

PENGUKURAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.) MENGGUNAKAN METODE FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

St. Maryam*), Muzakkir Baits*), Ainun Nadia*)

*)Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makassar

Email: st.maryam_apt@yahoo.com

ABSTRACK

Measurement of antioxidant activity of ethanol extract of Marunggai leaves (Moringa oleifera Lam) was conducted. The aim research to obtain antioxidant activity using FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Marunggai leaves (Moringa oleifera Lam.) were extracted using maceration method by ethanol 96 %. Free radical activity absorbance was measured with a spectrophotometer at a wavelength of 720 nm and the total value of antioxidant activity was calculated based on the data absorbance. The calculations showed that Marunggai leaves (Moringa oleifera Lam.) have the antioxidant activity with the value 7,923 mg AAE/g extract.

Keywords: Antioxidant, ethanol extract of *Moringa oleifera* Lam., FRAP.

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan di kulit terluarnya (Winarsi, 2007). Radikal bebas berperan penting pada terjadinya arterosklerosis, penyakit jantung koroner, stroke, kanker, gagal ginjal, dan proses penuaan manusia (Kumalaningsih, 2006; Youngson, 2005). Meskipun manusia juga dapat memproduksi senyawa-senyawa yang dapat berperan aktif dalam menanggulangi radikal bebas, seperti enzim SOD (superoksida dismutase), glutathione, dan katalase, namun jumlahnya seringkali tidak mencukupi, oleh sebab itu dibutuhkan asupan makanan yang banyak mengandung antioksidan seperti vitamin C, E, betakaroten, maupun antioksidan fitokimia dari golongan fenolik, sehingga dapat melindungi dari serangan radikal bebas. Sumber antioksidan alami ini dapat diperoleh dari buah-buahan dan sayur-sayuran (Kumalaningsih, 2006).

Salah satu tanaman yang banyak mengandung antioksidan ditemukan dalam tumbuhan kelor (*Moringa oleifera* Lam.), salah satunya pada bagian daun. Penelitian sebelumnya terhadap ekstraksi daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang tinggi dalam proses *in vivo* dan *in vitro* (Chumark, *et al.*, 2008), selain itu dalam daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) kaya akan *phytochemicals*, karoten, vitamin, mineral, asam amino, senyawa flavonoid dan *phenolic* (Anwar, *et al.*, 2007).

Beragam metode pengukuran telah dikembangkan untuk mengukur karakteristik total antioksidan, tetapi tidak ada yang benar-benar ideal.

Metode pengukuran aktivitas antioksidan tersebut akan mendeteksi karakteristik yang berbeda dari antioksidan dalam sampel, hal ini menjelaskan mengapa metode pengukuran aktivitas yang berbeda akan mengacu pada pengamatan mekanisme kerja antioksidan yang berbeda pula (Hasanbaglou, *et al.*, 2012). Beberapa metode yang dilakukan yaitu DPPH, CUPRAC, FRAP.

Benzie & Strain (1996) mengemukakan bahwa metode FRAP adalah metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam tumbuh-tumbuhan. Kelebihan metode FRAP ini yaitu metodenya murah, reagensinya mudah disiapkan dan cukup sederhana dan cepat. Metode ini dapat menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut (Halvorsen, *et al.*, 2002).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya pada penelitian ini akan dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Prinsip dari uji FRAP adalah reaksi transfer elektron dari antioksidan ke senyawa Fe^{3+} -TPTZ. Senyawa Fe^{3+} -TPTZ sendiri mewakili senyawa oksidator yang mungkin terdapat dalam tubuh dan dapat merusak sel-sel.

II. MATERIAL DAN METODE PENELITIAN

A. Material

Material yang digunakan yaitu batang pengaduk, blender, corong, labu erlenmeyer, gelas arloji, gelas kimia (Pyrex®), labu ukur (Pyrex®),

mikropipet, oven (*Memmert*®), penjepit tabung, pH meter, pipet tetes, pipet ukur, pipet volum, pisau, sentrifuge, spektrofotometer UV-Visible, tabung reaksi, tabung sentrifuge, timbangan analitik, sedangkan bahan yang digunakan adalah aquades, asam askorbat, asam oksalat 1%, asam trikloroasetat 10%, FeCl₃ 0,1%, dapar fosfat (0,2 M pH 6,6), ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.), etanol 96%, kalium ferrisianida 1%, kertas saring.

B. Metode

1. Jenis Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara ekperimental dengan menggunakan metode FRAP untuk membuktikan adanya aktivitas antioksidan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) di Laboratorium Kimia Farmasi.

2. Populasi dan Sampel

Material yang digunakan adalah daun kelor yang diperoleh dari Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan.

3. Cara Kerja

a. Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dibersihkan dari kotoran yang melekat pada daun menggunakan air mengalir lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering diblender, lalu siap untuk diekstraksi dengan metode maserasi.

b. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelor

Simplisia daun Kelor dalam bentuk serbuk sebanyak 300 g dimasukan kedalam wadah toples. Ditambahkan etanol 96% hingga simplisia tersebut terendam, dibiarkan selama 3 hari dalam bejana tertutup dan terlindung dari cahaya sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 3 hari simplisia disaring dan ampasnya direndam lagi dengan cairan penyari yang baru, hal ini dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil penyarian yang didapat kemudian dikumpulkan dan diuapkan hingga diperoleh ekstrak etanol yang kental.

c. Penyiapan Pada Sampel Ekstrak Etanolik

Ekstrak etanol ditimbang dengan 3 replikasi yaitu masing-masing 5 mg. Masing-masing ekstrak dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 5 mL kemudian dihomogenkan.

d. Penyiapan Larutan Kurva Baku

Larutan stok 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 25 mg asam askorbat yang dilarutkan dengan asam oksalat 1% hingga batas labu ukur 25 mL. Selanjutnya dari larutan stok 1000 ppm diambil

masing-masing 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; dan 1,0 mL dan ditempatkan dalam labu ukur 10 mL yang berbeda dan diencerkan dengan asam oksalat 1% hingga 10 mL dan dihomogenkan. Konsentrasi larutan standar 1000 ppm asam askorbat yakni 60, 70, 80, 90, 100 ppm.

e. Penyiapan Pada Larutan

1. Larutan Dapar Fosfat 0,2 M pH 6,6

Larutan disiapkan dengan menimbang 2 gram NaOH dan dilarutkan dengan aquades bebas CO₂ hingga tepat 250 mL dalam labu takar. Kemudian sebanyak 6,8 gram KH₂PO₄ yang dilarutkan dengan aquades bebas CO₂ 250 mL dalam labu takar. Kemudian dipipet sebanyak 16,4 mL NaOH dimasukkan dalam labu takar dan dicampurkan 50 mL KH₂PO₄, selanjutnya diukur sampai pH 6,6 dan dicukupkan dengan aquades bebas CO₂ hingga 200 mL.

2. Larutan oksalat 1%

Larutan disiapkan dengan melarutkan 1 gram asam oksalat dalam air bebas CO₂ dan diencerkan dalam labu takar 100 mL.

3. Larutan Kalium Ferrisianida 1%

Larutan disiapkan dengan melarutkan 1 gram kalium ferrisianida dalam aquades dan diencerkan dalam labu takar 100 mL.

4. Larutan FeCl₃ 0,1%

Larutan disiapkan dengan melarutkan 0,1 gram FeCl₃ dalam aquades dan diencerkan dalam labu takar 100 mL.

5. Larutan asam trikloroasetat (TCA) 10%

Larutan disiapkan dengan melarutkan 10 gram TCA dalam aquades dan diencerkan dalam labu takar 100 mL

6. Aktivitas Antioksidan dengan Metode FRAP

Sebanyak 5 mg ekstrak dilarutkan dalam 5 mL etanol 96%, lalu dipipet 1 mL, ditambahkan 1 mL dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 mL K₃Fe(CN)₆ 1% setelah itu, diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 50°C. Setelah diinkubasi ditambahkan 1 mL TCA lalu disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifuge dipipet 1 mL lapisan bagian atas kedalam tabung reaksi, dan ditambahkan 1 mL aquades dan 0,5 mL FeCl₃ 0,1%. Larutan didiamkan selama 10 menit dan diukur absorbansinya pada 720 nm. Sebagai blanko digunakan campuran larutan oksalat. Kurva kalibrasi dibuat menggunakan larutan asam askorbat dengan berbagai konsentrasi. Nilai FRAP dinyatakan dalam mg equivalen asam askorbat/ gr ekstrak.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Tabel 1. Hasil pengukuran absorbansi larutan perbandingan asam askorbat ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

Konsentrasi (ppm)	Abs
60	0.261
70	0.383
80	0.491
90	0.591
100	0.693

Tabel 2. Hasil pengukuran absorbansi dan nilai aktivitas antioksidan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

Ekstrak etanol daun kelor	Absorbansi (720 nm)	Aktivitas Antioksidan (mgAAE/g ekstrak)
Replikasi 1	0,336	7,09
Replikasi 2	0,443	8,16
Replikasi 3	0,479	8,52

B. Pembahasan

Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) merupakan salah satu tanaman yang banyak mengandung antioksidan, salah satunya pada bagian daun. Penelitian sebelumnya terhadap ekstraksi daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang tinggi dalam proses *in vivo* dan *in vitro* (Chumark, *et al.*, 2008).

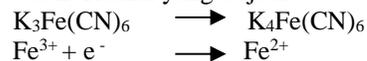
Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kapasitas antioksidan yang ada dalam sampel ekstrak daun kelor. Beberapa metode telah dikembangkan untuk mengukur aktivitas antioksidan suatu sampel. Pada penelitian ini aktivitas antioksidan diukur melalui uji FRAP. Uji FRAP ini dipilih karena prosedurnya yang sederhana, metodenya murah, cepat dan reagen yang digunakan cukup sederhana serta tidak menggunakan alat khusus untuk menghitung total antioksidan.

Pengujian FRAP telah digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan karena sederhana dan cepat. Disamping itu, reaksinya direproduksi dan linear yang berkaitan pada konsentrasi molar dari antioksidan. Namun, beberapa kerugian ditemukan dalam metode ini yang tidak bereaksi cepat dengan beberapa antioksidan seperti glutathion.

Antioksidan adalah senyawa yang menyumbangkan elektron tunggal atau atom hidrogen untuk reduksi (Rabeta & Faranisa, 2013).

Larutan standar yang digunakan adalah asam askorbat. Asam askorbat digunakan sebagai pembanding karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Vitamin C termasuk golongan antioksidan sekunder yang mampu menangkai berbagai radikal bebas ekstraseluler. Hal itu dikarenakan vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan jika mempunyai gugus polihidroksi akan meningkatkan aktivitas antioksidan (Kim, 2005).

Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan uji FRAP ini dengan larutan asam askorbat sebagai standar. Penambahan TCA bertujuan agar kompleks kalium ferrosianida mengendap. Penambahan FeCl_3 juga bertujuan untuk membentuk kompleks berwarna hijau sampai biru (biru berlin). Daya reduksi merupakan indikator potensi suatu senyawa antioksidan. Daya reduksi dalam hal ini diukur dari kemampuan suatu antioksidan untuk mengubah Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} (Kim, 2005). Senyawa yang mempunyai daya reduksi kemungkinan dapat berperan sebagai antioksidan karena dapat menstabilkan radikal dengan mendonorkan elektron atau atom hidrogen sehingga senyawa radikal berubah menjadi lebih stabil. Reaksi yang terjadi :



Hasil regresi dari konsentrasi (x) dengan nilai absorbansi (y) larutan pembanding asam askorbat diperoleh persamaan yaitu $y = 0,010x - 0,373$ dengan nilai $R^2 = 0,998$ dan untuk menghitung nilai aktivitas antioksidan dimasukkan nilai absorbansi sampel kedalam persamaan tersebut. Nilai FRAP dinyatakan dalam mg ekuivalen asam askorbat/ gr ekstrak (AAE). Kandungan vitamin C pada masing-masing replikasi dinyatakan sebagai ekuivalen asam askorbat atau *Ascorbic Acid Equivalent* (AAE). AAE merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah vitamin C yang terdapat dalam suatu bahan. Hasil pengukuran absorbansi dan nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) tercantum pada table hasil penelitian sehingga didapatkan nilai rata-rata dari sampel ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) sebesar 7,923 mgAAE/g ekstrak, artinya dalam setiap gram ekstrak setara dengan 7,923 mg asam askorbat.

IV. KESIMPULAN

Dari hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

menggunakan metode FRAP dengan larutan pembanding asam askorbat diperoleh aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) sebesar 7,923 mgAAE/g ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., Gilani, A.H., 2007, *Moringa oleifera* Lam.: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytother Res*, **21**:17-25
- Benzie, I.F.F., and Strain, J.J, 1996, The Ferric Reducing Ability of Plasma as a Measure of "Antioxidant Power" : The FRAP assay, *Analytical Biochemical* **239**: 70-76
- Chumark, P., Khunawat, P., Sanvarinda, Y., Phornchirasilp, S., Morales, N.P., Phivtong-ngam, L., Ratanachamnong, P., Srisawat, S., Pongrapeeporn, K., 2008, The In Vitro and Ex Vivo Antioxidant Properties, Hypolipidaemic And Antiatherosclerotic Activities of Water Extract of *Moringa oleifera* Lam Leaves, *Journal Ethnopharmacol*, **116** : 439-446
- Halvorsen, B.L., Holte, Kari., Myhrstad, Mari C. W., Barikmo, I., Hvattum Erlend, Remberg Siv Fagertun, Wold Anne-Brit, Haffner Karin, Baugerød Halvard , Andersen Lene Frost , Moskaug Jan, Jacobs David R , Blomhoff Rune ,2002, A Systematic Screening of Total Antioxidant in Dietary Plants, *Journal of Nutrition*.
- Hassanbaglou, B., Hamid, A. A., Roheeyati, A. M., Saleh, N. M., Abdulmir, A. S., Khatib, A., Sabu, M. C, 2012, Antioxidant Activity of Different Extracts From Leaves of *Pereskia bleo* (Cactaceae), *Journal of Medicinal Plants Research* Volume **6 (15)**: 2932-2937
- Kim, O.S., 2005, Radical Scavenging Capacity and Antioxidant Activity of The Vitamin Fraction In rice bran. *J Food Sci.* (3): 208-213
- Kumalaningsih, S., 2006, *Antioksidan Alami*, Trubus Agrisarana, Surabaya.
- Rabeta, M.S., dan Faraniza N., 2013, Total Phenolic Content and Ferric Reducing Antioxidant Power of The Leaves and Fruits of *Garcinia atrovirdis* and *Cynometra cauliflora*. *International Food Research Journal* **20(4)**: 1691-1696
- Winarsi H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisus
- Youngson, R., 2005, *Antioksidan: Manfaat Vitamin C dan E Bagi Kesehatan*, alih bahasa Susi Purwoko, Arcan Jakarta.