

**LAPORAN AKHIR TAHUN  
PENELITIAN TERAPAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**



**PENGEMBANGAN PRODUK PANGAN FUNGSIONAL  
DAUN KELOR (*Moringa Oleifera* Lam.) UNTUK MENGHAMBAT  
PROLIFERASI SEL KANKER**

**Tahun ke-2 dari rencana 4 tahun**

**Dr. Yuszda K. Salimi, S.Si.,M.Si (Ketua, NIDN 0023037106)**  
**Dr. Widysusanti Abdulkadir S.Si M.Si Apt (Anggota, NIDN 0017127106)**  
**Dra. Nurhayati Bialangi, M.Si (Anggota,NIDN 0029056204)**

**UNIVERSITAS NEGERI GORONTALO  
OKTOBER 2018**

**HALAMAN PENGESAHAN**

Judul : PENGEMBANGAN PRODUK PANGAN  
FUNGSIONAL DAUN KELOR (Moringa oleifera Lam.)  
UNTUK MENGHAMBAT PROLIFERASI SEL  
KANKER

**Peneliti/Pelaksana**  
Nama Lengkap : Dr YUSZDA K SALIMI, S.Si, M.Si  
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Gorontalo  
NIDN : 0023037106  
Jabatan Fungsional : Lektor  
Program Studi : Farmasi  
Nomor HP : 085219453604  
Alamat surel (e-mail) : yuszdalimi23@gmail.com

**Anggota (1)**  
Nama Lengkap : Dr WIDYSUSANTI ABDULKADIR M.Si, Apt  
NIDN : 0017127106  
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Gorontalo

**Anggota (2)**  
Nama Lengkap : NURHAYATI BIALANGI  
NIDN : 0029056204  
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Gorontalo

**Institusi Mitra (jika ada)**  
Nama Institusi Mitra : -  
Alamat : -  
Penanggung Jawab : -  
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 3 tahun  
Biaya Tahun Berjalan : Rp 120,000,000  
Biaya Keseluruhan : Rp 875,750,000

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Olahraga dan Kesehatan UNG



(Dr. Lantje Boekoesoe, M. Kes)  
NIP/NIK 195901101086032003

GORONTALO, 30 - 10 - 2018  
Ketua,

(Dr YUSZDA K SALIMI, S.Si, M.Si)  
NIP/NIK 197103231998022009

Menyetujui,  
Ketua LPPM UNG



(Prof. Dr. Ferry U. Puhulawa, M.Hum)  
NIP/NIK 196804091993032001

## RINGKASAN

Penelitian ini mengacu pada bidang unggulan yang telah ditetapkan dalam renstra penelitian UNG yakni pengembangan potensi daerah. Tujuan penelitian ini sesuai dengan tema unggulan penelitian yang tercantum dalam RIP UNG yakni pengembangan bahan pangan, tanaman obat, dan bahan baku industri berbasis daun kelor. Potensi daerah sangat potensial dalam mengembangkan daun kelor menjadi produk pangan fungsional karena banyak tumbuh di Gorontalo dan belum dimanfaatkan oleh masyarakat pada umumnya. Padahal kandungan gizi baik metabolit primer maupun sekunder sudah banyak dilaporkan. Penelitian tentang daun kelor sebagai pangan fungsional terkait dengan potensinya dalam meningkatkan kesehatan tubuh merupakan strategi pengembangan kelor agar diminati oleh masyarakat. Eksplorasi/karakterisasi produk yang berpotensi sebagai antikanker perlu dilakukan karena keberadaan senyawa bioaktif umumnya dapat berfluktuasi kadarnya bergantung iklim dan lokasi tumbuh. Perancangan obat herbal perlu dilakukan agar mudah dikonsumsi dan pemanfaatannya sebagai tumbuhan obat antikanker lebih optimal.

Target khusus penelitian ini terfokus pada pengembangan produk pangan fungsional dan obat herbal, kuantitatif struktur dan aktivitasnya (QSAR) sebagai antikanker. Warisan tumbuhan obat yang telah turun temurun secara ilmiah dapat dibuktikan dengan kegiatan penelitian tahun ke-1 berupa identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol daun kelor dan pengembangannya sebagai produk cookies yang diterima secara organoleptik. Hasil penelitian tahun pertama mengungkapkan bahwa ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat daun kelor mengandung senyawa flavonoid yang diisolasi dan diidentifikasi dengan spektrofotometri UV-Vis dan spektrofotometri Inframerah (IR) yang menunjukkan ciri senyawa flavonoid. Ekstrak daun kelor diduga dapat menghambat sel kanker karena hasil pengujian sitotoksik mengungkapkan bahwa  $LC_{50}$  ekstrak metanol berkategori sangat toksik yaitu 71,285 ppm.

Produk pangan untuk pengembangan produk pangan fungsional berupa cookies berbasis daun kelor dengan substitusi daun kelor 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%. Hasil pengujian organoleptik secara keseluruhan dapat diterima oleh panelis. Hasil pengujian kadar protein biskuit daun kelor merupakan bagian yang terpenting dari komposisi kimia yang dihasilkan dari perlakuan 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% berturut-turut adalah 5,5395%, 6,3201%, 7,5480%, 8,1888% dan 11,9646%.

Tahun ke-2 terfokus pada identifikasi komponen ekstrak nonpolar dengan pelarut heksana dan potensinya sebagai produk minuman herbal berbasis daun kelor. Hasil pengujian hedonik terhadap 30 panelis mengungkapkan bahwa minuman herbal yang dikombinasikan dengan kayu manis dan jahe dapat

meningkatkan penerimaan konsumen. Isolat dari ekstrak heksana fraksi 11-14 menunjukkan satu spot noda menunjukkan senyawa sudah murni. Massa senyawa murni fraksi 11 sampai 14 adalah 5,3 mg.

## **PRAKATA**

### **Bismillahirrahmanirrahim**

Alhamdulillah atas berkat rahmat Allah Ta'ala laporan akhir tahun pertama penelitian kami dengan judul “Pengembangan Produk Pangan Fungsional Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lam.) Untuk Menghambat Proliferasi Sel Kanker” telah selesai dilaksanakan berkat kerjasama tim peneliti.

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada anggota peneliti Dr. Widy dan Dra. Nurhayati Bialangi, M.Si atas kerjasama selama penelitian berlangsung. Hal yang sama juga kami sampaikan kepada mahasiswa Hamid Majelis, S.Pd dan Ulin Pudji yang telah membantu sejak pengambilan sampel hingga laporan ini selesai.

Terima kasih kepada DRPM DIKTI yang telah membiayai penelitian ini. Hal yang sama kami sampaikan kepada ketua LPPM UNG dan staf yang telah bekerja sama dengan baik.

Kepada semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu atas bantuan moril dan kerja sama selama penelitian berlangsung. Semoga Allah Ta'ala membalas segala upaya yang telah diberikan sehingga penelitian ini berjalan lancar dan selesai pada waktunya.

Fastabiqul Khairat.

Wasalamualaikum warahmatulahi wabarakatuh

**Ketua Peneliti**

## DAFTAR ISI

Halaman

<b>JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>viii</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>3</b>
<b>BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....</b>	<b>11</b>
<b>BAB IV. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>12</b>
<b>BAB V. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI .....</b>	<b>26</b>
<b>BAB VI. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA .....</b>	<b>44</b>
<b>BABVII. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>45</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>46</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>49</b>

## DAFTAR TABEL

Halaman

<b>Tabel 1</b>	Rentangan Serapan Spektrum UV-Vis Flavonoid .....	20
<b>Tabel 2</b>	Hasil skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder ...	28
<b>Tabel 3</b>	Komposisi pelarut kromatografi kolom ke-1 .....	32

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
<b>Gambar 1</b> Tumbuhan kelor (a) pohon kelor (b) batang kelor (c) daun kelor .....	4
<b>Gambar 2</b> Kerangka dasar karbon flavonoid .....	6
<b>Gambar 3</b> Struktur umum flavonoid .....	6
<b>Gambar 4</b> Prosedur pembuatan serbuk daun kelor .....	18
<b>Gambar 5</b> Prosedur pembuatan serbuk jahe dan kayu manis.....	19
<b>Gambar 6</b> Prosedur pembuatan minuman serbuk herbal kejaknis	21
<b>Gambar 7</b> Perkiraan reaksi senyawa Flavonoid dengan HCl.....	30
<b>Gambar 8</b> Perkiraan reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendroff .....	31
<b>Gambar 9</b> Kromatogram KLT fraksi 01-09 .....	32
<b>Gambar 10</b> Kromatogram KLT fraksi 01-09 .....	33
<b>Gambar 11</b> KLT dengan pelarut <i>n</i> -heksana-etil asetat (8:2) Dan KLT dengan fasa terbalik ODS pelarut methanol 100%.....	34
<b>Gambar 12</b> Uji Organoleptik Warna seduhan minuman serbuk herbal kejaknis .....	35
<b>Gambar 13</b> Uji Organoleptik Rasa seduhan minuman serbuk herbal kejaknis .....	36
<b>Gambar 14</b> Uji Organoleptik Aroma seduhan minuman serbuk herbal kejaknis .....	38
<b>Gambar 15</b> Uji Antioksidan serbuk herbal kejaknis .....	40
<b>Gambar 16</b> Hasil analisis DPPH metode IC50 serbuk herbal Kejaknis.....	41
<b>Gambar 17</b> Uji Total fenol serbuk herbal kejaknis .....	42

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Prosedur Kerja .....	49
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian .....	59



## BAB I PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara terkaya di dunia dalam cadangan plasma nutfah tanaman obat. Terdapat sekitar 30.000 spesies tanaman, 9600 spesies di antaranya berpotensi untuk dikembangkan menjadi tanaman obat, dan kurang lebih hanya sekitar 300 spesies yang telah digunakan sebagai bahan obat tradisional oleh industri obat tradisional (Hidayat 2011).

Tanaman sebagai merupakan bahan pangan yang berperan penting dan sangat dibutuhkan untuk kesehatan manusia. Bahan pangan kini mulai banyak diminati bukan saja yang mempunyai komposisi gizi yang baik serta penampakan dan cita rasa yang menarik, tetapi juga harus memiliki fungsi fisiologis tertentu bagi tubuh. Fenomena ini melahirkan konsep pangan fungsional (*food for specified health Use*).

Kelor merupakan merupakan salah satu bahan pangan yang secara fungsional merupakan tanaman obat karena mengandung  $\beta$ -karoten, protein, vitamin C, kalsium dan kalium, dan memetabolit sekunder sebagai antioksidan alami, karena adanya berbagai jenis senyawa antioksidan seperti asam askorbat, flavonoid, fenolat dan karotenoid (Dillard dan Jerman, 2000; Siddhuraju dan Becker, 2003).

Kelor banyak tumbuh liar di Gorontalo dan merupakan salah satu potensi daerah sumber daya alam hayati. Pengembangan daun kelor menjadi produk pangan fungsional belum banyak diminati padahal potensinya sebagai makanan dan minuman yang menyehatkan sangat besar. Sebagian masyarakat hanya menjadikannya sebagai makanan ternak dan pohon peneduh. Potensi kelor sebagai bahan pangan fungsional perlu digali dan dikembangkan melalui penelitian kimia, biologi, farmasi, bioteknologi dan teknologi pangan. Pengembangan pangan fungsional ini terkait pula dengan penelitian sebelumnya (Salimi, 2015) yang menginformasikan bahwa produk minuman fungsional daun kelor (*moringa oleifera* Lam.) secara organoleptik diminati sehingga perlu penelitian lanjutan untuk pengembangan produk pangan dan pengujian mutu.

Kejadian atau prevalensi penyakit kanker di Indonesia terus meningkat. Dinas Kesehatan provinsi Gorontalo melaporkan bahwa insiden penyakit kanker cukup tinggi demikian juga angka kematiannya. Sejumlah 70% dari penyebab kanker dikaitkan pola makan yang salah. Pola makan tradisional yang kaya akan karbohidrat kompleks dan serat pangan sudah ditinggalkan oleh sebagian masyarakat. Sebaliknya pola makan modern yang siap saji cenderung digemari. Makanan dengan kandungan lemak tinggi, daging dan produk-produk daging, garam serta makanan olahan yang mengandung lemak dan gula cenderung dikonsumsi lebih tinggi. Demikian juga kecenderungan meningkatnya konsumsi pangan yang mengandung senyawa mutagen akibat pencemaran kimia dan bahan tambahan pangan. Potensi daun kelor dalam penghambatan sel kanker sangat besar karena adanya berbagai jenis senyawa antioksidan alami seperti asam askorbat, flavonoid, fenolat dan karotenoid (Dillard dan Jerman, 2000; Siddhuraju dan Becker, 2003). Antioksidan alami mampu menghambat senyawa radikal bebas/karsinogen penyebab kanker. Penelitian sebelumnya (Salimi, 2015) melaporkan bahwa hasil screening fitokimia daun kelor positif mengandung flavonoid pada ekstrak metanol dan etil asetat. Ekstrak metanol daun kelor memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan daun tanaman lainnya (miana dan binahong) yakni 121,05 mg AEAC (*Ascorbic Acid Equivalent antioxidant Activity*) per gram dengan  $IC_{50}$  (*Inhibitor Concentration*) pada kategori sedang mendekati kuat (128,9), sehingga sangat berpotensi untuk mencegah kanker (Salimi, 2016).

Fenomena meningkatnya kesadaran masyarakat untuk mengkonsumsi bahan pangan fungsional (*food for specified health Use*) memberi dorongan positif untuk mengembangkan potensi sumber daya alam hayati dalam bentuk produk minuman herbal berbasis daun kelor yang bermanfaat terhadap kesehatan.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Kelor

Kelor adalah spesies yang paling terkenal dari tiga belas spesies genus *Moringaceae*. Kelor diduga memiliki asal-usul di Agra dan Oudh, terletak di barat laut India, wilayah pegunungan Himalaya bagian selatan. Masyarakat kuno India tahu bahwa biji-bijian mengandung minyak nabati dan mereka menggunakannya untuk tujuan pengobatan. Sekarang, masyarakat India pada umumnya memanfaatkan kelor sebagai pakan ternak atau sayuran (Krisnadi, 2015).

Kelor tersebar luas di berbagai daerah di Indonesia. Pohon kelor banyak ditanam sebagai pagar hidup, ditanam di sepanjang ladang atau tepi sawah, berfungsi sebagai tumbuhan penghijau. Selain itu tumbuhan kelor juga dikenal sebagai tumbuhan obat berkhasiat dengan memanfaatkan seluruh bagian dari tumbuhan kelor mulai dari daun, kulit batang, biji, hingga akarnya (Simbolan, dkk., 2007).

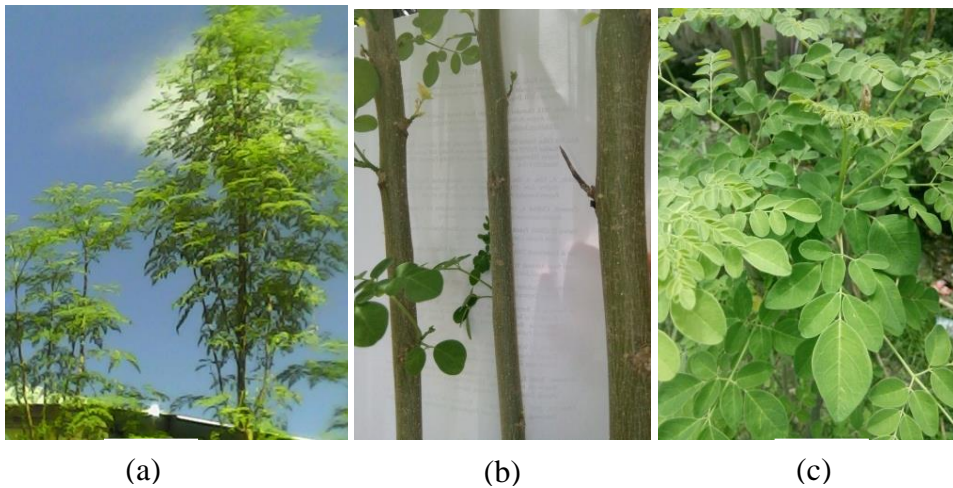
### 2.2 Taksonomi Tanaman Kelor

Berdasarkan USDA (*United State Departemen of Agriculture*), 2013 (dalam Lutfiana, 2013) kelor diklasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)
Kelas	: magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)
Subkelas	: Dilleniidae
Ordo	: Capparales
Famili	: Moringaceae
Genus	: <i>Moringa</i>
Species	: <i>Moringa oleifera</i> Lamk.

### 2.3 Daun Kelor

Morfologi dari tumbuhan kelor menurut Schwarz (2000) adalah sebagai berikut: daun sebesar ujung jari berbentuk bulat telur, tersusun majemuk dan gugur di musim kemarau, tinggi pohon mencapai 5-12 m, bagian ujung membentuk payung, batang lurus (diameter 10-30 cm) menggarpu, berbunga sepanjang tahun berwarna putih/krem, buah berwarna hijau muda, tipis dan lunak. Tumbuh subur mulai dataran rendah sampai ketinggian 700 m di atas permukaan laut. Tumbuhan kelor dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tumbuhan kelor (a) pohon kelor (b) batang kelor (c) daun kelor; (Dokumentasi pribadi)

### 2.4 Manfaat Daun Kelor

Hampir semua bagian dari tanaman kelor dapat dijadikan bahan antimikroba. Bagian-bagian tanaman kelor yang telah terbukti sebagai bahan antimikroba di antaranya daun, biji, minyak, bunga, akar, dan kulit kayu tumbuhan kelor (Bukar, dkk., 2010). Sebagai tumbuhan berkhasiat sebagai obat, tumbuhan 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 dan sejenisnya. Daunnya ditambah dengan kapur sirih, juga merupakan obat kulit seperti kurap dengan cara digosokkan (Rahmat, 2009).

Menurut Luqman, dkk., 2012 (dalam Lutfiana, 2013) selain digunakan sebagai bahan makanan, daun kelor juga menjadi sumber yang kaya akan makronutrien maupun mikronutrien yang juga mengandung  $\beta$ -karoten, protein, vitamin C, kalsium, dan bertindak sebagai antioksidan alami. Buah dan daun digunakan untuk mengatasi malnutrisi, terutama dikalangan bayi dan ibu menyusui untuk meningkatkan produksi susu serta mengatur ketidak seimbangan hormon tiroid.

## **2.5 Kandungan Daun Kelor**

Menurut Fuglie, (1999) dalam (Krisnadi, 2015) daun kelor ternyata mengandung vitamin A, C, dan B, kalsium, kalium, besi, dan protein dalam jumlah sangat tinggi yang mudah dicerna dan diasimilasi oleh tubuh manusia. Perbandingan nutrisi daun kelor segar dan serbuk dengan beberapa sumber nutrisi lainnya, jumlahnya berlipat-lipat dari sumber makanan yang selama ini digunakan sebagai sumber nutrisi untuk perbaikan gizi di berbagai belahan negara. Kelor dilaporkan mengandung 539 senyawa yang dikenal dalam pengobatan tradisional Afrika dan India serta telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mencegah lebih dari 300 penyakit.

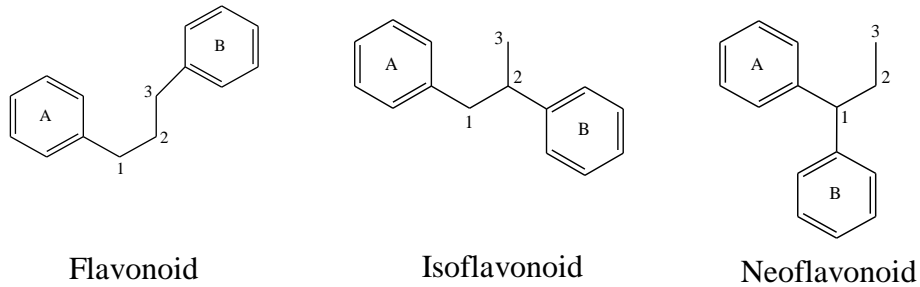
Daun kelor telah dilaporkan menjadi sumber yang kaya  $\beta$ -karoten, protein, vitamin C, kalsium dan kalium, dan menjadi sumber makanan yang baik sebagai antioksidan alami, karena adanya berbagai jenis senyawa antioksidan seperti asam askorbat, flavonoid, fenolat dan karotenoid (Siddhuraju dan Becker, 2003).

## **2.6 Senyawa Flavonoid**

### **2.6.1 Pengertian dan kerangka dasar flavonoid**

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam dengan ciri zat berwarna merah, ungu, biru dan sebagian lagi berwarna kuning yang dapat ditemukan dalam tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi  $C_6-C_3-C_6$ , yaitu dua cincin aromatik ( $C_6$ ) yang dihubungkan oleh suatu rantai propan ( $C_3$ ). Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yakni 1,3-

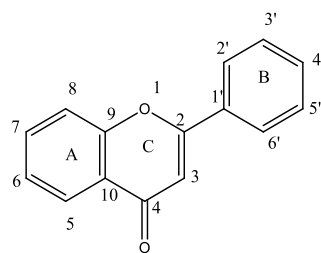
diarilpropan atau flavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavonoid, dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid. Kerangka dasar karbon flavonoid ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Kerangka dasar karbon flavonoid; (Achmad, 1986)

Istilah flavonoid berasal dari kata flavon, yakni nama dari salah satu jenis flavonoid yang terbesar jumlahnya dan juga lazim ditemukan. Senyawa-senyawa flavon ini mempunyai kerangka 2-fenilkroman, dimana posisi orto dari cincin A dan atom atom karbon yang terikat pada cincin B dari 1,3-diarilpropan dihubungkan oleh jembatan oksigen sehingga membentuk suatu cincin heterosiklik yang baru (cincin C) (Achmad, 1986).

Dalam tumbuhan, aglikon flavonoid (flavonoid tanpa gula terikat) terdapat dalam berbagai bentuk struktur, semuanya mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi  $C_6-C_3-C_6$  yaitu dua cincin aromatik ( $C_6$ ) yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tak dapat membentuk cincin ketiga. Struktur umum flavonoid ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur umum flavonoid; (Markham, 1988)

Sistem penomoran menggunakan angka biasa untuk cincin A dan C, serta angka ‘beraksen’ untuk cincin B, kecuali khalkon dan auron sistem penomorannya dimodifikasi. Modifikasi flavonoid lebih lanjut, dapat mungkin terjadi pada berbagai tahap dan menghasilkan: penambahan atau pengurangan gugus hidroksil,

metilasi gugus hidroksil atau inti flavonoid, isoprenilasi gugus hidroksil atau inti flavonoid, metilasi gugus *orto*-dihidroksil, dimetilasi (penambahan biflavonoid), penambahan bisulfat, dan yang terpenting adalah glikosilasi gugus hidroksil (pembentukan flavonoid *O*-glikosida) atau inti flavonoid (pembentukan flavonoid *C*-glikosida) (Markham, 1988).

### **2.6.2 Sifat senyawa flavonoid**

Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula, sehingga akan larut dalam pelarut polar. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran pelarut dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

### **2.6.3 Fungsi senyawa flavonoid**

Senyawa flavonoid merupakan senyawa mempunyai bermacam-macam efek yaitu efek antitumor, antikanker, immunostimulan, antioksidan, analgesik, antiradang (anti inflamasi), antivirus, antibakteri, antifungal, antidiare, antihepatotoksik dan antihiperglikemik (Padua, dkk., 1999).

Kebanyakan flavonoid merupakan senyawa antioksidan yang poten. beberapa obat tradisional dan tanaman obat mengandung flavonoid sebagai senyawa bioaktif. Sifat antioksidan senyawa flavonoid yang ada pada buah-buahan dan sayuran segar diduga berkontribusi pada kemampuannya melindungi tubuh terhadap penyakit jantung dan kanker (Sarker dan Nahar, 2009).

## **2.7 Isolasi Senyawa**

### **2.7.1 Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan suatu cara untuk mengambil atau menarik komponen kimia yang terkandung dalam sampel menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi

yang benar dan tepat tergantung pada jenis senyawa yang diekstrak. Ekstraksi serbuk kering jaringan tumbuhan dapat dilakukan secara maserasi (Kristanti, dkk., 2008).

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokkan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (Depkes RI, 2000). Hasil dari ekstraksi berupa ekstrak yang berbentuk sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Depkes RI, 1979).

### **2.7.2 Fraksinasi**

Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan kandungan utama golongan yang satu dari kandungan yang lain. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa non polar akan masuk ke dalam pelarut non polar. Bila kita menelaah profil fitokimia lengkap dari suatu jenis tumbuhan maka sebelum dikromatografi ekstrak kasar perlu difraksinasi untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan yang lainnya (Harborne, 1987).

Fraksinasi terdiri dari dua jenis yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi cair-padat. Ekstraksi cair-padat dapat dilakukan dengan alat sokhlet, pada fraksi ini terjadi keseimbangan diantara fasa padat dan fasa cair (pelarut). Fraksinasi cair-cair merupakan metode ekstraksi yang didasarkan pada sifat kelarutan komponen target dan distribusinya dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur. Senyawa yang bersifat polar akan tertarik pada pelarut yang polar, senyawa yang bersifat semipolar akan tertarik pada pelarut yang bersifat semipolar, dan senyawa yang bersifat nonpolar akan tertarik pada senyawa yang nonpolar. Ekstraksi cair-cair bertahap merupakan teknik ekstraksi yang paling sederhana, cukup dengan menambahkan pelarut pengekstraksi yang tidak saling bercampur kemudian



dilakukan pengocokan sehingga terjadi distribusi zat terlarut diantara kedua pelarut. Dalam hal ini, pemisahan zat yang paling polar dan non polar dapat dilakukan dengan ekstraksi cair-cair (partisi) dalam corong pisah. Pengocokan bertujuan memperluas area permukaan kontak diantara kedua pelarut sehingga pendistribusian zat terlarut diantara keduanya dapat berlangsung dengan baik (Khopkar, 2002).

### **2.7.3 Skrining fitokimia**

Skrining fitokimia merupakan analisis kualitatif terhadap senyawa-senyawa metabolit sekunder. Suatu ekstrak dari bahan alam terdiri atas berbagai macam metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas biologinya. Senyawa-senyawa tersebut dapat diidentifikasi dengan pereaksi-pereaksi yang mampu memberikan ciri khas dari setiap golongan dari metabolit sekunder (Harborne, 1987).

### **2.7.4 Kromatografi lapis tipis**

Teknik kromatografi lapis tipis dikembangkan tahun 1938 oleh Ismailoff dan Scraiber. Adsorben dilapiskan pada lempeng yang bertindak sebagai penunjang fase diam. Fase diam bergerak akan merayap sepanjang fase diam dan terbentuklah kromatogram. Metode ini sederhana, cepat dalam pemisahan, dan sensitif (Khopkar, 2014).

Kromatografi lapis tipis adalah kromatografi serapan, dimana sebagai fase diam berupa zat padat yang disebut adsorben (penyerap) dan fase gerak adalah zat cair yang disebut larutan pengembang. Umumnya fase gerak yang sering digunakan dalam kromatografi lapis tipis adalah berupa campuran dari pelarut organik dengan tujuan untuk memperoleh pemisahan yang lebih baik. Kombinasi pelarut berdasarkan atas kepolaritasannya, sehingga akan diperoleh sistem pengembang yang cocok. Dalam beberapa percobaan pelarut tunggal memberikan hasil yang memuaskan akan tetapi pada sebagian percobaan pelarut tunggal dapat menggerakkan bercak terlalu jauh sehingga kombinasi pelarut yang mempunyai polaritas berbeda sering dikombinasikan dalam analisis kromatografi lapis tipis.

Identifikasi hasil pemisahan kromatografi lapis tipis dinyatakan dengan harga Rf (*Retardation faktor*). Harga Rf didefinisikan sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Harga-harga Rf untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga standar (Gritter, 1991).

### **2.7.5 Kromatografi kolom**

Kromatografi kolom adalah jenis kromatografi yang menggunakan kolom atau tabung dengan rongga di tengahnya sebagai tempat untuk meletakkan fase diam, kromatografi jenis ini mempunyai banyak kemungkinan untuk kombinasi fase diam dan fase geraknya (Wonorahardjo, 2013).

Dalam pelaksanaan pemisahan dengan teknik kromatografi kolom, sampel yang dipisahkan dilarutkan dalam pelarut yang sesuai. Sampel diletakkan di bagian atas kolom yang sudah berisi fase diam (adsorben). Fase gerak dialirkan pelan-pelan dan dibiarkan mengalir melalui kolom tersebut. Pada saat fase gerak mengalir sepanjang kolom, fase gerak akan membawa campuran komponen ke bawah. Keseimbangan dinamis antara komponen yang terlarut dalam fase gerak akan terjadi selama fase gerak mengalir ke bawah. Perbedaan kecepatan migrasi menyebabkan terjadinya pemisahan komponen dalam campuran. Komponen yang terpisah nampak sebagai pita-pita dalam fase diam yang selanjutnya pita didorong keluar kolom dengan penambahan fase gerak. Komponen yang keluar dari kolom ditampung, dipisahkan, dan diidentifikasi (Soebagio, 2005).

## **BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

### **3.1 Tujuan Penelitian**

Tujuan dalam penelitian tahun ke-2 adalah menggali potensi daun kelor lokal Gorontalo sebagai pangan fungsional yang diformulasi sebagai minuman fungsional yang disukai secara organoleptik dan mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak heksana yang berpeluang sebagai antikanker.

### **3.2 Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini dapat memberikan tambahan "data base" metabolit sekunder seperti flavonoid yang berpotensi obat, juga untuk mengeksplorasi sumber senyawa kimia asal tumbuhan Indonesia khususnya yang tumbuh di daerah Gorontalo. Pengembangan sebagai pangan fungsional memberikan manfaat untuk masyarakat agar dapat mengkonsumsi daun kelor dengan cita rasa yang dapat diterima secara organoleptik dan sebagai kandidat antikanker.

## **BAB IV METODE PENELITIAN**

### **3.1 Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Negeri Gorontalo (UNG), Laboratorium Pangan Universitas Negeri Gorontalo (UNG), dan Laboratorium Mikrobiologi Pusat Studi Primata IPB.

### **3.2 Alat dan Bahan**

#### **1. Alat**

Alat yang digunakan adalah neraca analitik, kaca arloji, gelas kimia, labu ukur, botol reagen, gelas ukur, batang pengaduk, satu set alat redestilasi, satu set alat *vacum rotary evaporator*, botol vial, tabung reaksi, rak tabung reaksi, corong, corong pisah, statif, klem, aluminium foil, pipet tetes, spatula, oven, chamber, pipa kapiler, kolom kromatografi, lampu UV, satu set alat spektrofotometer NMR.

#### **2. Bahan**

##### **a. Bahan kimia**

Bahan-bahan yang digunakan adalah aquades ( $H_2O$ ), metanol ( $CH_3OH$ ), etil asetat ( $C_4H_8O_2$ ), n-heksana ( $C_6H_{14}$ ), aseton ( $C_3H_6O$ ), kloroform ( $CHCl_3$ ), asam sulfat ( $H_2SO_4$ ), pereaksi Mayer, pereaksi Dragendrof, pereaksi Wagner, pereaksi Hager, silica gel 60 (70-230 Mesh), plat KLT GF<sub>254</sub>, serbuk magnesium (Mg), asam klorida (HCl), asam asetat ( $CH_3COOH$ ), dan natrium hidroksida (NaOH).

##### **b. Sampel**

Sampel pada penelitian ini adalah daun kelor. Lokasi pengambilan sampel adalah Barakati, Kabupaten Gorontalo; Provinsi Gorontalo.

### **3.3 Teknik Pengumpulan Data**

Teknik pengumpulan data melalui eksperimen laboratorium yang terdiri dari dua tahap yaitu:

#### **1. Isolasi senyawa flavonoid**

Isolasi senyawa flavonoid yang terdiri dari; determinasi tumbuhan, preparasi sampel, ekstraksi, fraksinasi, skrining fitokimia, kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi kolom dan uji kemurnian isolat.

#### **2. Identifikasi senyawa flavonoid**

Identifikasi senyawa flavonoid dari isolat dilakukan dengan analisis spektrum menggunakan spektrofotometer NMR.

### **3.4 Prosedur Pengumpulan Data**

Adapun prosedur dalam mengumpulkan data terdiri dari beberapa tahapan yaitu:

#### **4.4.1 Isolasi senyawa**

##### **1. Determinasi tumbuhan kelor**

Tumbuhan kelor dideterminasi di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Gorontalo (UNG). Lokasi pengambilan sampel tumbuhan kelor yang digunakan untuk dideterminasi adalah Batudaa, Kota Gorontalo; Provinsi Gorontalo.

##### **2. Preparasi sampel**

Pada proses pengambilan sampel, daun kelor diambil dari pohonnya bersamaan dengan tangkai daun, mulai dari tangkai daun yang mendekati pucuk sampai pada tangkai yang berada di pucuk. Kemudian helai daun dipisahkan dengan tangkai daun. Setelah dipisahkan dengan tangkainya, daun kelor ditimbang berat basahnya dan diperoleh berat basah daun kelor. Daun kelor yang sudah diketahui berat basahnya selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat terbuka yang terlindung dari cahaya matahari selama  $\pm 4$  hari sampai benar-benar kering. Setelah kering sampel dihitung rendemennya.

Rendemen dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rendemen \%} = \frac{\text{Bobot kering (g)}}{\text{Bobot basah (g)}} \times 100 \%$$

Sampel yang sudah kering disimpan dalam wadah yang bersih, kering, dan terlindung dari cahaya matahari.

### 3. Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi dipilih karena untuk mencegah kerusakan senyawa aktif yang terkandung dalam daun kelor. Sejumlah serbuk kering daun kelor dimaserasi dengan pelarut metanol. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam pada suhu kamar dan setiap 1 x 24 jam dilakukan penyaringan dan residu dimaserasi kembali dengan metanol yang baru. Selanjutnya maserat dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40°C dan diperoleh ekstrak kental metanol. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya terhadap berat simplisia awal.

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang didapat (g)}}{\text{Bobot simplisia yang diekstraksi (g)}} \times 100 \%$$

### 4. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan menggunakan metode partisi cair-cair. Ekstrak kental metanol disuspensi dengan metanol-air perbandingan (1:2). Setelah itu dipartisi dengan pelarut n-heksan sehingga diperoleh fraksi n-heksan dan fraksi air. Kemudian fraksi air dipartisi kembali dengan pelarut etil asetat dan diperoleh fraksi etil asetat. Hasil partisi dievaporasi menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40 °C. Rendemen dari masing-masing ekstrak dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen \%} = \frac{\text{Bobot hasil fraksinasi (g)}}{\text{Bobot ekstrak metanol (g)}} \times 100\%$$

## **5. Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia secara kualitatif merupakan uji pendahuluan yang bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak hasil maserasi dan ekstrak hasil fraksinasi. Skrining fitokimia terdiri dari pemeriksaan flavonoid, alkaloid, saponin, steroid dan triterpenoid.

### **a. Pemeriksaan flavanoid**

Pemeriksaan senyawa flavonoid dilakukan dengan melarutkan 0,1 g ekstrak dengan 10 mL metanol kemudian dibagi ke dalam 4 tabung reaksi. Tabung pertama digunakan sebagai tabung kontrol. Tabung kedua, ketiga, dan keempat berturut-turut ditambahkan NaOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan HCl pekat + serbuk Mg. Warna pada masing-masing tabung dibandingkan dengan tabung kontrol. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga menunjukkan adanya flavonoid (Harborne, 1987).

### **b. Pemeriksaan Alkaloid**

Pemeriksaan senyawa alkaloid dilakukan dengan melarutkan 0,1 g sampel dengan 5 ml metanol dalam 5 tabung reaksi. Tabung reaksi tabung pertama sebagai kontrol, tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer, tabung ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi Wagner dan tabung keempat ditambah 3 tetes pereaksi Dragendorff dan tabung reaksi kelima ditambah pereaksi Hager. Terbentuknya endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid.

### **c. Pemeriksaan Steroid dan Triterpenoid**

Pemeriksaan steroid dan triterpenoid dilakukan menurut Briggs dalam (Sangi, dkk. 2008). Sampel dilarutkan dengan metanol, kemudian ditambahkan asetat anhidrat dan asam sulfat pekat sebanyak 2-3 tetes. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna coklat sedangkan steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau.

#### **d. Pemeriksaan Saponin**

Pemeriksaan saponin dilakukan berdasarkan uji Forth. Pada uji ini, ekstrak etil asetat sebanyak 10 mg ditambahkan 10 mL air panas. Selanjutnya dikocok kuat selama 10 detik. Reaksi positif apabila terbentuk buih setinggi 1-10 cm selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 1 tetes HCl 2 N dan diamati Guevara dan Recio 1985, dalam (Lutfiana, 2013).

#### **6. Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi lapis tipis dilakukan untuk melihat pola kromatogram komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil asetat. Pada kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan dengan prinsip *trial and error* guna mencari eluen yang memberikan pemisahan yang baik. Analisis kromatografi lapis tipis dilakukan menggunakan fase diam plat silika gel 60 GF<sub>254</sub> dengan fase gerak menggunakan beberapa perbandingan eluen untuk mencari pemisahan yang baik.

#### **7. Kromatografi Kolom**

Kromatografi kolom menggunakan kolom sepanjang 50 cm dengan diameter 2,5 cm. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 (70-230 Mesh) dan fase gerak n-heksan-etil asetat dengan komposisi bergradien mulai dari n-heksan 100% hingga etil asetat 100% dan dilanjutkan dengan fase gerak etil asetat-metanol dengan komposisi etil asetat 100% hingga metanol 100% dengan kenaikan kepolaran pelarut sebesar 10 %. Pembuatan kolom dilakukan dengan cara basah. Pada proses elusi, komponen yang tidak tertahan oleh fase diam akan bergerak turun bersama fase gerak. Hasil elusi yang keluar dari keran ditampung menggunakan botol vial sebagai fraksi.

#### **8. Uji kemurnian isolat**

Uji kemurnian isolat dilakukan menggunakan teknik kromatografi lapis tipis (KLT) dengan eluen yang memberikan pemisahan terbaik. Pada KLT, isolat yang menunjukkan pola noda tunggal dilakukan kromatografi lapis tipis dua dimensi dengan menggunakan dua perbandingan eluen yang berbeda polaritasnya.

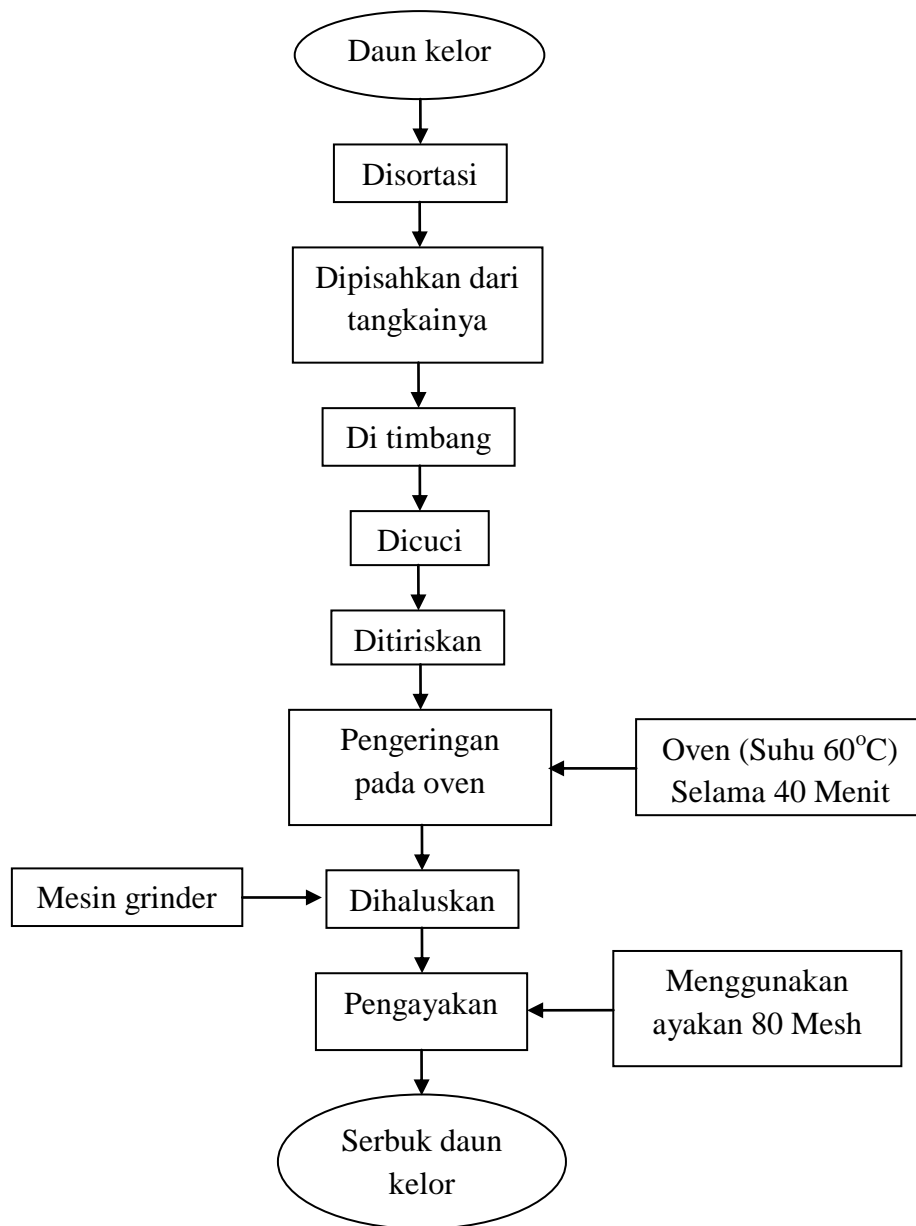


## **9. Identifikasi senyawa**

Identifikasi senyawa dalam penelitian ini dilakukan dengan menganalisis ciri spektra hasil spektrofotometri NMR. Data yang diperoleh berupa spektra diinterpretasi untuk memperoleh data spektra senyawa yang digunakan untuk menentukan karakter dari senyawa yang terdapat dalam isolat.

## **10. Pembuatan minuman herbal berbasis daun kelor**

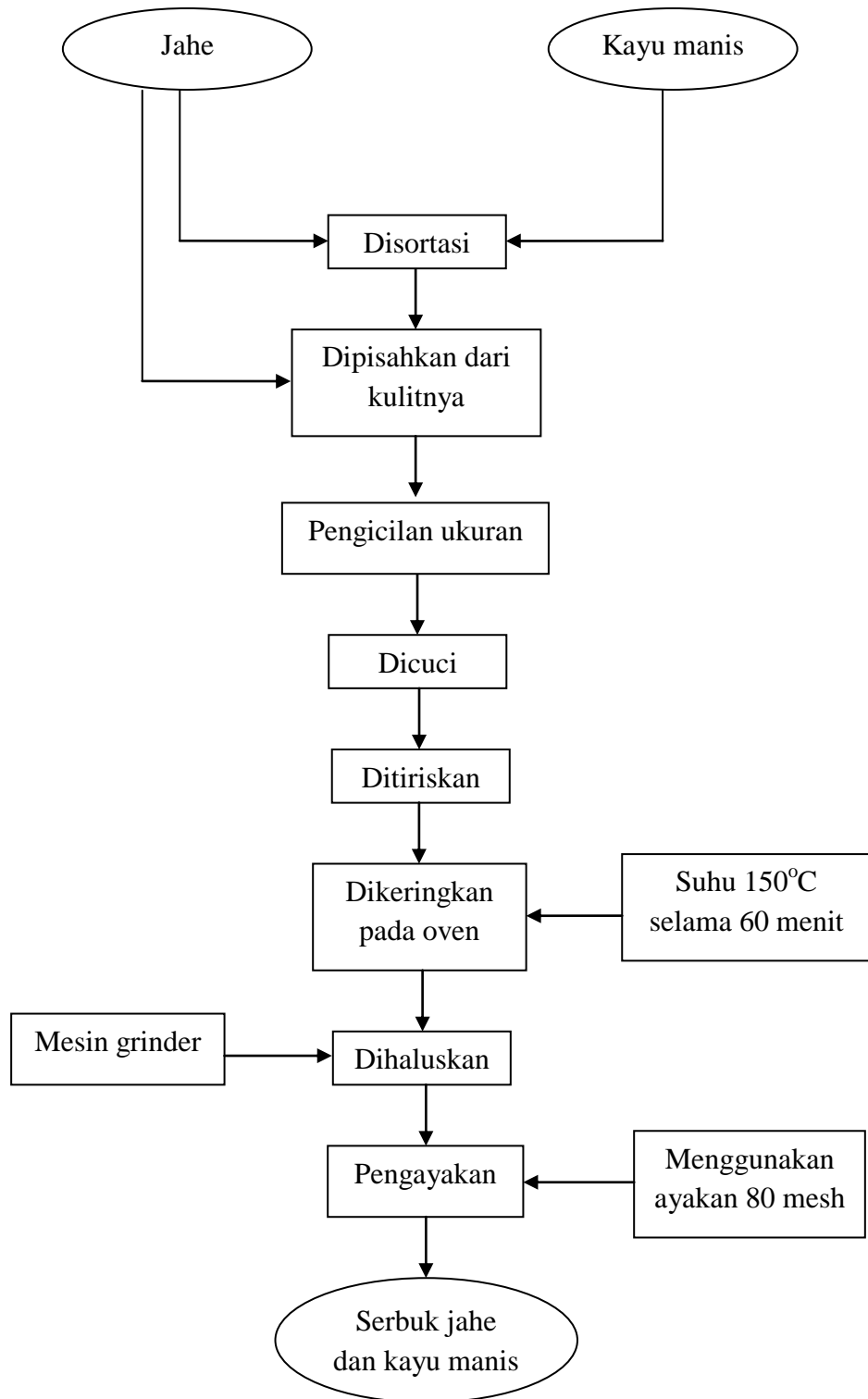
Bahan baku untuk formulasi minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) adalah daun kelor yang diambil dari Desa Barakati Kecamatan Batudaa, Kabupaten Gorontalo. Pembuatan serbuk daun kelor dalam penelitian ini diawali dari penyiapan daun kelor kemudian disortasi, sortasi bertujuan untuk memisahkan daun kelor yang bagus dari tangkainya, penimbangan, daun kelor ditimbang bertujuan untuk mengetahui berat awal daun kelor sebelum dikeringkan hasil penimbangan awal daun kelor basah sebesar 1800 g, kemudian daun kelor dicuci, pencucian daun kelor bertujuan untuk membersihkan daun kelor dari kotoran-kotoran yang ada pada daun kelor selanjutnya ditiriskan untuk mengeluarkan air pada daun kelor tersebut. Kemudian daun kelor dikeringkan pada oven dengan suhu 60°C selama 40 menit, selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan mesin grinder dan dilakukan pengayakan menggunakan ayakan 80 mesh.



Gambar 4. Prosedur pembuatan serbuk daun kelor

#### 4.4.2 Pembuatan serbuk jahe dan kayu manis

Bahan penambahan untuk formulasi minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) adalah jahe dan kayu manis.



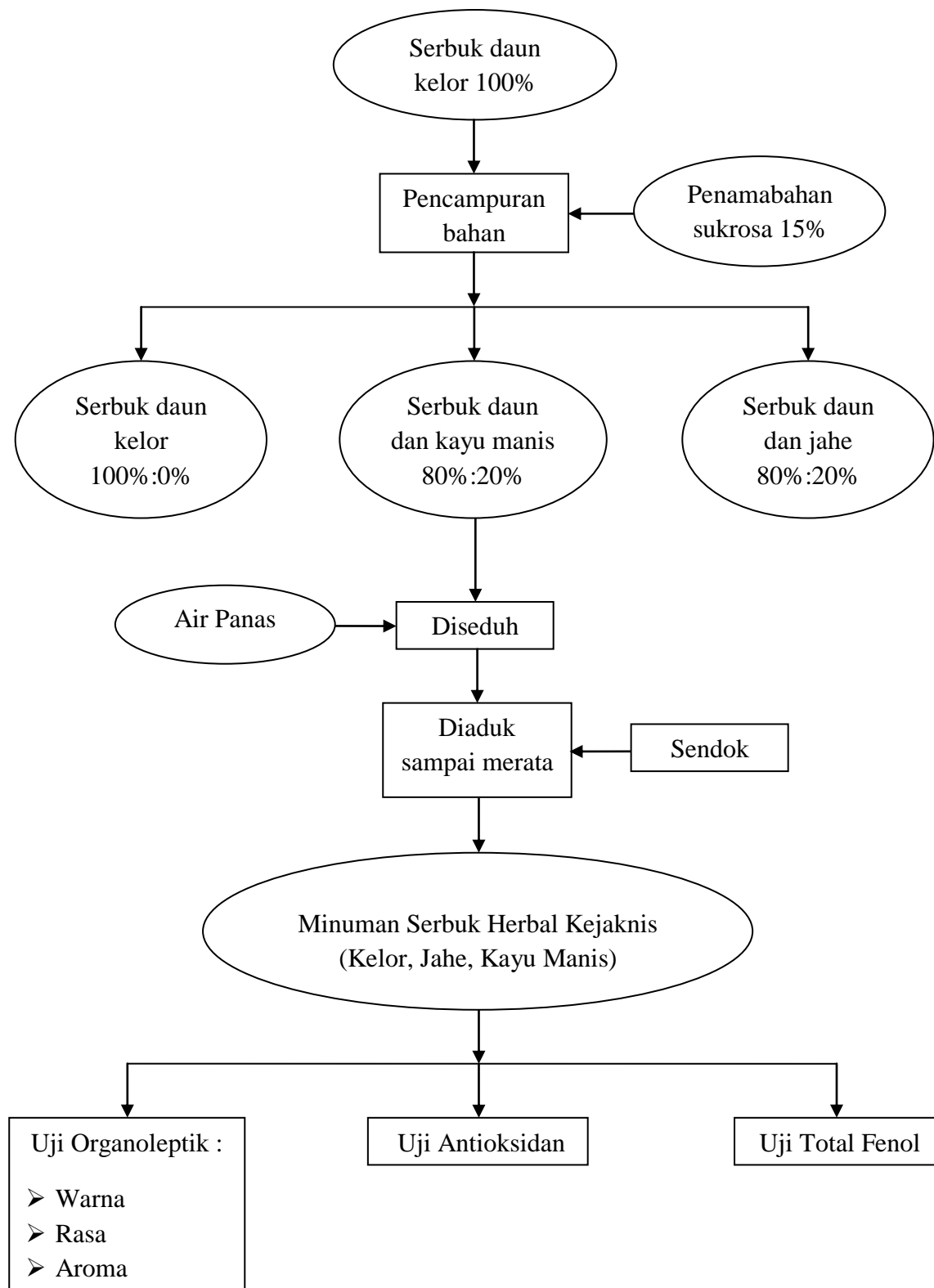
Gambar 5. Prosedur pembuatan serbuk jahe dan kayu manis

#### 4.4.3 Pembuatan minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis)

Tabel 1. Formulasi Pembuatan minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis)

Kode sampel	Formulasi		
	Serbuk daunkelor (K) (%)	Kayu manis (KM) (%)	Jahe (J) (%)
P0	100%	0%	0%
P1	80%	20%	
P2	80%		20%

Tahapan Pembuatan minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) yaitu diawali dengan penyiapan bahan setelah itu penimbangan bahan sesuai resep dan formulasi, kemudian pencampuran bahan serbuk daun kelor 100%:0, serbuk daun kelor dengan kayu manis 80%:20%, dan serbuk daun kelor dengan jahe 80%:20%, kemudian penambahan sukrosa 15%, selanjutnya diseduh dengan air panas kemudian diaduk sampai merata menggunakan sendok makan.



Gambar 6. Prosedur pembuatan minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis)

### **3.5 Metode Analisis**

#### **4.5.1 Uji Organoleptik (Soewarno & Soekarto, 1981)**

Pengujian organoleptik adalah pengujian yang didasarkan pada proses penginderaan. Penginderaan diartikan sebagai suatu proses fisio-psikologis, yaitu kesadaran atau pengenalan alat indra akan sifat – sifat benda karena adanya rangsangan yang diterima alat indra yang berasal dari benda tersebut. Uji organoleptik dilakukan dengan menggunakan metode uji kesukaan (hedonik). Metode hedonik yaitu uji tingkat kesukaan terhadap, rasa, aroma dan warna. Contoh yang sudah diberi kode disajikan secara acak kepada panelis, kemudian panelis terlatih (30 orang) diminta untuk memberikan nilai menurut tingkat kesukaan. Jumlah skala yang digunakan yaitu 7 skala uji uji (1 = sangat tidak suka, 2 = tidak suka, 3 = agak tidak suka , 4 = netral, 5 = agak suka, 6 = suka, dan 7 = sangat suka).

#### **4.5.2 Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH**

Pengukuran aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode DPPH atau dikenal dengan perendaman radikal bebas 1,1-diphenil-2-pikrihidrazil. Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk penapisan aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat, efektif dan praktis (Molyneux, 2003).

Larutan DPPH dibuat dengan cara melarutkan kristal DPPH dalam pelarut metanol dengan konsentrasi 1 mM yang dilakukan pada suhu rendah serta terlindung dari cahaya. Antioksidan standar asam askorbat digunakan sebagai pembanding dibuat dengan konsentrasi 25, 50, 100, 200 dan 400 ppm.

Sampel isolat sebanyak kurang lebih 12 mg diencerkan dengan metanol hingga 10 ml. larutan ekstrak dan antioksidan pembanding asam askorbat (vitamin C) yang telah dibuat, masing-masing sebanyak 2,5 ml direaksikan dengan 2,5 ml larutan DPPH 1 mM dalam tabung reaksi dan diberi penanda (label). Sedangkan untuk larutan blanko dibuat dengan mencampurkan 2,5 ml metanol dengan 2,5 ml larutan DPPH 1 mM. Semua campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama

30 menit dan terlindungi dari cahaya matahari. Kemudian, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Kubo *et al*, 2002).

Nilai absorbansi yang diperoleh akan dipakai untuk menentukan aktivitas antioksidan yang dinyatakan dengan AEAC (*Ascorbic Acid Equivalent Antioxidant Capacity*). Penentuan nilai AEAC (mg/L) menggunakan persamaan regresi yang telah diperoleh dari kurva standar asam askorbat ( $y = ax + b$ ).

Perhitungan AEAC adalah sebagai berikut :

$$\text{AEAC (mg asam askorbat/g sampel)} = \frac{C.V}{g}$$

Keterangan :

AEAC = *Ascorbic Acid Equivalent Antioxidant Capacity*  
( $\mu\text{g}$  asam askorbat/g sampel)

C = Nilai AEAC (mg/L) = nilai x

V = Volume larutan ekstrak (ml)

g = Berat sampel yang digunakan (g)

Aktivitas antioksidan juga dinyatakan dalam  $\text{IC}_{50}$  (Inhibitor Concentration), yaitu konsentrasi sampel yang dapat menurunkan/menangkap setengah radikal bebas. Semakin kecil nilai  $\text{IC}_{50}$  maka semakin besar aktivitas antioksidan sampel. Sampel dari masing-masing ekstrak dibuat dalam konsentrasi 25, 50, 100, 200, 400 ppm. Larutan ekstrak sebanyak 2,5 ml dicampurkan dengan 2,5 ml DPPH 1 mM. Campuran ini diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit dan terlindungi dari cahaya matahari, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Absorbansi blanko yang telah diperoleh sebelumnya dan absorbansi yang diperoleh dari pengukuran tersebut akan digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan persentase penghambatan radikal bebas (persen inhibisi) yang dapat dihitung dengan formulasi sebagai berikut:

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

Persen inhibisi yang diperoleh digunakan dalam persamaan regresi sederhana untuk mencari persamaan  $y = b(x) + a$ . Persamaan ini akan digunakan untuk mencari nilai  $\text{IC}_{50}$  (inhibitor concentration 50%) masing-masing sampel,

dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x sebagai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menyatakan konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi DPPH sebesar 50% (Bhaigyabati, 2011., Sudirman *et al.*, 2011).

#### 4.5.3 Analisis Total Fenol

Pengukuran kandungan fenol total pada ekstrak dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu mengikuti prosedur Das *et al.* (2012) dengan sedikit modifikasi. Standar yang digunakan adalah asam galat.

Standar asam galat dibuat dengan variasi konsentrasi 10-50 ppm dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm dan dibuat kurva standar untuk menentukan konsentrasi isolat yang akan diuji. Prosedur pengukuran sampel dilakukan dengan cara menimbang sampel sebanyak kurang lebih 12 mg untuk isolat lalu ditambahkan dengan 0,5 ml metanol, 2,5 ml aquadest dan 2,5 ml reagent Folin-Ciocalteu 50%. Campuran didiamkan selama 5 menit kemudian ditambahkan dengan 2 ml  $Na_2CO_3$  7,5% dan divorteks lalu diinkubasi selama 2 jam di ruang gelap pada suhu 45°C. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 765 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai absorbansi yang diperoleh akan dipakai untuk menentukan konsentrasi sampel dengan menggunakan persamaan regresi yang telah diperoleh dari kurva standar ( $y = ax + b$ ).

Perhitungan *Total Phenolic Content*(TPC) adalah sebagai berikut :

$$TPC = \frac{C.V.f}{g}$$

Keterangan :

TPC = *total phenolic content* (mg asam/g sampel)

C = konsentrasi Fenolik (nilai x)

V = volume ekstrak yang digunakan (ml)

f = Faktor pengenceran

g = Berat sampel yang digunakan (g)



#### **4.5.4 Analisis Data**

Rancangan yang digunakan untuk memperoleh perlakuan terbaik pada proses pembuatan minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) adalah Rancangan Acak Lengkap dengan tiga kali ulangan. Data di analisis dengan uji statistik *Analysis of Variance* (ANOVA). Bila terdapat perbedaan nyata antara perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

## **BAB V HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI**

### **5.1 Preparasi sampel**

Daun kelor  $\pm$  3082 g dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat terbuka yang terlindung dari cahaya matahari. Pengeringan tanpa cahaya matahari bertujuan untuk mencegah kerusakan senyawa aktif akibat cahaya matahari. Pengeringan berlangsung selama  $\pm$  4 hari sampai daun kelor benar-benar kering. Adapun tujuan pengeringan adalah untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada daun kelor. Daun kelor kering 760 g dirajang sampai menjadi serbuk kasar dengan rendemen 21,74%. Artinya kadar air yang hilang pada proses pengeringan daun kelor sebesar 78,26%. Perhitungan rendemen bertujuan untuk mengetahui persentase jumlah daun kelor kering yang dapat digunakan dari jumlah keseluruhan daun kelor basah.

### **5.2 Ekstraksi sampel**

Proses penarikan komponen kimia yang terkandung dalam daun kelor dilakukan dengan ekstraksi secara maserasi. Serbuk kasar daun kelor sebanyak 670 g dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Sebelum digunakan pada maserasi, metanol dimurnikan dengan cara diredestilasi. Metanol digunakan untuk menarik senyawa kimia karena memiliki struktur molekul yang kecil yang mampu menembus semua jaringan tumbuhan untuk menarik senyawa aktif keluar. Semakin lama waktu ekstraksi, kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Kontak antara sampel dan pelarut dapat ditingkatkan apabila dibantu dengan pengadukan. Proses maserasi dilakukan selama 3x24 jam dan penyaringan dilakukan setiap 1x24 jam. Hasil penyaringan berupa maserat dan residu. Maserat ditampung kedalam wadah yang tertutup/toples dan residu dimaserasi kembali dengan metanol yang baru.

Maserat total yang diperoleh, dievaporasi menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Evaporasi bertujuan untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak. Proses penguapan pelarut terjadi di bawah suhu titik didih pelarutnya sehingga tidak merusak senyawa aktif pada ekstrak. Hasil evaporasi

adalah ekstrak kental metanol sebanyak 111,89 g. Rendemen yang dihasilkan dari ekstrak kental metanol sebesar 16,7 %. Rendemen tersebut merupakan persentase antara bagian yang dapat terekstrak dari keseluruhan daun kelor yang dimaserasi.

### **5.3 Fraksinasi**

Fraksinasi dilakukan dengan metode partisi cair-cair menggunakan corong pisah. Ekstrak kental metanol sebanyak 100 g dipartisi menggunakan corong pisah. Partisi bertujuan untuk memisahkan komponen kimia dalam fraksi-fraksi berdasarkan perbedaan tingkat kepolaran di mana komponen kimia yang berbeda kepolarannya akan terdistribusi kedalam pelarut yang sesuai dengan kepolarannya. Ekstrak kental metanol disuspensi dengan metanol dan air dengan menggunakan perbandingan 1:2 dalam (50 mL:100 mL). Kemudian dipartisi secara bertahap menggunakan n-heksan dan etil asetat. Partisi dengan n-heksan bertujuan untuk memisahkan komponen non polar dari suspensi metanol-air yang bersifat polar sedangkan partisi dengan etil asetat untuk memisahkan komponen semi polar.

Suspensi metanol-air dimasukkan kedalam corong pisah dan ditambahkan n-heksan 50 mL. Agar terpisah dengan baik, corong pisah dikocok sampai terjadi pemisahan antara kedua fraksi yang ditandai dengan terbentuk dua lapisan pada corong pisah. Komponen yang larut dalam n-heksan berada di lapisan atas karena massa jenis n-heksan (0,4 g/mL) lebih kecil dari pada massa jenis air (1 g/mL). Setelah terjadi pemisahan, masing-masing fraksi dipisahkan dan ditampung yaitu fraksi n-heksan dan fraksi metanol-air. Partisi dilakukan sebanyak (6x50 mL) untuk mengoptimalkan pemisahan. Kemudian partisi dilanjutkan dengan etil asetat. Fraksi metanol-air dimasukkan kembali kedalam corong pisah dan dipartisi dengan etil asetat 50 mL. Kemudian corong pisah dikocok sampai terjadi pemisahan yaitu terbentuk dua lapisan. Komponen yang larut dalam fraksi etil asetat berada di lapisan atas karena massa jenis etil asetat (0,66 g/mL) lebih kecil dari pada massa jenis air (1 g/mL). Setelah terjadi pemisahan, masing-masing fraksi dipisahkan dan ditampung yaitu fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air.

Partisi dengan etil asetat dilakukan sebanyak (6x50 mL) untuk mengoptimalkan pemisahan.

Hasil dari fraksinasi adalah fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat. Kedua fraksi tersebut dievaporasi untuk memisahkan ekstrak dengan pelarutnya. Proses evaporasi menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Hasil evaporasi adalah ekstrak etil asetat 10,87 g yang berwarna coklat tua dan ekstrak n-heksan 21,15 g yang berwarna hijau kehitaman. Berdasarkan Tabel 4.2 persentase bagian yang dapat difraksinasi dari ekstrak kental metanol dinyatakan dalam bentuk rendemen. Rendemen ekstrak n-heksan lebih besar dibanding rendemen ekstrak etil asetat. Hal ini menunjukkan bahwa dalam ekstrak metanol, komponen nonpolar yang dapat difraksinasi lebih banyak dibandingkan komponen semi polar. Penarikan komponen kimia oleh etil asetat dapat terjadi karena adanya gugus etoksi pada etil asetat menyebabkan etil asetat dapat membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa aktif dari ekstrak metanol.

#### 5.4 Skrining Fitokimia

Ekstrak yang diperoleh pada tahap maserasi dan tahap fraksinasi dilakukan skrining fitokimia. Adapun ekstrak yang diskrining fitokimia yaitu ekstrak metanol, etil asetat, dan ekstrak n-heksan. Skrining fitokimia terhadap semua ekstrak bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak hasil maserasi dan ekstrak fraksinasi. Skrining fitokimia yang dilakukan terdiri dari uji flavonoid, alkaloid, steroid, triterpenoid dan saponin.

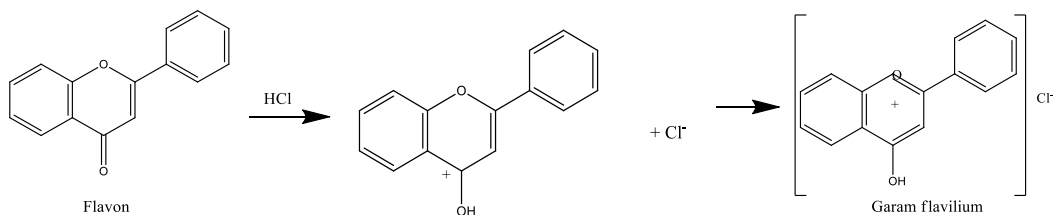
Tabel 2. Hasil skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder

Ekstrak	Skrining fitokimia	Pereaksi	Perubahan dengan pereaksi
Metanol	Flavonoid	HCl <sub>pekat</sub> + Mg	Hijau tua-hijau kekuningan (+) flavonoid
		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Hijau tua-Hijau kekuningan (+) flavonoid
		NaOH	Hijau tua-Hijau kekuningan (+) flavonoid
	Alkaloid	Dragendrof	Hijau tua-Endapan jingga (+) alkaloid
		Wagner	Hijau tua-Tak ada endapan (-) alkaloid

		Mayer	Hijau tua-Tidak ada endapan	(-) alkaloid
		Hager	Coklat -Tidak ada endapan	(-) alkaloid
	Triterpenoid	Asam asetat + $H_2SO_4$ pekat	Hijau tua-Coklat kehijauan	(+) triterpenoid
	Steroid	Asam asetat + $H_2SO_4$ pekat	Hijau tua-Coklat kehijauan	(+) steroid
	Saponin	$H_2O$ + $HCl$ pekat	Tidak terbentuk buih	(-) saponin
Etil asetat	Flavonoid	$HCl$ pekat + Mg	Kuning kecoklatan-Jingga	(+) flavonoid
		NaOH	Kuning kecoklatan-jingga	(+) flavonoid
		$H_2SO_4$ pekat	Kuning kecoklatan-Jingga	(+) flavonoid
	Alkaloid	Dragendroff	Kuning kecoklatan - Endapan jingga	(+) alkaloid
		Mayer	Kuning kecoklatan-tidak ada endapan	(-) alkaloid
		Hager	Kuning kecoklatan-tidak ada endapan	(-) alkaloid
		Wagner	Kuning kecoklatan-tidak ada endapan	(-) alkaloid
	Triterpenoid	Asam asetat + $H_2SO_4$ pekat	Kuning kecoklatan-Coklat	(+) triterpenoid
	Steroid	Asam asetat + $H_2SO_4$ pekat	Kuning kecoklatan-Coklat	(-) steroid
	n-heksan	Flavonoid	$HCl$ pekat + Mg	Hijau kehitaman-Tidak ada perubahan
$H_2SO_4$ pekat			Hijau kehitaman-Tidak ada perubahan	(-) flavonoid
NaOH			Hijau kehitaman- Tidak ada perubahan	(-) flavonoid
Alkaloid		Dragendrof	Hijau kehitaman-Tidak ada endapan	(-) alkaloid
		Mayer	Hijau kehitaman-Tidak ada endapan	(-) alkaloid
		Hager	Hijau kehitaman-Tidak ada endapan	(-) alkaloid
		Wagner	Hijau kehitaman-Tidak ada endapan	(-) alkaloid
Triterpenoid		Asam asetat + $H_2SO_4$ pekat	Hijau kehitaman-Hijau terang	(-) triterpenoid
Steroid		Asam asetat + $H_2SO_4$ pekat	Hijau kehitaman-Hijau terang	(+) steroid

Berdasarkan Tabel 2 hasil kringing fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak hasil maserasi yaitu ekstrak metanol menunjukkan hasil positif (+) terhadap uji flavonoid, alkaloid, steroid, dan triterpenoid. Pada ekstrak hasil fraksinasi yaitu ekstrak n-heksan menunjukkan hasil positif (+) terhadap uji steroid dan pada ekstrak etil asetat menunjukkan hasil positif (+) terhadap uji flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid.

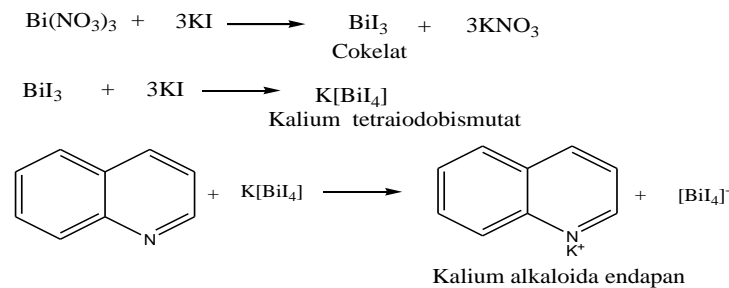
Ekstrak positif terhadap uji flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna dari kuning kecoklatan menjadi jingga dengan menggunakan pereaksi HCl + serbuk Mg. Perubahan warna tersebut diduga merupakan reaksi pembentukan garam flavilium. Senyawa flavon dan flavonol dengan asam klorida menghasilkan garam benzopirilium yang berwarna yang disebut garam flavilium. Garam ini bila direaksikan kembali dengan basa menghasilkan kembali senyawa semula (Achmad, 1986). Hal ini diperkuat oleh Prashant, 2011 dalam (Setyowaty, dkk., (2014) di mana asam klorida dan magnesium bereaksi membentuk gelembung-gelembung yang merupakan gas H<sub>2</sub>, sedangkan asam klorida dan logam magnesium pada uji ini berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terjadi perubahan warna menjadi merah atau jingga. Adapun perkiraan reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan menggunakan pereaksi HCl ditambah serbuk Mg ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Perkiraan reaksi antara senyawa Flavonoid dengan HCl + serbuk Mg (Achmad, 1986).

Pada uji alkaloid menggunakan pereaksi Dragendroff terhadap ekstrak yang menunjukkan hasil positif (+) mengandung alkaloid yang ditandai dengan terbentuknya endapan jingga. Hal ini diperkuat oleh Svehla 1990 dalam (Setiaji, 2014) senyawa positif mengandung senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan tersebut adalah

kalium-alkaloid. Adapun perkiraan reaksi yang terjadi pada senyawa alkaloid dengan menggunakan pereaksi Dragendroff ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Perkiraan reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendroff

Berdasarkan persamaan reaksi pada Gambar 4.10 ion logam  $\text{K}^+$  membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan senyawa alkaloid sehingga membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap berwarna jingga.

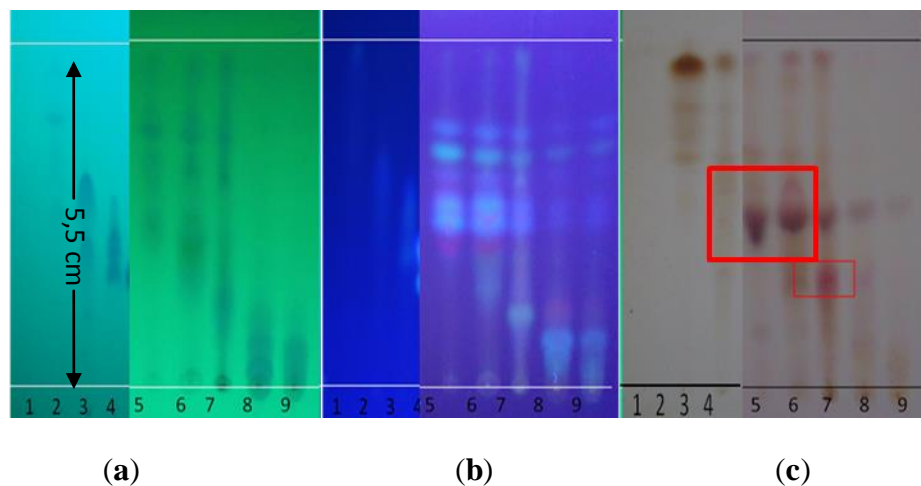
### 5.5 Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis dilakukan untuk melihat pola kromatogram senyawa pada ekstrak metanol. Analisis kromatografi lapis tipis dilakukan menggunakan fase diam plat silika gel 60 GF<sub>254</sub> dengan fase gerak tertentu. Ekstrak dilarutkan pada pelarut yang cocok dan ditotolkan pada plat KLT yang berukuran 1x6 cm dan dielusi dengan perbandingan eluen. Setelah dielusi, bercak noda diamati dengan menggunakan lampu UV karena dengan lampu UV bercak noda dapat dilihat dengan jelas. Ekstrak pekat n-heksana (7,0 g) dipisahkan komponen senyawa kimia penyusunnya menggunakan metode kromatografi cair kolom terbuka dengan fasa diam silika gel G60 (70-230 mesh), fase geraknya *n*-heksana dan etil asetat, secara gradien, 10% dan dihasilkan 11 fraksi. Komposisi pelarut yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi pelarut kromatografi kolom ke-1 ekstrak etil asetat (19-01) dengan volume tampungan 500 ml/fraksi.

Fraksi	Sistem pelarut (mL)	
	<i>n</i> -heksana	Etil asetat
01	500,0	0
02	450	50
03	400	100
04	350	150
05	300	200
06	250	250
07	200	300
08	150	350
09	100	400
10	50	450
11	0	500

Analisis pemisahan komponen senyawa hasil kolom kromatografi fraksi (1-11) dilakukan dengan menggunakan metoda kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fasa diam silika gel G60 F<sub>254</sub>. Analisis menggunakan metode KLT disebabkan selain mudah, juga bisa dengan cepat mengetahui pemisahan suatu senyawa oleh pelarut.

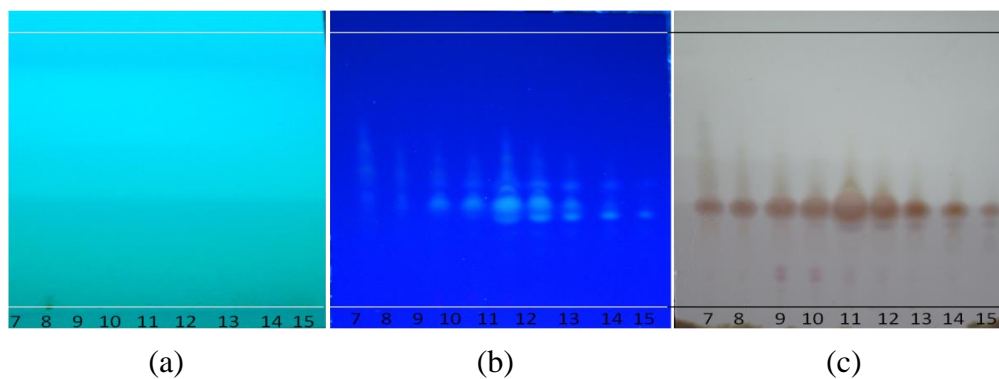


Gambar 9. Kromatogram KLT menggunakan plat silika gel GF<sub>254</sub> fraksi 01-09 pelarut *n*-heksana-etil asetat (8:2). Gambar (a) kromatografi di bawah lampu UV  $\lambda$  254; (b) kromatografi dibawah lampu UV  $\lambda$  365; (c) setelah menggunakan zat penampak noda 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam etanol



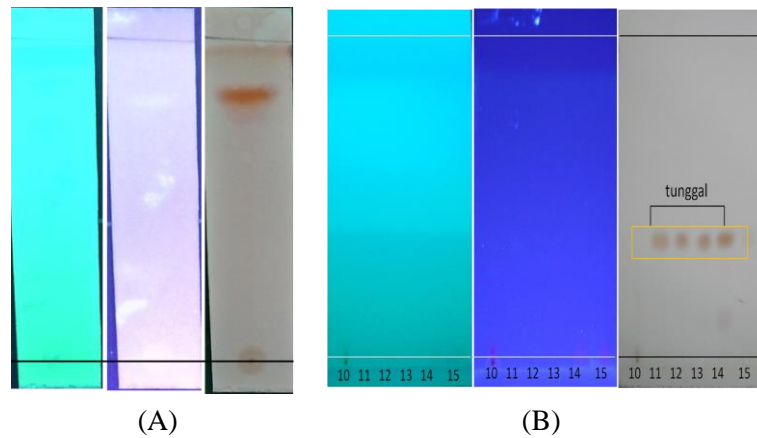
## 5.6 Uji kemurnian isolat

Uji kemurnian isolat hasil kromatografi kolom dilakukan menggunakan teknik analisis kromatografi lapis tipis (KLT). Pada analisis KLT fraksi yang memiliki warna noda, jumlah noda dan nilai Rf yang sama dianggap satu fraksi. Warna noda diamati lebih teliti dengan menggunakan lampu UV sedangkan nilai Rf dihitung dengan mengukur bercak noda langsung pada Selanjutnya fraksi 5 dan 7 digabungkan kemudian dikolom secara isokratik dengan pelarut pelarut *n*-heksana-etil asetat (9,5:0,5). Hasil pemurnian ini diperoleh 20 tampungan. Selanjutnya pada tampungan 7-15 dilakukan analisis komponen senyawanya dengan menggunakan KLT fasa diam silika dan eluen *n*-heksana dan etil asetat (8:2). Hasil analisis dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Kromatogram KLT menggunakan plat silika gel GF<sub>254</sub> fraksi 07 sampai 15 pelarut *n*-heksana-etil asetat (8:2). Gambar (a) kromatografi dibawah lampu UV  $\lambda$  254; (b) kromatografi dibawah lampu UV  $\lambda$  365; (c) setelah menggunakan zat penampak noda 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam etanol.

Berdasarkan Gambar 10 terlihat bahwa hasil pemisahan fraksi 5 dan 7 belum memiliki satu spot. Selanjutnya fraksi 7 s/d 11 digabungkan. Massa fraksi setelah digabungkan adalah 29,5 mg. Analisis selanjutnya dilakukan dengan menggunakan KLT fasa terbalik dengan fasa diam ODS dan eluen metanol 100%. Hasil analisis KLT fasa terbalik menunjukkan noda yang lebih memisah sehingga pemisahan selanjutnya dilakukan dengan kromatografi kolom fasa terbalik dengan fasa diam ODS, eluen H<sub>2</sub>O-MeOH (0,5:9,5) secara isokratik.



Gambar 11. KLT dengan pelarut *n*-heksana-etil asetat (8:2) (A), KLT dengan fasa terbalik ODS pelarut methanol 100%.

Hasil analisis spot noda menunjukkan senyawa sudah murni. Massa senyawa murni setelah digabungkan (11-14) adalah 5,3 mg.

### 5.7 Pembuatan tepung daun kelor

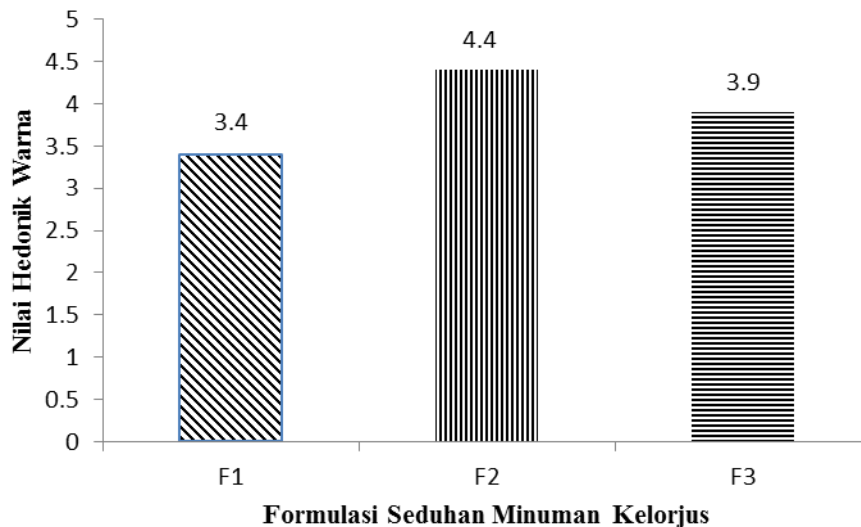
Daun kelor (*Moringa oleifera*) yang digunakan adalah daun muda yang dipetik dari dahan pohon yang kurang lebih dari tangkai daun pertama (di bawah pucuk) sampai tangkai daun ketujuh yang masih hijau, meskipun daun tua bisa digunakan asal daun kelor tersebut belum menguning. Sebanyak 6150 gram daun kelor dikeringkan. Adapun tujuan pengeringan adalah untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada sampel. Proses pengeringan berlangsung selama 5 hari dan harus dibolak-balik setiap hari. Pada proses pengeringan, daun kelor dikeringkan diruang terbuka pada suhu kamar dan tanpa sinar matahari. Tujuan pengeringan tanpa cahaya matahari adalah untuk mencegah terjadinya kerusakan senyawa akibat sinar UV. Setelah kering, daun kelor kering ditimbang kemudian diblender untuk menghasilkan serbuk daun kelor dan diayak dengan ayakan untuk memisahkan batang-batang kecil yang tidak bisa hancur dengan blender, selanjutnya disimpan dalam wadah plastik yang kedap udara. Tepung daun kelor yang dihasilkan sebanyak 835 gram sehingga rendemen diperoleh sebesar 13,57 %

### 5.7.1 Karakteristik organoleptik minuman Kelorjus (kelor, jahe, kayu manis) meliputi warna, rasa, dan aroma.

Organoleptik hedonik atau uji kesukaan merupakan faktor terpenting untuk mengetahui penerimaan panelis terhadap suatu produk baik makanan maupun minuman. Penilaian organoleptik hedonik terhadap seduhan minuman kelorjus meliputi warna, rasa, dan aroma.

#### 5.7.1.1 Warna

Warna merupakan bagian dari produk yang paling pertama diperhatikan ketika memilih produk. Warna sangat mempengaruhi seseorang untuk membeli atau mengonsumsi makanan dan minuman. Warna merupakan indikator yang pertama kali dilihat dan diamati oleh konsumen karena warna merupakan faktor kenampakan yang langsung dapat dilihat oleh konsumen.



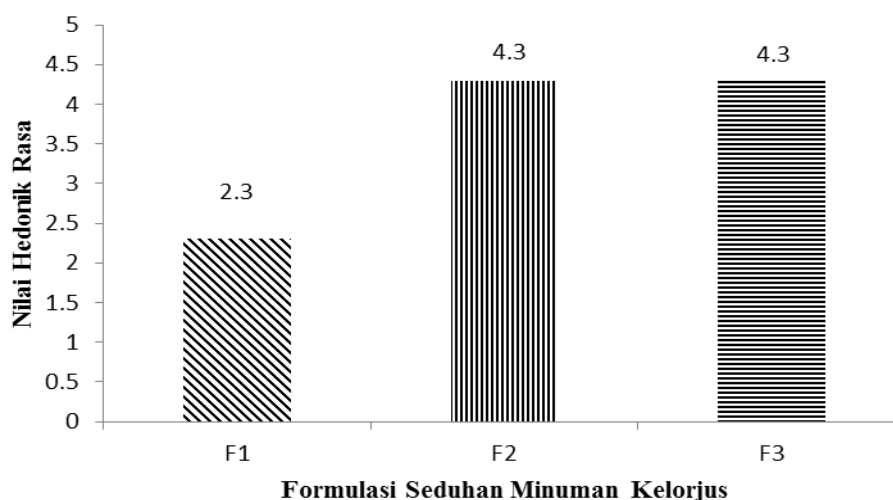
Gambar 3. Uji organoleptik warna seduhan minuman kelorjus

Berdasarkan nilai hedonik terhadap nilai kesukaan panelis terhadap warna yaitu pada formula 1 dengan nilai skor 3.4 merupakan nilai kesukaan terendah, sedangkan nilai kesukaan tertinggi diperoleh pada formula 2 dengan nilai skor 4.5. Berdasarkan analisis sidik ragam menunjukkan bahwa F-hitung (5.1) lebih besar dari F-tabel (2,83) pada taraf 5%. Hal ini berarti bahwa perbedaan perlakuan seduhan minuman kelor dengan penambahan jahe dan kayu manis memberikan

pengaruh nyata pada tingkat kesukaan warna dengan tiga formula yang berbeda. Pengujian lanjut Duncan menunjukkan bahwa kesukaan seduhan minuman serbuk kelorjus formula 1 berbeda nyata dengan perlakuan formula 2 dan formula 3 pada taraf 0.05. Hal ini karena penambahan kayu manis pada minuman kelorjus formula 2 menghasilkan warna yang paling mendominasi adalah warna coklat. Warna coklat disebabkan oleh penambahan kayu manis. Kayu manis mengandung senyawa kimia tanin, gula dan kumarin sehingga mampu menghasilkan warna coklat. Hal ini dibuktikan dalam penelitian Jayanata (2013), penambahan kayu manis pada minuman beras organik membuat minuman menjadi warna coklat sehingga baik untuk pewarna alami karena mengandung pewarna alami 5%. Sedangkan formula 1 menghasilkan warna hijau tua yang kurang menarik menurut penilaian panelis. Daun kelor mengandung klorofil sehingga membuat minuman berwarna hijau sehingga menyebabkan warna yang kurang disukai panelis. Menurut Krisnadi (2012) bahwa daun kelor mengandung klorofil dengan konsentrasi tinggi. Daun kelor mengandung klorofil pada 6.890 mg/kg bahan kering. Sedangkan dalam 8 gram serbuk daun kelor mengandung 162 mg klorofil.

#### 5.7.1.2 Rasa

Rasa merupakan faktor penting untuk menentukan diterima atau tidaknya suatu produk pangan dalam penelitian.

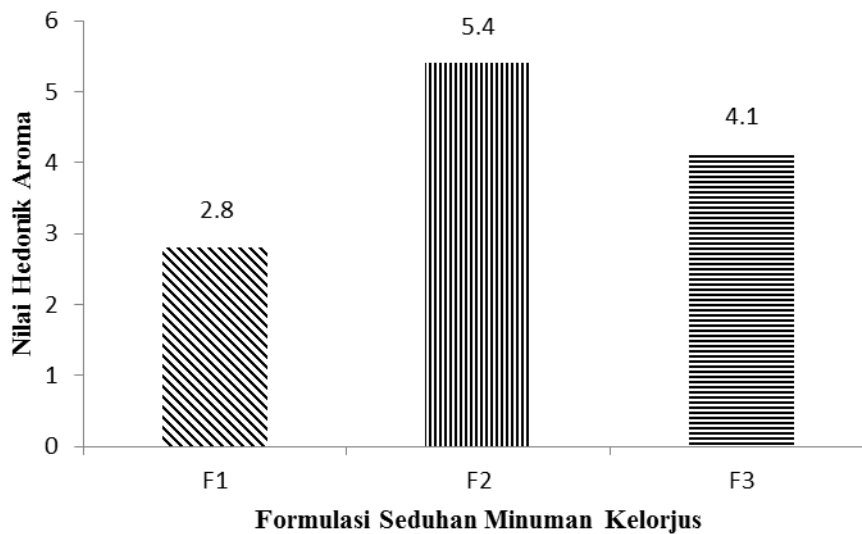


Gambar 4. Uji Organoleptik Rasa seduhan minuman Kelorjus

Berdasarkan nilai hedonik terhadap rasa menunjukkan bahwa seduhan minuman kelorjus (kelor, jahe, kayu manis) dengan nilai kesukaan panelis terhadap rasa terendah yaitu pada formula 1 dengan nilai skor 2.3. Nilai kesukaan yang setara terdapat pada formula 2 dan formula 3 dengan nilai skor rata-rata 4.3. Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa F-hitung (25.4) lebih besar dari F-tabel (2,83) pada taraf 5%. Hal ini berarti bahwa perbedaan perlakuan seduhan minuman kelorjus dengan penambahan jahe dan kayu manis memberikan pengaruh nyata pada tingkat kesukaan rasa formula 2 berbeda nyata dengan perlakuan formula 1 dan formula 3 pada taraf 0.05. Hal ini dipengaruhi oleh penambahan jahe pada minuman kelorjus dengan perbandingan K80%:J20% menghasilkan rasa yang menyegarkan karena rasa *mint* dapat menutupi rasa kelor yang agak sepat. Formula 1 menghasilkan rasa yang agak sepat sehingga panelis kurang menyukai karena memberikan rasa khas daun kelor. Hal ini karena adanya kandungan tanin dalam daun kelor. Tanin dapat menyebabkan rasa sepat karena saat dikonsumsi akan terbentuk ikatan silang antara tanin dengan protein atau glikoprotein di rongga mulut sehingga menimbulkan perasaan kering dan berkerut atau rasa sepat (Jamriati, 2008 di dalam Rosyidah, 2016).

### **5.7.1.3 Aroma**

Aroma adalah bau yang ditimbulkan oleh rangsangan kimia yang tercium oleh syaraf-syaraf olfaktori yang berada dalam rongga hidung ketika makanan masuk ke dalam mulut (Winarno, 2004).



Gambar 5. Uji Organoleptik aroma seduhan minuman kelorjus

Berdasarkan nilai hedonik terhadap aroma menunjukkan bahwa minuman kelorjus formula 1 memiliki nilai kesukaan panelis terendah terhadap aroma yaitu 2.8, sedangkan nilai kesukaan tertinggi diperoleh pada perlakuan penambahan kayu manis (5.4). Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa F-hitung (31.7) lebih besar dari F-tabel (2,83) pada taraf 5%. Hal ini berarti bahwa perbedaan perlakuan seduhan minuman kelorjus dengan penambahan jahe dan kayu manis memberikan pengaruh nyata pada tingkat kesukaan aroma. Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa kesukaan seduhan minuman kelorjus formula 1 berbeda nyata dengan formula 2 dan formula 3 pada taraf 0.05. Hal ini karena dipengaruhi perlakuan dengan penambahan kayu manis menghasilkan aroma yang wangi yang mendominasi pada minuman tersebut. Karena kayu manis mengandung senyawa aromatik yang tinggi sehingga memunculkan bau yang harum pada minuman kelorjus. Menurut Rismunandar (1993), kayu manis menghasilkan aroma yang berasal dari minyak atsiri yang terdapat pada seluruh bagian tanaman kayu manis. Aroma pada formula 1 kurang disukai panelis karena daun kelor masih menonjolkan aroma khas daun kelor atau aroma menyengat. Daun kelor mengandung enzim lipoksidase, enzim ini terdapat pada sayuran hijau dengan menghidrolisis atau menguraikan lemak menjadi senyawa-senyawa penyebab bau langu, yang tergolong pada kelompok heksanal. Bau langu yang terdapat pada

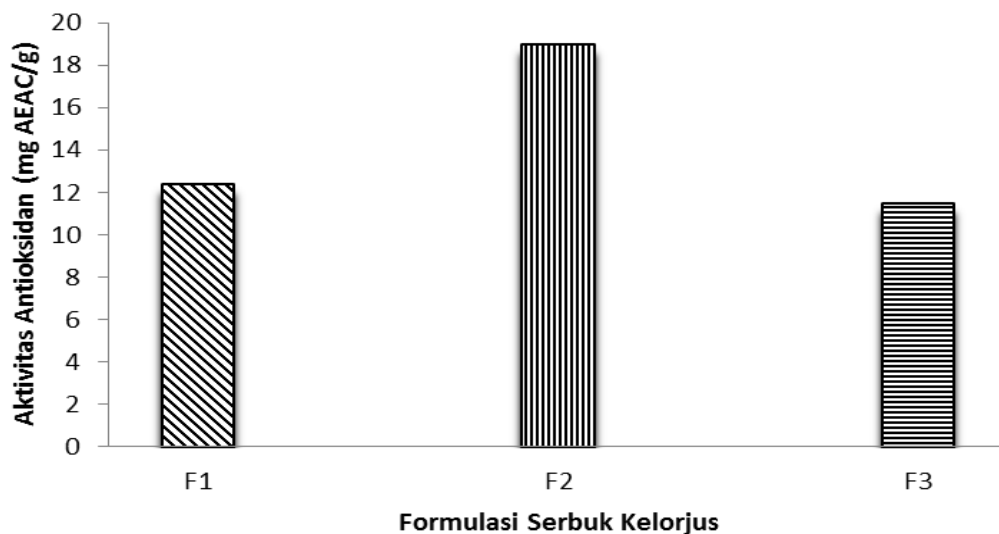
daun kelor dapat dihilangkan dengan cara merendang daun kelor dalam air panas dengan batas waktu yang di tentukan, namun tidak menghilangkan kandungan kimia yang terdapat pada daun kelor (Rahayu 2016).

#### **5.7.1.4. Aktivitas Antioksidan serbuk kelorjus**

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode serapan radikal DPPH. Metode ini sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah sedikit dengan waktu yang singkat (Hanani *et al*, 2005).

Penelitian ini menggunakan asam askorbat (Vitamin C) sebagai antioksidan standar untuk pembuatan kurva standar sehingga satuan pengukuran dinyatakan sebagai AEAC (*Ascorbic Acid Equivalent Antioxidant Capacity*). Adapun alasan pemilihan Vitamin C sebagai standar karena Vitamin C merupakan antioksidan alami yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi sehingga absorbansinya mudah teramati selain itu Vitamin C juga memiliki gugus fenol sehingga dapat dijadikan pembanding dari antioksidan alami yang juga mengandung gugus fenol seperti flavonoid.

Mula-mula dibuat kurva standar asam askorbat untuk mendapatkan persamaan regresi linier yang akan digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan (mg AEAC/g sampel). Selanjutnya dihitung aktivitas antioksidan pada serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) yang dinyatakan dalam AEAC.



Gambar 6. Aktivitas Antioksidan serbuk kelorjus

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan serbuk kelorjus (kelor, jahe, kayu manis) dengan perbandingan perlakuan didapatkan hasil yakni formula 1 (12.39 mg/g), formula 2 (18.97 mg/g) dan formula 3 (11.50 mg/g). Hal ini menunjukkan bahwa serbuk kelorjus mempunyai aktivitas sebagai antioksidan meskipun sangat lemah.

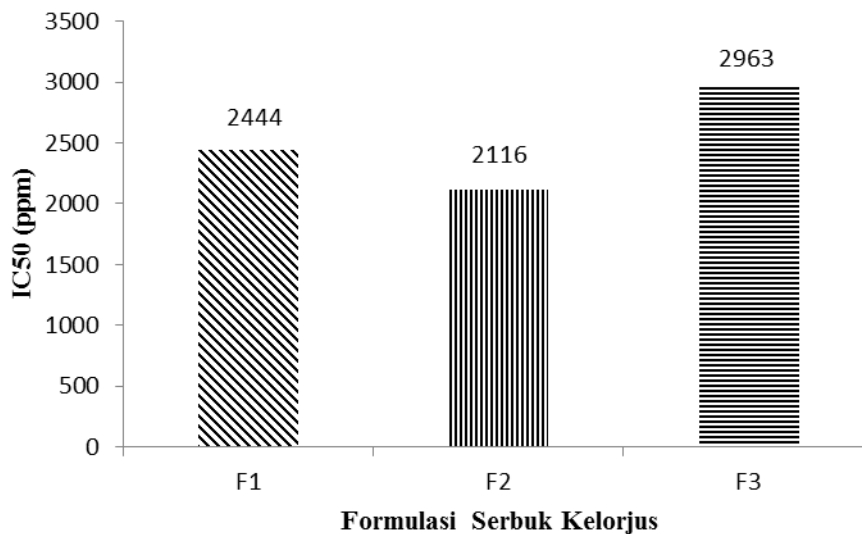
Faktor yang menyebabkan sangat lemahnya aktivitas antioksidan pada serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) adalah senyawa flavonoid yang terdapat dalam serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) diduga masih dalam keadaan yang tidak murni sehingga senyawa flavonoid yang terdapat dalam serbuk kemungkinan masih berikatan dengan gugus glikosida, karena gugus glikosida yang berikatan dengan flavonoid dapat menurunkan aktivitas antioksidan.

Menurut Fukumoto dan Mazza (2000) aktivitas antioksidan akan meningkat dengan bertambahnya gugus hidroksil dan akan menurun dengan adanya gugus glikosida. Senyawa flavonoid di alam umumnya sangat jarang ditemukan dalam bentuk aglikon flavonoid. Menurut Harborne (1987) bahwa flavonoid dalam tumbuhan sering terdapat sebagai glikosida (flavonoid glikosida) dan jarang sekali ditemukan dalam bentuk tunggal aglikon flavonoid, oleh karena itu untuk menganalisis flavonoid lebih baik untuk menghidrolisis glikosida yang



terikat pada flavonoid tersebut sebelum memperhatikan kerumitan glikosida yang mungkin terdapat dalam serbuk minuman kelorjus (kelor, jahe, kayu manis) tersebut. Adanya gugus OH yang termetilasi atau terikat dengan glikosida, menyebabkan flavonoid tersebut tidak dapat teridentifikasi dengan baik oleh pereaksi yang bersifat basa seperti Mg, amoniak, NaOH, AlCl<sub>3</sub> dan sitroborat (Mabry, et al., 1970).

Selain itu, aktivitas antioksidan serbuk kelorjus yang sangat lemah ini diduga disebabkan karena senyawa tersebut masih dalam keadaan tidak murni, sehingga perlu dilakukan diekstraksi dengan harapan agar didapat nilai IC<sub>50</sub> dari senyawa spesifik yang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat. Hal ini dapat dilihat dari penelitian sebelumnya tentang antioksidan daun kelor yang dilakukan oleh Erika, *et al.*, (2014) dimana ekstrak etil asetat dan n-heksan nilai IC<sub>50</sub> 6,59 ppm yang masuk dalam kategori antioksidan sangat kuat dan fraksi n-heksan 77,80 ppm yang masuk dalam kategori antioksidan kuat.



Gambar 7. IC<sub>50</sub> serbuk kelorjus

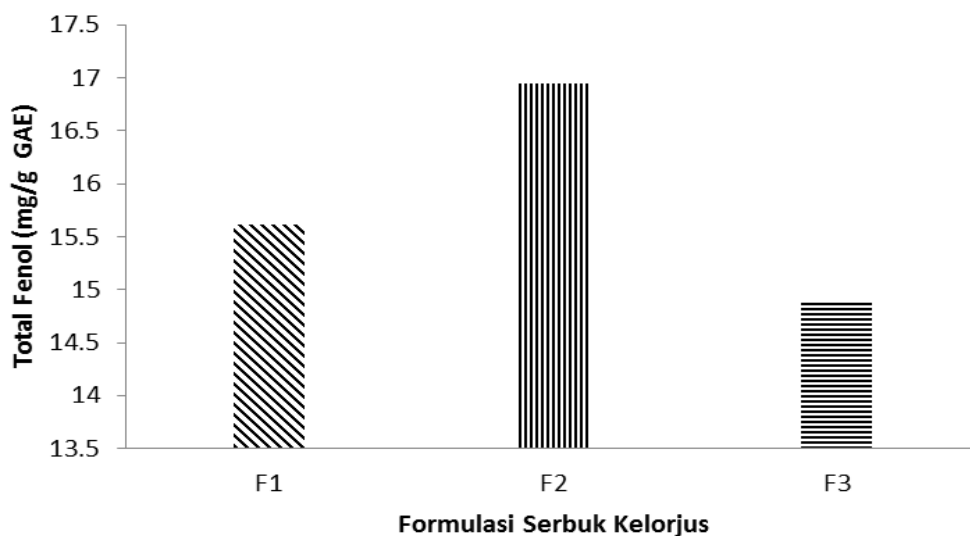
Berdasarkan hasil grafik IC<sub>50</sub> di masing-masing sampel menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi berbanding dengan lurus % peredaman. Hal ini dapat dilihat pada tabel hasil analisis DPPH metode IC<sub>50</sub> memiliki peningkatan tiap konsentrasinya. Setelah dimasukkan dalam persamaan linear diperoleh nilai

rata-rata IC50 sebesar 2507.7 ppm. Secara spesifik suatu senyawa antioksidan dikatakan sangat kuat apabila nilai IC50 kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat jika IC50 50 – 100 ppm, antioksidan sedang jika IC50 100 – 150 ppm, antioksidan lemah jika nilai IC50 lebih dari 150 – 200 ppm dan antioksidan sangat lemah jika IC50 lebih dari 200 ppm. Apabila suatu zat memiliki IC50 lebih dari 200 ppm, maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan (Molyneux, 2004).

#### 5.7.1.4. Total Fenol

Pada penelitian ini penentuan kandungan total fenol dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Metode ini didasarkan pada kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi fenolik. Semua senyawa fenolik dapat bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu.

Standar yang digunakan untuk pembuatan kurva dalam penelitian ini adalah asam galat dengan variasi konsentrasi 9.8, 19.6, 29.4, 39.2 dan 49 ppm. Kandungan fenolik total pada masing-masing ekstrak dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE), di mana GAE merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu bahan (Mongkolsilp *et al*, 2004).



Gambar 8. Uji Total fenol serbuk kelorjus (kelor, jahe, kayu manis)

Berdasarkan grafik diatas total fenol minuman serbuk kelorjus mengalami penurunan karena dengan tingginya suhu dan lamanya waktu pengeringan. Semakin lama waktu pengeringan dengan suhu yang sama, maka hasil yang didapatkan semakin kecil nilai total fenolnya. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hasil yang berbeda nyata.

Besarnya total fenol berbanding lurus dengan nilai antioksidan minuman kelorjus. Hal serupa telah dilaporkan oleh Walter dan Marchesen (2011) bahwa semakin tinggi total fenol, maka aktivitas antioksidannya akan semakin tinggi pula. Hal ini diperkuat dengan penelitian Jeong (2004) tentang aktivitas antioksidan dan kandungan total fenol yang menyebutkan bahwa peningkatan aktivitas antioksidan dapat mengindikasikan bahwa terdapat peningkatan kandungan total fenol. Hal ini juga didukung oleh penelitian Hadriyono (2011) terhadap kulit manggis (*Garcinia mangostana L*) yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang berbanding lurus antara kandungan total fenol dan aktivitas antioksidan.

## **BAB VI RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA**

Rencana tahapan yang berikutnya adalah Ekstrak dan isolat yang telah dimurnikan akan dilakukan pengujian terhadap proliferasi sel kanker.

- Mengidentifikasi komponen bioaktif pada isolat murni hasil kromatografi
- Karakterisasi komponen bioaktif hasil identifikasi dengan spektroskopi NMR
- Aktivitas produk ekstrak daun kelor dalam menghambat proliferasi sel kanker A549, WiDr, heLa

## **BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN**

### **7.1 Kesimpulan**

1. Minuman serbuk herbal kelor yang disubstitusi dengan jahe dan kayu manis dengan formulasi terbaik adalah 80% serbuk daun kelor dan 20% serbuk kayu manis mengandung aktivitas antioksidan hasil analisis DPPH metode IC50 sebesar 2116 ppm dan formulasi 80% serbuk daun kelor dan 20% serbuk kayu manis mengandung sebesar total fenol 16939.19 mg.
2. Minuman dengan formulasi terbaik yang disukai oleh panelis adalah formulasi dengan penambahan serbuk kayu manis pada parameter warna sebesar 4.5, formulasi dengan penambahan serbuk jahe pada parameter rasa sebesar 4.33, dan formulasi dengan penambahan serbuk kayu manis pada parameter aroma sebesar 5.4.
3. Hasil analisis spot noda menunjukkan senyawa sudah murni. Massa senyawa murni fraksi 11 sampai 14 adalah 5,3 mg.

### **7.2 Saran**

1. Karakterisasi NMR sangat penting sehingga perlu waktu untuk mengidentifikasi senyawa murni yang kemungkinan akan berpotensi sebagai antikanker.
2. Penelitian ini sangat penting sehingga diharapkan dapat didanai sampai tahun ke-4.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Sjamsul Arifin. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Penerbit Karunika. Jakarta
- Beta Ria Erika, Marita Dellima, Rini Sulistyawati. 2014. *Aktivitas Penangkapan Radikal DDPH oleh Fraksi n-heksan dan Fraksi Etil asetat Daun Kelor Leaves (Moringa oleifera, Lamk)*. (jurnal) Media Farmasi, Vol. 11 No. 1 Maret 2014 :1-6.
- Bukar, A., Uba, A. dan Oyeyi, T.I. 2010. *Antimicrobial Profile of Moringa oleifera Lam. Extracts Against Some Food –Borne Microorganisms*. Bayero Journal of Pure and Applied Sciences, 3(1): 43 –48.
- Creswell, Clifford J., Olaf A. Runquist, dan Malcolm M. Campbell. 2005. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. ITB. Bandung
- Day & Underwood. 2001. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Erlangga. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 1979. *Farmakope Indonesia edisi ketiga*. Jakarta: Diktorat Jendral POM-Depkes RI
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Acuan Sediaan Herbal*. Jakarta. Diktorat Jendral POM-Depkes RI.
- De Padua, L. S., Bunyapraphatsara, N. and Lemmens, R. H. M. S. 1999. *Plant Resources of South East Asia No 12(1). Medical and Poisonous Plants 1*. Printed in Bogor Indonesia (PROSEA). Leiden, the Netherlands, Backhuys Publishers.
- Fahey, J.W. 2005. *Moringa oleifera: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties. Part 1*. (online) ([http://www.malunggay-propagation.com/Jed\\_Fahey\\_text\\_GB.pdf](http://www.malunggay-propagation.com/Jed_Fahey_text_GB.pdf)).
- Fessenden, Ralph J., dan Joan S. Fessenden. 1986. *Organic Chemistry. 3rd*. Wadsworth, Inc. California. Terjemahan Aloysius Hadyana Pudjaatmaka. 1998. *Kimia Organik. Edisi 3. Jilid 1*. Erlangga. Jakarta.
- Gritter, Roy J. Bobbtt James M. Schwarting, Arthur E. 1991, *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*, Institut Teknologi Bandung. Creswell, Clifford J., Olaf A. Runquist, dan Malcolm M. Campbell. 2005. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. ITB. Bandung.
- Immy Suci Rohyani, Evi Aryanti, Suropto. (2015). *Kandungan fitokimia beberapa jenis tumbuhan lokal yang sering dimanfaatkan sebagai bahan baku obat di Pulau Lombok*. (jurnal Volume 1, Nomor 2, April 2015, ISSN: 2407-8050. Halaman: 388-391).

- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah: Padmawinata, K. Terbitan kedua. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Khopkar, S.M. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Penerjemah: Saptorahardjo, A. UI press . Jakarta
- Khopkar, S.M. 2014. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Penerjemah: Saptorahardjo, A. UI press . Jakarta
- Krisnadi A. Dudi. 2015. *Kelor Super Nutrisi*. (e-book)
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya. Airlangga Universitas Press.
- Lutfiana. 2013. *Uji Aktivitas Antiinflamasi Eksrtak Daun Kelor (Moringa oleifera Lamk.) Dengan Metode Stabilisasi Membrane Sel Darah Merah Dengan Metode In Vitro*. (Skripsi). Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah.
- Mabry T. J., Markham.K. R., dan Thomas M. B.,1970. *The Systematic Identification of flavonoids*. Springer-Verlag, New York. Heidelberg. Berlin.
- Rahmat, H. 2009. *Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Sayuran Indigenous Jawa Barat*: Institut Pertanian Bogor. (online)  
(<http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/11374>).
- Rini Sulistyawati, Beta Ria Erika, Marika Delima, Eni Kertika Sari.2014. *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Bioaktif Pada Daun Kelor ( Moringa oleifera Lamk.) yang Berpotensi sebagai Antibakteri Terhadap Staphylococcus aureus*. (jurnal).
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerjemah: Padmawinata, K. Bandung: Penerbit ITB.
- Roloff, A., H. Weisgerber., U. Lang., B. Stimm. 2009. *Moringa oleifera Lam., 1785*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.  
(<http://content.schweitzer-online.de>)
- Sangi, M.; Runtuwene, M.R.J.; Simbala, H.E.I. dan Makang, V.M.A.2008. *Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara*.Chemistry Progress. 1,47-53.
- Sastrohamdjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. UGM.Yogyakarta
- Satyajit D. Sarker dan Lutfun Nahar.2009. *Kimia Untuk Mahasiswa Farmasi; Bahan kimia organik, Alam dan Umum*. Penerjemah: Rohman, A. Pustaka Pelajar. Yogyakarta

- Schwarz, D.2000. *Water Clarification Using Moringa oleifera*. Gate Technical information W1c.
- Setiaji, G. 2014. *Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Minyak Hasil Ekstraksi Biji Honje (etlingera elatior)*.
- Siddhuraju, P., Becker, K. (2003). *Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agro-climatic origins of drumstick tree (Moringa oleifera Lam.)*. J Agric Food Chem 15: 2144–2155 (online). (<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf020444%2B>).
- Silverstein, Bassler dan Morrill. 1984. *Penyidikan Spektrofotometrik Senyawa Organik Edisi ke-4*. Jakarta; Erlangga.
- Simbolan, J.M., M. Simbolan., N. Katharina.2007. *Cegah Malnutrisi dengan Kelor*. Kanisius. Yogyakarta
- Soebagio. 2005. *Kimia Analitik II*. Universitas Negeri Malang. Malang.
- Sreelatha & PR Padma. 2009. *Aktivitas Antioksidan dan Total fenolik Isi Daun kelor (Moringa oleifera) di Dua Tahapan Kedewasaan*. (Jurnal).
- Sukadana, I M. 2010. *Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Awar-Awar*. 4 (1) : 63-67
- Widiastuti Agustina Eko Setyowati, Sri Rerto Dwi Ariani, Ashadi, Bakti Mulyadi, Cici Putri Rahmawati.2014. *Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (Durio zibethinus Murr.) farietas petruk*. pdf
- Wiwit Denny Fitriana, Sri Fatmawati, dan Taslim Ersam. 2015. *Uji aktivitas antioksidan terhadap DDPH dan ABTS dari fraksi-fraksi daun kelor (Moringa oleifera)*. (jurnal Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains 2015 (SNIPS 2015) 8 dan 9 Juni 2015. Bandung.
- Wonorahardjo, Surjani. 2013. *Metode-metode Pemisahan Kimia; Sebuah Pengantar*. Akademia Permata. Jakarta.



## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Jurnal “Akademika” yang statusnya submission

#### ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DARI EKSTRAK HEKSANA DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lamk.)

Dr. Yuszda K. Salimi, M.Si, Dra. Nurhayati Bialangi, M.Si, Saiman S.Pd

Jurusan Kimia, Universitas Negeri Gorontalo

#### Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dari ekstrak metanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa flavonoid dari ekstrak metanol daun kelor. Daun kelor dimaserasi dengan metanol dan diperoleh rendemen ekstrak metanol 16,7%. Ekstrak metanol dipisahkan dengan kromatografi kolom menghasilkan 272 fraksi. Fraksi dimurnikan dan dianalisis dengan kromatografi lapis tipis menggunakan eluen n-heksan:etil asetat (7:3) dan diperoleh bercak noda dengan Rf (0,61) dan (0,47). Hasil uji fitokimia isolat positif terhadap uji flavonoid. Hasil identifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan spektrofotometri inframerah merupakan senyawa flavonoid. Identifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis menghasilkan I pita yang menyerap pada panjang gelombang 250 nm. Serapan pada panjang gelombang 250 nm di duga karena adanya transisi elektron yang tidak berikatan ke orbital  $\sigma$  anti-ikatan ( $n \rightarrow \sigma^*$ ) oleh suatu ausokrom yang tidak terkonjugasi yang diduga merupakan gugus fungsional hidroksil (OH). Identifikasi menggunakan spektrofotometri inframerah (IR) menunjukkan adanya gugus fungsi OH terikat, C=O, C=C aromatik, C-H alifatik, C-O alkohol dan =C-H aromatik.

**Kata kunci:** *Kelor, metanol, isolasi, identifikasi, flavonoid*

#### PENDAHULUAN

Indonesia memiliki sumber daya alam organik sangat berlimpah dan mengandung jutaan senyawa kimia. Tumbuhan dapat berpotensi sebagai pengobatan penyakit karena

mengandung senyawa metabolit sekunder. Secara totalitas tumbuhan di Indonesia, sebagian besar belum diteliti kandungan kimianya. Belum adanya bukti secara ilmiah menyebabkan tumbuhan tertentu

tidak dimanfaatkan secara maksimal dan keberadaannya tumbuh sebagai tumbuhan liar.

Penelitian khusus untuk mengisolasi senyawa bahan alam sangat diperlukan untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder tertentu. Salah satu contoh tumbuhan yang biasanya digunakan sebagai pengobatan tradisional adalah tumbuhan kelor. Masyarakat Indonesia khususnya masyarakat pedesaan telah lama memanfaatkan kelor baik sebagai obat tradisional, sebagai sayuran, maupun makanan ternak. Keberadaan tumbuhan kelor sangat mudah didapatkan di seluruh wilayah Indonesia tidak terkecuali di daerah Gorontalo. Salah satu bagian tumbuhan kelor yang banyak dikonsumsi adalah bagian daun.

Penelitian tentang daun kelor dilaporkan Rohyani, dkk. (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 penapisan fitokimia fraksi etil asetat

daun kelor mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin. Dari kedua hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa daun kelor mengandung senyawa metabolit sekunder dan salah satunya adalah senyawa flavonoid.

Dari uraian tersebut, maka dilakukan penelitian “Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk)”

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan adalah satu set peralatan kromatografi, lampu UV, spektrofotometer UV-Vis dan Infrared (IR).

Bahan yang digunakan adalah aquades ( $H_2O$ ), metanol ( $CH_3OH$ ), etil asetat ( $C_3H_8O_2$ ), n-heksana ( $C_6H_{14}$ ), aseton ( $C_3H_6O$ ), kloroform ( $CHCl_3$ ), asam sulfat ( $H_2SO_4$ ), pereaksi Mayer, pereaksi Dragendrof, pereaksi Wagner, pereaksi Hager, silica gel 60 (70-230 Mesh), plat KLT GF<sub>254</sub>, serbuk magnesium (Mg), asam klorida

(HCl), asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), dan natrium hidroksida (NaOH).

Sampel penelitian ini adalah daun kelor. Lokasi pengambilan sampel di kota Gorontalo. Sampel dideterminasi di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Gorontalo (UNG).

### **Prosedur Penelitian**

#### **Preparasi sampel**

Sampel daun kelor segar dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama  $\pm 4$  hari. Daun kelor kering dirajang sampai menjadi serbuk kasar dan dihitung rendemennya.

#### **Skrining fitokimia**

Skrining fitokimia secara kualitatif merupakan uji pendahuluan yang bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol. Skrining fitokimia terdiri dari uji flavonoid, alkaloid, saponin, steroid dan triterpenoid dengan metode Harborne, 1987.

### **Kromatografi lapis tipis**

Kromatografi lapis tipis dilakukan untuk melihat pola kromatogram komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol. Pada kromatografi lapis tipis dilakukan dengan prinsip *trial and error* guna mencari eluen yang memberikan pemisahan yang baik. Analisis kromatografi lapis tipis dilakukan menggunakan fase diam plat silika gel 60 GF<sub>254</sub> dengan fase gerak menggunakan beberapa perbandingan eluen untuk mencari pemisahan yang baik.

### **Kromatografi kolom**

Kromatografi kolom menggunakan fase diam menggunakan silika gel 60 (70-230 Mesh) dan fase gerak menggunakan eluen secara bergradien mulai dari n-heksan 100% hingga etil asetat 100% dan dilanjutkan dengan fase gerak etil asetat-metanol dengan komposisi etil asetat 100% hingga metanol 100% dengan kenaikan kepolaran pelarut sebesar 10 %. Hasil elusi ditampung menggunakan botol vial sebagai fraksi.

### **Uji kemurnian isolat**

Uji kemurnian isolat menggunakan teknik kromatografi lapis tipis (KLT).

### **Uji fitokimia isolat**

Uji fitokimia isolat terdiri dari uji flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid. Uji keberadaan senyawa flavonoid dari isolat digunakan uji Wilstatter. Isolat ditambahkan 2-4 tetes HCl pekat dan serbuk Mg. Perubahan warna terjadi diamati dari kuning tua menjadi orange atau merah (Achmad, 1986).

### **Identifikasi senyawa**

Identifikasi senyawa dilakukan dengan menganalisis ciri spektra hasil spektrofotometri UV-Vis dan spektrofotometri inframerah (IR). Isolat relatif murni dianalisis dengan instrumen spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer inframerah (IR). Data yang diperoleh berupa spektra diinterpretasi untuk memperoleh data spektra senyawa yang digunakan untuk menentukan karakter dari senyawa yang terdapat dalam isolat.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil determinasi, kelor memiliki nama *Moringa oleifera* Lamk. Daun kelor kering 760 g dirajang sampai menjadi serbuk kasar dengan rendemen 21, 74%. Serbuk kasar daun dimaserasi menggunakan pelarut metanol. Proses maserasi dilakukan selama 3x24 jam dan penyaringan dilakukan setiap 1x24 jam. Maserat total yang diperoleh dievaporasi menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Evaporasi bertujuan untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak. Proses penguapan pelarut terjadi di bawah suhu titik didih pelarutnya sehingga tidak merusak senyawa aktif pada ekstrak. Hasil evaporasi adalah ekstrak kental metanol 111,89 g. Rendemen yang dihasilkan dari ekstrak kental metanol 16,7 %.

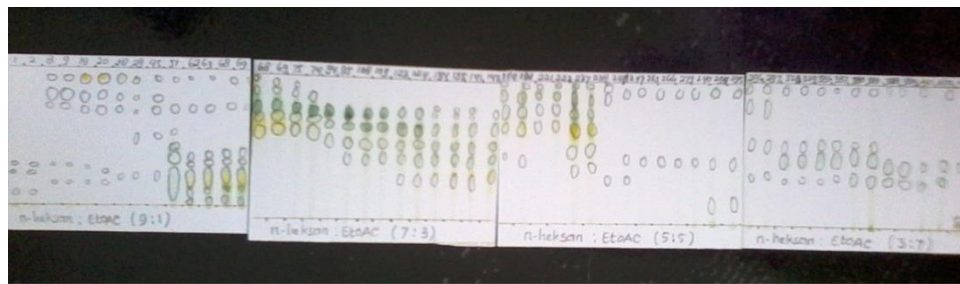
Ekstrak metanol diskriming fitokimia. Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak metanol. Skrining fitokimia yang dilakukan terdiri dari uji flavonoid, alkaloid, steroid, triterpenoid dan saponin.

Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol menunjukkan hasil positif (+) terhadap uji flavonoid, alkaloid, steroid, dan triterpenoid. Ekstrak metanol mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna dari hijau tua menjadi hijau kekuningan dengan menggunakan pereaksi HCl + serbuk Mg. Perubahan warna tersebut diduga merupakan reaksi pembentukan garam flavilium. Hal ini diperkuat oleh Prashant, 2011 dalam (Setyowaty, dkk., (2014) di mana asam klorida dan magnesium bereaksi membentuk gelembung-gelembung yang merupakan gas H<sub>2</sub>, sedangkan asam klorida dan logam magnesium pada uji ini berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terjadi perubahan warna menjadi merah atau jingga.

Analisis kromatografi lapis tipis pada ekstrak metanol dilakukan menggunakan fase gerak n-heksan : etil asetat (7:3). Ekstrak dilarutkan kedalam pelarut metanol. Pewarna yang digunakan adalah anisaldehyda. Pelat yang sudah dielusi dideteksi

dengan lampu UV 254 nm, 366 nm, dan sinar tampak. Berdasarkan hasil KLT pada ekstrak metanol, menunjukkan 9 bercak noda dengan nilai Rf (0,05), (0,13), (0,20), (0,31), (0,37), (0,48), (0,63), (0,69) dan (0,74).

Selanjutnya ekstrak metanol 10 gr dipisahkan dengan kromatografi kolom. Hasil pemisahan diperoleh 272 fraksi. Uji kemurnian terhadap senyawa hasil kromatografi kolom dilakukan menggunakan teknik analisis kromatografi lapis tipis (KLT). Fraksi yang memiliki kesamaan warna noda, jumlah noda dan nilai Rf dianggap satu fraksi. Warna noda diamati lebih teliti menggunakan lampu UV. Dari 272 fraksi yang memiliki profil bercak yang sama terdapat 13 gabungan fraksi (Gambar 1).



Gambar 1. Profil kromatogram lapis tipis fraksi hasil kromatografi kolom

### Uji kemurnian isolat

Uji kemurnian isolat menggunakan teknik kromatografi lapis tipis. Kromatografi lapis tipis dilakukan untuk melihat pola kromatogram senyawa pada isolat. Analisis kromatografi lapis tipis dilakukan menggunakan fase diam plat silika gel 60 GF<sub>254</sub> dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (7:3). Isolat dilarutkan kedalam pelarut metanol. Pewarna yang digunakan adalah anisaldehyda. Pelat yang sudah dielusi dideteksi dengan lampu UV 254 nm, 366 nm, dan sinar tampak. Berdasarkan hasil KLT isolat nomor 28, menunjukkan 2 bercak noda dengan Rf (0,61) dan (0,47).

### Uji fitokimia isolat

Hasil uji fitokimia isolat menunjukkan bahwa isolat positif (+) terhadap uji flavonoid yang ditandai

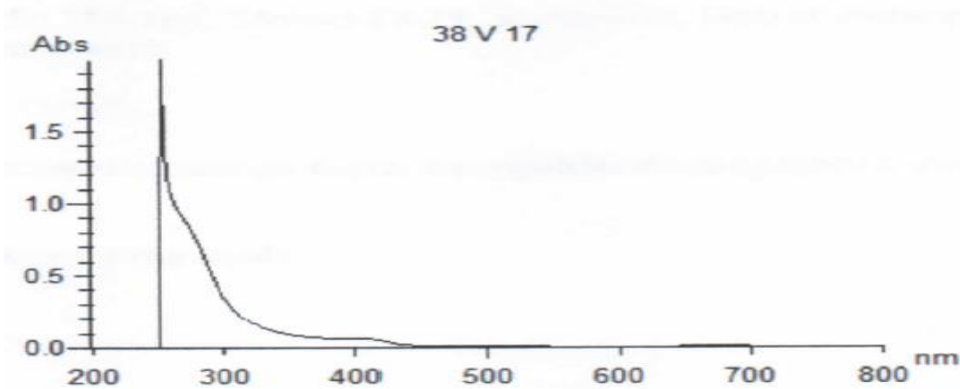
dengan munculnya gelembung pada saat penambahan serbuk Mg dan larutan menjadi berwarna merah. Perubahan warna merah pada uji flavonoid menunjukkan senyawa flavonoid. Senyawa golongan flavonoid seperti flavonol, flavonon, dan xanton akan memberikan warna merah jika direduksi dengan logam magnesium dan asam klorida. Warna merah yang terbentuk merupakan garam flavilium. Hal ini diperkuat oleh Harborne (1987) senyawa flavonoid seperti flavon dan flavonol jika direduksi dengan serbuk Mg dan HCl pekat menghasilkan warna merah.

### Identifikasi senyawa

Identifikasi senyawa dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan IR. Identifikasi spektrofotometri UV-Vis bertujuan meramalkan transisi

elektron valensi dari isolat yang dianalisis. Spektra hasil analisis

spektrofotometri UV-Vis (Gambar 2).



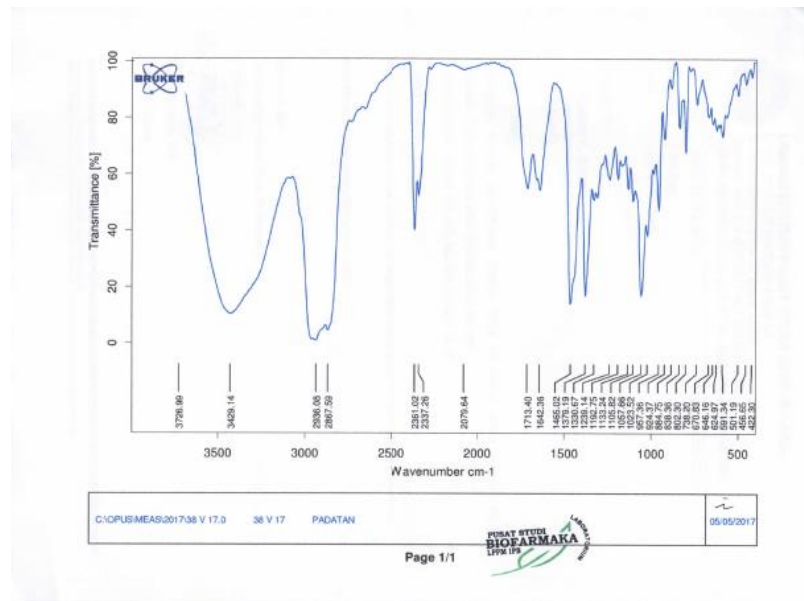
Gambar 2. Spektra isolat hasil analisis UV-Vis

Berdasarkan hasil spectra UV-Vis serapan pada panjang gelombang 250 nm di duga karena adanya transisi elektron yang tidak berikatan ke orbital  $\sigma$  anti-ikatan ( $n \rightarrow \sigma^*$ ) oleh suatu ausokrom yang tidak terkonjugasi yang diduga merupakan gugus fungsional hidroksil (OH). Hal ini diperkuat dalam Khopkar (2014) transisi elektron yang tidak berikatan ke orbital  $\sigma$  anti-ikatan ( $n \rightarrow \sigma^*$ ) terjadi pada daerah 150-250 nm.

Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis, isolat menunjukkan senyawa flavonoid. Dalam Markham (1988) senyawa flavonol memiliki pita II pada kisaran panjang gelombang

250-280 nm sedangkan senyawa khalkon memiliki pita II pada kisaran panjang gelombang 230-270 nm dengan intensitas rendah.

Spektra hasil analisis menggunakan spektrofotometri inframerah (IR) ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Spektrum isolat hasil analisis spektrofotometer inframerah (IR)

Berdasarkan data hasil analisis spektrofotometer inframerah (IR) yang berupa spektrum dianalisis untuk memperoleh data spektrum senyawa. Adapun hasil analisis spektrum inframerah (IR) isolat dari ekstrak etil asetat disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisis spektrum inframerah (IR) isolat

Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )				Bentuk pita	Intensitas	Kemungkinan gugus fungsi	
Isolat	Sukadana, (2010)	Pustaka (Creswell, dkk, 1981)	Pustaka (Silverstein, dkk.,1984)				
3429,14	3000-3500	3000-3750	3550-3200	Lebar	Kuat	Ulur	OH terikat
2936,08 2867,59	2800-2950	2700-3000	2830-2695	Lebar Lebar	Lemah Lemah	Ulur	C-H Alifatik
361,02 2337,06 2079,64	-	-	-	Tajam Tajam Lebar	Kuat Lemah Lemah	-	
1713,04	1700-1725	1500-1675	1870-1540	Tajam	Sedang	Ulur	C=O



1642,37 1465,02	1400-1650	1675-1500	1675-1500	Tajam Tajam	Sedang Kuat	Ulur Aromatik	C=C
1379,17 1330,67	-	1330-1420	1330	Tajam Tajam	Kuat Lemah	Tekuk Alifatik	C-H
1239,14 1192,75 1133,24 1105,82 1023,52	1000-1300	1000-1260	1000-1300	Tajam Tajam Tajam Tajam Tajam	Sedang Lemah Lemah Lemah Kuat	Tekuk Alkohol	C-O
957,36 924,37 884,75	650-1000	650-1000	840-800	Tajam Tajam Tajam	Sedang Lemah Kuat	Tekuk Aromatik	=C-H

Dari interpretasi data spektra inframerah menunjukkan adanya gugus fungsi OH terikat, C=O, C=C aromatik, C-H alifatik, C-O alkohol dan C-H aromatik yang merupakan ciri khas senyawa flavonoid. Berdasarkan struktur dasar jenis flavonoid pada Gambar 2.5, antara senyawa khalkon dan flavonol, hanya khalkon yang memiliki ikatan C-H pada rantai alifatik sedangkan flavonol tidak memiliki rantai alifatik. Dengan demikian berdasarkan hasil identifikasi spektra UV-Vis dan inframerah isolat dari ekstrak etil asetat daun kelor mengandung senyawa flavonoid yang merujuk pada flavonoid jenis khalkon.

## SIMPULAN

Ekstrak metanol daun kelor mengandung senyawa flavonoid yang diduga adalah jenis khalkon yang diisolasi dengan menghasilkan noda tunggal yang positif terhadap uji flavonoid dan diidentifikasi dengan spektrofotometri UV-Vis dan spektrofotometri Inframerah (IR).

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Sjamsul Arifin. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Penerbit Karunika. Jakarta
- Creswell, Clifford J., Olaf A. Runquist, dan Malcolm M. Campbell. 2005. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. ITB. Bandung
- Fessenden, Ralph J., dan Joan S. Fessenden. 1986. *Organic Chemistry. 3rd*. Wadsworth, Inc. California. Terjemahan Aloysius Hadyana Pudjaatmaka. 1998. *Kimia Organik*. Edisi 3. Jilid 1. Erlangga. Jakarta.

- Immy Suci Rohyani, Evi Aryanti, Suropto.(2015). *Kandungan fitokimia beberapa jenis tumbuhan lokal yang sering dimanfaatkan sebagai bahan baku obat di Pulau Lombok.* (jurnal Volume 1, Nomor 2, April 2015, ISSN: 2407-8050. Halaman: 388-391).
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Penerjemah: Padmawinata, K. Terbitan kedua. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Khopkar, S.M. 2014. *Konsep Dasar Kimia Analitik.* Penerjemah: Saptorahardjo, A. UI press . Jakarta
- Lutfiana. 2013. *Uji Aktivitas Antiinflamasi Eksrtak Daun Kelor (Moringa oleifera Lamk.) Dengan Metode Stabilisasi Membrane Sel Darah Merah Dengan Metode In Vitro.* (Skripsi). Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah.
- Sangi, M.; Runtuwene, M.R.J.; Simbala, H.E.I. dan Makang, V.M.A.2008. *Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara.* Chemistry Progress. 1,47-53.
- Sastrohamdjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam.* UGM.Yogyakarta
- Silverstein, Bassler dan Morrill. 1984. *Penyidikan Spektrofotometrik Senyawa Organik Edisi ke-4.* Jakarta; Erlangga.
- Sukadana, I M. 2010. *Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Awar-Awar.* 4 (1) : 63-67
- Wiwit Denny Fitriana, Sri Fatmawati, dan Taslim Ersam. 2015. *Uji aktivitas antioksidan terhadap DDPH dan ABTS dari fraksi-fraksi daun kelor (Moringa oleifera).* (jurnal Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains 2015 (SNIPS 2015) 8 dan 9 Juni 2015. Bandung.

## Lampiran 2.

### 1. Sertifikat Sebagai Pemateri pada Seminar Nasional Ilmu Pangan 2018



2. Sertifikat Sebagai Pemateri pada Seminar Nasional dan Workshop Kefarmasian 2018

