

Research Article

## Determination of Total Phenolic Levels in Ethanol Extract of Moringa (*Moringa oleifera* L.) Leaves based on Differences in Growing Sites

Penetapan Kadar Total Fenolik pada Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) berdasarkan Variasi Tempat Tumbuh

Any Guntarti\*, Nining Sugihartini, Siti Athiyah Umayyah, Nina Salamah

Faculty of Pharmacy, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta 55164 Indonesia

\*Corresponding author: Any Guntarti | Email: any\_guntarti@yahoo.co.id

Received: 17 February 2021; Revision: 15 March 2021; Accepted: 18 March 2021; Published: 20 March 2021

**Abstract:** *Moringa oleifera* L. have good nutritional content including phenolic compounds which can be used as antioxidants and can grow in lowlands and highlands. The purpose of this study was to determine the total phenolic content of the ethanol extract of *M. oleifera* leaves with variations in the area of collection. The 50% ethanol extract was obtained from the simplicia of *M. oleifera* leaves by using the maceration method. Analysis of total phenolic content in the extract was carried out using a spectrophotometer instrument with the addition of reagent *Folin-Ciocalteu* and gallic acid as standard. The results of total phenolic content in Sleman, Wonosari, and Wonosobo areas were  $(127.87 \pm 2.71)$  mg GAE / g extract,  $(99.40 \pm 2.68)$  mg GAE / g extract, and  $(142, 92 \pm 1.81)$  mg GAE / g extract. The highest phenolic content in the ethanol extract of moringa leaves was found in Wonosobo areas.

**Keywords:** Moringa leaf, ethanol extract, total phenolic, regional variation

**Abstrak:** Tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) memiliki kandungan gizi yang baik antara lain senyawa fenolik yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan dan dapat tumbuh didataran rendah maupun dataran tinggi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kadar total fenolik ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan variasi daerah pengambilan. Ekstrak etanol 50% diperoleh dari simplisia daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan metode penyarian maserasi. Analisis kadar fenolik total dalam ekstrak dilakukan menggunakan instrumen spektrofotometer dengan penambahan reagen *Folin-Ciocalteu* dan asam galat sebagai standar. Hasil kadar fenolik total daerah Sleman, daerah Wonosari, dan daerah Wonosobo secara berturut-turut adalah  $(127,87 \pm 2,71)$  mg GAE/g ekstrak,  $(99,40 \pm 2,68)$  mg GAE/g ekstrak dan  $(142,92 \pm 1,81)$  mg GAE/g ekstrak. Daerah Wonosobo memiliki kandungan fenolik yang paling besar pada ekstrak etanol daun kelor.

**Kata kunci :** Ekstrak etanol, daun kelor, total fenolik, variasi daerah

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia memiliki kekayaan alam yang cukup melimpah. Beraneka ragam tanaman obat tumbuh subur di alam Indonesia [1] Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai tanaman obat adalah kelor (*Moringa oleifera* L.). Kelor dapat tumbuh pada daerah tropis dan subtropis dan tahan terhadap musim kering dengan toleransi terhadap kekeringan sampai 6 bulan [2]. Kandungan gizi yang tinggi pada tanaman kelor sehingga mendapat julukan sebagai *World's most valuable multipurpose trees dan miracle tree*. Menurut Krisnadi (2015), kelor merupakan tanaman yang kaya nutrisi karena mengandung banyak vitamin, mineral,  $\beta$  karoten, quercetin, antioksidan, dan asam amino esensial [3]. Daun kelor telah dilaporkan menjadi sumber yang kaya akan  $\beta$  karoten, protein, vitamin C, kalsium dan kalium. Kelor bertindak sebagai sumber antioksidan alami yang baik dan demikian dapat meningkatkan umur simpan makanan yang mengandung lemak karena adanya berbagai jenis antioksidan seperti asam askorbat, flavonoid, fenolat dan karotenoid [4]. Penelitian Verma *et al* (2009) bahwa daun kelor mengandung fenol dalam jumlah yang banyak yang dikenal sebagai penangkal senyawa radikal bebas [5]. Kandungan fenol dalam daun kelor segar sebesar 3,4% sedangkan pada daun kelor yang telah diekstrak sebesar 1,6% [6].

Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa kimia dalam tanaman adalah kondisi lingkungan tempat tumbuh dan iklim [7]. Suhu di daerah Wonosobo lebih rendah dari daerah Sleman dan Wonosari, sedangkan untuk curah hujan di daerah Wonosobo lebih besar dari daerah Sleman dan Wonosari. Berdasarkan penelitian Guntarti (2016) menunjukkan bahwa adanya perbedaan kandungan senyawa fenolik ekstrak etanol kulit buah manggis pada variasi asal daerah (Sumatra, Jawa dan Kalimantan) yaitu 824,13 (mg GAE/g ekstrak); 155,86 (mg GAE/g ekstrak) dan 688,9 (mg GAE/g ekstrak) [8]. Berdasarkan penelitian Sari (2018) ekstrak etanol dengan variasi konsentrasi pelarut etanol 50%, 70%, 96% dengan spektrofotometri kemampuan penangkapan radikal bebas ( $ES_{50}$ ) dengan metode DPPH menunjukkan penangkapan radikal bebas paling tinggi ( $ES_{50}$ ) pada pelarut etanol konsentrasi 50% [9].

## 2. BAHAN DAN METODE

### 2.1. Bahan

Bahan yang digunakan antara lain daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) yang diperoleh dari daerah Sleman, Wonosari, dan Wonosobo, aquades, etanol p.a (Merck), natrium karbonat ( $Na_2CO_3$ ) (Merck), (Merck), Folin-cioalteu (Merck), asam galat (Aldrich),  $FeCl_3$ .

### 2.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik (Mettler Toledo), aluminium foil, kertas saring, seperangkat alat maserasi, *waterbath* (Memmert), *rotary evaporator* (Heidolph), corong buchner, seperangkat alat destilasi toluen, oven, blender (Philip), *Halogen Moisture Analyzer* (Ohaus).

### 2.3. Determinasi Tanaman Daun Kelor

Determinasi tanaman dilakukan di laboratorium Taksonomi Tumbuhan Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan.

### 2.4. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelor

Metode maserasi dilakukan dengan rasio 1:10. Serbuk sampel kering ditimbang 500 gram kemudian diekstraksi menggunakan pelarut etanol 50% hingga simplisia tersebut terendam.

Dibiarkan selama 72 jam pada suhu kamar dalam bejana tertutup dan terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk [9].

### 2.5. Penetapan Susut Pengerinan

Penetapan susut pengeringan ekstrak etanol daun kelor sesuai Anonim (2000) [7].

### 2.6. Analisis Kualitatif Senyawa Fenolik

Analisis kualitatif dengan menggunakan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  (Besi (III) klorida) 1% dalam air atau etanol [10].

### 2.7. Analisis Kuantitatif Total Fenolik

2.7.1. Penentuan *Operating Time* (OT) , panjang gelombang serapan maksimal dan pembuatan kurva baku

Penentuan OT, serapan panjang gelombang maksimum dan pembuatan kurva baku seperti penelitian yang dilakukan oleh Ahmad *et al.* (2015) dan Susanti, H. (2012) [11,12].

### 2.7.2. Penentuan Kadar Total Fenolik Sampel

Sebanyak 1 mL larutan sampel ditambahkan dengan 0,4 mL reagen *Folin-Ciocalteu* digojog dan dibiarkan 4 menit, ditambahkan 4,0 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% digojog hingga homogen. Ditambahkan aquades hingga 10 mL digojog hingga homogen, dan didiamkan pada range *operating time* pada suhu kamar. Semua larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang absorbansi maksimum. Dilakukan 3 kali pengulangan pada masing-masing sampel [11].

### 2.8. Analisis Data

Analisis data dengan kurva standar regresi linear  $y + bx + a$  berdasarkan data absorbansi dan konsentrasi larutan kurva standar. Kemudian dari persamaan regresi linear diperoleh, di hitung kadar total fenolik dengan rumus :

$$\text{Kadar Total Fenolik} \left( \frac{\text{mg GAE}}{\text{gram ekstrak}} \right) = \frac{\text{kadar fenolik} \left( \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) \times \text{volume sampel (ml)} \times \text{FP}}{\text{gram ekstrak}} \times \frac{1000}{1}$$

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1. Hasil Determinasi

Hasil determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan. Hasil uji terhadap sampel membuktikan bahwa sampel tersebut tersebut adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L.).

### 3.2. Penetapan Susut Pengerinan Serbuk Simplisia Daun Kelor

Hasil susut pengeringan rata-rata serbuk simplisia daun kelor dari masing-masing variasi daerah Sleman, Wonosari, Wonosobo, berturut-turut adalah  $(8,10 \pm 0,69)\%$ ;  $(7,72 \pm 0,16)\%$ ;  $(6,64 \pm 0,29)\%$ .. Berdasarkan susut pengeringan yang ditetapkan dapat dikatakan simplisia memenuhi syarat yakni kurang dari 10% [7]. Kadar air berkaitan dengan kerapatan, semakin rapat rongga antar partikel maka kemungkinan celah atau ruang kosong terisi uap air semakin kecil [13].

### 3.3. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelor

Ekstraksi daun kelor menggunakan metode maserasi. Metode ini dipilih karena murah, mudah serta menghindari adanya kerusakan komponen senyawa akibat adanya pemanasan [14]. Digunakan pelarut etanol memiliki sifat semi polar dan memiliki kemampuan melarutkan hampir semua zat, sehingga diharapkan senyawa yang terkandung dalam simplisia daun kelor dapat tersari dalam pelarut etanol. Penggunaan etanol sebagai pelarut memiliki beberapa kelebihan diantaranya dapat mencegah pertumbuhan jamur, relatif murah, bersifat netral dan mudah menguap sehingga dapat mempercepat proses penguapan [15].

### 3.4. Organoleptis Ekstrak Etanol Daun Kelor

Ekstrak yang diperoleh kemudian diidentifikasi beberapa parameter organoleptis seperti rasa, bau, warna, dan bentuk. Pengujian dilakukan berdasarkan gambaran awal dari ekstrak yang dihasilkan dengan mengacu pada Anonim (1986) [16]. Hasil organoleptis ekstrak daun kelor disajikan pada Tabel 1, dan hasil ekstrak pada Gambar 1.

**Tabel 1.** Uji Organoleptis Ekstrak daun kelor dari Sleman, Wonosari, dan Wonosobo

No	Parameter	Hasil	Pembanding
1	Rasa	Pait	Pait
2	Bau	Bau khas kelor	Bau khas kelor
3	Warna	Hijau kecoklatan	Hijau kecoklatan
4	Bentuk	Kental	Kental











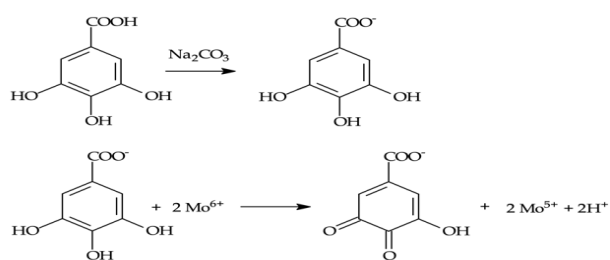
**Gambar 1.** Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

### 3.5. Uji Kualitatif

Hasil uji kualitatif dilakukan untuk mengetahui kandungan fenolik. Uji dilakukan dengan menggunakan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1 %. Hasil uji kalitatif disajikan pada Tabel 2 dan reaksinya pada Gambar 2.

**Tabel 2.** Uji Kualitatif Senyawa Fenolik dengan Pereaksi FeCl<sub>3</sub> 1%

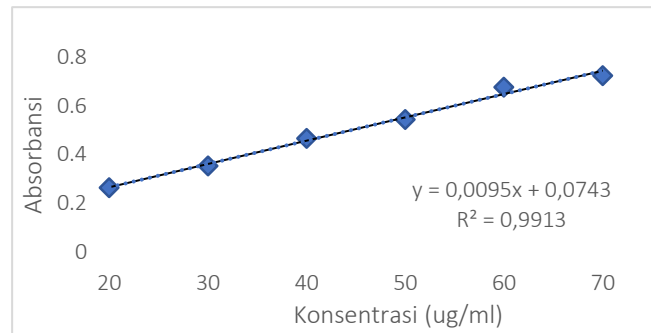
Sampel	Sebelum	Sesudah	Keterangan
Asam Galat			Terjadi perubahan warna hitam, positif senyawa fenolik
Daerah Sleman			Terjadi perubahan warna biru-hitam, positif senyawa fenolik
Daerah Wonosari			Terjadi perubahan warna biru-hitam, positif fenolik
Daerah Wonosobo			Terjadi perubahan warna biru-hitam, positif fenolik

**Gambar 2.** Reaksi asam galat dengan *Folin Ciocalteu* [17].

Prinsip metode *Folin Ciocalteu* adalah oksidasi yang dilakukan oleh pereaksi folin terhadap fenolat (garam alkali) atau gugus fenolik-hidroksil mereduksi asam fosfomolibdat-fosfotungstat yang terdapat dalam *Folin Ciocalteu* menjadi kompleks *molibdenum-tungsten* (Mo-W) yang berwarna biru. Reaksi terjadi dalam suasana basa. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heterofili menjadi kompleks *molibdenum-tungsten* sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat [12].

3.6. Uji Kuantitatif Kadar Total Fenolik

Hasil penelitian mencari *Operating Time*, diperoleh pada menit ke 30-31, panjang gelombang serapan maksimum pada 764 nm. Dicari OT untuk memperoleh waktu reaksi yang optimal, sedangkan panjang gelombang pada serapan maksimum sehingga akan didapat kadar yang maksimal [18]. Hasil *Operating Time* dan panjang gelombang serapan maksimum digunakan untuk membuat kurva baku. Hasil pembuatan kurva baku Asam Galat disajikan Gambar 3.



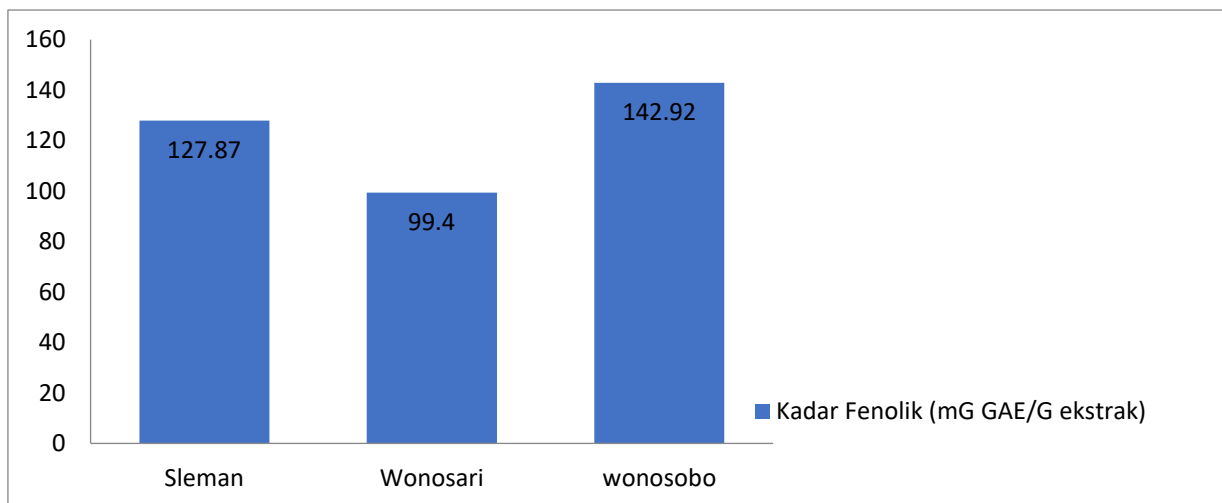
Gambar 3. Grafik hubungan antara konsentrasi dan larutan standar asam galat

Penetapan kadar fenolik menggunakan metode spektrofotometri sinar tampak, dengan standar positif asam galat, dengan pereaksi *Folin Ciocalteu*. *Folin Ciocalteu* adalah oksidasi gugus fenolik-hidroksil mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) yang terdapat dalam *Folin Ciocalteu* dalam suasana basa menjadi kompleks *molibdenum-tungsten* (Mo-W) yang berwarna biru [12]. Kadar total fenolik pada penelitian ini adalah sebagaimana disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 4.

Tabel 3. Kadar Total fenolik Ekstak Etanol Daun Kelor Variasi Tempat Tumbuh

Daerah	Bobot Sampel (Gram)	Absorbansi	Kadar (mg/ml)	Kadar total fenolik (mg GAE/g ekstrak)	(X + LE) mg GAE/g ekstrak CV (%)
Sleman	0,1009	0,573	0,052	128,84	127,87± 2,71 2,35%
	0,1007	0,563	0,051	126,61	
	0,1013	0,551	0,050	123,39	
	0,1009	0,581	0,053	131,31	
	0,1006	0,571	0,052	129,22	
Wonosari	0,1007	0,467	0,042	104,27	99,40± 2,68 3,00 %
	0,1003	0,461	0,040	99,70	
	0,1007	0,452	0,039	96,82	
	0,1004	0,449	0,039	97,11	
	0,1006	0,559	0,040	99,40	
Wonosobo	0,1005	0,626	0,058	144,27	142,92±1,81 1,40%
	0,1008	0,631	0,058	143,84	
	0,1002	0,628	0,058	144,71	
	0,1004	0,618	0,057	141,93	
	0,1001	0,609	0,056	139,86	

LE= Limit of Error; GAE= Galat Acid Ekivalensi



**Gambar 4.** Diagram rata-rata total fenolik dari Sleman, Wonosari dan Wonosobo

Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 4, kadar total fenolik yang diperoleh menunjukkan bahwa daun kelor dari Wonosobo yang paling besar, kemudian Sleman dan paling kecil Wonosari. Hal ini di pengaruhi oleh letak geografis daerah Wonosobo yang memiliki curah hujan cukup tinggi, struktur tanah yang gembur atau subur, kandungan humus yang tinggi baik untuk tanaman kelor. Curah hujan lebih tinggi dengan suhu yang lebih rendah. Jika kelembaban udara rendah, penguapan akan meningkat sehingga penyerapan air pun semakin banyak. Kelembaban udara dan ketinggian tempat tumbuh yang optimum menyebabkan kadar total fenolik di daerah Wonosobo lebih besar dari daerah Sleman dan daerah Wonosari. Suhu di daerah Wonosobo lebih rendah dari daerah Sleman dan Wonosari, sedangkan untuk curah hujan di daerah Wonosobo lebih besar dari daerah Sleman dan Wonosari. Keragaman kondisi tempat tumbuh yang bervariasi mengakibatkan perbedaan kandungan fenolik. Berdasarkan hal tersebut, kadar total fenolik daerah wonosobo yang optimal [7].

#### 4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian diperoleh Kadar total fenolik pada ekstrak etanol 50% daun kelor daerah Sleman sebesar  $(127,87 \pm 2,71)$ mg GAE/g ekstrak, daerah Wonosari sebesar  $(99,40 \pm 2,68)$ mg GAE/g ekstrak, dan daerah Wonosobo sebesar  $(142,92 \pm 1,81)$ mg GAE/g ekstrak. Daerah Wonosobo mempunyai kandungan total fenolik yang paing besar karena pengaruh iklim, cuaca dan suhu.

**Ucapan Terimakasih:** - Ucapan terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan atas fasilitas laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Tehnologi selama penelitian ini dilaksanakan.

#### References

1. Fahey, J. R. Moringa oleifera: A Review of the Medical Evidance for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties. Part 1. Tree for Life Journal. **2005**, 1–24.
2. Mendieta-Araica, B., Spörndly, E., Reyes-Sánchez, N., Salmerón-Miranda, F., & Halling, M.

- Biomass production and chemical composition of *Moringa oleifera* under different planting densities and levels of nitrogen fertilization. *Agroforestry Systems*. **2013**, 87(1), 81–92.
3. Krisnadi, D. Kelor Super Nutrisi. *Moringa oleifera*. **2015**, 10–40.
  4. Siddhuraju, P., & Becker, K. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2003**, 51(8), 2144–2155.
  5. Verma, A. R., Vijayakumar, M., Mathela, C. S., & Rao, C. V. In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food and Chemical Toxicology*. **2009**, 47(9), 2196–2201.
  6. Zhang D, dan Hamauzu Y. Phenolic Compounds and Theirs Antioxidant Properties in Different Tissues of Carrots (*Daucus carota* L.). *Food, Agriculture, and Environment*. 2004; 2(1): 95-100.
  7. Anonim. Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat (Vol 1). **2000**, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
  8. Guntarti, A. Kadar Polifenol Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*) pada Variasi Asal Daerah. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. **2016**, 3(1), 22.
  9. Sari, D. E. M. Uji Aktivitas Antiaging dan Penghambatan Enzim Tirosinase dari Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Secara n Vitro. Tesis. **2018**, Universitas Ahmad Dahlan.
  10. Bayani, F. Analisis Fenol Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Buah Sentul (*Sandoricum koetjape* Merr). *Jurnal Ilmiah Pendidikan Kimia "Hydrogen"*. **2016**, 4(1), 55–69.
  11. Ahmad, A. R., Juwita, J., & Ratulangi, S. A. D. Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*. **2015**, 2(1), 1–10.
  12. Alfian, R., & Susanti, H. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Pharmaciana*. **2012**, 2(1).
  13. Purwanto, D. Pengaruh Ukuran Partikel Tempurung Sawit dan Tekanan Kempa Terhadap Kualitas Biobriket. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. **2015**, 33(4), 303–313.
  14. Anonim. Standarisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Salah Satu Tahapan Penting Dalam Pengembangan Obat Asli Indonesia. *Info POM*. **2005**, 6 (4).
  15. Mahmud, R., Mahdi, H., Yousif, E., Khan, N., Murugaiyah, V., & Asmawi, M. Optimizing Extraction Conditions of *Moringa Oleifera* Lam Leaf for Percent Yield, Total Phenolics Content, Total Flavonoids Content and Total Radical Scavenging Activity. *International Journal of Advanced Research*. **2016**, 4(11), 682–695. <https://doi.org/10.21474/ijar01/2133>
  16. Anonim. Sediaan Galenika (Edisi IV). **1986**, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
  17. Nunes, X. P., Silva, F. S., Almeida, J. R. G. da S., Lima, J. T. de, Ribeiro, L. A. de A., Júnior, L. J. Q., & Filho, J. M. B. Biological oxidations and antioxidant activity of natural products. *Phytochemicals as nutraceuticals-Global approaches to their role in nutrition and health*. **2006**, 1-21.
  18. Pulipati S, Babu PS, Naveena U, Parveen SKR, Sumaya SK, Nausheen M. Determina-tion of



Total Phenolic, Tannin, Flavonoid Contents and Evaluation of Antioxidant Property of *Amaranthus tricolor* (L). In-ternational Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 2017, Vol. 9(6): 814-19.



© 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).