

IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DALAM EKSTRAK BIJI KELOR (*Moringa Oleifera* L) YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIOKSIDAN

Julianus Dising^{1*)} dan Paulus Pasau²⁾

¹⁾ Jurusan Tanaman Pangan dan Hortikultura, Politeknik Pertanian Negeri Kupang,

²⁾ Jurusan Manajemen Pertanian Lahan Kering, Politeknik Pertanian Negeri Kupang,
Jl. Prof. Dr. Herman Yohanes Lasiana Kupang P.O.Box. 1152, Kupang 85011

Korespondensi: julianus_dissing@yahoo.com

ABSTRACT

The study aimed to identify and determine the total levels of secondary metabolite compounds from moringa seed extracts that have the potential to be antioxidants. Moringa seeds used in this study came from Kupang Regency and Kupang City, East Nusa Tenggara. Moringa seeds are extracted using a 96% ethanol solvent by the maceration method for 48 hours. After that, it is filtered and the filtra is separated between the solvent and the alcohol extract (moringa seed extract) using rotary evaporator (rotavapour). Moringa seed extract was obtained subsequently and analyzed qualitatively and quantitatively to identify and find out the levels of its secondary metabolites (flavonoids, saponins, alkaloids, and tannins). The results showed that based on qualitative and quantitative analysis, moringa seed extract contained flavonoid compounds (0.763%), saponins (6,185%), alkaloids (918,782 µg/g), and tannins (3.814,193 µg/g). These secondary metabolite compounds have the potential to be antioxidants.

Keywords: secondary metabolites, moringa seeds, antioxidants, maceration

PENDAHULUAN

Tanaman kelor (*Moringa oleifera* L) merupakan salah satu tanaman yang disoroti para ahli pangan dunia, terutama sejak para pakar Jepang meluncurkan konsep FOSHU (*Food for Specified Health Use*) dikenal dengan sebutan pangan fungsional. Pemerintah Daerah NTT menyusun *Road map* pengembangan kelor atau yang disebut morungga pada tahun 2018. Kelor dijadikan sebagai komoditas unggulan baru untuk meningkatkan kesejahteraan dan kesehatan masyarakat serta menjadikan kelor sebagai sumber pangan fungsional untuk menurunkan angka gizi buruk di NTT. Pengembangan kelor telah dilakukan di 2200 ha yang tersebar di seluruh NTT pada tahun 2019 dan direncanakan akan meningkat hingga tahun 2023 dengan total 11.000 ha (Kurniawan, H. 2018).

Sampai saat ini, tanaman kelor baru sebatas pemanfaatan daunnya sebagai bahan makanan dan obat tradisional, sedangkan biji kelor belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat, padahal mengandung minyak dan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang sangat bermanfaat untuk kesehatan. Minyak biji kelor mengandung 72% asam oleat (omega 9) yang merupakan asam lemak tak

jenuh yang dapat menurunkan risiko penyakit jantung koroner, meningkatkan HDL (kolesterol baik), menurunkan LDL (kolesterol jahat), menurunkan risiko kanker dan stroke (Nasir, S., dkk., 2010). Biji kelor mengandung minyak sebesar 40 %, dengan kandungan asam lemak sebesar 34.7 % (Widyanastuti dkk., 2013).

Senyawa pada tumbuhan dapat dimanfaatkan pada bidang farmakologi adalah senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antioksidan, antikoagulan darah, antikanker, antibiotik, dan dapat menghambat efek karsinogenik. Jenis-jenis senyawa metabolit sekunder meliputi flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, saponin, tanin dan lainnya (Saxena & Kalra, 2011).

Bagian lain dari tanaman kelor yang berpotensi memiliki senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat ialah bagian biji. Biji kelor merupakan antioksidan yang baik karena mampu mengurangi kerusakan oksidatif disertai penuaan dan kanker (Singh dkk., 2009). Anggi *et al.*, (2020) sebelumnya melaporkan bahwa dalam ekstrak etanol biji kelor terdapat kandungan flavonoid 1,26%, namun demikian tidak terdapat informasi lebih lengkap mengenai kandungan senyawa metabolit sekunder lainnya.

Berdasarkan informasi dari hasil penelitian tersebut, maka peneliti merasa perlu mengidentifikasi dan mengkaji senyawa-senyawa metabolit yang terkandung dalam ekstrak biji kelor yang berasal Nusa Tenggara Timur.

METODE PENELITIAN

Alat

Peralatan yang di gunakan dalam penelitian ini adalah blender, labu erlenmeyer 500 ml, gelas kimia 500 ml, labu ukur 500 ml, tabung reaksi, bejana maserasi 1 liter, *rotavapour*, spektrofotometer UV-Vis, timbangan analitik, *autoclave*.

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kelor. Sedangkan bahan-bahan kimia adalah guercetin, etanol 96 %, aquadest, larutan amoniak, H₂SO₄ 25%, HCl 2 N, HCl 4 N, pereaksi Dragendrof, NaCl 10 %, FeCl₃, eter, gas N₂, NaNO₂ 5%, aluminium klorida 10 %, NaOH 1 M, NaOH 0,1 N, saponin,

anisaldehid, BCG, buffer phosphat, metanol, reagen *Folin Ciocalteu*, NaCO_3 20%, dan *tannic acid*.

Cara Kerja

Preparasi Sampel

Biji kelor kering (tua) di kupas kulitnya, kemudian di keringkan di dalam oven pada suhu sekitar $\pm 105^\circ\text{C}$ selama 2 jam. Tujuan pengeringan ini agar kadar air pada biji kelor sudah menguap serta sudah terjadi pengeringan yang sempurna bahkan sudah tidak ada kadar air. Kemudian biji kelor yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender. Biji kelor yang telah dihaluskan, ditimbang kemudian diekstraksi.

Membuat Ekstraksi Biji Kelor

Serbuk biji kelor 600 gram dimasukkan ke dalam bejana maserasi dan ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 2 L, didiamkan selama 48 jam sambil sesekali diaduk. Selanjutnya disaring, dan filtratnya dievaporasi dengan Rotavapour untuk memisahkan pelarutnya. Selanjutnya ekstrak biji kelor yang diperoleh dipekatkan hingga kental untuk dianalisis.

Analisis kualitatif

a. Uji flavonoid

Ekstrak 0,5 gram dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml aquadest, 5 ml larutan amonia dan 1 ml H_2SO_4 . Perubahan warna menjadi warna kuning menunjukkan adanya flavonoid.

b. Uji saponin

Ekstrak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, dinginkan kemudian dikocok dengan kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang menetap selama tidak kurang dari 1 menit setinggi 10 cm atau pada penambahan 1 tetes HCl 2 N buih tidak hilang maka menunjukkan adanya saponin.

c. Uji alkaloid

Ekstrak 0,5 gram ditambahkan 5 ml HCl 2 N, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit lalu ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendrof LP. Jika hasil

memberikan endapan kuning orange sampai merah bata maka sampel mengandung alkaloid.

d. Uji tanin

Ekstrak 0,5 gram dimasukkan ke dalam cawan, ditambahkan 20 ml air panas dan larutan NaCl 10% sebanyak 3 tetes. Kemudian ditambahkan larutan FeCl₃, bila terbentuk warna biru hitam menunjukkan adanya tanin.

Analisis kuantitatif

a. Uji kadar total flavonoid

Membuat kurva standar dari guercetin pada serapan 510 nm. Ambil sampel 100 mg ditambahkan 2 ml HCl 4 N. Autoklaf selama 2 jam pada suhu 110°C, dinginkan lalu ekstraksi dengan eter, masukkan dalam tabung reaksi 10 ml. Uapkan eter, kemudian keringkan dengan gas N₂. Ditambahkan 0,3 ml NaNO₂ 5%. Setelah 5 menit tambahkan 0,6 ml aluminium klorida 10 %, tunggu 5 menit, lalu tambahkan 2 ml NaOH 1 M. Kemudian tambahkan aquades hingga 10 ml, buat pengenceran standarnya (0, 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100) ppm, dan baca serapan pada panjang gelombang 510 nm. Kadar total senyawa flavanoid dihitung dengan persamaan regresi linier $y = bx + a$ yang diperoleh dari kurva kalibrasi (mg/g).

b. Uji kadar total saponin

Membuat kurva standar dari saponin pada serapan 450 nm. Ambil sampel 100 mg ditambahkan 2 ml H₂SO₄ 25%. Autoclave selama 120 menit, dengan suhu 110 °C. Ekstraksi dengan eter, keringkan filtratnya, tambahkan air sebanyak 1 ml dan ekstraksi dengan vortex selama 5 menit. Tambahkan 50 µl anisaldehyd, kocok kemudian diamkan 10 menit. Tambahkan 2 ml H₂SO₄ 50%, panaskan pada suhu 60 °C selama 10 menit. Kemudian ditambahkan air hingga 10 ml, dan dibuat pengenceran standar dari 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 ppm. Setelah itu membaca serapan pada panjang gelombang 435 nm.

c. Uji kadar total alkaloid

Membuat kurva standar dari guercetin pada serapan 470 nm. Ambil sampel uji ± 100 mg, ditambahkan 5 ml HCl 2 N, kocok lalu mencuci larutan dengan 10 ml kloroform sebanyak 3 kali dalam corong pisah. Buang fase kloroform dan netralkan larutan dengan menambahkan NaOH 0,1 N, tambahkan 5 ml larutan

BCG dan 5 ml Buffer Phosphat. Ekstraksi dengan 5 ml kloroform, aduk dengan pengaduk magnet kecepatan 500 rpm selama 15 menit. Mengulang ekstraksi dengan kloroform sebanyak 2 kali dan kumpulkan fase kloroform. Evaporasikan dengan gas Nitrogen, kemudian tambahkan kloroform hingga volume 5 ml. Membaca serapan pada panjang gelombang 470 nm.

d. Uji kadar total tanin

Membuat kurva standar dari Tannic Acid pada serapan 760 nm. Ambil sampel sebanyak ± 100 mg, ekstraksi dengan 10 ml metanol selama 20 jam dan saring. Uapkan sisa methanol, tambahkan aquadest hingga volume 10 ml. Ambil 1 ml larutan sampel, tambahkan 0,1 ml reagen *Folin Ciocalteu* dan vortex, tunggu 5 menit. Kemudian ditambahkan 2 ml NaCO_3 20% dan vortex, tunggu 5 menit, tambahkan aquadest 10 ml dan encerkan sebanyak 5 kali. Baca absorbansi pada panjang gelombang 760 nm setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel biji kelor yang diperoleh di wilayah Kota Kupang dan Kabupaten Kupang Provinsi Nusa Tenggara Timur. Biji kelor yang diperoleh diblender kemudian diekstraksi dengan pelarut etanol selama 2x24 jam dengan metode maserasi.

Analisis kualitatif metabolit sekunder dilakukan pada ekstrak kental, yaitu berupa uji penapisan fitokimia menggunakan tes warna dengan beberapa pereaksi untuk golongan senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin.. Sementara itu, untuk analisis kuantitatif atau penentuan kadar total senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol biji kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Penentuan kadar total yang dilakukan yaitu penentuan kadar total senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin yang terdapat pada ekstrak etanol biji kelor berdasarkan pada kurva baku larutan standar masing- masing senyawa.

1) Ekstraksi Biji Kelor

Untuk memperoleh ekstrak biji kelor, maka biji kelor diekstraksi dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Pemilihan etanol 96% sebagai pelarut karena tidak beracun, netral, dan absorbsinya baik. Untuk analisis kualitatif dan kuantitatif ekstrak etanol yang diperoleh dipekatkan hingga kental dengan cara dievaporasi dan diangin-anginkan.

2) Analisis kualitatif

a. Uji flavonoid

Ekstrak 0,5 gram yang dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml aquadest, dan 5 ml larutan amoniak serta 1 ml H_2SO_4 menjadi warna kuning. Perubahan warna menjadi warna kuning menunjukkan adanya senyawa flavonoid dalam sampel yang diuji.

Tabel 1. Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Etanol Biji Kelor

| No | Metabolit Sekunder | Pereaksi | Hasil Pengamatan | Ket |
|----|--------------------|---------------------|---|-----|
| 1 | Flavanoid | Amoniak + H_2SO_4 | Terbentuk warna kuning | + |
| 2 | Saponin | Dikocok + HCl 2 N | Terbentuk buih yang tidak hilang dalam waktu kurang 1 menit | + |
| 3 | Alkaloid | Dragendrof | Terbentuk endapan kuning kemerahan | + |
| 4 | Tanin | $FeCl_3$ | Terbentuk warna biru kehitaman | + |

Keterangan:

(+) : mengandung senyawa yang diuji

(-) : tidak mengandung senyawa yang diuji

b. Uji saponin

Ekstrak 0,5 gram yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas, dan dinginkan kemudian dikocok dengan kuat selama 10 detik membentuk buih. Setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2 N buihnya tidak hilang. Hal ini mengindikasikan adanya senyawa saponin dalam sampel yang diuji.

c. Uji alkaloid

Ekstrak 0,5 gram yang ditambahkan 5 ml HCl 2 N, kemudian dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit lalu ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendrof LP membentuk endapan warna kuning kemerahan. Adanya endapan kuning orange

sampai merah bata mengindikasikan adanya senyawa alkaloid dalam sampel yang diuji.

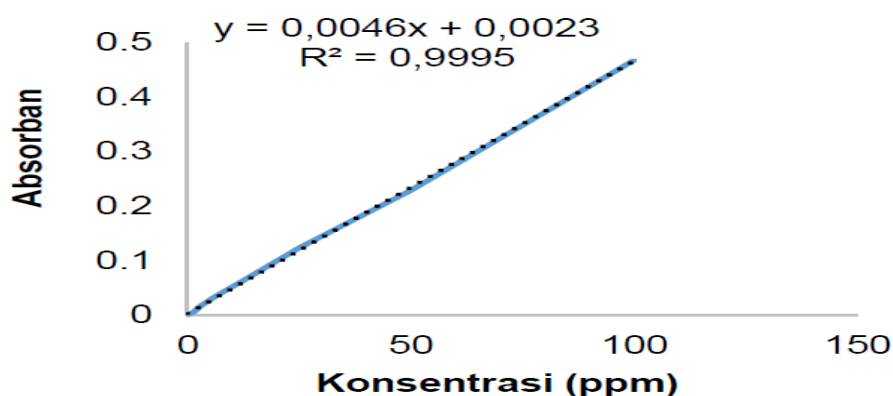
d. Uji tanin

Ekstrak 0,5 gram yang dimasukkan ke dalam cawan, kemudian ditambahkan 20 ml air panas dan larutan NaCl 10% sebanyak 3 tetes serta ditambahkan larutan FeCl_3 , terbentuk warna biru hitam. Terbentuknya warna biru kehitaman mengindikasikan adanya senyawa tanin dalam sample yang diuji.

3) Analisis kuantitatif

a. Uji kadar total flavonoid

Penentuan kadar flavonoid menggunakan kuersetin sebagai kurva baku standar sehingga diperoleh persamaan regresi yaitu $y = 0,0046x + 0,0023$ dan koefisien korelasi (r^2) yaitu 0,9995 (Gambar 1).

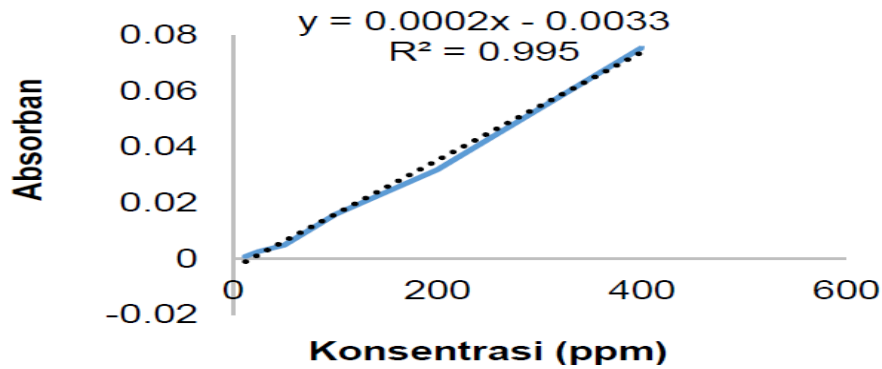


Gambar 1. Kurva standar flavanoid

Berdasarkan persamaan regresi $y = 0,0046x + 0,0023$, maka dilakukan perhitungan kadar total flavonoid total dan diperoleh kadar flavonoid total dengan parameter uji total flavonoid ekuivalen kuersetin pada sampel ekstrak etanol biji kelor, yaitu 0,763 % (Tabel 2). Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan, diuretik dan dapat menurunkan kadar kolestrol serum (Hanani, 2014).

b. Uji kadar total saponin

Pada kurva standar saponin, diperoleh persamaan regresi $y = 0,0423x + 0,0033$ dan koefisien korelasi (r^2) yaitu 0,995 (Gambar 2).

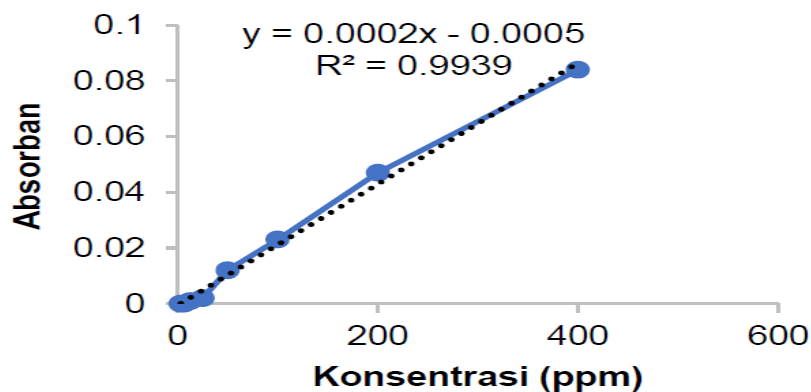


Gambar 2. Kurva standar saponin

Kadar saponin total ekstrak etanol biji kelor berdasarkan kurva regresi dengan parameter uji total saponin dari *Quillaja bark* kuantitatif, yaitu 6,185 % (Tabel 2). Saponin memiliki aktivitas farmakologi antara lain dapat menurunkan kolestrol, mempunyai sifat sebagai antioksidan, antivirus dan anti karsinogenik (Hanani, 2014).

c. Uji kadar total alkaloid

Kurva standar alkaloid dimanfaatkan untuk menentukan kadar alkaloid dalam sampel ekstrak etanol biji kelor. Pada kurva standar alkaloid diperoleh persamaan regresi $y=0,0002x-0,0005$ dan koefisien korelasi (r^2) 0,9939 (Gambar 3).

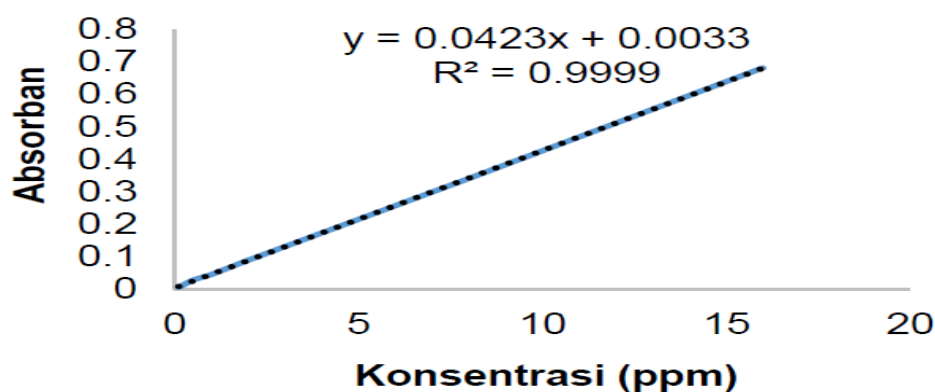


Gambar 3. Kurva standar alkaloid

Berdasarkan persamaan regresi tersebut, dilakukan perhitungan kadar alkaloid total dengan parameter uji total alkaloid ekuivalen kuinin diperoleh kadar alkaloid pada sampel ekstrak etanol biji kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yaitu 918,782 $\mu\text{g/g}$ (Tabel 2). Alkaloid memiliki aktivitas farmakologis antara lain sebagai analgesik, antimalaria dan sebagai anastesi lokal (Hanani, 2014).

d. Uji kadar total tanin

Pada uji kuantitatif kadar tanin diperoleh persamaan regresi senyawa saponin yaitu $y = 0,0423x + 0,0033$ dengan koefisien korelasi (r^2) yaitu 0,9999 (Gambar 4).



Gambar 4. Kurva standar tanin

Kadar senyawa tanin dengan parameter uji total tanin ekuivalen asam tanat diperoleh kadar total untuk kadar total tanin, yaitu 3.814,193 $\mu\text{g/g}$ (Tabel 2). Sifat tanin sebagai astringen dapat dimanfaatkan sebagai antidiare, menghentikan perdarahan, dan mencegah peradangan terutama pada mukosa mulut, serta digunakan sebagai antiseptik karena adanya gugus fenol (Hanani, 2014).

Tabel 2. Hasil penentuan kadar ekstrak etanol biji kelor

| No | Parameter Uji | Hasil |
|----|--|---------------------------|
| 1 | Total flavonoid ekuivalen quercetin | 0,763 % |
| 2 | Saponin from quillaja bark kuantitatif | 6,185 % |
| 3 | Total alkaloid ekuivalen quinine | 918,782 $\mu\text{g/g}$ |
| 4 | Tanin total ekuivalen tannic acid | 3.814,193 $\mu\text{g/g}$ |

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahawa ekstrak etanol biji kelor (*Moringa oleifera* Lam.) mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, tanin, saponin dan flavonoid. Ekstrak etanol biji kelor memiliki kadar senyawa flavonoid dengan parameter uji total flavonoid ekuivalen kuersetin sebesar 0,763 %, senyawa saponin dengan parameter uji total saponin dari *Quilaja bark* kuantitatif sebesar 6,185 %, senyawa alkaloid dengan parameter uji total alkaloid ekuivalen kuinin sebesar 918,782 $\mu\text{g/g}$, dan senyawa tanin dengan parameter uji total tanin ekuivalen asam tanat sebesar 3.814,193 $\mu\text{g/g}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggi, V., Tandi, J., & Veronika, V. (2020). Total Flavonoid Dan Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Kelor (*Moringa Oleifera* L) Asal Kota Palu Sulawesi Tengah Terhadap Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Streptozotocin. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(1), 24–31.
- Hanani, E. (2014). *Analisis Fitokimia*. Buku Kedokteran ECG, Jakarta.
- Hery Kurniawan. 2018. Kasiat, Fungsi Lingkungan dan Peluang Ekonomi Kelor (*Moringa oleifera* L). *Warta Cendana*. Edisi XI No.2.
- Nasir, S., Soraya, D.F., dan Pratiwi, D. 2010. Pemanfaatan Ekstrak Biji Kelor (*Moringa Oleifera* L.) Untuk Pembuatan Bahan Bakar Nabati. Universitas Surabaya, Teknik Kimia.
- Noer S., Gresinta E. Dan Pratiwi, R.D. 2016. Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (tanin, saponin, dan flavanoid sebagai kuersetin) pada Ekstrak Daun Unggu (*Ruta angustifolia* L). *Julnal Eksakta: Jurnal Ilmu-ilmu MIPA*
- Saxena, G., & Kalra. 2011. Antimicronial Activity Pattern of Certain Terpenoids. *Internasional Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1): 87–91.
- Singh, B.N., Singh, B.R., Singh, R.L., Prakash, Dhakarey, dan Upadhyay, 2009. Oxidative DNA Damage Protective Activity, Antioxidant and Anti-Quorum Sensing Potensials of *Moringa Oleifera*. *Food Chem. Toxicol*.
-