi dan % Inhibisi	
Isolat Fraksi 4 Etil Asetat	35
Gambar 4.7. Kurva Hubungan Konsentrasi dan % Inhibisi Kuersetin	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Ekstraksi Daun Kelor	45
Lampiran 2. Skema Kerja Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kelor	46
Lampiran 3. Skema Kerja Total Flavonoid Content	47
Lampiran 4. Skema Kerja Isolasi Senyawa Flavonoid Daun Kelor	47
Lampiran 5. Skema Kerja Kromatografi Lapis Tipis	47
Lampiran 6. Skema Kerja Kromatografi Kolom Gravitasi	48
Lampiran 7. Skema Kerja Uji Aktivitas Antioksidan Daun Kelor	49
Lampiran 8. Hasil Perhitungan	50
Lampiran 9. Hasil Analisis FTIR Ekstrak Etanol Daun Kelor	54
Lampiran 10. Hasil Analisis UV-Vis Total Flavonoid Content	54
Lampiran 11. Hasil Analisis UV-Vis Pereaksi Geser	55
Lampiran 12. Hasil Analisis UV-Vis Uji Aktivitas Antioksidan	56
Lampiran 13. Dokumentasi Penelitian	57

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Amin *et al.*, 2015). Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan. Elektron tidak berpasangan tersebut menyebabkan radikal bebas sangat reaktif yang kemudian akan menangkap atau mengambil elektron dari senyawa lain seperti protein, lipida, karbohidrat, dan DNA. Radikal bebas dapat masuk ke dalam tubuh dan menyerang sel-sel yang sehat dan menyebabkan sel sel tersebut kehilangan fungsi dan strukturnya (Widiantara *et al.*, 2018).

Efek negatif radikal bebas terhadap tubuh dapat dicegah dengan senyawa yang disebut antioksidan. Antioksidan memiliki kemampuan memberikan elektron, mengikat dan mengakhiri reaksi berantai radikal bebas (Halwell, 2012). Antioksidan dibagi menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan alami dan sintetik. Antioksidan alami berasal dari ekstraksi bahan alami yang berpotensi menangkap radikal bebas seperti sayuran, buah-buahan, dan daun. Sedangkan antioksidan sintetik diperoleh dari hasil sintesis secara kimia seperti *ter*-butil hidroksitoluena (BHT) dan *ter*-butil hidroksianisol (BHA) yang biasanya penggunaannya terdapat dalam makanan dan produk kosmetik (Nyoman, 2013).

Ada banyak bahan pangan yang dapat menjadi sumber antioksidan alami, misalnya rempah-rempah, teh, coklat, sayur sayuran, enzim, dan protein. Kebanyakan sumber antioksidan alami ialah tumbuhan dan umumnya merupakan senyawa fenolik yang tersebar di seluruh bagian tumbuhan, terutama pada golongan flavonoid. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan telah banyak diteliti belakangan tahun ini, flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Rizkayanti, 2017).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami adalah tanaman kelor (*Moringa oleifera*) merupakan salah satu jenis tanaman tropis yang mudah tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia. Tanaman kelor merupakan

tanaman perdu dengan ketinggian 7-11 meter dan tumbuh subur mulai dari dataran rendah 0 sampai ketinggian 700 meter di atas permukaan laut. Kelor dapat tumbuh pada daerah tropis dan subtropis pada semua jenis tanah dan tahan terhadap musim kering dengan toleransi terhadap kekeringan sampai 6 bulan (Syarifah *et al.*, 2015).

Moringa oleifera terutama daunnya, mengandung antioksidan yang tinggi. Beberapa senyawa bioaktif utama fenoliknya merupakan kelompok flavonoid seperti kuersetin dan kaempferol. Kuersetin merupakan antioksidan kuat yang kekuatannya 4-5 kali lebih tinggi dibandingkan dengan vitamin C dan E yang dikenal sebagai vitamin alami komersial (Sutrisno, 2011). Antioksidan di dalam daun kelor mempunyai aktivitas menetralkan radikal bebas sehingga mencegah kerusakan oksidatif pada sebagian besar biomolekul dan menghasilkan proteksi terhadap kerusakan oksidatif secara signifikan.

Daun kelor merupakan salah satu bagian dari tanaman kelor yang telah banyak diteliti kandungan gizi dan kegunaannya. Daun kelor sangat kaya akan nutrisi, diantaranya kalsium, zat besi, fosfor, kalium, protein, vitamin A, vitamin B, vitamin C, vitamin D, vitamin E, vitamin K, asam folat, dan biotin (Syarifah *et al.*, 2015)

Tumbuhan yang mengandung flavonoid adalah daun kelor. Zat aktif yang terkandung dalam daun kelor yang berpotensi sebagai antioksidan adalah berbagai jenis vitamin (A, C, E, K, B1, B2, B3, B6), flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan terpenoid. Daun kelor mengandung mineral, asam amino essensial, antioksidan seperti vitamin C dan E, flavonoid dan masih banyak yang lainnya (Nyoman *et al.*, 2013).

Berdasarkan uraian diatas, peneliti menguji tentang Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dan Uji Aktivitasnya sebagai Antioksidan.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang diajukan dalam penelitan ini adalah sebagai berikut.

- 1. Bagaimana cara isolasi senyawa flavonoid dalam daun kelor (*Moringa oleifera*)?
- 2. Bagaimanakah aktivitas antioksidan senyawa flavonoid pada daun kelor (*Moringa oleifera*)?

1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, tujuan penelitian ini adalah

- 1. Mengetahui cara mengisolasi senyawa flavonoid yang terdapat pada daun kelor (*Moringa oleifera*)
- 2. Mengetahui uji aktivitas antioksidan senyawa flavonoid pada daun kelor (Moringa oleifera)

1.4. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

- 1. Mengetahui kandungan antioksidan yang terdapat pada daun kelor (*Moringa oleifera*) agar masyarakat mengetahui kandungan antioksidan dan mengetahui manfaat yang terdapat dalam daun kelor sehingga dapat memanfaatkannya sebagai bahan baku untuk kesehatan.
- 2. Memberikan informasi baru kepada masyarakat luas bahwa daun kelor (*Moringa oleifera*) dapat dijadikan sebagai antioksidan alami.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom atau molekul elektron yang tidak berpasangan sehingga mengakibatkan sifatnya sangat tidak stabil. Hal ini karena radikal bebas mempunyai satu elektron atau lebih yang tidak berpasangan pada kulit luar. Elektron pada radikal bebas sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan protein, lipid, karbohidrat, atau asam deoksiribonukleat (DNA) sehingga terjadi perubahan struktur dan fungsi sel. Jika radikal bebas sudah terbentuk dalam tubuh, maka akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan radikal bebas baru (Winasih, 2007).

Reaksi ini dapat berakhir jika ada molekul yang memberikan elektron yang dibutuhkan oleh radikal bebas tersebut atau dua buah gugus radikal bebas membentuk ikatan non-radikal. Senyawa radikal bebas di dalam tubuh dapat merusak asam lemak tak jenuh ganda pada membran sel. Akibatnya, dinding sel menjadi rapuh. Senyawa oksigen reaktif ini juga mampu merusak bagian dalam pembuluh darah sehingga meningkatkan pengendapan kolesterol dan menimbulkan arterosklerosis, merusak basa DNA sehingga mengacaukan sistem info genetika, dan berlanjut pada pembentukan sel kanker. Mekanisme reaksi pembentukan radikal bebas dibagi menjadi 3 tahapan reaksi, yaitu:

a. Inisiasi

Merupakan tahap awal pembentukan radikal bebas. Pada tahap inisiasi asam lemak (RH) bereaksi dengan oksigen triplet, dan membentuk radikal lemak (R•) dan radikal peroksida (HOO•) dengan inisiator cahaya atau panas (Kesuma dan Rina, 2015). Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut.

$$RH + OH \rightarrow R^{\bullet} + H_2O$$

b. Propagasi

Merupakan awal pemanjangan rantai radikal atau reaksi, dimana radikal-radikal bebas akan diubah menjadi radikal-radikal bebas lainnya.

Pada tahap propagasi terjadi oksogenasi radikal lemak (R•) membentuk radikal peroksida (ROO•). Proses oksogenasi ini terjadi sangat cepat dengan aktivitas energi hampir mendekati nol, sehingga konsentrasi ROO• yang terbentuk jauh lebih besar. Konsentrasi R• dalam sistem makanan, yang oksidasi berada, radikal peroksida yang terbentuk akan bereaksi dengan asam lemak lain dan membentuk hidroperoksida dan radikal lemak baru (R'•) (Kesuma dan Rina, 2015). Reaksi yang terjadi dalam propagasi adalah sebagai berikut.

$$R \bullet + O_2 \longrightarrow ROO \bullet$$

 $ROO \bullet + RH \longrightarrow ROOH + R \bullet$

c. Terminasi

Merupakan senyawa radikal yang bereaksi dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal, sehingga potensi propagasinya rendah.

Konversi radikal peroksi dan alkil ke non radikal mengakhiri reaksi propagasi, sehingga mengurangi perpanjangan rantai kinetik. Reaksi terminasi yang signifikan terjadi ketika konsentrasi oksigen sangat rendah. Kombinasi radikal alkil menyebabkan *cross-linking*, yang mengakibatkan peningkatan viskositas dan berat molekul (Kesuma dan Rina, 2015). Reaksi yang terjadi dalam tahap terminasi adalah sebagai berikut

$$ROO \bullet + ROO \bullet \longrightarrow ROOR + O_2$$

 $ROO \bullet + R \bullet \longrightarrow ROOR$
 $R \bullet + R \bullet \longrightarrow RR$

Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh dan dari luar tubuh. Sumber dari dalam tubuh, yaitu proses oksidasi yang berlebihan, proses olahraga yang berlebihan, proses peradangan akibat menderita sakit kronik atau kanker, dan stress berat. Sumber dari luar tubuh, yaitu asap rokok, udara atau lingkungan yang tercemar, radiasi matahari atau kosmis, radiasi foto terapi (penyinaran), konsumsi obat-obatan termasuk kemoterapi, pestisida, dan zat kimia (Widiantara *et al.*, 2018).

Pembentukkan radikal bebas (*stress* oksidasi) merupakan suatu kondisi fisiologis yang memegang peranan penting dalam proses terjadinya suatu penyakit, serta proses penuaan. Umumnya sel bereaksi terhadap *stress* oksidasi ini

dengan meningkatkan sistem pertahanan antioksidan dan sistem pertahanan lain. Namun *stress* oksidasi berat dapat merusak secara permanen DNA, protein, dan lemak (Widiantara *et al.*, 2018)

2.2. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron* donor) atau reduktan. Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Menurut Winarsi (2007), Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Fungsi antioksidan adalah menetralisasi radikal bebas, sehingga tubuh terlindungi dari penyakit degeneratif.

Antioksidan menurut Toripah *et al.*, (2014) digolongkan menjadi 4 kelompok, berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antioksidan sintetik, primer, sekunder, dan tersier.

a. Antioksidan Sintetik

Senyawa antioksidan sintetik memiliki fungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai contoh antioksidan sintetik: ter-butil hidroksilanisol (BHA), ter-butil hidroksiltoluena (BHT), propil galat (PG), bahan pengkelat logam contohnya Etilen Diamintetraacetic Acid (EDTA), dan ter-butil hidrokuinon (TBHQ) (Hamid, 2010)

b. Antioksidan Primer (Antioksidan Endogenus)

Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis yaitu suatu senyawa yang bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru, atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif. Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, *glutation* peroksidase (GSH-PX), dan *glutation* reduktase (GSH-R). Enzim tersebut bekerja dengan cara melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas oksigen seperti anion superoksida (O₂⁻), radikal hidroksil (-OH), dan hidrogen peroksida (H₂O₂).

c. Antioksidan Sekunder (Antioksidan Eksogenus)

Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan non-enzimatis. Antioksidan non-enzimatis banyak ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan. Komponen yang bersifat antioksidan dalam sayuran dan buah-buahan meliputi vitamin C, vitamin E, β -karoten, flavanoid, isoflavon, flavon, antosianin, katekin, dan isokatekin. Kerja sistem antioksidan non-enzimatis yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Akibatnya, radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler.

d. Antioksidan Tersier

Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem enzim *DNA-Repair* dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas.

2.3. Daun Kelor

Kelor (*Moringa oleifera*) termasuk jenis tumbuhan perdu yang dapat memiliki ketinggian batang 7-11 meter. Di Jawa, kelor sering dimanfaatkan sebagai tanaman pagar. Pohon kelor tidak terlalu besar. Batang kayunya getas (mudah patah) dan cabangnya jarang tetapi mempunyai akar yang kuat. Daunnya berbentuk bulat telur dengan ukuran kecil-kecil bersusun majemuk dalam satu tangkai. Daun kelor (*Moringa oleifera*) ditunjukan pada Gambar 2.1. Klasifikasi Daun kelor menurut Syarifah *et al.* (2015) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Division : Spermatophyta

Sub Division : Angiospermae

Class : Dicotyledonae

Order : Brassicales

Family : Moringaceae

Genus : Moringa

Spesies : Moringa oleifera



Gambar 2.1 Daun Kelor (Sumber : Data Primer)

Kelor dapat berkembang biak dengan baik pada daerah yang mempunyai ketinggian tanah 300-500 meter di atas permukaan laut. Bunganya berwarna putih kekuning kuningan dan tudung pelepah bunganya berwarna hijau. Bunga kelor keluar sepanjang tahun. Buah kelor berbentuk segi tiga memanjang yang disebut klentang (Jawa), sedangkan getahnya yang telah berubah warna menjadi coklat disebut blendok (Jawa) (Nurhaini, 2014).

Tanaman kelor (*Moringa oleifera*), berasal dari kawasan sekitar Himalaya dan India, kemudian menyebar ke kawasan di sekitarnya sampai ke Benua Afrika dan Asia-Barat. Bahkan, di beberapa negara di Afrika, seperti di Etiopia, Sudan, Madagaskar, Somalia, dan Kenya, sekarang mulai dikembangkan pula di Arab Saudi dan Israel, menjadi bagian untuk program pemulihan tanah kering dan gersang, karena sifat dari tanaman ini mudah tumbuh pada tanah kering ataupun gersang, dan bila sudah tumbuh maka lahan di sekitarnya akan dapat ditumbuhi oleh tanaman lain yang lebih kecil, sehingga pada akhirnya pertumbuhan tanaman lain akan cepat terjadi (Kariadi *et al.*, 2006).

Tanaman kelor baru sampai menjadi tanaman pagar hidup, batas tanah ataupun penjalar tanaman lain, tetapi manfaat dari daun dan karangan bunga serta buah muda sebagai sayuran, sudah sejak lama digunakan. Sebagai tanaman berkhasiat obat, tanaman kelor mulai dari akar, batang, daun, dan bijinya, sudah dikenal sejak lama di lingkungan pedesaan. Seperti akarnya, campuran bersama kulit akar pepaya kemudian digiling, dihancurkan, banyak digunakan untuk obat

luar (balur) penyakit beri-beri. Daunnya ditambah dengan kapur sirih, juga merupakan obat kulit seperti kurap dengan cara digosokkan (Erika *et al.*, 2014).

Di lingkungan pedesaan, daunnya dapat digunakan sebagai sayuran. Sedangkan bunganya akan tetap dipelihara hingga menjadi buah dan menghasilkan biji yang dapat dijual kepada perusahaan asing yang memerlukan untuk pembuatan tepung atau minyak sebagai bahan baku pembuatan obat dan kosmetik bernilai tinggi. Salah satu sifat yang menguntungkan untuk membudidayakan pohon kelor yang sudah diketahui sejak lama, yaitu minimnya penggunaan pupuk dan jarang diserang hama (oleh serangga) ataupun penyakit (oleh mikroba). Biaya untuk pemupukan dan pengontrolan hama dan penyakit relatif sangat murah. Berdasarkan pengalaman para petani kelor yang sudah lama berkecimpung, diketahui bahwa pemupukan yang baik adalah berasal dari pupuk organik, khususnya berasal dari kacang-kacangan (misal kacang hijau, kacang kedelai ataupun kacang panjang) yang ditanamkan sekitar pohon kelor (Winarsi, 2007).

Penggunaan tanaman kelor sebagai bahan berkhasiat obat di kawasan tersebut adalah akarnya sangat baik untuk pengobatan malaria, mengurangi rasa sakit, penurun tekanan darah tinggi, dan sebagainya, sedang daunnya untuk penurun tekanan darah tinggi, diare, diabetes melitus (kencing manis), dan penyakit jantung. Kandungan kimia dari akar dan daun kelor mengandung zat yang berasa pahit dan pedas. Biji kelor juga mengandung minyak dan lemak. Juga kandungan senyawa yang terdapat pada serbuk biji kelor memiliki sifat antimikroba, khususnya terhadap bakteri. Sehingga apabila di dalam air terdapat bakteri *Coli* (salah satu yang disyaratkan tidak terdapat di dalam air minum), akan tereduksi atau mati (Wihastuti *et al.*, 2007).

2.3.1. Kandungan Kimia Daun Kelor

Kandungan kalsium dalam daun kelor ternyata memiliki kandungan empat kali lebih banyak dibandingkan dengan kalsium susu. Selain nutrisi umum tersebut diatas, ternyata daun kelor juga memiliki kandungan jenis-jenis asam amino essensial yang dibutuhkan bagi tubuh. Asam amino ini sangat berperan dalam proses pertumbuhan otot pada tubuh.

Beberapa jenis asam amino yang terdapat dalam daun kelor antara lain asam amino, histidin, isoleusina, leusin, lisin, metionina, fenilalanina, treonina, triptofan dan valina. Beberapa asam amino ini sangat dibutuhkan dalam proses pertumbuhan tubuh, sehingga tidak heran daun kelor sangat baik untuk diberikan kepada bayi ataupun anak dalam masa pertumbuhan, untuk menunjang pertumbuhan badannya (Kasolo *et al.*, 2010).

Kandungan utama beberapa kandungan daun kelor ini ternyata akan lebih tinggi jika daun kelor diolah terlebih dahulu menjadi bentuk kering atau tepung. Zat nutrisi yang terdapat dalam daun kelor adalah kalsium, potassium, kalium, vitamin A dan C (Ketaren, 2008).

2.4. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu metode yang digunakan dalam proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan sejumlah pelarut. Prinsip metode ekstraksi adalah perpindahan komponen zat ke dalam pelarut, yang perpindahan nya mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut.

Ekstraksi dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu cara dingin dan cara panas. Cara dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi. Maserasi merupakan proses ekstraksi pada temperatur ruangan menggunakan pelarut selama beberapa hari dengan beberapa kali pengadukan dan ekstrak dipisahkan dengan penyaringan. Prosedur diulangi satu atau dua kali dengan pelarut segar. Maserasi dapat mencegah terurainya metabolit sekunder yang tidak tahan panas. Perkolasi adalah ekstraksi yang umum dilakukan pada suhu ruangan dengan pelarut yang selalu baru. Prinsip kerja dari prosedur ini adalah simplisia dimasukkan ke dalam perkolator dan pelarut dialirkan dari atas melewati samplisia sehingga zat terlarut mengalir ke bawah dan ditampung. Metode ini lambat dan membutuhkan banyak pelarut (Febriansah, 2015).

Cara panas terdiri dari refluks, sokhlet, digesti, infus, dan dekok. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut menggunakan temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas dan relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga proses ekstraksi sempurna Rohyani *et al.*, (2015). Sokhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru dengan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi berkesinambungan dengan jumlah pelarut relatif konstan karena adanya pendingin balik. Digesti adalah cara kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur lebih tinggi dari temperatur ruangan, umumnya dilakukan pada suhu 40 - 50° C. Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada penangas air mendidih dalam suhu 96 -98° C selama waktu 15- 20 menit. Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama > 30 menit dan temperatur sampai titik didih air (Saputra *et al.*, 2013).

Penelitian ini menggunakan cara maserasi untuk mengambil ekstrak daun kelor karena maserasi lebih sederhana namun efektif untuk mengambil ekstrak yang murni daripada metode ekstrak lainnya. Menurut Mukhriani (2014) cara maserasi baik untuk skala kecil maupun skala industri. Maserasi metode yang paling banyak digunakan karena sesuai untuk mengisolasi senyawa flavonoid yang biasanya rusak pada temperatur tinggi.

2.5. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu jenis komponen yang terkandung dalam tanaman, dan dapat ditemukan pada semua tanaman vaskuler. Flavonoid adalah komponen yang mempunyai berat molekul rendah, dan pada dasarnya merupakan *phenylbenzopyrones (phenylchromones)* dengan berbagai variasi pada struktur dasarnya, yaitu tiga cincin utama yang saling melekat. Struktur dasar flavonoid adalah rangkaian cincin karbon C (Febriansah, 2015). Struktur kimia flavonoid dapat dilihat dalam Gambar 2.2

Gambar 2.2. Struktur kimia Flavonoid (Auron)

Flavonoid terdistribusi secara luas pada tanaman, yang memiliki berbagai fungsi, termasuk berperan dalam memproduksi *pigmen* berwarna kuning, merah, atau biru pada bunga dan sebagai penangkal terhadap mikroba dan *insekta*. Flavonoid memiliki ikatan difenilpropana (C₆-C₃-C₆) yang diketahui sebagai antimutagenik dan antikarsinogenik. Selain itu senyawa ini juga memiliki sifat sebagai antioksidan, anti peradangan, anti alergi, dan dapat menghambat oksidasi dari LDL (*Low Density Lipoprotein*) (Huliselan, 2015).

Jenis utama flavonoid adalah antosianidin, flavonol, flavon, flavonol, khalkon, auron, flavonon, dan isoflavon. Flavonol dan flavon merupakan senyawa yang tersebar luas dari semua pigmen tumbuhan kuning. Flavonol dan flavon yang terdapat dalam tanaman, biasanya dalam bentuk O-glikosida. Perbedaan yang paling utama antara flavonol dan flavon yaitu pada flavonol terdapat gugus hidroksi pada gugus C₃. Kedua senyawa ini banyak terdapat pada bagian daun dan bagian luar dari tanaman, dan hanya sedikit yang ditemukan pada bagian tanaman yang berada di permukaan tanah (Latifah, 2015).

Penelitian tentang daun kelor menurut Chukwuebuka (2015) menunjukkan bahwa hasil *skrining* fitokimia dari daun kelor mengandung senyawa metabolit sekunder di antaranya flavonoid, alkaloid, steroid, tanin, saponin, antrakuinon dan terpenoid. Selain itu, Lutfiana (2013), dari hasil fitokimia fraksi etil asetat daun kelor mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin.

Pada tabel 2.1 dapat dilihat pada penelitian yang dilakukan oleh (Silverstein *et al.*, 2005) menggunakan Spektofotometer UV-Vis dan FTIR menunjukkan bahwa daun kelor mengandung seyawa flavonoid.

Tabel 2.1. Analisis Spektrum Inframerah (IR) isolat

Jenis	Tipe Senyawa	Daerah frekuensi
Ikatan	• •	(cm ⁻¹)
C-H	Alkana	2850-2970
		1340-1470
	Alkena	3010-3095
		675-995
	Alkuna	3300
	Cincin aromatik	3010-3100
		690-900
О-Н	Fenol, monomer alkohol, alkohol	3590-3650
	Ikatan Hidrogen, fenol	3200-3600
	Monomer asam karboksilat,	3500-3650
	Ikatan hidrogen asam karboksilat	2500-2700
N-H	Amina, amida	3300-3500
C=C	Alkena	1610-1680
	Cincin aromatik	1500-1600
C≡C	Alkuna	2100-2260
C-N	Amina, amida	1180-1360
C≡N	Nitril	2210-2280
C-O	Alkohol, eter, asam karboksilat, ester	1050-1300
C=O	Aldehid, keton, asam karboksilat,	1690-1760
	Ester	
NO_2	Senyawa nitro	1500-1570
	-	1300-1370

(Sumber: Silverstein et al., 2005).

Daun kelor mengandung berbagai zat kimia yang bermanfaat. Kandungan fitokimia dalam daun kelor diantaranya tanin, steroid dan triterpenoid, flavonoid, saponin, antarquinon, dan alkaloid serta mengandung mineral, asam amino esensial, antioksidan, dan vitamin (Hardiyanthi, 2015). Menurut Khalil (2017) daun kelor (*Moringa oleifera*) dapat digunakan sebagai antioksidan alami dengan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas.

Penelitian Yuszda *et al.*, (2018) menjelaskan bahwa terdapat senyawa flavonoid dalam daun kelor. Berdasarkan ketiga hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa daun kelor mengandung senyawa metabolit sekunder terutama flavonoid.

2.6. Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas dapat dilakukan dengan beberapa metode. Metode pengukuran aktivitas antioksidan menurut Widyastuti (2010) diantaranya adalah sebagai berikut.

a. Metode CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*) menggunakan bis (neokuproin) tembaga (II) (Cu(Nc)₂²⁺) sebagai pereaksi kromogenik. Pereaksi Cu(Nc)₂²⁺ yang berwarna biru akan mengalami reduksi menjadi (Cu(Nc)²⁺ yang berwarna kuning dengan reaksi:

$$n \text{ Cu(Nc)}_2^{2+} + A_R(OH)_n \rightarrow n \text{ Cu(Nc)}_2^{2+} + AR(=H)_n + n \text{ H}^+$$

b. Metode DPPH menggunakan *1,1 –diphenyl-2-picylhydrazyl* sebagai sumber radikal bebas. Prinsipnya adalah reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan. Reaksi disajikan dalam bentuk Gambar 2.3

$$+ RH$$
 NO_2
 NO_2
 NO_2
 NO_2
 NO_2
 NO_2
 NO_2

1,1 –difenil-2-pikrihidrazin Antioksidan 1,1-difenil-2-

pikrilhidrazin

Gambar 2.3 Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan

c. Metode FRAF (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) menggunakan Fe(TPTZ)₂³⁺ kompleks besi ligan 2,4,6-tripiridil-triazin sebagai pereaksi. Kompleks biru Fe(TPTZ)₂³⁺ yang berwarna kuning dengan reaksi berikut.

$$Fe(TPTZ)_2^{3+} + A_ROH \rightarrow Fe(TPTZ)_2^{2+} + H^+ + AR=O$$

Dalam hal ini peneliti menggunakan metode DPPH sebagai uji aktivitas antioksidan dalam daun kelor. Metode DPPH merupakan analisis untuk mengetahui aktivitas antioksidan menggunakan DPPH (1,1 –diphenyl-2-picylhydrazyl). Analisis dari DPPH digunakan sebagai uji dalam mencari kemampuan menangkap radikal suatu senyawa dalam ekstrak tumbuhan. DPPH adalah komponen yang berwarna ungu yang tidak berdimerisasi dan berbentuk kristalin. Dalam metode ini, DPPH akan mentransfer elektron atau atom hidrogen ke radikal bebas sehingga menyebabkan karakter radikal bebas ternetralisasi.

Intensitas warna dari larutan uji diukur melalui spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang sekitar 517 nm. Keuntungan metode DPPH adalah lebih sederhana dan waktu analisis yang lebih cepat dibandingkan dengan metode CUPRAC dan FRAF. Reaksi yang terjadi antara DPPH dan senyawa antioksidan disajikan pada gambar.2.4

Radikal Bebas DPPH- DPPH-H

Gambar 2.4 Reaksi antara DPPH⁻ dengan antioksidan membentuk DPPH-H

Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan mudah untuk *skrining* aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat, *reliabel* dan praktis (Chanda dan Dave, 2009). Berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan maka dihitung % inhibisi dengan rumus sebagai berikut.

$$\%$$
 Inhibisi = $\frac{\text{Ablanko} - \text{Asampel}}{\text{Ablanko}} \times 100\%$

Keterangan :

Ablanko : Absorbansi pada DPPH tanpa sampel

Asampel : Absorbansi pada DPPH setelah ditambah sampel

Hasil % inhibisi tersebut dimasukkan dalam persamaan linier dengan persamaan Y=aX+b.

Y = % Inhibisi

a = Gradien

b = Konstanta.

X = konsentrasi (ppm)

(Toripah et al., 2014).

Larutan DPPH yang berisi ekstrak sampel diukur serapan cahaya dan dihitung aktivitas antioksidannya dengan menghitung presentase inhibisi. Persentase inhibisi yaitu banyaknya aktivitas senyawa antioksidan yang menangkap radikal bebas DPPH. Parameter yang juga digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan dari sampel formulasi ekstrak adalah IC₅₀. IC₅₀ merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal bebas sebesar 50%.

Tabel 2.2 Parameter Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Parameter	Keterangan
IC ₅₀ <50 ppm	Sangat Kuat
50 – 100 ppm	Kuat
100 - 150 ppm	Sedang
150 – 200 ppm	Lemah

(Molyneux, 2004).

Semakin kecil nilai IC $_{50}$ berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC $_{50}$ kurang dari 50 µg/ml, kuat apabila nilai IC $_{50}$ antara 50-100 µg/ml, sedang apabila nilai IC $_{50}$ berkisar antara 100-150 µg/ml, dan lemah apabila nilai IC $_{50}$ berkisar antara 150-200 µg/ml (Molyneux, 2004).

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, didapat beberapa kesimpulan sebagai berikut:

- 1. Ekstrak etil asetat daun kelor diisolasi dengan pemisahan pada kromatografi lapis tipis untuk mendapatkan hasil yang terbaik kemudian dilanjutkan kromatografi kolom gravitasi dengan pelarut *n*-heksana : etil asetat sehingga didapatkan isolat murni dengan perbandingan 7:3 Rf 0,025
- 2. Ekstrak etil asetat daun kelor menunjukkan adanya aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH yang mempunyai nilai IC₅₀ sebesar 85,66 ppm dan dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan kuat.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian, perlu adanya optimasi dalam metode ekstraksi yaitu lamanya ekstraksi, rasio perbandingan jumlah pelarut dan simplisia agar dapat memaksimalkan ekstrak yang diperoleh dari daun kelor. Selain itu juga diperlukan pengujian dan analisis LC- MS untuk mengetahui senyawa flavonoid yang lebih detail pada daun kelor.

DAFTAR PUSTAKA

- A, Amin., Wunas J., Anin Y. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Klika Faloak (*Sterculia quadrifida R.Br*) Dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Makasar. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2):111-114.
- Asih, I.A.R.A., I.W. Sudiarta & A.A.W. Suci. (2015). Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Flavonoid Ekstrak Etanol Daging Buah Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav.*). Jurnal Kimia, 9(1):35-40
- Chanda, S., dan R. Dave. (2009). In vitro Models for Antioxidant Activity Evaluation and Some Medicinal Plants Possessing Antioxidant Properties: An overview. *African Journal of Microbiology Research*, 3(13): 981-996.
- Chang, C. C., Yang, M.H., Chern, J.C. (2002). Estimation of Total Flavonoid

 Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods.

 Journal of Food and Drug Analysis 10: 178-182.
- Chukweubuka, E., 2015, Moringa oleifera "The Mother's Best Friend", Int. J. of Nutrition and Food Sciences., 4(6), 624-630.
- Creswell, C.J., O.A. Runquist & M.M. Campbell. (1982). Analisis Spektrum Senyawa Organik. Edisi ke-2. Terjemahan: Kokasih Padmawinata dan Ny. Iwang Soediro. Bandung: ITB
- Darmawati, A.A.S.K., I.G.A.G. Bawa & I.W. Suirta. (2015). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid Pada Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus Lmk*) Dan Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus. Jurnal Kimia, 9(2):203-210
- Delviana. (2017). Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Daun Okra (*Abelmoschus esculentus Moench*.). Skripsi. Sumatera: Universitas Sumatera Utara.
- Erika, B, R., Dellima, M., dan Sulistyawati, R., (2014). Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH oleh Fraksi N-Heksan dan Fraksi Etil Asetat Daun *Kelor*

- (Moringa Oleifera, Lamk). Media Farmasi. Vol 11. Akademi Analis Farmasi Al Islam. Yogyakarta.
- Febriansah, Eka Maryana. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Selada laut (Ulva lactuca L.) dengan Ekstraksi Bertingkat Menggunakan Metoda DPPH. *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba 2015*. ISSN: 2460-6472.
- Fessenden, R.J. & J.S. Fessenden. (1986). Kimia Organik. Edisi ketiga. Jilid 1. Terjemahan: Aloysius Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga
- Fitriana, Wiwit Denny. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan BTS dari Fraksi-Fraksi Daun Kelor (Moringa Oleifera). Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains 2015 (SNIPS 2015).
- George, V. Cijo, D. R Naveen Kumar, P. K. Suresh, & R. Ashok Kumar. (2015).
 Antioxidant, DNA protective effecacy and HPLC analysis of Annona muricata (soursop) extracts. Journal of Food Science and Technology, 52(4):2238-2335
- Giner, Maslebu. (2010). Kombinasi Teknik Kromatografi Kolom GravitasiSpektrometer Sederhana Sebagai Permodelan Kromatografi Cairan Kerja Tinggi (KCKT). *Prosiding Seminar Nasional SAINS dan Pendidikan SAINS VII UKSW*.
- Hallwel. 2012. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. International Journal. Nutrition Reviews. 70(5):257–265.
- Hamid, A. (2010) Antioxidants: Its medicinal and pharmacological Applications.

 African Journal of Pure and Applied Chemistry. 4(8):142-151
- Hardiyanthi F. 2015. Pemanfaatan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera) dalam Sediaan Hand And Body Cream [Skrips]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Harmita. (2006). Analisis Fisikokimia. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI. Hal:205-211
- Huliselan, Yosina M. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan nHeksan dari Daun Sesewanua (Clerodendron squamatum Vahl.)". *Ilmiah Farmasi* 4(3):155-163.

- Juniarti, Delvi,O., dan Yuhernita. (2009). Kandungan Senyawa kimia, Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) dan Antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikrilhydrazyl) Dari Ekstrak Daun Saga (Abrus precatorius L). Makara Sains, 13(1): 50-54
- Kariadi, R.V., Gadge N.B., Alawadi, K.R. and Savadi R.V., (2006). Efect of *Moringa oleifera* lam. root-wood on ethylene glycol induced urolithiasis in rats, *J Ethopharmacol*; 105 (1-2): 306311.
- Kasolo, J.N., Bimeya. G.S., Ojok, L., Ochieng, J., Okwal-okeng, J.W. (2010). Phytochemicals and Uses of *Moringa oliefera* Leaves in Ugandan Rural Communities. *Journal of Medical Plant Research*. 4(9): 753-757.
- Khalil, M. 2017. Analisis Kadar α-Tokoferol (Vitamin E) Dalam Daun Kelor (Moringa oleifera Lam) Dari Daerah Pesisir Dan Pegunungan Serta Potensinya Sebagai Antiooksidan. Makasar. ISSN: 2477-5398. Kovalen, 3(1): 78 – 88.
- Kelly, S. G. (2011). Quersetin. Alternative Medicine Review.16: 2.
- Ketaren, S. (2008). Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. Jakarta, Universitas *Indonesia Press (UIPress)*.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., dan Kurniadi, B. (2008). Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kurniasih. (2013). Khasiat dan Manfaat Daun Kelor Untuk Penyembuhan Berbagai Penyakit. Cetakan I. *Pustaka Baru Press*. Yogyakarta.
- Latifah. (2015). Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur Kaempferia galangal L. dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)". Skripsi. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Lutfiana. (2013). Uji Aktivitas Antiimflamasi Eksrtak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lamk.*) Dengan Metode Stabilisasi Membrane Sel Darah Merah Dengan Metode *In Vitro*. (Skripsi). Jakarta: *UIN Syarif Hidayatullah*.
- Markham, K. R. (1988). Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Bandung: Penerbit ITB.

- Molyneux, Philip.2004. The Use of The Stable Free Radical *Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH)* for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal Science Technology*, 26(2):211-219
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa Metabolit Sekunder Antihiperglinik Dari Biji Mahoni (*Switenia macrophylla*, King). *Disertasi*. UGM: Yogyakarta.
- Mursiti, S. (2015). Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Antihiperglikemik Dari Biji Mahoni (Swietenia macrophylla, King). *Disertasi*. UGM: Yogyakarta
- Ningrum, D. W., Kusrini, D., & Fachriyah, E. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etanol Daun Johar (Senna siamea Lamk). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 20(3), 123.
- Nyoman, F. 2013. Butylated hydroxyanisole sebagai Bahan Aditif Antioksidan pada Makanan dilihat dari Perspektif Kesehatan. Kemenkes RI. Jurnal Kefarmasian Indonesia.4.(1):41-50.
- Nurhaini, Farisya. (2014). Aktivitas Antioiksidan Ekstrak Etanolik Berbagai Jenis Sayuran Serta Penentuan Kandungan Fenolik Dan Flavonoid Totalnya, *Media Farmasi*, (Vol. 11, No. 2, 2014).
- Pardede, A., (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol dari Kulit Batang Manggis (*Garcinia cymosa*). *Media Sains*. 6 (2): 60-66.
- Rizkayanti. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (Moringa Oleifera LAM). Palu.Jurnal Akademika Kimia. Vol 6, No. 2, 2017: 125-131.
- Rochmasari, Y. (2011). Study Isolasi Penentuan Struktur Molekul Senyawa Kimia Dalam Fraksi Netral Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava L.*). *Skripsi*. Depok: FMIPA UI.
- Rohyani, I, S., Aryani, E., dan Suripto. (2015). Kandungan Fitokimia Beberapa Jenis Tumbuhan Lokal yang Sering Dimanfaatkan sebagai Bahan Baku Obat di Pulau Lombok. Volume 1. Nomor 2. *Program Studi Biologi FMIPA Universitas Mataram. Mataram, ISSN: 2407-8050.* 1(2): 388-391
- Saputra, I., Prihandini, G., Zullaikah, S., dan Rachimoellah, M., (2013). Ekstraksi Senyawa Bioaktiv dari Daun *Moringa oleifera*. *Jurnal Teknik POMITS Vol*

- 2. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Susmayanti, W., Fachriyah, E., Kusrini, D., (2012). Isolasi, Identifikasi dan Uji Sitotoksik Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera cordiforlia (teens) Stennis*). Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi 15 (3): 88 93
- Sutrisno, Lisawati. (2011). Efek Pemberian Ekstrak Methanol Daun Kelor (*Moringa oliefera*) Menigkatkan Apoptosis Pada Sel Epitel Kolon Tikus (*Rattus norvegius*) Wistar Yang Diinduksi 7,12 Dimetilbenz (α) Antrasen (DMBA). Skripsi. Universitas Brawijaya.
- Syahril, A., N. Bialangi & H. Iyabu. 2015. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Ekstrak Metanol Daun Pecut Kuda. *Jurnal Pendidikan Kimia Universitas Negeri Gorontalo*, 3(1):1-10
- Syarifah, A., Ramdhan T., Yanis M. (2015). Kandungan Nutrisi dan Sifat Fungsional Tanaman Kelor (Moringa oleifera). Jakarta. Buletin Pertanian Perkotaan 5:2
- Toripah, S, S., Abidjulu, J., dan Wehantouw, F., (2014). Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lamk*). Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Samratulangi. Manado.
- Wayan, D. (2016). Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) di Bali. Indonesia Medicus Veterinus. 5(5): 464-473.
- Widiantara, T., Yusman, T., Garnida, Y., dan Yulianti D., (2018). Aktivitas Antioksidan beberapa Ekstrak Kacang Koro (*Canavalia ensiformis*) menggunakan Uji DPPH. Bandung. Vol. 6 No. 1: 30-33
- Widyastuti, N. (2010). Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP Serta Korelasinya Dengan Fenol dan Flavonoid Pada Enam Tanaman, *Departemen kimia Fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam Institut pertanian bogor*. Bogor.
- Wihastuti, T, A., Sargowo, D., dan Rohman, M, S., (2007). Efek Ekstrak Daun *Kelor (Moringa Oleifera)* Dalam Menghambat Aktifasi NFkb, Ekspresi

- Tnf-α dan Icam-1 pada *HUVECS* yang Dipapar LDL Teroksidasi. *Jurnal Kardiologi Indonesia*. Vol 28. Universitas Brawijaya. Malang.
- Winarsi, Hery. (2007). Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Kanisius. Yogyakarta.
- Wiranto, A., Ekonomi, F., & Bisnis, D. A. N. (2017). Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Etil Asetat Kulit Buah Pisang Kepok (*Musa paradisiaca var Kepok*). *Skripsi*. Uin alauddin makassar 2017.
- Yuspihana, Fitrial, Made Astawan, Soewarno S. Soekarto, Komang G. Wiryawan, Tutik Wresdiyati, dan Rita Kairina. (2008). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Teratai (Nymphaea pubescens Willd) Terhadap Bakteri Patogen Penyebab Diare. J. Teknol. dan Industri Pangan, 19(2): 158-164.
- Yuszda K. Salimi, Nurhayati Bialangi, Saiman. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Kelor (*Moringa oliefera*). *Skripsi*. Universitas Negeri Gorontalo