

STUDI AWAL ULTRASONIKASI DALAM EKSTRAKSI FENOLIK DAN *FLAVONOID* DARI DAUN KELOR

Laporan Penelitian

Disusun untuk memenuhi tugas akhir guna mencapai gelar
sarjana di bidang ilmu Teknik Kimia

oleh:

Nikita Angeline Suryo

(6141801028)

Pembimbing:

Dr. Angela Justina Kumalaputri, S.T., M.T.

Dr. Dewi Setyaningsih, Apt.



PROGRAM STUDI SARJANA TEKNIK KIMIA

FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI

UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN

2022

***PRELIMINARY STUDY OF ULTRASONICATION IN
THE EXTRACTION OF PHENOLIC AND FLAVONOID
FROM MORINGA OLEIFERA LEAVES***

Report on Research

*Compiled to fulfill the final project required to earn
a Bachelor's in Chemical Engineering*

by:

Nikita Angeline Suryo

(6141801028)

Mentor:

Dr. Angela Justina Kumalaputri, S.T., M.T.

Dr. Dewi Setyaningsih, Apt.



CHEMICAL ENGINEERING GRADUATE STUDY PROGRAM

INDUSTRIAL TECHNOLOGY FACULTY

PARAHYANGAN CATHOLIC UNIVERSITY

2022

LEMBAR PENGESAHAN

**JUDUL : STUDI AWAL ULTRASONIKASI DALAM EKSTRAKSI FENOLIK
DAN *FLAVONOID* DARI DAUN KELOR**

CATATAN :

Telah diperiksa dan disetujui,
Bandung, 11 Februari 2022

Pembimbing 1



Dr. Angela Justina Kumalaputri, S.T., M.T.

Pembimbing 2



Dr. Dewi Setyaningsih, Apt.



PROGRAM STUDI SARJANA TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Nikita Angeline Suryo

NPM : 6141801028

dengan ini menyatakan bahwa laporan penelitian dengan judul:

Studi Awal Ultrasonikasi dalam Ekstraksi Fenolik dan *Flavonoid* dari Daun Kelor

adalah hasil pekerjaan saya dan seluruh ide, pendapat atau materi dari sumber lain telah dikutip dengan cara penulisan referensi yang sesuai.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya dan jika pernyataan ini tidak sesuai dengan kenyataan, maka saya bersedia menanggung sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Bandung, 11 Februari 2022

Nikita Angeline Suryo
(6141801028)

LEMBAR REVISI

**JUDUL : STUDI AWAL ULTRASONIKASI DALAM EKSTRAKSI FENOLIK
DAN FLAVONOID DARI DAUN KELOR**

CATATAN :

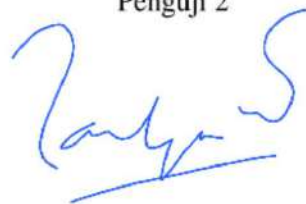
Telah diperiksa dan disetujui,
Bandung, 11 Februari 2022

Penguji 1



Ratna Frida Susanti, Ph. D.

Penguji 2



I Gede Pandega Wiratama, S.T., M.T.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat, anugerah, dan pendampingan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan penelitian berjudul **“Studi Awal Ultrasonikasi dalam Ekstraksi Fenolik dan *Flavonoid* dari Daun Kelor”** dengan baik dan sesuai dengan waktu yang telah ditentukan. Dalam penyusunan laporan, tentunya penulis tidak akan dapat menyelesaikannya dengan baik tanpa dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada seluruh pihak terlibat, khususnya kepada:

1. Ibu Dr. Angela Justina Kumalaputri, S.T., M.T. dan Dr. Dewi Setyaningsih, Apt., selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, motivasi, kritik, serta saran selama penyusunan laporan ini.
2. Orang tua dan keluarga yang selalu memberikan dukungan, doa, nasihat, serta motivasi selama penyusunan laporan ini.
3. Seluruh dosen dan karyawan/i dari Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Katolik Parahyangan yang telah memberikan ilmu, informasi, serta bantuan bagi penulis dalam penyusunan laporan ini.
4. Rekan-rekan mahasiswa Teknik Kimia Universitas Katolik Parahyangan yang selalu memberikan dukungan, informasi, kritik, dan saran selama proses pembuatan laporan penelitian ini.
5. Semua pihak yang baik secara langsung maupun tidak langsung telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan laporan penelitian ini.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan kesalahan dalam penyusunan laporan penelitian ini. Selain itu, penulis juga sangat mengharapkan kritik dan saran dari para pembaca agar ke depannya laporan ini dapat menjadi lebih baik lagi.

Bandung, 11 Februari 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
LEMBAR REVISI.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xviii
INTISARI.....	xxi
<i>ABSTRACT</i>	xxii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tema Sentral Masalah	4
1.3 Identifikasi Masalah	5
1.4 Premis	5
1.5 Hipotesis	5
1.6 Tujuan Penelitian.....	6
1.7 Manfaat Penelitian.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	13
2.1 Tanaman Kelor	13
2.1.1 Kandungan Nutrisi pada Tanaman Kelor	14
2.2 Antioksidan.....	16
2.3 Fenolik dan <i>Flavonoid</i>	20
2.4 Ekstraksi	22
2.4.1 Lisis Sel.....	23
2.4.2 Ekstraksi Padat-Cair	25
2.4.3 Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi Padat-Cair.....	26
2.4.4 Metode Ekstraksi Padat-Cair	28
2.4.4.1 Metode Ekstraksi Konvensional	28

2.4.4.2 Metode Ekstraksi <i>Novel</i>	30
2.5 Ekstraksi Antioksidan dalam Daun Kelor	33
2.5.1 Ekstraksi Konvensional	33
2.5.2 Ekstraksi <i>Novel</i>	37
2.6 Ultrasonikasi.....	41
BAB 3 METODE PENELITIAN	43
3.1 Bahan	43
3.2 Alat	43
3.3 Metodologi Penelitian	48
3.4 Variasi Variabel Penelitian.....	49
3.5 Prosedur Kerja Penelitian	49
3.5.1 Persiapan Bahan Baku	50
3.5.2 Lisis Menggunakan Ultrasonikasi	51
3.5.3 Ekstraksi Antioksidan dengan Maserasi	52
3.5.4 Ekstraksi Antioksidan dengan SC-CO ₂	53
3.5.5 Ekstraksi Antioksidan dengan UAE	53
3.6 Analisis	56
3.6.1 Analisis % Perolehan Ekstrak.....	56
3.6.2 Analisis Total Fenolik.....	56
3.6.3 Analisis Total <i>Flavonoid</i>	57
3.6.4 Analisis Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	57
3.6.5 Analisis Kadar Alkohol dengan Metode Nicloux.....	58
3.7 Lokasi dan Jadwal Kerja	58
BAB 4 PEMBAHASAN	60
4.1 Metode Ekstraksi dalam Penelitian	60
4.1.1 Ekstraksi <i>Ultrasound Assisted Extraction</i> (UAE)	60
4.1.2 Ekstraksi UAE – maserasi	61
4.1.3 Ekstraksi UAE – SC-CO ₂	61
4.2 Analisis Hasil Ekstraksi.....	62
4.2.1 Analisis % Perolehan	62
4.2.2 Analisis Total Fenolik.....	66

4.2.3 Analisis Total <i>Flavonoid</i>	69
4.2.4 Analisis Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH.....	72
4.2.5 Analisis Kadar Alkohol	75
4.2.6 Validasi Hasil Penelitian.....	78
4.3 Pengaruh Penambahan Perlakuan Awal pada Ekstraksi.....	79
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....	83
5.1 Kesimpulan.....	83
5.2 Saran	83
BAB 6 DAFTAR PUSTAKA	85
LAMPIRAN A <i>MATERIAL SAFETY DATA SHEET</i>	92
A.1 Etanol.....	92
A.1.1 Identifikasi Bahaya	92
A.1.2 Sifat Fisis	92
A.1.3 Sifat Kimia	92
A.1.4 Bahaya Kontak dan Pertolongan Pertama.....	92
A.1.5 Penanganan Bahan	93
A.1.6 Penyimpanan Bahan dan Keselamatan	93
A.2 Karbondioksida (CO ₂)	93
A.2.1 Identifikasi Bahaya	93
A.2.2 Sifat Fisis	94
A.2.3 Sifat Kimia	94
A.2.4 Bahaya Kontak dan Pertolongan Pertama.....	94
A.2.5 Penanganan Bahan	95
A.2.6 Penyimpanan Bahan dan Keselamatan	95
A.3 Nitrogen (N ₂)	95
A.3.1 Identifikasi Bahaya	95
A.3.2 Sifat Fisis	95
A.3.3 Sifat Kimia	95
A.3.4 Bahaya Kontak dan Pertolongan Pertama.....	96
A.3.5 Penanganan Bahan	96

A.3.6 Penyimpanan Bahan dan Keselamatan	96
A.4 DPPH (<i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>).....	96
A.4.1 Identifikasi Bahaya	96
A.4.2 Sifat Fisis	97
A.4.3 Sifat Kimia	97
A.4.4 Bahaya Kontak dan Pertolongan Pertama.....	97
A.4.5 Penanganan Bahan	98
A.4.6 Penyimpanan Bahan dan Keselamatan	98
A.5 Reagen Folin-Cioaltea	98
A.5.1 Identifikasi Bahaya	98
A.5.2 Sifat Fisis	98
A.5.3 Sifat Kimia	99
A.5.4 Bahaya Kontak dan Pertolongan Pertama.....	99
A.5.5 Penanganan Bahan	99
A.5.6 Penyimpanan Bahan dan Keselamatan	99
A.6 Natrium Karbonat	100
A.6.1 Identifikasi Bahaya	100
A.6.2 Sifat Fisis	100
A.6.3 Sifat Kimia	100
A.6.4 Bahaya Kontak dan Pertolongan Pertama.....	100
A.6.5 Penanganan Bahan	101
A.6.6 Penyimpanan Bahan dan Keselamatan	101
A.7 Asam Galat ($C_7H_6O_5$)	101
A.7.1 Identifikasi Bahaya	101
A.7.2 Sifat Fisis	101
A.7.3 Sifat Kimia	102
A.7.4 Bahaya Kontak dan Pertolongan Pertama.....	102
A.7.5 Penanganan Bahan	102
A.7.6 Penyimpanan Bahan dan Keselamatan	103
A.8 Natrium Asetat Trihidrat ($C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$).....	103
A.8.1 Identifikasi Bahaya	103
A.8.2 Sifat Fisis	103
A.8.3 Sifat Kimia	103

A.8.4 Bahaya Kontak dan Pertolongan Pertama.....	103
A.8.5 Penanganan Bahan	104
A.8.6 Penyimpanan Bahan dan Keselamatan	104
A.9 Aluminium Klorida ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).....	104
A.9.1 Identifikasi Bahaya	104
A.9.2 Sifat Fisis	105
A.9.3 Sifat Kimia	105
A.9.4 Bahaya Kontak dan Pertolongan Pertama.....	105
A.9.5 Penanganan Bahan	106
A.9.6 Penyimpanan Bahan dan Keselamatan	106
A.10 Kuersetin ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).....	106
A.10.1 Identifikasi Bahaya	106
A.10.2 Sifat Fisis	106
A.10.3 Sifat Kimia	107
A.10.4 Bahaya Kontak dan Pertolongan Pertama.....	107
A.10.5 Penanganan Bahan	107
A.10.6 Penyimpanan Bahan dan Keselamatan	107
A.11 Potasium Dikromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$).....	108
A.11.1 Identifikasi Bahaya	108
A.11.2 Sifat Fisis	108
A.11.3 Sifat Kimia	108
A.11.4 Bahaya Kontak dan Pertolongan Pertama.....	108
A.11.5 Penanganan Bahan	109
A.11.6 Penyimpanan Bahan dan Keselamatan	109
A.12 Asam Sulfat (H_2SO_4)	109
A.12.1 Identifikasi Bahaya	109
A.12.2 Sifat Fisis	110
A.12.3 Sifat Kimia	110
A.12.4 Bahaya Kontak dan Pertolongan Pertama.....	110
A.12.5 Penanganan Bahan	111
A.12.6 Penyimpanan Bahan dan Keselamatan	111
A.13 Kalium Iodida (KI)	111
A.13.1 Identifikasi Bahaya	111

A.13.2 Sifat Fisis	111
A.13.3 Sifat Kimia	112
A.13.4 Bahaya Kontak dan Pertolongan Pertama.....	112
A.13.5 Penanganan Bahan	112
A.13.6 Penyimpanan Bahan dan Keselamatan	113
A.14 Indikator Amilum	113
A.14.1 Identifikasi Bahaya	113
A.14.2 Sifat Fisis	113
A.14.3 Sifat Kimia	113
A.14.4 Bahaya Kontak dan Pertolongan Pertama.....	113
A.14.5 Penanganan Bahan	114
A.14.6 Penyimpanan Bahan dan Keselamatan	114
A.15 Natrium Thiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)	114
A.15.1 Identifikasi Bahaya	114
A.15.2 Sifat Fisis	114
A.15.3 Sifat Kimia	115
A.15.4 Bahaya Kontak dan Pertolongan Pertama.....	115
A.15.5 Penanganan Bahan	115
A.15.6 Penyimpanan Bahan dan Keselamatan	116
LAMPIRAN B PROSEDUR ANALISIS	117
B.1 Analisis Kadar Air	117
B.2 Analisis % Perolehan Ekstrak.....	118
B.3 Analisis Total Fenolik.....	118
B.4 Analisis Total <i>Flavonoid</i>	120
B.5 Analisis Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	121
B.6 Analisis Kadar Alkohol	122
LAMPIRAN C HASIL ANTARA	126
C.1 Kadar Air	126
C.2 Kalibrasi Termometer	126
C.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	126
C.3.1 Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat	127

C.3.2 Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin.....	127
C.3.3 Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	128
C.4 Kurva Standar	130
C.4.1 Kurva Standar Asam Galat.....	130
C.4.2 Kurva Standar Kuersetin	131
C.5 Pengukuran Temperatur <i>Waterbath Ultrasonicator Bath</i>	131
C.6 Analisis % Perolehan Ekstrak.....	132
C.7 Analisis Total Fenolik.....	133
C.8 Analisis Total <i>Flavonoid</i>	133
C.9 Analisis Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	134
C.10 Analisis Kadar Alkohol	135
C.11 Pengecekan Validitas Data	136
C.12 Pengecekan Kadar Alkohol Ulang.....	137
LAMPIRAN D CONTOH PERHITUNGAN	138
D.1 Kalibrasi Termometer.....	138
D.2 Pengukuran Temperatur <i>Waterbath Ultrasonikator Bath</i>	139
D.3 Analisis % Perolehan Ekstrak.....	139
D.4 Analisis Total Fenolik	140
D.5 Analisis Total <i>Flavonoid</i>	140
D.6 Analisis Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	141
D.6.1 Penentuan % Inhibisi	141
D.6.2 Penentuan Nilai IC ₅₀	141
D.7 Analisis Kadar Alkohol	141
D.8 Luas Area Bawah Kurva.....	142
LAMPIRAN E HASIL PERHITUNGAN.....	143
E.1 Kalibrasi Termometer	143
E.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	143
E.3 Kurva Standar	143
E.3.1 Kurva Standar Asam Galat.....	143
E.3.2 Kurva Standar Kuersetin	144
E.4 Pengukuran Temperatur <i>Waterbath Ultrasonikator Bath</i>	144

E.5 Analisis % Perolehan Ekstrak	145
E.6 Analisis Total Fenolik	145
E.7 Analisis Total <i>Flavonoid</i>	146
E.8 Analisis Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	147
E.9 Analisis Kadar Alkohol.....	148
E.10 Pengecekan Validitas Data.....	149
E.11 Pengecekan Kadar Alkohol Ulang	150
E.12 Luas Area di Bawah Kurva	150
LAMPIRAN F GRAFIK	152
F.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	152
F.1.1 Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat	152
F.1.2 Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin	152
F.1.3 Panjang Gelombang Maksimum DPPH	153
F.2 Kurva Standar	153
F.2.1 Kurva Standar Asam Galat	153
F.2.2 Kurva Standar Kuersetin	154
F.3 Analisis Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	154
F.3.1 Metode UAE.....	154
F.3.2 Metode UAE - maserasi	156
F.3.3 Metode UAE – SC-CO ₂	158
F.4 Kecenderungan Data Hasil Analisis.....	160
F.4.1 Analisis % Perolehan Ekstrak.....	160
F.4.2 Analisis Total Fenolik	161
F.4.3 Analisis Total <i>Flavonoid</i>	161
F.4.4 Analisis Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	162
F.4.5 Analisis Kadar Alkohol	162
F.4.6 Δ Temperatur <i>Waterbath</i> Ultrasonikator <i>Bath</i>	163
F.5 Luas Area Di bawah Kurva	163

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman kelor dalam bentuk daun, bubuk, dan kapsul.....	13
Gambar 2.2 Tahapan reaksi radikal bebas.....	18
Gambar 2.3 Struktur DPPH.....	19
Gambar 2.4 Struktur fenolik.....	20
Gambar 2.5 Bentuk-bentuk <i>flavonoid</i> yang umum dijumpai	21
Gambar 2.6 Struktur dasar komponen <i>flavonoid</i>	22
Gambar 2.7 Mekanisme pengikatan radikal bebas oleh komponen fenolik.....	22
Gambar 3.1 Rangkaian alat maserasi	44
Gambar 3.2 Skema alat maserasi.....	44
Gambar 3.3 Rangkaian alat SC-CO ₂	45
Gambar 3.4 Skema alat SC-CO ₂	45
Gambar 3.5 Rangkaian alat ultrasonikator <i>bath</i>	46
Gambar 3.6 Skema alat ultrasonikator <i>bath</i>	46
Gambar 3.7 Rangkaian alat <i>rotary vacuum evaporator</i>	47
Gambar 3.8 Rangkaian alat spektrofotometer UV/ VIS.....	47
Gambar 3.9 Rangkaian alat <i>oven vacuum</i>	47
Gambar 3.10 Garis besar prosedur kerja penelitian ekstraksi antioksidan dengan maserasi dan SC-CO ₂	50
Gambar 3.11 Garis besar prosedur kerja penelitian ekstraksi antioksidan dengan UAE....	50
Gambar 3.12 Bubuk daun kelor yang digunakan dalam penelitian.....	51
Gambar 3.13 Diagram alir proses lisis menggunakan ultrasonikasi	52
Gambar 3.14 Diagram alir proses ekstraksi antioksidan dengan maserasi.....	53
Gambar 3.15 Diagram alir proses ekstraksi antioksidan dengan SC-CO ₂	54
Gambar 3.16 Diagram alir proses ekstraksi dengan UAE.....	55
Gambar 4.1 Hasil ekstraksi UAE (a) setelah proses ultrasonikasi (b) setelah evaporasi	60
Gambar 4.2 Hasil ekstraksi UAE – maserasi (a) setelah proses ultrasonikasi (b) setelah evaporasi.....	61
Gambar 4.3 Hasil ekstraksi UAE – SC-CO ₂ (a) setelah proses ultrasonikasi (b) setelah evaporasi.....	62

Gambar 4.4 Ekstrak daun kelor yang dilarutkan (a) dalam etanol (b) dalam air	62
Gambar 4.5 Kurva pengaruh waktu ultrasonikasi terhadap % perolehan	63
Gambar 4.6 Kurva perbandingan nilai AUC % perolehan setiap metode.....	65
Gambar 4.7 Larutan standar asam galat dalam berbagai konsentrasi.....	67
Gambar 4.8 Analisis total fenolik (a) sampel ekstrak dalam air (b) +reagen Folin-Ciocalteu (c) +Na ₂ CO ₃	67
Gambar 4.9 Kurva pengaruh waktu ultrasonikasi terhadap total fenolik	68
Gambar 4.10 Kurva perbandingan nilai AUC perolehan dan aktivitas antioksidan setiap metode	69
Gambar 4.11 Larutan standar kuersetin dalam berbagai konsentrasi	70
Gambar 4.12 Analisis total <i>flavonoid</i> (a) sampel ekstrak dalam etanol (b) +etanol (c) +AlCl ₃	70
Gambar 4.13 Kurva pengaruh waktu ultrasonikasi terhadap total <i>flavonoid</i>	71
Gambar 4.14 Analisis aktivitas antioksidan dengan DPPH (a) sampel ekstrak dalam etanol pada konsentrasi 100, 80, 60, 40, 20, dan 0 ppm (b) +DPPH (c) setelah inkubasi selama 30 menit.....	72
Gambar 4.15 Kurva pengaruh waktu ultrasonikasi terhadap nilai IC ₅₀	73
Gambar 4.16 Analisis kadar alkohol (a) sampel ekstrak dalam air (b) +K ₂ Cr ₂ O ₇ (c) +H ₂ SO ₄ (d) setelah dipanaskan (e) +H ₂ O (f) +KI dan indikator amilum (g) setelah titrasi menggunakan Na ₂ S ₂ O ₃	76
Gambar 4.17 Kurva pengaruh waktu ultrasonikasi terhadap kadar alkohol (% (w/v)).....	77
Gambar 4.18 Ekstrak daun kelor yang telah dikeringkan menggunakan <i>oven vacuum</i>	78
Gambar B.1 Diagram alir proses analisis kadar air	117
Gambar B.2 Diagram alir proses analisis % perolehan ekstrak	118
Gambar B.3 Diagram proses analisis total fenolik	119
Gambar B.4 Diagram alir proses pembuatan larutan ekstrak daun kelor	120
Gambar B.5 Diagram alir proses pembuatan larutan standar kuersetin	120
Gambar B.6 Diagram alir proses analisis total <i>flavonoid</i>	121
Gambar B.7 Diagram alir proses analisis aktivitas antioksidan dengan DPPH	123
Gambar B.8 Diagram alir proses analisis kadar alkohol	124
Gambar F.1 Kurva penentuan panjang gelombang maksimum asam galat	152

Gambar F.2 Kurva penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin.....	152
Gambar F.3 Kurva penentuan panjang gelombang maksimum DPPH	153
Gambar F.4 Kurva standar asam galat	153
Gambar F.5 Kurva standar kuersetin.....	154
Gambar F.6 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE (10 menit; 30 °C)	154
Gambar F.7 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE (20 menit; 30 °C)	155
Gambar F.8 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE (30 menit; 30 °C)	155
Gambar F.9 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE (10 menit; 50 °C)	155
Gambar F.10 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE (20 menit; 50 °C) ..	156
Gambar F.11 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE (30 menit; 50 °C) ..	156
Gambar F.12 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE - maserasi (10 menit; 30 °C).....	156
Gambar F.13 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE - maserasi (20 menit; 30 °C).....	157
Gambar F.14 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE - maserasi (30 menit; 30 °C).....	157
Gambar F.15 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE - maserasi (10 menit; 50 °C).....	157
Gambar F.16 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE - maserasi (20 menit; 50 °C).....	158
Gambar F.17 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE - maserasi (30 menit; 50 °C).....	158
Gambar F.18 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE – SC-CO ₂ (10 menit; 30 °C).....	158
Gambar F.19 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE – SC-CO ₂ (20 menit; 30 °C).....	159
Gambar F.20 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE – SC-CO ₂ (30 menit; 30 °C).....	159
Gambar F.21 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE – SC-CO ₂ (10 menit; 50 °C).....	159
Gambar F.22 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE – SC-CO ₂ (20 menit; 50 °C).....	160

Gambar F.23 Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi ekstraksi UAE – SC-CO ₂ (30 menit; 50 °C).....	160
Gambar F.24 Kurva pengaruh waktu ultrasonikasi terhadap % perolehan ekstrak (w/w)	160
Gambar F.25 Kurva pengaruh waktu ultrasonikasi terhadap total fenolik.....	161
Gambar F.26 Kurva pengaruh waktu ultrasonikasi terhadap total <i>flavonoid</i>	161
Gambar F.27 Kurva pengaruh waktu ultrasonikasi terhadap nilai IC ₅₀	162
Gambar F.28 Kurva pengaruh waktu ultrasonikasi terhadap kadar alkohol sampel (% (w/v))	162
Gambar F.29 Kurva pengaruh waktu ultrasonikasi terhadap perubahan temperatur <i>waterbath ultrasonicator bath</i> selama proses ultrasonikasi	163
Gambar F.30 Kurva nilai luas area di bawah kurva (AUC) untuk hasil analisis % perolehan setiap metode ekstraksi.....	163
Gambar F.31 Kurva nilai luas area di bawah kurva (AUC) untuk hasil analisis setiap metode ekstraksi	164

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Produksi tanaman kelor di Puri Kelorina	2
Tabel 1.2 Tabel premis ekstraksi antioksidan dari daun kelor dengan metode ekstraksi konvensional.....	8
Tabel 1.3 Tabel premis ekstraksi antioksidan dari daun kelor dengan metode ekstraksi <i>novel</i>	10
Tabel 1.4 Tabel premis ekstraksi antioksidan dari daun kelor dengan metode UAE.....	12
Tabel 2.1 Kandungan nutrisi pada daun kelor (per 100 g)	15
Tabel 2.2 Kandungan fitokimia daun kelor kering dengan berbagai metode pengeringan.	16
Tabel 2.3 Tingkat aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC ₅₀	19
Tabel 3.1 Variasi variabel penelitian.....	49
Tabel 3.2 Jadwal kerja penelitian	59
Tabel 4.1 Hasil pengamatan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.....	73
Tabel 4.2 Hasil perbandingan data awal dan data pengecekan validitas penelitian	79
Tabel 4.3 Perbandingan nilai % perolehan dan aktivitas antioksidan ekstraksi maserasi...	80
Tabel 4.4 Perbandingan nilai % perolehan dan aktivitas antioksidan ekstraksi SC-CO ₂	80
Tabel A.1 Bahaya kontak dan pertolongan pertama etanol.....	92
Tabel A.2 Bahaya kontak dan pertolongan pertama karbondioksida (CO ₂)	94
Tabel A.3 Bahaya kontak dan pertolongan pertama nitrogen (N ₂)	96
Tabel A.4 Bahaya kontak dan pertolongan pertama DPPH (<i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>)	97
Tabel A.5 Bahaya kontak dan pertolongan pertama reagen Folin-Cioaltea.....	99
Tabel A.6 Bahaya kontak dan pertolongan pertama sodium karbonat.....	100
Tabel A.7 Bahaya kontak dan pertolongan pertama asam galat (C ₇ H ₆ O ₅)	102
Tabel A.8 Bahaya kontak dan pertolongan pertama natrium asetat, trihidrat (C ₂ H ₃ NaO ₂ .3H ₂ O)	104
Tabel A.9 Bahaya kontak dan pertolongan pertama aluminium klorida (AlCl ₃ .6H ₂ O)....	105
Tabel A.10 Bahaya kontak dan pertolongan pertama kuersetin (C ₁₅ H ₁₀ O ₇ .2H ₂ O)	107

Tabel A.11 Bahaya kontak dan pertolongan pertama potasium dikromat ($K_2Cr_2O_7$).....	108
Tabel A.12 Bahaya kontak dan pertolongan pertama asam sulfat (H_2SO_4)	110
Tabel A.13 Bahaya kontak dan pertolongan pertama kalium iodida (KI).....	112
Tabel A.14 Bahaya kontak dan pertolongan pertama indikator amilum.....	113
Tabel A.15 Bahaya kontak dan pertolongan pertama natrium tiosulfat ($Na_2S_2O_3$).....	115
Tabel C.1 Hasil pengukuran kadar air bubuk daun kelor	126
Tabel C.2 Hasil kalibrasi termometer.....	126
Tabel C.3 Hasil pengukuran absorbansi dan % transmittan asam galat pada panjang gelombang tertentu	127
Tabel C.4 Hasil pengukuran absorbansi dan % transmittan kuersetin pada panjang gelombang tertentu	128
Tabel C.5 Hasil pengukuran absorbansi dan % transmittan DPPH pada panjang gelombang tertentu.....	128
Tabel C.6 Hasil pengukuran absorbansi asam galat pada berbagai konsentrasi	130
Tabel C.7 Hasil pengukuran absorbansi kuersetin pada berbagai konsentrasi.....	131
Tabel C.8 Hasil pengamatan temperatur <i>waterbath ultrasonicator bath</i>	131
Tabel C. 9 Hasil pengamatan massa ekstrak hasil ekstraksi.....	132
Tabel C.10 Hasil pengukuran absorbansi sampel untuk analisis total fenolik	133
Tabel C.11 Hasil pengukuran absorbansi sampel untuk analisis total <i>flavonoid</i>	133
Tabel C.12 Hasil pengukuran absorbansi sampel untuk analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH	134
Tabel C.13 Hasil volume titrasi untuk analisis kadar alkohol.....	135
Tabel C.14 Hasil perbandingan data awal dan data pengecekan validitas penelitian	136
Tabel C.15 Hasil volume titrasi untuk pengecekan kadar alkohol ulang	137
Tabel D.1 Koefisien Antoine untuk air	138
Tabel E.1 Perubahan temperatur <i>waterbath ultrasonicator bath</i>	144
Tabel E.2 Hasil analisis % perolehan ekstrak.....	145
Tabel E.3 Hasil analisis total fenolik.....	146
Tabel E.4 Hasil analisis total <i>flavonoid</i>	146
Tabel E.5 Hasil perhitungan % inhibisi analisis DPPH.....	147

Tabel E.6 Hasil pengeplotan nilai inhibisi terhadap konsentrasi sampel pada analisis DPPH	148
Tabel E.7 Hasil analisis kadar alkohol (% (w/v)).....	149
Tabel E.8 Hasil perbandingan data awal dan data pengecekan validitas penelitian.....	149
Tabel E.9 Hasil analisis pengecekan kadar alkohol ulang (% (w/v)).....	150
Tabel E.10 Hasil perhitungan luas area di bawah kurva (<i>Area Under Curve</i> (AUC)).....	151

INTISARI

Dalam era globalisasi saat ini, kesehatan seringkali menjadi salah satu aspek yang penting untuk diperhatikan. Hal ini dikarenakan banyaknya penyakit yang disebabkan oleh penumpukan radikal bebas berlebih di dalam tubuh. Untuk mengurangi keberadaan radikal bebas diperlukan adanya antioksidan. Antioksidan dapat diperoleh salah satunya dari tanaman kelor (fenolik dan *flavonoid*). Antioksidan pada tanaman kelor dapat diperoleh dengan melakukan ekstraksi pada bagian tanaman salah satunya dari bagian daun. Proses ekstraksi antioksidan dari daun kelor ini dapat dilakukan dengan berbagai metode, baik secara konvensional maupun *novel*. Untuk mendapatkan hasil yang lebih maksimal, dapat dilakukan modifikasi terhadap proses ekstraksi seperti dengan memberikan perlakuan awal berupa lisis menggunakan ultrasonikasi kepada daun kelor yang akan diekstrak.

Pada penelitian ini, proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan 3 metode, yaitu ekstraksi dengan lisis ultrasonikasi + maserasi, lisis ultrasonikasi + superkritik CO₂ (SC-CO₂), dan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE). Variasi yang dilakukan adalah 3 variasi waktu ultrasonikasi (10, 20, dan 30 menit) serta 2 variasi temperatur ultrasonikasi (30 dan 50 °C). Antioksidan dari daun kelor yang berhasil diekstrak kemudian diuji dengan menggunakan 4 metode analisis yaitu analisis % perolehan ekstrak, analisis total fenolik, analisis total *flavonoid*, dan analisis aktivitas antioksidan dengan DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan awal berupa lisis menggunakan ultrasonikasi tidak dapat memberikan hasil ekstraksi yang baik dimana % perolehan, total fenolik, total *flavonoid*, dan aktivitas antioksidan yang diperoleh cenderung kecil. Metode penelitian yang dapat menghasilkan ekstrak terbaik secara keseluruhan adalah metode UAE – maserasi dengan lama waktu ultrasonikasi 10 menit dan temperatur *waterbath ultrasonicator bath* 30 °C. Hasil analisis ekstrak menggunakan metode tersebut adalah perolehan sebesar 14,81 %; total fenolik sebesar 278,92 ppm GAE; total *flavonoid* sebesar 385,67 ppm QE; dan nilai IC₅₀ sebesar 110,78 (aktivitas antioksidan sedang). Ekstrak daun kelor yang diperoleh juga masih mengandung kadar residu etanol melebihi batas yang diizinkan oleh BPOM. Kadar alkohol paling rendah diperoleh menggunakan metode ekstraksi UAE – SC-CO₂ (5,36-5,91 % (w/v)).

Kata Kunci : Antioksidan, Daun Kelor, Ekstraksi, Lisis, Ultrasonikasi

ABSTRACT

In today's globalized world, health is frequently the most crucial factor to consider. Excess free radicals in the body are now responsible for a wide range of diseases. Antioxidants are required to minimize the presence of free radicals. Moringa is a plant that contains an antioxidant (phenolic and flavonoid). Antioxidants can be isolated from specific sections of Moringa plants, such as the leaves. Antioxidants from Moringa leaves can be extracted using a variety of methods, both traditional and novel. Some adjustments can be made to acquire the best results from extraction, one of which is providing pre-treatment in the form of lysis utilizing ultrasonication.

The extraction process was carried out in this study using three different methods. Ultrasonication lysis + maceration, ultrasonication lysis + supercritical CO₂ (SC-CO₂), and Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) are the techniques employed. Researchers experimented with three different ultrasonication times (10, 20, and 30 minutes), as well as two different ultrasonication temperatures (30 and 50 °C). The antioxidants derived from Moringa leaves were then evaluated using four different analytical methods. The methodologies employed were percent extract yield analysis, total phenolics analysis, total flavonoids analysis, and DPPH-based antioxidant activity analysis (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

The study found that lysis as a form of pre-treatment was not very effective because the yield percentage, total phenolic, total flavonoid, and antioxidant activity obtained tended to be low, ultrasonication-assisted lysis could not provide effective extraction. According to the data, with an ultrasonication period of 10 minutes and a water bath temperature of 30 °C, the UAE – maceration method produced the best extract. The yield of extracts analyzed for that method was 14.81 % (w/w); total phenolic content was 278,92 ppm GAE; total flavonoids were 385,67 ppm QE, and; the IC₅₀ value was 110,78. (moderate antioxidant activity). The Moringa oleifera leaf extract obtained from the extract also contained residual amounts of ethanol exceeding the limits allowed by the BPOM. The lowest alcohol content was found in the UAE – SC-CO₂ extraction method (5.36-5.91 % (w/v)).

Key words : Antioxidant; Moringa leaves; Extraction; Lysis; Ultrasonication

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam era globalisasi saat ini, kesehatan menjadi salah satu aspek yang menjadi kebutuhan primer dari manusia. Hal ini dikarenakan oleh sumber penyakit yang semakin beragam dimana salah satu penyebab utamanya adalah akibat penumpukan radikal bebas berlebih di dalam tubuh. Radikal bebas ini dapat bersumber dari berbagai hal seperti: polusi, stres, makanan, sinar UV, *chlorofluorocarbons* (CFC), dan asap rokok. Molekul radikal bebas ini akan bereaksi di dalam tubuh dengan menyumbangkan atau melepas elektronnya sehingga akan terjadi reaksi berantai yang akan terus membentuk radikal bebas yang baru. Apabila dibiarkan secara terus menerus di dalam tubuh, maka senyawa radikal juga dapat menyerang komponen penting dalam tubuh seperti sel maupun komponen fungsional lain. Reaksi berantai ini dapat dihentikan oleh senyawa antioksidan yang hadir dalam reaksi berantai tersebut. Ketika molekul radikal bereaksi dengan senyawa antioksidan maka akan terjadi proses transfer elektron yang mengakibatkan senyawa radikal menjadi stabil dan reaksi rantai dapat berhenti (Smith, 2011; Siagan, 2013).

Antioksidan dapat dibuat dengan menggunakan berbagai macam sumber mulai dari bahan alam hingga bahan kimia. Dari bahan alam, antioksidan dapat diproduksi dengan cara mengekstrak komponen yang terkandung pada bahan tersebut. Secara kimiawi antioksidan dapat dibuat melalui proses sintesis kimia. Konsumsi antioksidan sintetis yang diperoleh dari proses sintesis kimia seringkali memiliki efek samping, terlebih apabila dikonsumsi dalam jangka waktu yang lama. Oleh karena itu, antioksidan alami dinilai lebih baik untuk dikonsumsi sebagai sumber antioksidan tambahan bagi tubuh (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Salah satu bahan alami yang dapat digunakan untuk memproduksi antioksidan adalah tanaman kelor. Tanaman kelor memiliki kandungan vitamin C sebanyak 7 kali lebih besar dibandingkan jeruk, vitamin A sebanyak 10 kali lebih besar dibandingkan wortel, kalsium sebanyak 17 kali lebih tinggi dibandingkan susu, protein sebanyak 9 kali lebih tinggi dibandingkan *yoghurt*, kalium sebanyak 15 kali lebih tinggi dibandingkan pisang, dan zat besi sebanyak 25 kali lebih tinggi dibandingkan bayam. Hampir seluruh bagian dari tanaman kelor mengandung antioksidan mulai dari daun, biji, polong, hingga bunga. Bagian yang paling sering diekstrak adalah bagian daun karena mengandung antioksidan terbanyak (Ademiluyi dkk., 2018; Rani dkk., 2019).

Senyawa antioksidan yang paling banyak terdapat dalam daun kelor adalah *flavonoid* dan fenolik. Senyawa-senyawa tersebut dapat diperoleh sebagai antioksidan dengan melakukan serangkaian proses ekstraksi dari bagian tanaman kelor (Dzieciol, 2020). Antioksidan alami dari daun kelor dipercaya dapat membantu untuk melawan radikal bebas dan meningkatkan sistem metabolisme di dalam tubuh. Hal ini akan mengurangi potensi terjadinya penyakit akibat radikal bebas seperti jantung, kanker, demam, epilepsi, maag, radang tenggorokan, ginjal, kolesterol, diabetes, infeksi bakteri, dan infeksi jamur (Anwar dkk., 2006; Wright dkk., 2017).

Di Indonesia, tanaman kelor ini mulai menjadi tanaman yang dibudidayakan dalam jumlah besar. Salah satu tempat pembudidayaannya adalah di Puri Kelorina yang terletak di area sawah dan kebun, Ngawenombo, Kunduran, Kabupaten Blora, Jawa Tengah. Di Puri Kelorina, tanaman kelor dikembangkan di perkebunan seluas 2,4 ha. Menurut data statistika, jumlah panen tanaman kelor per 2,4 ha lahan di Puri Kelorina dari bulan November 2017 hingga Maret 2018 dapat dilihat pada Tabel 1.1 (Akbar dkk., 2019). Sebenarnya, tanaman kelor ini lebih banyak dibudidayakan di area perumahan atau ladang kecil. Meskipun orang yang melakukan budidaya banyak, setiap pembudidaya hanya dapat menghasilkan tanaman kelor dengan jumlah terbatas. Hal ini menyebabkan data secara statistik mengenai hasil budidaya kelor di area rumah maupun ladang kecil tidak tersedia (Dani, 2019). Adanya budidaya tanaman kelor ini tentunya akan meningkatkan potensi pemanfaatan kelor, salah satunya untuk memanfaatkan kandungan antioksidannya dengan memproduksi ekstrak daun kelor.

Tabel 1.1 Produksi tanaman kelor di Puri Kelorina (Akbar dkk., 2019)

Bulan	Bobot basah (kg)	Bobot kering (kg)	Rendemen (%) (bobot kering/ bobot basah)	Bobot serbuk kasar (kg)	Bobot serbuk kering (kg)
November 2017	2835,00	607,80	21,00	557,80	30,00
Desember 2017	2276,00	582,10	24,00	475,40	106,70
Januari 2018	186,00	17,70	23,00	15,30	2,40
Februari 2018	2064,00	464,50	23,00	378,40	86,10
Maret 2018	2453,00	552,10	23,00	530,90	21,20
Rata-rata	1962,80	444,80	22,80	395,60	49,28

Terdapat banyak metode yang dapat dilakukan untuk mengekstrak antioksidan dari daun kelor, mulai dari metode konvensional hingga *novel*. Metode konvensional yang dapat

dilakukan meliputi maserasi, perkolasi, refluks, dan *soxhlet*. Sementara, metode ekstraksi *novel* meliputi *Supercritical Fluid Extraction (SFE)*, *Pressurized Liquid Extraction (PLE)*, *Ultrasound Assisted Extraction (UAE)*, *Microwave Assisted Extraction (MAE)*, dan *Carbon Dioxide Expanded Liquid Extraction (CXLE)*.

Metode ekstraksi secara konvensional umumnya merupakan metode yang mudah dilakukan dan sederhana namun proses ekstraksinya berlangsung dalam waktu yang cukup lama dan menggunakan banyak pelarut organik. Banyaknya pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi menyebabkan proses pemisahan pelarut dari hasil ekstraksi akan menjadi lebih lama dan membutuhkan biaya yang lebih banyak. Di samping itu, penggunaan pelarut organik yang banyak selama proses ekstraksi juga akan menimbulkan masalah karena pelarut organik umumnya bersifat toksik sehingga berbahaya bagi kesehatan. Proses pemisahan antara pelarut dan zat terlarut dalam jumlah besar juga akan meningkatkan resiko tertinggalnya larutan dan akan berbahaya jika ditujukan untuk keperluan konsumsi.

Metode ekstraksi secara konvensional yang banyak dilakukan adalah metode maserasi. Hal ini dikarenakan maserasi merupakan metode ekstraksi yang cukup sederhana sehingga mudah untuk dilakukan, dengan perolehan ekstrak dan aktivitas antioksidan yang tinggi. Meskipun cukup sederhana, metode ini membutuhkan banyak pelarut dan waktu ekstraksinya lama sehingga prosesnya menjadi kurang efisien.

Metode ekstraksi *novel* merupakan metode yang memerlukan waktu yang relatif lebih singkat serta pelarut organik yang lebih sedikit, sehingga akan cenderung lebih aman dan efektif daripada ekstraksi menggunakan metode konvensional. Salah satu metode ekstraksi *novel* yang sering dilakukan untuk mengekstrak antioksidan dari daun kelor adalah SFE dengan menggunakan pelarut CO₂ (SC-CO₂). Meskipun cenderung lebih aman, metode ekstraksi ini memiliki kekurangan yaitu perolehan ekstrak dan aktivitas antioksidan masih sangat kecil (Zhang dkk., 2018; Dadi dkk., 2019). Metode ekstraksi *novel* yang banyak digunakan adalah SFE dengan pelarut berupa Superkritik CO₂ (SC-CO₂). Penggunaan pelarut superkritik CO₂ ini dikarenakan CO₂ memiliki temperatur kritik yang cukup rendah (31 °C) sehingga mampu untuk mengekstrak senyawa yang sensitif terhadap temperatur (termolabil), selektivitas yang baik, tidak reaktif, murah, dan tidak beracun. Metode SC-CO₂ ini dapat dimodifikasi dengan penambahan ko pelarut berupa pelarut organik dengan tujuan untuk meningkatkan polaritas pelarut sehingga perolehan ekstrak dan aktivitas antioksidan dapat meningkat. Peningkatan polaritas yang terjadi diakibatkan oleh penambahan pelarut organik yang bersifat polar ke dalam sampel. Pelarut CO₂ memiliki sifat non polar,

sedangkan antioksidan yang terkandung di dalam daun kelor merupakan senyawa polar. Antioksidan yang bersifat polar akan cenderung lebih larut ke dalam pelarut polar seperti pelarut organik yang ditambahkan sebagai ko pelarut. Menurut literatur, perolehan ekstrak dan aktivitas antioksidan dari daun kelor menggunakan metode SC-CO₂ ini masih relatif rendah.

Kekurangan-kekurangan yang masih terdapat pada proses ekstraksi antioksidan dari daun kelor baik secara konvensional maupun *novel* ini menjadikan proses ini masih perlu untuk dikembangkan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui metode yang dapat digunakan untuk meningkatkan hasil ekstraksi antioksidan dari daun kelor. Pada penelitian ini dilakukan pemberian perlakuan awal berupa lisis menggunakan ultrasonikasi pada sampel bubuk daun kelor sebelum dilakukan proses ekstraksi menggunakan metode maserasi maupun SC-CO₂ sebagai bentuk pengembangan dari penelitian yang sebelumnya telah dilakukan. Perlakuan awal berupa lisis menggunakan ultrasonikasi dimaksudkan agar dinding sel daun kelor dapat pecah sehingga zat yang berada di dalam sel menjadi lebih mudah untuk keluar. Hal tersebut menyebabkan daun kelor akan menjadi lebih mudah untuk diekstrak. Selain itu, pada penelitian ini juga dilakukan ekstraksi dengan metode UAE tanpa perlakuan awal berupa lisis pada sampel. Ekstraksi dengan metode UAE ini dimaksudkan untuk mengetahui kemampuan ultrasonikasi dalam mengekstrak antioksidan dari daun kelor, sehingga diharapkan ketika proses ini dilakukan sebagai perlakuan awal dari proses ekstraksi maka proses ekstraksinya menjadi lebih optimal (Zhang dkk., 2018).

1.2 Tema Sentral Masalah

Perolehan ekstrak dan aktivitas antioksidan dari ekstraksi daun kelor menggunakan metode SC-CO₂ dan UAE dirasa masih sangat kecil. Di samping itu, meskipun perolehan ekstrak dan aktivitas antioksidan dari proses ekstraksi menggunakan metode maserasi sudah cukup besar namun penggunaan pelarut organik dalam proses ekstraksinya masih sangat tinggi. Selain itu, pengembangan terhadap metode ekstraksi antioksidan *novel* pada daun kelor juga belum cukup banyak dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui metode yang lebih efektif untuk memperoleh antioksidan dari daun kelor. Penelitian lebih lanjut ini dilakukan dengan memberikan perlakuan awal berupa lisis menggunakan ultrasonikasi terhadap bahan baku sampel yaitu bubuk daun kelor. Proses lisis menggunakan ultrasonikasi ini diharapkan dapat membuat dinding sel dari daun kelor dapat pecah dan zat yang berada di dalam sel dapat keluar sehingga proses ekstraksi dapat berjalan dengan lebih baik. Penambahan metode lisis menggunakan ultrasonikasi sebagai perlakuan

awal dalam proses ekstraksi daun kelor belum pernah dilakukan sebelumnya. Oleh karena itu, diharapkan dengan dilakukannya perlakuan awal berupa lisis menggunakan ultrasonikasi maka proses ekstraksi dapat menghasilkan hasil ekstraksi antioksidan menggunakan metode maserasi maupun SC-CO₂ menjadi lebih baik.

1.3 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang dan tema sentral yang telah disebutkan sebelumnya, maka identifikasi masalah pada penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh pemberian perlakuan awal berupa lisis menggunakan ultrasonikasi terhadap perolehan ekstrak, aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total *flavonoid* pada ekstrak daun kelor dengan metode ekstraksi maserasi dan SC-CO₂?
2. Bagaimana pengaruh lama waktu dan temperatur dari proses lisis menggunakan ultrasonikasi terhadap perolehan ekstrak, aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total *flavonoid* pada ekstrak daun kelor dengan metode ekstraksi maserasi dan SC-CO₂?
3. Bagaimana pengaruh lama waktu dan temperatur pada proses ultrasonikasi terhadap perolehan ekstrak, aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total *flavonoid* pada ekstrak daun kelor dengan metode UAE?
4. Bagaimana metode yang paling baik untuk mendapatkan perolehan ekstrak, aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total *flavonoid* terbaik dari proses ekstraksi daun kelor (Maserasi dengan lisis; SC-CO₂ dengan lisis; atau UAE)?

1.4 Premis

Beberapa penelitian sebelumnya mengenai ekstraksi antioksidan dari daun kelor baik melalui proses ekstraksi secara konvensional maupun *novel* digunakan sebagai studi pustaka dalam penelitian ini. Hasil penelitian tersebut kemudian disajikan sebagai premis ke dalam tiga buah tabel seperti yang dapat terlihat pada Tabel 1.2-1.4.

1.5 Hipotesis

Berdasarkan studi literatur yang telah dilakukan, dapat ditarik beberapa hipotesis pada penelitian ekstraksi antioksidan dari daun kelor ini, di antaranya:

1. Perlakuan awal terhadap bahan berupa lisis menggunakan ultrasonikasi akan meningkatkan perolehan ekstrak, aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total *flavonoid* pada proses ekstraksi antioksidan dari daun kelor baik menggunakan metode maserasi maupun SC-CO₂.

2. Proses ultrasonikasi yang terlalu lama dan temperatur ultrasonikasi yang terlalu tinggi akan menyebabkan sel dari daun kelor yang diberi perlakuan berupa lisis menggunakan ultrasonikasi menjadi rusak, sedangkan proses ultrasonikasi yang terlalu cepat serta temperatur ultrasonikasi yang terlalu rendah akan menyebabkan lisis menggunakan ultrasonikasi belum berlangsung dengan sempurna.
3. Pada ekstraksi dengan metode UAE, proses ultrasonikasi yang terlalu lama dan temperatur ultrasonikasi yang terlalu tinggi akan dapat merusak sel daun kelor, sedangkan proses ultrasonikasi yang terlalu cepat dan temperatur ultrasonikasi yang terlalu rendah akan menghasilkan perolehan ekstrak, aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total *flavonoid* yang tidak maksimal.
4. Metode yang paling baik untuk mendapatkan perolehan ekstrak, aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total *flavonoid* pada proses ekstraksi daun kelor adalah dengan memberikan perlakuan awal lisis menggunakan ultrasonikasi pada waktu dan temperatur tertentu kemudian dilanjutkan dengan proses ekstraksi.

1.6 Tujuan Penelitian

Tujuan dari dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh pemberian perlakuan awal berupa lisis menggunakan ultrasonikasi terhadap perolehan ekstrak, aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total *flavonoid* dari ekstraksi daun kelor menggunakan metode maserasi dan SC-CO₂.
2. Mengetahui pengaruh lama waktu ultrasonikasi dan temperatur ultrasonikasi terhadap perolehan ekstrak, aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total *flavonoid* pada ekstraksi daun kelor pada proses lisis menggunakan ultrasonikasi sebelum ekstraksi menggunakan metode maserasi dan SC-CO₂.
3. Mengetahui pengaruh lama waktu ultrasonikasi dan temperatur ultrasonikasi terhadap perolehan ekstrak, aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total *flavonoid* pada ekstraksi daun kelor dengan metode UAE.
4. Mengetahui metode yang paling baik untuk mendapatkan perolehan ekstrak, aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total *flavonoid* terbaik dari proses ekstraksi daun kelor dengan menggunakan metode maserasi, SC-CO₂, UAE, maserasi dengan lisis, atau SC-CO₂ dengan lisis.

1.7 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan beberapa manfaat bagi berbagai kalangan, antara lain:

1. Bagi industri

Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu industri dalam pemanfaatan daun kelor sebagai salah satu bahan baku yang dapat digunakan untuk proses pembuatan antioksidan alami.

2. Bagi pemerintah

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dorongan pemerintah untuk dapat memanfaatkan sumber daya alam yang dimiliki sehingga dapat membuka lapangan pekerjaan baru dengan memanfaatkan tanaman kelor.

3. Bagi masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan yang lebih luas bagi masyarakat mengenai manfaat dari konsumsi ekstrak daun kelor.

4. Bagi peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan pengalaman peneliti mengenai proses lisis menggunakan ultrasonikasi dan ekstraksi antioksidan dari daun kelor.

Tabel 1.2 Tabel premis ekstraksi antioksidan dari daun kelor dengan metode ekstraksi konvensional

No.	Bentuk Sampel	Metode Ekstraksi	Pelarut	Jumlah Sampel (g) /Pelarut (mL)	Waktu (jam)	IC ₅₀ (ppm) dengan pengujian DPPH	Sumber
1	Bubuk	Maserasi	<i>Aqua Steril Pro-injection</i>	2/5	4	122,742	Tukiran dkk., 2020
2	Bubuk (<i>fine powder</i>)	<i>Soxhlet</i>	Etanol (80 %)	2/25	24	832,8	Wright dkk., 2017
			Etanol (80 %) + Heksana			4477	
			Etanol (80 %) + Kloroform			1604	
			Etanol (80 %) + Butanol			172,6	
			Etanol (80 %) + Interfase Butanol			1085	
			Etanol (80 %) + Air			516,9	
3	Bubuk	Maserasi	Etanol 96 %	1/30	1	433,5	Dzieciol, 2020
					2	428,8	
					4	413,5	
		<i>Soxhlet</i>			1	400,4	
					2	418,9	
					4	426,0	
4	Bubuk (20 <i>mesh</i>)	Maserasi	Etanol 50 %	1/40	72 (28 °C)	164,57	Vongsak dkk., 2013
			Etanol 70 %			62,94	
		Perkolasi	Etanol 50 %	1/10	1 jam diam kemudian dilandjutkan dengan pemberian etanol (1 mL/menit) hingga pekat	183,82	
			Etanol 70 %			95,94	
		<i>Soxhlet</i>	Etanol 50 %	1/50	20 (5 <i>cycles</i>)	74,02	
			Etanol 70 %			55,07	

Tabel 1.2 Tabel premis ekstraksi antioksidan dari daun kelor dengan metode ekstraksi konvensional (lanjutan)

No.	Bentuk Sampel	Metode Ekstraksi	Pelarut	Jumlah Sampel (g) /Pelarut (mL)	Waktu (jam)	IC ₅₀ (ppm) dengan pengujian DPPH	Sumber
5	Bubuk	<i>Soxhlet</i>	Metanol 70 %	nd	8 (60 °C) (3 cycles)	20,9 ^{ab}	Lee dkk., 2017
			Metanol 70 % + n-Heksana			0,6 ^{ab}	
			Metanol 70 % + CH ₂ Cl ₂			2,1 ^{ab}	
			Metanol 70 % + EtOAc			4,7 ^{ab}	
			Metanol 70 % + BuOH			20,3 ^{ab}	
			Metanol 70 % + H ₂ O			72,3 ^{ab}	
6	Bubuk (dibawah 250 µm)	<i>Soxhlet</i>	n-Heksana (78 °C)	1/30	8 (50 °C)	9,27 ^{ab}	Zhao dan Dongke, 2013
7	Bubuk (500 mesh)	Maserasi	Etanol 96 %	1/6	48	23,347 ^a	Lukmanto dan Payon, 2021
				1/10		26,947 ^a	
				1/14		47,254 ^a	
			Etanol 50 %	1/6		13,900 ^a	
				1/10		16,700 ^a	
				1/14		20,800 ^a	
			Air	1/6		2,400 ^a	
				1/10		13,300 ^a	
				1/14		27,547 ^a	

Keterangan tabel =

a : % Perolehan (w/w)

b : pengujian dengan GC-MS

nd : *not determined*

(w/w) : massa antioksidan hasil ekstraksi/ massa sampel

% : (pada pelarut) % v/v

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

Tabel 1.3 Tabel premis ekstraksi antioksidan dari daun kelor dengan metode ekstraksi *novel*

No.	Bentuk Sampel	Metode Ekstraksi	Pelarut	Flowrate (mL/min)	Waktu (menit)	T (°C); P (MPa)	Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dengan GC-MS (% Perolehan (w/w))	Sumber	
1	Bubuk	SFE	<i>CO₂ liquid</i>	2	180	40; 10	1,5	Rodríguez-Pérez dkk., 2016	
						40; 20	2,0		
						50; 15	3,1		
						60; 10	1,37		
						60; 20	2,25		
		CXLE	S-CO ₂ + Etanol 50 %	1,2	200	50; 7	50; 7		10,0
							S-CO ₂ + Etanol 60 %		29,5
							S-CO ₂ + Etanol 70 %		24,0
		PLE	Air panas	nd	160 (7 MPa)	50; 7	50; 7		30,0 ^c
							125; 7		30,2 ^c
200; 7	35,0 ^c								
2	Bubuk (dibawah 250 µm)	SFE	<i>CO₂ liquid</i>	2	60	40; 30	4	Zhao dan Dongke, 2013	
						60; 40	4,72		
						80; 50	5,99		
					90	60; 30	5,18		
						80; 40	5,55		
						40; 50	4,37		
					120	80; 30	4,87		
						40; 40	4,23		
						60; 50	6,34		

Tabel 1.3 Tabel premis ekstraksi antioksidan dari daun kelor dengan metode ekstraksi *novel* (lanjutan)

No.	Bentuk Sampel	Metode Ekstraksi	Pelarut	Flowrate (mL/min)	Waktu (menit)	T (°C); P (MPa)	Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dengan GC-MS (% Perolehan (w/w))	Sumber
3	Bubuk (500 mesh)	SFE	(kopelarut: etanol) CO ₂ liquid	10	60	70; 10	1,695 ^b ; 334,2318 ^a	Lukmanto dan Payon, 2021
				12			1,853 ^b ; 166,1881 ^a	
				14			2,010 ^b ; 183,7670 ^a	
				10	60	70; 20	1,998 ^b ; 134,3910 ^a	
				12			3,089 ^b ; 65,7263 ^a	
				14			2,625 ^b ; 184,3106 ^a	
				10		70; 30	1,298 ^b ; 211,8515 ^a	
				12			4,606 ^b ; 91,3877 ^a	
				14			4,270 ^b ; 242,4886 ^a	

Keterangan tabel =

a : IC₅₀ (ppm) dengan DPPH

b : pengujian dengan DPPH

c : pengujian dengan HPLC

nd : *not determined*

(w/w) : massa antioksidan hasil ekstraksi/ massa sampel

% : (pada pelarut) % v/v

CXLE : *Carbon Dioxide Expanded Liquid Extraction*

DPPH : *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*

HPLC : *High Performance Liquid Chromatography*

PLE : *Pressurized Liquid Extraction*

SFE : *Supercritical Fluid Extraction*

Tabel 1.4 Tabel premis ekstraksi antioksidan dari daun kelor dengan metode UAE

No.	Bentuk Sampel	Metode Ekstraksi	Pelarut	Jumlah Sampel (g) /Pelarut (mL)	Waktu (menit)	T (°C); P (MPa)	IC ₅₀ (ppm) dengan pengujian DPPH	Sumber	
1	Bubuk	UAE	Etanol 96 %	1/30	60	-	338,1	Dzieciol, 2020	
					120	-	399,3		
					240	-	410,7		
2	Bubuk	UAE	Etanol 70 % + Petroleum Eter	1/30	42	50; -	353	Zhao dkk., 2019	
			Etanol 70 % + Etil Asetat				82		
			Etanol 70 % + n-Butanol				67		
			Etanol 70 % + Air				439		
			Etanol 70 % + n-Butanol (30%)				36		
			Etanol 70 % + n-Butanol (50%)				42		
			Etanol 70 % + n-Butanol (70%)				53		
3	Bubuk (20 mesh)	UAE	Etanol 70 %	1/40	10	30; -	230,7 ^a	Dadi dkk., 2019	
							40; -		273,6 ^a
							50; -		265,0 ^a
					20	30; -	232,2 ^a		
							40; -		336,5 ^a
							50; -		220,7 ^a
					30	30; -	257,3 ^a		
							40; -		260,3 ^a
							50; -		166,3 ^a

Keterangan tabel =

a : Perolehan ekstrak (mg/ g)

nd : *not determined*

% : (pada pelarut) % v/v

DPPH : *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*UAE : *Ultrasound-assisted Extraction*