



Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) dalam *Edible Oil*

Antioxidant Activity Assay of Moringa Leaf Extract (*Moringa oleifera* Lamk.) in Edible Oil

Fillah Mufti Sakhi¹, Rif'atul Mahmudah^{1*}, Eny Yulianti¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Jl. Gajayana 50, Malang, Jawa Timur 65144, Indonesia

Email: rifatul@kim.uin-malang.ac.id

*Penulis Korespondensi

Abstract

Moringa leave is one part of the Moringa plant which are widely used as medicine because it contains active compounds, one of which is flavonoids which can ward off free radicals. This inquiry determined the antioxidant activity of the macerated extricate of Moringa leaves clears out in additional *extra virgin olive oil* dan *virgin coconut oil* utilizing the DPPH method using variations in extraction time and variations in the volume of tween 80. Variations were carried out by increasing the volume of tween 80 by 0 - 0.4 mL and extraction times of 2 - 4 hours. The addition of Tween 80 and long extraction time to the antioxidant activity of Moringa leaves in EVOO produced the best results at a Tween 80 volume of 0.4 mL and an extraction time of 4 hours with an EC₅₀ of 106.848 ± 4.746 ppm. Meanwhile, VCO gave the best results at a volume of tween 80 0.4 mL with an extraction time of 4 hours producing an EC₅₀ of 282,914 ± 10,008 ppm.

Keywords: Antioxidant, EVOO, moringa leaves, VCO

Abstrak

Daun kelor merupakan bagian dari tanaman kelor yang banyak dimanfaatkan sebagai obat karena memiliki kandungan senyawa aktif salah satunya flavonoid yang dapat menangkal radikal bebas. Penelitian bertujuan mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak maserasi daun kelor dalam *extra virgin olive oil* (EVOO) dan *virgin coconut oil* (VCO) dengan metode DPPH menggunakan variasi waktu ekstraksi dan variasi volume tween 80. Variasi dilakukan dengan penambahan volume tween 80 sebesar 0 - 0,4 mL dan waktu ekstraksi selama 2-4 jam. Penambahan tween 80 dan lama waktu ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan daun kelor dalam EVOO menunjukkan hasil terbaik pada volume tween 80 0,4 mL dan waktu ekstraksi 4 jam dengan EC₅₀ sebesar 106,848 ± 4,746 ppm. Sementara itu, dalam VCO memberikan hasil terbaik pada volume tween 80 0,4 mL dengan lama ekstraksi 4 jam menghasilkan EC₅₀ sebesar 282,914 ± 10,008 ppm.

Kata kunci: Antioksidan, EVOO, daun kelor, VCO

Disubmit : 12 September 2024 ; Direvisi : 24 Januari 2025 ; Diterima : 27 Februari 2025

Pendahuluan

Tumbuhan kelor merupakan tumbuhan dalam famili *Moringaceae* yang bagiannya masing-masing memiliki manfaat, salah satunya daun. Senyawa metabolit sekunder pada daun kelor yaitu flavonoid, steroid,

alkaloid, triterpenoid, fenol, hidrokuinon, tanin, dan saponin yang mampu bertindak sebagai antioksidan (Rizkayanti *et al.*, 2017). Selain daun kelor, tumbuhan kelapa dan zaitun juga memiliki kandungan metabolit sekunder yang keduanya dapat diolah menjadi minyak yaitu minyak zaitun murni atau *extra virgin olive oil* (EVOO) dan minyak kelapa murni atau *virgin coconut oil* (VCO).

Copyright© 2025. Fillah Mufti Sakhi, Rif'atul Mahmudah, Eny Yulianti



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

How to Cite : Sakhi, F. M., Mahmudah, R., & Yulianti, E. (2025). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) dalam *Edible Oil*. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati* 10(1):62-70.

Kandungan asam lemak tak jenuh pada EVOO yaitu berupa asam oleat dan senyawa polifenol (hidroksitirosol, tirosol, oleuropein, β -karoten, dan α -tokoferol.) (Saibandith *et al.*, 2017). Di sisi lain pada VCO mengandung asam laurat, Vitamin E, sterol, serta polifenol (Pulung *et al.*, 2016). Minyak nabati seperti EVOO dan VCO mempunyai potensi sebagai pelarut dalam ekstraksi hijau dari tumbuhan alam, serta memiliki keunggulan yaitu tahan terhadap penguapan bahkan pada suhu tinggi, ekonomis, ramah lingkungan, dan aman untuk digunakan (Yara-Varón *et al.*, 2017).

Ekstraksi maserasi panas dilakukan dengan peningkatan temperatur sehingga dapat membantu mengoptimalkan kelarutan dan memaksimalkan difusivitas dinding sel sehingga meningkatkan jumlah flavonoid yang terekstrak (Ningrum *et al.*, 2017). Ekstraksi ini cocok untuk metabolit sekunder sederhana yang larut dalam minyak. Oleh karena itu, kombinasi minyak dan tanaman herbal diharapkan dapat memberikan hasil persen antioksidan yang tinggi dalam penangkalan radikal bebas (Kantawong *et al.*, 2017). Analisis kadar fenolik daun kelor ekstrak minyak nabati diperoleh nilai tertinggi sebesar 15,78% GAE pada ekstraksi hot maserasi suhu 50°C selama 2 jam (Mahmudah & Yulianti, *et al.*, 2023).

Dalam proses ekstraksi dilakukan variasi penambahan tween 80 dan lama waktu ekstraksi. Dimana tween 80 merupakan surfaktan nonionik dengan nilai HLB yang memperkecil ukuran partikel dan meningkatkan kelarutan, sehingga meningkatkan stabilitas (Indirasvari *et al.*, 2018). Pelarut minyak dengan surfaktan tween 80 akan membentuk mikroemulsi yang stabil dan kelarutan yang tinggi pada senyawa aktif jika dicampurkan dalam perbandingan yang tepat. Surfaktan tween 80 memiliki kepala yang bersifat hidrofilik serta ekor yang lipofilik. Ketika sampel kelor ditambahkan dengan tween 80 dan pelarut minyak nabati saat proses ekstraksi akan membuat gugus lipofilik tween 80 yaitu polietilen oksida akan menarik flavonoid (Permana & Suhendra, 2015). Variasi lama waktu ekstraksi dilakukan untuk mengetahui proses ekstraksi yang berjalan paling maksimal dengan pemanasan suhu rendah. Suhu dimana senyawa aktif daun kelor mudah terekstrak untuk EVOO 70°C dan VCO 60°C. Sehingga dengan suhu tersebut senyawa aktif yang berada dalam sampel kelor akan lebih mudah terekstrak

(Antony *et al.*, 2022). Radikal DPPH digunakan sebagai indikator dalam uji aktivitas antioksidan ini, dengan melihat penurunan intensitas serapan sebesar 50% (EC50). Penurunan intensitas serapan menandai bahwa radikal DPPH tersebut telah stabil. Nilai EC50 yang semakin kecil menandakan aktivitas antioksidan yang tinggi (Windono *et al.*, 2004). Penggunaan minyak nabati (*edible oil*) seperti EVOO dan VCO sebagai pelarut untuk mengekstrak senyawa bioaktif dari daun kelor adalah langkah baru yang lebih ramah lingkungan. Dengan pendekatan ini kandungan senyawa bioaktif bisa lebih stabil dan mudah diaplikasikan. Dibandingkan pelarut sintetik, minyak nabati lebih aman dikonsumsi dan bisa menjaga kualitas senyawa berkhasiat yang diperoleh (Utami *et al.*, 2023). Penelitian ini berfokus pada optimasi pelarut *edible oil*, kondisi ekstraksi dan penggunaan surfaktan tween 80 yang memberikan kontribusi baru dalam pemanfaatan daun kelor sebagai sumber bahan alami dengan potensi aplikasi luas di bidang kesehatan sebagai *food supplement* dan bahan dasar kosmetik.

Metode

Waktu dan Tempat

Pelaksanaan penelitian pada bulan Januari – Maret 2023 di Laboratorium Kimia Analitik Program Studi Kimia Fakultas Saintek UIN Malang dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya Malang.

Alat dan Bahan

Peralatan yang diperlukan yaitu antara lain timbangan digital Ohaus, gelas arloji, *beaker glass* 50 mL, spatula, termometer, batang memmert oven UN 55, botol vial hitam 10 ml, corong gelas 50 mm, labu ukur 5 mL, labu ukur 20 mL, *stopwatch*, aluminium foil, *magnetic stirrer*, *hot plate*, *cheesecloth*, dan alat *microplate reader*, *96 well plate*, *micro pipette*, *multipette*, *multichannel pipette*. Adapun bahan yang digunakan yaitu serbuk daun kelor dari UPT Materia Medica, EVOO, VCO, tween 80, serbuk DPPH, etanol p.a, aquades.

Rancangan Penelitian

Metode yang dilakukan yaitu *experimental laboratory* dengan desain Rancangan Acak Lengkap. Faktor perlakuan

yang dilakukan adalah mengekstrak serbuk daun kelor dalam masing-masing pelarut, dengan pelarut yang digunakan EVOO dan VCO pada variasi lama ekstraksi 2-4 jam dan variasi volume surfaktan 0-0,4 mL. Faktor pengamatan yang dilakukan adalah aktivitas antioksidan pada masing-masing ekstrak dengan menggunakan *microplate reader*.

Prosedur Penelitian

a. Ekstraksi Daun Kelor dalam EVOO

Sampel serbuk kelor sebanyak 4 gram ditambahkan dengan EVOO 10 mL, kemudian dilakukan variasi volume surfaktan tween 80 dengan menambahkan 0-0,4 mL pada masing-masing sampel. Tahap selanjutnya yaitu sampel dihomogenkan dengan stirer menggunakan hot plate selama 10 menit. Langkah selanjutnya yaitu ekstraksi maserasi digesti pada masing-masing sampel dengan menggunakan pemanasan suhu rendah 70°C dengan variasi waktu 2-4 jam. Hasil ekstrak berupa larutan kental berwarna hijau yang merupakan campuran antara kelor dan EVOO. Hasil ekstraksi didiamkan selama 1 jam pada suhu ruang, untuk selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan *cheesecloth* untuk mendapatkan filtrat hasil ekstraksi. Filtrat disimpan di dalam botol vial gelap 10 mL (Mahmudah *et al.*, 2023; Nafiannisa, 2020).

b. Ekstraksi Daun Kelor dalam VCO

Sampel serbuk kelor sebanyak 4 gram ditambahkan dengan VCO 10 mL. Perlakuan selanjutnya yaitu membuat variasi volume surfaktan tween 80 dengan menambahkan 0 mL-0,4 mL pada masing-masing sampel. Langkah selanjutnya yaitu sampel dihomogenkan dengan stirer menggunakan hot plate selama 10 menit. Tahap selanjutnya yaitu ekstraksi maserasi digesti pada masing-masing sampel dengan menggunakan pemanasan suhu rendah 60°C dengan variasi waktu 2-4 jam. Hasil ekstrak berupa larutan kental berwarna hijau yang merupakan campuran antara kelor dan VCO. Hasil ekstraksi didiamkan selama 1 jam pada suhu ruang, untuk selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan *cheesecloth* untuk

mendapatkan filtrat hasil ekstraksi. Filtrat disimpan di dalam botol vial gelap 10 mL (Nafiannisa, 2020; Rizkayanti *et al.*, 2017)

c. Uji Antioksidan Dengan Metode DPPH

Pengukuran Potensi Antioksidan

Larutan stok ekstrak kelor dalam VCO dan EVOO dibuat konsentrasi 1000 ppm dengan melarutkan ke dalam etanol p.a., kemudian larutan ekstrak dipipet sebanyak 200 µL ke dalam semua sumur baris A. Lalu ditambahkan 100 µL etanol p.a ke dalam sumur baris B, C, D, dan E. Setelah itu larutan sampel di sumur A dipipet sebanyak 100 µL dan dimasukkan kedalam sumur B. Larutan pada sumur B dipipet ke sumur C dan seterusnya hingga sumur E. Larutan dalam sumur E dipipet sebanyak 100 µL kemudian dibuang. Semua larutan ekstrak pada sumur tersebut ditambahkan 100 µL larutan DPPH 0,2 mM ke dalam masing-masing sumur dan diisi 96 well plate lain yang masih kosong menggunakan sampel lain dengan perlakuan yang sama. Sumur yang tersisa diisi dengan larutan kontrol sebesar 100 µL etanol p.a dan 100 µL DPPH 0,2 mM. Ditutup 96 well plate dengan cara melapisi di semua sisi menggunakan aluminium foil agar terhindar dari cahaya yang dapat merusak reaksi. Larutan sampel yang berada pada 96 well plate diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang dan ditutup agar reaksi sempurna. Sampel diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 517 nm. Di sisi lain, dibuat larutan pembanding vitamin C (Asam askorbat) yang dilarutkan dalam etanol p.a dan dibuat dalam konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; dan 6,25 ppm. Larutan pembanding tersebut dimasukkan sebanyak 3 mL ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan larutan 1 mL DPPH 0,2 mM. Larutan sampel pembanding diinkubasi selama 30 menit dengan suhu 37°C. Setelah proses inkubasi selesai sampel dipindahkan ke dalam kuvet untuk diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ maksimum yang telah diketahui pada sebelumnya. Perlakuan tersebut dilakukan tiga kali pengulangan tiap konsentrasi. Hasil pengukuran berupa data absorbansi

yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi ekstrak dihitung % inhibisinya. Setelah didapatkan % inhibisi dihitung nilai EC50 dengan menggunakan persamaan regresi (Fadhli *et al.*, 2019).

Pengukuran EC50

Nilai EC50 ditentukan dengan menghitung kurva regresi linier persen penghambatan serapan dan larutan uji pada konsentrasi yang berbeda. Hasil yang diperoleh berupa persamaan linier yang digunakan untuk menentukan nilai EC50. Nilai EC50 merupakan konsentrasi yang diperoleh pada saat persen penghambatan sebesar 50 dari persamaan $y = ax + b$. Perhitungan untuk mendapatkan nilai % inhibisi dapat mengacu pada persamaan berikut: (Hasanah *et al.*, 2017).

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs.Kontrol} - \text{Abs.Sampel}}{\text{Abs.Kontrol}} \times 100\%$$

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan *Statistical Package for Social Science* (SPSS) sebagai software untuk analisis data. Analisis uji nyata dilakukan untuk mengetahui perbedaan signifikan variasi dalam menghasilkan nilai EC50 pada hasil ekstraksi daun kelor dalam EVOO dan VCO. Nilai EC50 kemudian dianalisis dengan twoway ANOVA. Hipotesis dianggap bermakna jika $p < \alpha$ (0,05), dan tidak bermakna jika $p > \alpha$ (0,05).

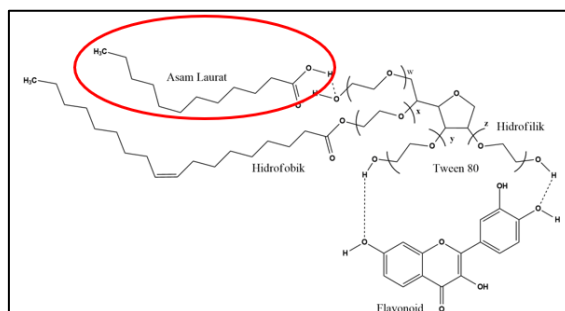
Hasil dan Pembahasan

Hasil Ekstraksi Maserasi Panas

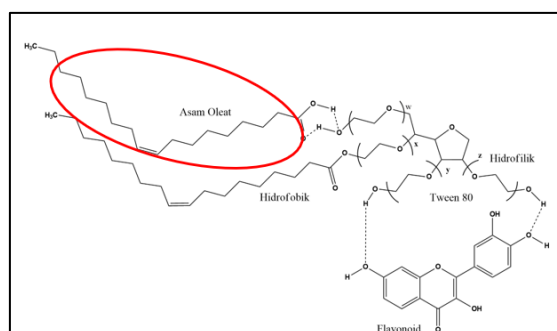
Ekstraksi dilakukan guna mendapat ekstrak metabolit sekunder dalam EVOO dan VCO dari serbuk daun kelor. Proses ekstraksi dilakukan dengan perendaman suhu rendah serbuk daun kelor dalam minyak nabati. Selama proses perendaman, serbuk daun kelor mengalami difusi, yang mengeluarkan senyawa metabolit sekunder (Ningsih *et al.*, 2020). Hal ini dikarenakan konsentrasi pelarut minyak nabati lebih tinggi daripada serbuk daun kelor sehingga tidak dapat menahan tekanan yang terjadi karena perbedaan konsentrasi antara bagian luar dan dalam sel, sehingga dinding sel

dan membran sel daun hancur. Pelarut minyak nabati dengan konsentrasi tinggi ini akan masuk ke dalam membran sel yang telah hancur dan metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan larut dalam pelarut minyak nabati (Chairunnisa *et al.*, 2019). Hasil ekstrak yang didapatkan berupa larutan hijau pekat hasil dari campuran ekstrak daun kelor dan minyak nabati, yang menandakan bahwa senyawa metabolit sekunder pada serbuk daun kelor telah terekstrak pada minyak nabati. Larutan hasil ekstraksi EVOO dan VCO kemudian didiamkan selama 24 jam untuk memisahkan residu dari filtrat serta untuk memaksimalkan zat aktif dalam serbuk daun kelor untuk berdifusi keluar dari sel ke dalam pelarut minyak nabati akibat adanya gesekan antar membran sel. Selanjutnya cairan filtrat disaring dengan menggunakan *cheesecloth* dan dimasukkan ke dalam botol vial gelap untuk selanjutnya di uji aktivitas antioksidannya.

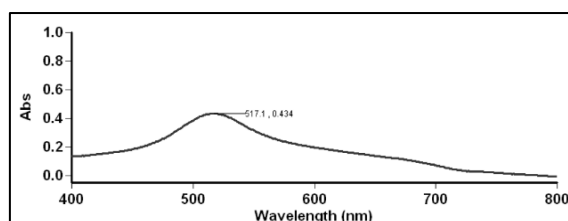
Proses ekstraksi dilakukan dengan dosis 4 gram daun kelor dengan ditambahkan 10 mL pelarut minyak dengan variasi penambahan total surfaktan tween 80 dengan perbandingan serbuk kelor dan minyak 4 : 10. Variasi penambahan surfaktan tween 80 bertujuan untuk mengidentifikasi peningkatan kelarutan senyawa aktif pada daun kelor ekstrak EVOO dan VCO. Surfaktan tween 80 pada dasarnya memiliki gugus hidrofilik dan gugus lipofilik, sehingga pada saat surfaktan tween 80 ditambahkan ke dalam campuran serbuk daun kelor dan pelarut minyak, gugus lipofilik pada tween 80 akan berada pada suasana minyak yang non polar sehingga akan berinteraksi dan menghasilkan ikatan *van der Waals*, sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan minyak nabati. Di sisi lain, gugus hidrofilik yang bersifat polar pada tween 80 akan mengikat metabolit sekunder yang juga bersifat polar pada daun kelor untuk membentuk ikatan hidrogen. Salah satu jenis metabolit sekunder yang diharapkan dapat terikat yaitu flavonoid. Dimana flavonoid memiliki gugus khas fenol yang dapat bersifat antioksidan (Mahmudah, *et al.*, 2023; Azhar *et al.*, 2024). Dugaan interaksi yang terjadi antara surfaktan dengan ekstrak minyak diilustrasikan pada Gambar 1. dan Gambar 2.



Gambar 1. Dugaan interaksi tween 80 dengan asam oleat (EVOO) dan flavonoid (Azhar *et al.*, 2024)



Gambar 2. Dugaan interaksi tween 80 dengan asam laurat (VCO) dan flavonoid (Azhar *et al.*, 2024)



Gambar 3. Panjang gelombang larutan DPPH 0,2 mM

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengukuran λ maksimum DPPH

Panjang gelombang maksimum (λ max) merupakan panjang serapan absorbansi tertinggi sehingga pada absorbansi tersebut terjadi penyerapan maksimal pada tiap satuan konsentrasi di panjang gelombang tersebut. Pada panjang gelombang maksimum terjadi perubahan absorbansi maksimum dimana saat dilakukan pengukuran ulang akan didapatkan kepekaan analisis yang maksimum pula (Santoso *et al.*, 2015). Hal ini menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum yang diperoleh sangat penting untuk memastikan akurasi dalam analisis aktivitas antioksidan, terutama dalam mengamati interaksi antara radikal DPPH dan senyawa metabolit sekunder pada herbal oil. Radikal 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) digunakan sebagai indikator dalam uji aktivitas antioksidan. Mekanisme reaksi yang terjadi didasarkan pada pelepasan atom hidrogen dari senyawa

metabolit sekunder yang terkandung dalam herbal oil (Windono *et al.*, 2004). Sampel kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan instrumen *microplate reader* pada λ maks DPPH (Fadhli *et al.*, 2019).

Berdasarkan pengujian, pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH 0,2 mM dalam etanol yang diinkubasi selama 60 menit dalam ruangan gelap menghasilkan panjang gelombang sebesar 517,1 nm. Penentuan panjang gelombang ini bertujuan untuk memastikan bahwa pengukuran perubahan absorbansi akibat proses penangkapan radikal oleh senyawa antioksidan berlangsung pada tingkat penyerapan tertinggi. Panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada Gambar 3.

Pengukuran Potensi Antioksidan

Berdasarkan Tabel 1. dan Tabel 2. menunjukkan nilai EC₅₀ menurun yang menandakan aktivitas antioksidan semakin

kuat. Hasil terbaik dari aktivitas antioksidan diperoleh dari ekstrak serbuk daun kelor dalam EVOO dengan penambahan 0,4 mL tween 80 selama 4 jam, mencapai 106,848 ppm. Pada variasi ini konsentrasi efektif larutan sampel dalam menghambat 50% radikal bebas sebesar 125 ppm. Di sisi lain, aktivitas antioksidan terbaik pada ekstrak serbuk daun kelor dalam VCO dengan variasi yang sama mencapai 282,914 ppm. Pada variasi ini konsentrasi efektif larutan sampel dalam menghambat 50% radikal bebas sebesar 250 ppm. Aktivitas antioksidan tanpa penambahan tween memiliki nilai EC₅₀ yang lebih tinggi atau aktivitas antioksidan yang lemah. Penambahan tween 80 mempengaruhi kelarutan ekstrak dengan pelarut minyak. Hal ini dikarenakan tween 80 memiliki gugus lipofilik yang cenderung larut dalam minyak yang senyawa non polar dan akan mempermudah interaksi dengan membentuk ikatan *van der Waals* serta terdapat gugus -OH yang bersifat hidrofilik yang mampu menarik metabolit sekunder dari senyawa polar. Semakin besar volume tween 80 yang ditambahkan maka semakin banyak pula flavonoid yang terekstrak sehingga aktivitas antioksidan semakin tinggi (Mahmudah, et al., 2023). Keberadaan tween 80 yang semakin besar maka semakin banyak pula senyawa metabolit sekunder yang terikat dalam ikatan hidrogen dengan gugus hidrofilik dari tween 80 (Chen et al., 2013).

Hasil EC₅₀ dari proses ekstraksi maserasi dipengaruhi oleh kecepatan difusi pelarut yang dibantu oleh surfaktan tween 80 ke dalam serbuk daun kelor (Jamal et al., 2021). Cepat lambatnya difusi tersebut juga dipengaruhi oleh suhu dan waktu ekstraksi. Laju difusi yang tinggi akan meningkatkan kelarutan antara pelarut yang dibantu oleh surfaktan tween 80 dengan zat terlarut, sehingga senyawa yang terekstrak juga akan bertambah. Kelarutan senyawa kelor dalam pelarut minyak memiliki titik optimum tertentu. Beberapa senyawa memiliki kelarutan yang tinggi sehingga jika diekstrak dengan suhu rendah dan waktu ekstraksi yang singkat akan menyebabkan senyawa aktif terlarut menjadi rendah. Begitu pula sebaliknya, jika diekstrak dengan suhu tinggi dan waktu ekstraksi yang lama dikhawatirkan senyawa telah mencapai titik optimum sehingga menjadi rusak dan tidak dapat terekstrak dengan baik (Yuliantari et al., 2017). Apabila suhu atau waktu ekstraksi melebihi titik optimum tersebut, senyawa dapat mengalami berbagai proses degradasi, seperti oksidasi, hidrolisis, atau pemutusan ikatan kimia akibat paparan panas berlebih. Proses inilah yang menyebabkan struktur kimia senyawa menjadi rusak, sehingga efektivitas senyawa bioaktif sebagai antioksidan akan menurun dan hasil ekstraksi tidak maksimal (Antony et al., 2022).

Tabel 1. Hasil EC₅₀ ekstrak daun kelor dalam EVOO suhu 70°C

Volume Tween 80 (mL)	Lama Waktu Ekstraksi		
	2 Jam (ppm)	3 Jam (ppm)	4 Jam (ppm)
0	781,681 ± 12,099 ^{c,D}	740,989 ± 9,556 ^{b,D}	703,298 ± 5,961 ^{a,D}
0,2	577,682 ± 10,030 ^{c,C}	529,274 ± 7,972 ^{b,C}	487,342 ± 4,403 ^{a,C}
0,3	305,810 ± 6,401 ^{c,B}	274,653 ± 5,747 ^{b,B}	213,213 ± 15,152 ^{a,B}
0,4	143,279 ± 11,997 ^{c,A}	121,598 ± 3,180 ^{b,A}	106,848 ± 4,746 ^{a,A}

Keterangan : Perbedaan volume tween (A, B, C, dan D) dan waktu ekstraksi (a, b, dan c) pada setiap baris menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$).

Tabel 2. Hasil EC₅₀ ekstrak daun kelor dalam VCO suhu 60°C

Volume Tween 80 (mL)	Lama Waktu Ekstraksi		
	2 Jam (ppm)	3 Jam (ppm)	4 Jam (ppm)
0	999,653 ± 5,214 ^{c,D}	913,969 ± 3,944 ^{b,D}	901,981 ± 13,182 ^{a,D}
0,2	597,537 ± 10,276 ^{c,C}	552,622 ± 11,501 ^{b,C}	514,261 ± 13,612 ^{a,C}
0,3	463,468 ± 16,418 ^{c,B}	439,928 ± 16,977 ^{b,B}	416,795 ± 8,778 ^{a,B}
0,4	333,503 ± 10,343 ^{c,A}	314,039 ± 20,941 ^{b,A}	282,914 ± 10,008 ^{a,A}

Keterangan : Perbedaan volume tween (A, B, C, dan D) dan waktu ekstraksi (a, b, dan c) pada setiap baris menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$).

Pemilihan suhu ekstraksi 70°C untuk EVOO didasarkan pada stabilitas senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya, terutama asam oleat dan polifenol. EVOO memiliki profil asam lemak tak jenuh tunggal (monounsaturated fatty acids) yang relatif tahan terhadap pemanasan sedang (sekitar 70°C) tanpa kehilangan signifikan senyawa fenolik dan vitamin (Nezamoleslami *et al.*, 2021). Selain itu, titik asap (smoke point) EVOO lebih tinggi dibandingkan beberapa minyak nabati lain, sehingga pemanasan pada rentang suhu tersebut masih tergolong aman untuk menjaga mutu dan aktivitas antioksidannya (Servili *et al.*, 2014). Di sisi lain, suhu ekstraksi untuk VCO dibatasi pada 60°C karena jenis minyak ini memiliki kandungan asam laurat yang tinggi serta beberapa komponen volatil yang lebih mudah terdegradasi pada suhu di atas 60°C. Menurut Che Man dan Marina (2006), pemanasan berlebih pada VCO dapat menurunkan kandungan senyawa bioaktif, mereduksi cita rasa khas, dan berisiko memicu reaksi oksidasi. Oleh sebab itu, suhu 60°C dianggap sebagai kompromi optimal untuk mempertahankan kualitas VCO saat mengekstrak komponen bioaktif dari daun kelor, agar senyawa-senyawa penting di dalamnya tidak mengalami kerusakan struktur kimia maupun penurunan efektivitas antioksidan.

Berdasarkan Tabel 1. dan Tabel 2. diperoleh bahwa ekstrak daun kelor dalam EVOO memiliki nilai EC50 yang lebih baik dari pada ekstrak dalam VCO. Hal ini menunjukkan bahwa EVOO lebih optimal dalam mengekstrak senyawa flavonoid dari sampel. Hal ini disebabkan oleh kandungan asam lemak tak jenuh EVOO yang 10 kali lipat lebih besar daripada VCO. seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1. asam oleat yang merupakan salah satu asam lemak tak jenuh dalam EVOO memiliki satu ikatan rangkap pada rantai alkilnya (Folayan *et al.*, 2019). Ikatan rangkap tersebut mengakumulasi elektron sehingga menghasilkan momen dipol negatif dan cenderung bersifat polar (Estiasih *et al.*, 2010). Hal ini berbeda dengan VCO yang mengandung asam lemak jenuh yang berupa asam laurat yang tinggi (Djaelani, 2015). Asam laurat tidak memiliki ikatan rangkap pada rantai alkil sehingga cenderung bersifat non polar. EVOO memiliki kadar asam lemak tak jenuh yang lebih tinggi dibandingkan dengan VCO,

sehingga VCO memiliki kepolaran lebih rendah daripada EVOO (Fadhli *et al.*, 2019). Asam lemak tak jenuh yang berupa asam oleat memiliki kadar terbaik 95,3 % untuk EVOO dan 0,27 % untuk VCO. Untuk asam lemak jenuh kadar tertinggi terdapat pada VCO yang mencapai 99,99%, yang sebagian besar berupa asam laurat. Sementara itu, EVOO memiliki kadar asam lemak jenuh yang jauh lebih rendah, yaitu sebesar 6,8% (Su'i *et al.*, 2022).

Nilai EC50 yang telah didapatkan kemudian di uji statistik untuk mengetahui perbandingan signifikansi terhadap variasi volume tween dan lama waktu ekstraksi. Uji statistika menggunakan two way ANOVA. Berdasarkan hasil analisa ANOVA menunjukkan data varian yang berbeda karena nilai sig < 0,05 yang menunjukkan bahwa variasi volume tween 80 dan lama waktu ekstraksi berbeda nyata serta mempengaruhi secara signifikan terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun kelor dalam EVOO dan VCO.

Simpulan dan Saran

Penambahan total surfaktan tween 80 dan lama ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan pada hasil ekstraksi serbuk daun kelor dalam EVOO memberikan pengaruh terhadap hasil EC50 yang signifikan. Variasi surfaktan 0,4 mL; 4 jam merupakan hasil terbaik dengan nilai EC50 sebesar $106,848 \pm 4,746$ ppm. Penambahan total surfaktan tween 80 dan lama ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan pada hasil ekstraksi serbuk daun kelor dalam VCO memberikan pengaruh yang signifikan. Penambahan total surfaktan volume 0,4 mL; 4 jam merupakan hasil terbaik dengan nilai EC50 sebesar $282,914 \pm 10,008$ ppm.

Daftar Pustaka

- Antony, A., & Farid, M. (2022). Effect of temperatures on Polyphenols during Extraction. *Applied Sciences* 12(4): 1-14
- Azhar, I. M., Mahmudah, R., & Fasya, A. G. (2024). Effect of Surfactants on Total Phenol Content from Sonication Extraction of Moringa (*Moringa oleifera* Lamk) Leaves in Vegetable Oil. *Walisongo Journal of Chemistry* 7(1): 70-78.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L.

- (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri* 7(4): 551–560.
- Chen, Z., Bertin, R., & Foldi, G. (2013). EC50 Estimation Of Antioxidant Activity In Dpph Assay Using Several Statistical Programs. *Food Chemistry* 138(1): 414–420.
- Djaelani, M. A. (2015). Profil Kolesterol Darah Tikus Setelah Pemberian Virgin Coconut Oil Dan Minyak Zaitun. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi* 17(2): 102–105.
- Estiasih, T., Ahmadi, K., Nisa, F. C., & Khuluq, A. D. (2010). Ekstraksi Dan Fraksinasi Fosfolipid Dari Limbah Pengolahan Minyak Sawit. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan* 21(2): 151–151.
- Fadhli, H., Nurdin, A. N., & Octaviani, M. (2019). Potensi Antioksidan Dari Ekstrak Kulit Batang Bauhinia semibifida Roxb. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina* 4(1): 77–87.
- Folayan, A. J., Anawe, P. A. L., Aladejare, A. E., & Ayeni, A. O. (2019). Experimental investigation of the effect of fatty acids configuration, chain length, branching and degree of unsaturation on biodiesel fuel properties obtained from lauric oils, high-oleic and high-linoleic vegetable oil biomass. *Energy Reports* 1(5): 793–806.
- Hasanah, N., Susilo, J., & Oktianti, D. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lamk) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Gizi Dan Kesehatan* 9(21): 97–102.
- Indirasvari, K. S. N., Permana, I. D. G. M., & Suter, I. K. (2018). Stabilitas Mikroemulsi VCO Dalam Air Pada Variasi HLB. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan* 7(4): 184–191.
- Jamal, H., Agustina, R., & Prasetya, F. (2021). Optimasi Metode Ekstraksi Daun Sirih Hitam (*Piper Sp.*) Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* 13: 99–105.
- Kantawong, F., Singhatong, S., Srilamay, A., Boonyuen, K., Mooti, N., Wanachantararak, P., & Kuboki, T. (2017). Properties of macerated herbal oil. *BioImpacts* 7(1): 13–23.
- Mahmudah, R., Nada, U. Q., & Aulia, S. (2023). Analisis Kadar Kurkumin pada Herbal Oil Kunyit Ekstrak Virgin Coconut Oil dengan Metode Ultrasonik dan Maserasi. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia* 9(1): 92–99.
- Mahmudah, R., Yulianti, E., & Muslimah. (2023). Analysis of Total Phenolic Levels in Moringa Leaf Extract (*Moringa Oleifera* Lamk .) in Vegetable Oil. *Al-Kimia* 11(1): 9–19.
- Nafiannisa, T. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Pada Sediaan Herbal Oil Ekstrak Kunyit (*Curcuma Longa* L.) Dalam Minyak Zaitun Murni (*Extra Virgin Olive Oil*) Menggunakan Metode DPPH [Skripsi]. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ningrum, R. S., Rosalina, R., & Lukis, P. (2017). Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit Mangga Podang (*Mangifera indica* L.). *Seminar Nasional Hayati V*. Universitas Nusantara PGRI Kediri. Kediri.
- Ningsih, A. W., Nurrosyidah, I. H., & Hisbiyah, A. (2020). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Rendemen dan Skrining Fitokimia. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika (J-PhAM)* 2(2): 96–104.
- Permana, M. I. D. G., & Suhendra, L. (2015). Optimasi konsentrasi VCO dalam mikroemulsi O/W dengan tiga surfaktan sebagai pembawa senyawa bioaktif. *Media Ilmiah Teknologi Pangan* 2(2): 106–114.
- Pulung, M. L., Yogaswara, R., & Sianipa, F. R. D. N. (2016). Potensi Antioksidan dan Antibakteri Virgin Coconut Oil Dari Tanaman Kelapa Asal Papua. *Chemistry Progress* 9(2): 63–69.
- Rizkayanti, R., Diah, A. W. M., & Jura, M. R. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L.). *Jurnal Akademika Kimia* 6(2): 125–131.
- Saibandith, B., Spencer, J. P. E., Rowland, I. R., & Commane, D. M. (2017). Olive Polyphenols and the Metabolic Syndrome. *Molecules* 22(7): 1082.
- Santoso, J., Nurcahyo, H., & Aldi Riyanta, B. (2015). Analisis Kandungan Krom Yang Terdapat Pada Sungai Kelurahan Pesurungan Kidul. *Parapemikir: Jurnal Ilmiah Farmasi* 4(1): 21–24.
- Utami, H. F., Rosa, E., Pratami, G. D., & Busman, H. (2023). Uji Potensi Tepung Daun Kelor

- (*Moringa oleifera*) Sebagai Anthelmintik Terhadap *Ascaridiagalli* pada Ayam Petelur (*Gallus domesticus*). *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati* 8(3): 168–174.
- Windono, T., Budiono, R., Ivone., Sherly, V., & Saputro, Y. (2004). Studi Hubungan Struktur Aktivitas Kapasitas Perendaman Radikal Bebas Senyawa Flavonoid Terhadap 1,1 difenil 2 pikrilhidrazil (DPPH). *Artocarpus* 4(1): 42–52.
- Yara-Varón, E., Li, Y., Balcells, M., Canela-Garayoa, R., Fabiano-Tixier, A. S., & Chemat, F. (2017). Vegetable oils as alternative solvents for green oleo-extraction, purification and formulation of food and natural products. *Molecules* 22(9): 1–24.
- Yeh, J.-Y., Hsieh, L.-H., Wu, K.-T., & Tsai, C.-F. (2011). Antioxidant Properties and Antioxidant Compounds of Various Extracts from the Edible Basidiomycete *Grifola Frondosa* (Maitake). *Molecules* 16(4): 3197–3211.
- Yuliantari, N. W. A., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2017). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Menggunakan Ultrasonik. *Scientific Journal of Food Technology* 4(1): 35–42.