

## BAB II

### KAJIAN PUSTAKA

#### 2.1 Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*)

Di Indonesia, tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) mempunyai nama lokal yaitu kelor (Jawa, Sunda, Bali, Lampung), Kerol (Buru), Marangghi (Madura), Moltong (Flores), Kelo (Gorontalo), Keloro (Bugis), Kawano (Sumba), Ongge (Bima), Hau fo (Timor). Di daerah pedesaan, tanaman kelor (*Moringa oleifera*) sering ditemukan sebagai tanaman pagar hidup, pembatas tanah atau penjalar tanaman lain. Penanaman kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) yang paling umum dilakukan adalah dengan cara stek batang tua atau cukup tua. Caranya dengan langsung ditancapkan ke dalam tanah. Persemaian biji kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) yang tua dapat juga dijadikan bibit tanaman, namun jarang digunakan (Tilong, 2011).

Tanaman Kelor ini berupa pohon yang tidak terlalu besar. Pada dunia tumbuhan terdapat beragam jenis bentuk, warna serta rasanya. Hal ini telah disebutkan dalam al Quran surat al An'am (6) ayat 141,

وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرِ مَّعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أَكْثَرَهُمُ وَالزَّيْتُونَ  
وَالزَّمَانَ مُتَشَابِهًا وَغَيْرِ مُتَشَابِهٍ كُلُوا مِن ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَآتُوا حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ وَلَا  
تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ﴿١٤١﴾

Artinya: “Dan dialah yang menjadikan kebun-kebum yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin); dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan.”

Dari ayat di atas, kita dapat memastikan bahwa Allah SWT menciptakan tumbuhan dengan berbagai macam bentuk, warna, dan rasanya. Menurut al Qurthubi (2008), Allah SWT menciptakan kebun-kebun ini dari permulaan (Dia mengeluarkan kehidupan dari benda mati), diantaranya adalah kebun yang berjunjung dan yang tidak berjunjung yang biasa dibuat manusia dengan diberi pagar, dan diantaranya pula adalah kebun liar yang tumbuh dengan sendirinya atas takdir Allah SWT dan tumbuh tanpa bantuan pengaturan manusia. Dalam hal ini salah satu tanaman yang dimaksudkan adalah tanaman kelor yang biasanya tumbuh dengan sendirinya atas kehendak Allah SWT.

Tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) pada umumnya digunakan sebagai makanan ternak. Hanya sedikit yang mengonsumsi sebagai sayuran. Di samping itu, tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) lebih banyak dikaitkan dengan dunia mistis, sehingga budidaya secara intensif belum banyak dilakukan oleh masyarakat (Winarti, 2010).

### **2.1.1 Deskripsi Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*)**

Bagian-bagian tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) yang bisa dimanfaatkan adalah akar, batang, daun dan bijinya. Tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) memiliki ketinggian batang 7-11 meter. Pohon kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) tidak terlalu besar. Batang kayunya mudah patah dan cabangnya jarang tetapi mempunyai akar yang kuat. Daunnya berbentuk bulat telur dengan ukuran kecil-kecil bersusun majemuk dalam satu tangkai. Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) dapat berkembang biak dengan baik pada daerah yang mempunyai ketinggian tanah 300-500 meter di atas permukaan laut. Bunganya berwarna putih kekuning-kuningan dan tudung pelepah bunganya berwarna hijau. Bunga kelor

(*Moringa oleifera* Lamk.) keluar sepanjang tahun dengan aroma bau semerbak. Buah kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) berbentuk segi tiga memanjang yang disebut klentang (Jawa). Sedang getahnya yang telah berubah warna menjadi coklat disebut blendok (Jawa) (Tilong, 2011).



Gambar 2.1. Daun dan Bunga Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) (Tilong, 2011)

### 2.1.2 Klasifikasi Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*)

Tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) memiliki tingkatan taksonomi sebagai berikut (Dasuki, 1991):

Kerajaan : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Dicotyledonae

Suku : Brassicales

Keluarga : Moringaceae

Genus : Moringa

Species : *Moringa oleifera* Lamk.

### 2.1.3 Kandungan Kimia Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Dalam Perannya Sebagai Antioksidan

Allah SWT memberikan anugerah pada kita salah satunya yaitu ditumbuhkannya berbagai jenis tumbuhan yang dapat kita manfaatkan. Sebagaimana dijelaskan pada al-Quran surat asy Syu'araa' (26) ayat 7,

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

*Artinya: Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?*

Dalam ayat tersebut di atas telah disebutkan bahwa Allah SWT telah menumbuhkan berbagai tumbuhan yang baik yang dapat dimanfaatkan untuk kebaikan manusia. Menurut al Qurthubi (2008) dalam tafsirnya kata زَوْجٍ كَرِيمٍ

yang artinya tumbuh-tumbuhan yang baik. Tumbuhan baik yang disebutkan di tersebut salah satunya yaitu tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lamk.). tanaman kelor dapat dimanfaatkan untuk menjaga tubuh agar tetap sehat. Kelor memiliki senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan dan telah terbukti dapat menurunkan aktivitas radikal bebas dalam tubuh.

Biji dan daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) yang masih muda dikonsumsi sebagai sayur, sedangkan biji yang sudah kering digunakan sebagai bioflokulan logam berat. Kandungan kimia tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) ini meliputi potassium yang lebih tinggi dari pisang, kalsium lebih tinggi dari susu, vitamin C yang lebih tinggi dari buah jeruk dan zat besi lebih tinggi dari bayam (Palada dan Chang, 2005). Di bawah ini ditunjukkan pada Tabel 2.1 yang berisi kandungan vitamin yang dimiliki tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lamk.).

Tabel 2.1 Kandungan Nutrisi Tanaman Kelor  
(Winarti, 2010)

Jenis Vitamin	Kandungan vitamin (mg / 100 gram daun <i>Moringa oleifera</i> )
Vitamin A ( $\beta$ karoten)	16,3
Vitamin B kompleks – kolin	423
Vitamin B1 – thiamin	2,6
Vitamin B2 – riboflavin	20,5
Vitamin B3 – asam nikotinat	8,2
Vitamin C – asam askorbat	17,3
Vitamin E – tocophenol asetat	113

Dari berbagai kandungan yang ada pada Tabel 2.1 di atas, vitamin A ( $\beta$ -carotene), vitamin C serta vitamin E memiliki peran sebagai antioksidan. Beberapa studi dan penelitian tentang radikal bebas menyatakan bahwa antioksidan dapat melindungi tubuh dari serangan berbagai penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas, diantaranya adalah yang diteliti oleh Hidayat *et al* (2013) tentang peran vitamin E dalam menurunkan kadar SGPT dan SGOT tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang dipapar timbal. Vitamin E berfungsi sebagai pelindung terhadap peroksidasi lemak di dalam membran. Hal ini sama dengan sifat timbal yang mempunyai sifat lipofilik sehingga vitamin E sesuai dijadikan antioksidan terhadap paparan radikal bebas dari timbal. Vitamin E dapat mencegah timbal membentuk radikal bebas di dalam membran sel, sehingga sebelum menjadi peroksidasi lipid, radikal bebas menjadi stabil dan tidak reaktif; Fauzi (2008), pemberian vitamin C dengan dosis 0,2 mg/g BB secara oral telah dilaporkan dapat memulihkan efek senyawa radikal bebas; serta diuraikan oleh Winarti (2010), bahwa senyawa vitamin A ( $\beta$ -karoten) mampu

berperan untuk menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas. Vitamin A ( $\beta$ -karoten) dapat menangkap  $O_2$  karena adanya 9 ikatan rangkap pada rantai karbonnya. Energi untuk reaksi ini dibebaskan dalam bentuk panas sedemikian rupa sehingga sistem regenerasi tidak diperlukan.

Berbagai antioksidan tersebut berperan dalam mengatasi radikal bebas melalui beberapa cara. Menurut Hariyatmi (2004), mekanisme kerja antioksidan seluler yaitu a) antioksidan akan berinteraksi langsung dengan oksidan, radikal bebas atau oksigen tunggal; b) mencegah pembentukan jenis oksigen reaktif; c) mengubah jenis oksigen reaktif menjadi kurang toksik; d) mencegah kemampuan oksigen reaktif; e) memperbaiki kerusakan yang timbul.

## 2.2 Tinjauan Tentang Mencit

### 2.2.1 Deskripsi Mencit (*Mus musculus*)



Gambar 2.2. Mencit

Mencit merupakan hewan yang sangat ekonomis sebagai hewan percobaan, karena bentuk tubuhnya kecil sehingga konsumsi pakannya cukup 4-6 gram per hari dengan kadar protein 22%.

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan mamalia hasil domestikasi dari mencit liar yang paling umum digunakan sebagai hewan percobaan pada laboratorium, yaitu sekitar 40%-80%. Banyak keunggulan yang dimiliki oleh mencit sebagai hewan percobaan, yaitu memiliki kesamaan fisiologis dengan manusia, siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penanganan (Setijono, 1985).

Mencit merupakan hewan yang paling banyak digunakan sebagai hewan percobaan, karena cepat berkembangbiak dan pengelolaannya mudah. Menurut Arrington (1972), alasan penggunaan mencit sebagai hewan laboratorium dan objek penelitian dalam bidang peternakan diantaranya adalah biaya yang dibutuhkan tidak begitu mahal, efisien dalam waktu, kemampuan reproduksi tinggi pada waktu yang singkat, dan sifat genetik dapat dibuat seseragam mungkin dalam waktu yang lebih pendek dibandingkan dengan ternak yang lebih besar.

### 2.2.2 Taksonomi Mencit (*Mus musculus*)

Klasifikasi Mencit (*Mus musculus*) menurut Boolootion (1991) sebagai berikut:

Kerajaan : Animalia  
 Filum : Chordata  
 Kelas : Mammalia  
 Ordo : Rodentia  
 Famili : Muridae  
 Genus : Mus  
 Spesies : *Mus musculus*.

### 2.2.3 Morfologi Mencit (*Mus musculus*)

Mencit memiliki bulu yang pendek halus dan berwarna putih serta ekor berwarna kemerahan dengan ukuran lebih panjang dari badan dan kepalanya. Mencit memiliki berat badan yang bervariasi antara 18-20 gram pada umur empat minggu dan 30-40 gram pada umur enam bulan. Mencit sebagai hewan percobaan sangat praktis untuk penelitian kuantitatif, karena sifatnya yang mudah berkembang biak, selain itu mencit juga dapat digunakan sebagai hewan model untuk mempelajari seleksi terhadap sifat-sifat kuantitatif. Sifat biologis mencit dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2.2 Sifat Biologis Mencit (*Mus musculus*)

Kriteria	Keterangan
Lama hidup	1-3 tahun
Lama produksi ekonomis	9 bulan
Lama bunting	19-21 hari
Kawin sesudah beranak	19-24 jam
Umur sapih	21 hari
Umur dewasa kelamin	35 hari
Umur dikawinkan	8 minggu
Siklus estrus	4-5 hari
Lama estrus	12-14 jam
Berat dewasa	
- Jantan	20-40 gr
- Betina	18-35 gr
Berat lahir	0,5-1,0 gr
Berat sapih	18-20 gr
Jumlah anak lahir	6-15 ekor
Jumlah puting susu	5 pasang
Kecepatan tumbuh	1 gr/hari

(Sumber : Setijono, 1985)

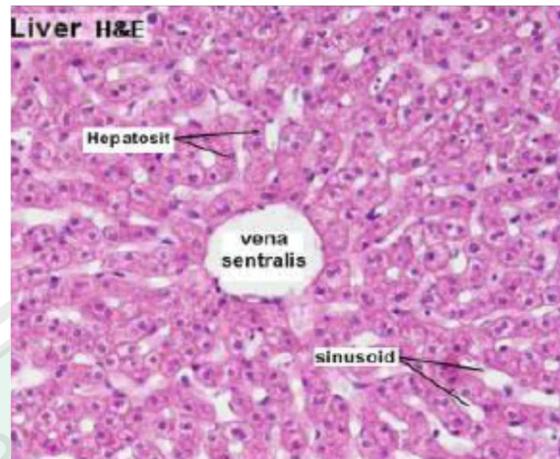
## 2.2.4 Hepar

### 2.2.4.1 Struktur Hepar

Hepar adalah organ yang terbesar dan paling kompleks dalam tubuh. Berwarna coklat dan beratnya 1,5 kg. Terletak di bagian atas dalam rongga abdomen di sebelah kanan bawah diafragma. Hepar merupakan kelenjar tubuh yang paling besar, beratnya antara 1000-1500 gram, kurang lebih 25% berat badan orang dewasa dan merupakan pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang sangat kompleks dan rumit. Hepar terdiri dari dua lobus utama, kanan dan kiri. Lobus kanan dibagi menjadi segmen anterior dan posterior, lobus kiri dibagi menjadi segmen medial dan lateral oleh ligamentum fasiformis yang dapat dilihat dari luar. Mikroskopik dalam hepar manusia terdapat 50.000-100.000 lobuli. Setiap lobulus merupakan bentuk heksagonal yang terdiri atas lembaran sel hepar berbentuk kubus yang tersusun radial yang mengelilingi vena sentralis. Di antara lembaran sel hepar terdapat kapiler yang dinamakan sinusoid. Sinusoid tidak seperti kapiler lain, dibatasi oleh sel fagositik atau sel Kuppfer. Sel Kuppfer merupakan sistem retikolo endotel dan mempunyai fungsi utama menelan bakteri dan benda asing lain dalam tubuh. Oleh karena itu hepar merupakan salah satu organ utama sebagai pertahanan tubuh terhadap serangan bakteri dan toksik (Husadha, 1996).

Hepar merupakan organ tubuh yang paling sering menerima gangguan dari faktor luar. Hal ini karena hepar merupakan pintu gerbang semua bahan yang masuk ke dalam tubuh melalui saluran cerna. Zat makanan, sebagian besar obat-obatan serta toksikan yang masuk ke tubuh melalui saluran cerna setelah diserap oleh epitel usus akan dibawa oleh vena porta ke hepar. Oleh sebab itu, hepar

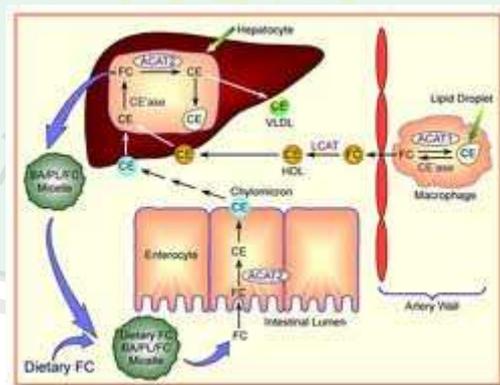
menjadi organ yang sangat potensial menderita keracunan lebih dahulu sebelum organ lain (Guyton, 1997).



Gambar 2.3 Histologi Hepar (Shier, 2004)

#### 2.2.4.2 Peranan Hepar Dalam Metabolisme Tubuh

Hepar adalah tempat proses metabolisme penting, diantaranya adalah karbohidrat, lemak, dan protein. Selain itu hepar juga menjadi tempat untuk detoksifikasi, dan produksi bahan kimia pencernaan.



Gambar 2.4. Fungsi Metabolisme Hepar

Hepar berperan penting dalam metabolisme karbohidrat. Proses yang disebut glikogenesis mengubah glukosa menjadi glikogen, yang disimpan sebagai cadangan energi. Ketika energi yang dibutuhkan secara cepat akibat

meningkatnya aktivitas fisik atau gula darah rendah, hepar mengubah glikogen menjadi glukosa kembali dalam proses yang disebut glikogenolisis. Metabolisme lain yaitu glukoneogenesis, memungkinkan hepar untuk mensintesis glukosa dari zat lain seperti asam laktat dan asam amino glukogenik seperti glisin dan alanin (Atmodjo, 1990).

Proses metabolisme di hepar mengubah kelebihan karbohidrat menjadi zat kimia yang disebut trigliserida, bentuk utama di mana hewan menyimpan lemak. Ketika tubuh membutuhkan energi, hepar memecah trigliserida menjadi asam lemak bebas yang dilepaskan ke dalam aliran darah, di mana mereka dapat diambil dan digunakan sebagai sumber energi oleh jaringan lain. Asam lemak yang di hepar ini juga bisa menyebabkan pembentukan radikal bebas yang menyebabkan peroksidasi lipid dan terjadinya nekrosis sel hepatosit, peradangan dan fibrosis (Tolman *et al.*, 2007).

Hepar mensintesis kolesterol untuk melengkapi kolesterol makanan dan menghasilkan lipoprotein yang mengangkut kolesterol melalui aliran darah. Hepar juga memetabolisme kolesterol untuk memproduksi asam empedu yang digunakan untuk mencerna lemak dalam saluran usus dan menghapus produk sampingan metabolisme dari hepar. Kolesterol sangat penting untuk pembentukan dan pemeliharaan membran sel sehat (Guyton, 1997).

Metabolisme hepar juga memproduksi beberapa asam amino dan protein. Hal ini sangat penting sebagai sumber utama tubuh protein plasma darah seperti serum albumin, fibronektin plasma larut, dan beberapa jenis globulin. Hepar juga memproduksi sebagian besar enzim yang terlibat dalam koagulasi, proses yang menyebabkan penggumpalan darah untuk menghentikan pendarahan, serta protein

inhibitor. Banyak protein pembawa juga diproduksi oleh hepar, termasuk ceruloplasmin, transcortin, dan haptoglobin.

Metabolisme hepar sangat penting untuk melindungi tubuh dari zat-zat dari luar tubuh, yang disebut xenobiotik. Hepar adalah lokasi yang paling penting bagi jalur metabolik yang menetralkan dan menghilangkan bahan kimia asing untuk kelangsungan hidup suatu organisme, seperti racun. Hepar terletak di posisi pertama setiap kali zat yang berbahaya masuk ke dalam tubuh. Hal ini membuat hepar rentan terhadap kerusakan apabila berulang-ulang terbebani oleh zat berbahaya yang masuk (Soemirat, 2003).

Fungsi utama hepar adalah detoksifikasi racun yang masuk ke dalam tubuh. Tujuan detoksifikasi adalah mengubah zat xenobiotik yang non-polar (larut lemak) menjadi polar (larut air). Hepar sering menjadi organ sasaran karena beberapa hal. Sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal, setelah diserap, toksikan dibawa oleh vena porta ke hepar. Hepar mempunyai banyak tempat pengikatan. Kadar enzim yang memetabolisme xenobiotik dalam hepar juga tinggi (terutama sitokrom P-450). Hal tersebut membuat sebagian besar toksikan menjadi kurang toksik dan lebih mudah larut dalam air, sehingga lebih mudah dieksresikan melalui ginjal atau empedu. Empedu berfungsi mengubah zat yang tidak larut dalam air menjadi zat yang larut dalam air (Zimmerman, 1982).

Reaksi metabolisme terdiri dari reaksi fase I dan reaksi fase II. Pada fase I, zat kimia akan diubah menjadi tidak berbahaya dengan bantuan enzim sitokrom P450. Selama proses ini, dihasilkan radikal bebas, yang bila berlebihan akan merusak sel-sel hepar. Antioksidan (vitamin dan mineral) yang cukup sangat

diperlukan untuk mengurangi kerusakan akibat radikal bebas. Selanjutnya pada fase II, zat kimia beracun akan ditambahkan substansi lain (sistein, glisin atau molekul sulfur), untuk diubah menjadi molekul yang tidak berbahaya, sehingga larut air dan dengan mudah dikeluarkan dari dalam tubuh melalui cairan seperti cairan empedu atau urin. Jika mekanisme detoksifikasi fase I dan fase II terganggu, maka racun akan menumpuk di dalam tubuh (Watkins, 2003). Penumpukan bahan-bahan toksik tersebut akan menyebabkan kerusakan pada sel dan dapat menimbulkan kelainan klinis dan hal ini sangat tergantung pada dosis, jenis, pengaruh zat atau penyakit lain, serta daya tahan host.

Kerusakan pada sel sebagai akibat terjadinya penumpukan toksin dapat dilihat dari morfologi sel yang terpapar toksin. Salah satu bentuk kerusakan sel yang diakibatkan oleh adanya toksik yang masuk ke dalam tubuh adalah adanya pergeseran air ekstraseluler ke dalam sel. Bila air tertimbun terus di dalam sel akan tampak vakuola-vakuola dalam sitoplasma dan akan membentuk vakuola besar yang mendesak inti ke tepi (Koeman, 1987). Selanjutnya vakuola tersebut dapat menempati sitoplasma dan menggantikan inti sel (Trijayanti, 2010). Akibatnya sel akan mengecil dan mengkerut bahkan pecah (lisis).

## **2.3 Tinjauan Tentang Radikal Bebas dan Antioksidan**

### **2.3.1 Radikal Bebas**

#### **2.3.1.1 Definisi dan Mekanisme Terbentuknya Radikal Bebas**

Radikal bebas adalah sekelompok bahan kimia baik berupa atom maupun molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya (Arief, 2006). Menurut Sadikin (2003), elektron yang kehilangan pasangan memiliki molekul yang bersifat liar, tidak stabil, dan radikal, sehingga selalu mencari pasangan elektron dengan cara merebut elektron dari molekul lain.

Timbal dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas dan menurunkan kemampuan antioksidan tubuh sehingga dapat menyebabkan kerusakan organ. Radikal bebas dapat dinyatakan sebagai spesies yang terdiri dari satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas ini dapat bereaksi dengan berbagai cara. Salah satunya adalah apabila dua radikal bertemu maka elektron yang tidak berpasangan tadi akan bergabung membentuk ikatan kovalen (Halliwell, 1999).

Radikal bebas ditemukan baik melalui faktor eksogen maupun endogen serta mempengaruhi kehidupan sel. Radikal terpenting dalam tubuh adalah radikal derivat dari oksigen yang disebut kelompok oksigen reaktif (*reactive oxygen spesies ROS*) (Arief, 2006).

Faktor eksogen radikal bebas dapat berasal dari obat-obatan, radiasi, dan asap rokok. Beberapa macam obat dapat meningkatkan produksi radikal bebas dalam bentuk peningkatan tekanan oksigen. Bahan-bahan tersebut bereaksi dengan oksigen sehingga dapat mempercepat tingkat kerusakan. Pada radiasi, radioterapi memungkinkan terjadinya kerusakan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. Radiasi elektromagnetik (sinar X, sinar gamma) dan radiasi partikel (partikel elektron, photon, neutron, alfa, dan beta) menghasilkan radikal primer dengan cara memindahkan energinya pada komponen seluler seperti air. Radikal primer tersebut dapat mengalami reaksi sekunder bersama oksigen yang terurai atau bersama cairan seluler. Selanjutnya yaitu asap rokok, oksidan dalam rokok mempunyai jumlah yang cukup untuk memainkan peranan yang besar terjadinya kerusakan saluran napas. Telah diketahui bahwa oksidan asap tembakau

menghabiskan antioksidan intraseluler dalam sel paru (in vivo) melalui mekanisme yang dikaitkan terhadap tekanan oksidan (Arief, 2006).

Selanjutnya yaitu faktor endogen radikal bebas yaitu berasal dari autoksidasi dan oksidasi enzimatik. Autoksidasi merupakan produk dari proses metabolisme aerobik. Molekul yang mengalami autoksidasi berasal dari katekolamin, hemoglobin, mioglobin, sitokrom C yang tereduksi, dan thiol. Autoksidasi dari molekul di atas akan menghasilkan terbentuknya kelompok reaktif oksigen. Superoksida merupakan bentuk awal radikal. Sedangkan pada oksidasi enzimatik, beberapa jenis sistem enzim mampu menghasilkan radikal bebas dalam jumlah yang cukup bermakna, meliputi *xanthine oxidase (activated in ischemiareperfusion)*, *prostaglandin synthase*, *lipoxygenase*, *aldehyde oxidase*, dan *amino acid oxidase*. Enzim *myeloperoxidase* hasil aktivasi netrofil, memanfaatkan hidrogen peroksida untuk oksidasi ion klorida menjadi suatu oksidan yang kuat asam hipoklor (Arief, 2006).

### **2.3.1.2 Timbal (Pb) Sebagai Sumber Radikal Bebas**

Radikal bebas dapat dijumpai pada lingkungan, beberapa logam (misalnya besi, timbal, tembaga), asap rokok, polusi udara, obat, bahan beracun, bahan aditif, dan sinar ultraviolet dari matahari maupun radiasi. Salah satu logam berat yang terdapat di alam yaitu timbal (Pb).

Gajawat *et al* (2006) melaporkan bahwa timbal membentuk senyawa merkaptida dengan gugus tiol (-SH) sistein dan menurunkan kestabilan kompleks ini dengan asam amino lain. Hal ini menjadi alasan dari perubahan komponen protein sel. Senyawa-senyawa dengan gugus tiol bebas adalah pelindung sel terhadap kerusakan oleh radikal bebas, sehingga bila gugus ini diikat oleh timbal,

maka mekanisme perlindungan tersebut menjadi tidak cukup tersedia di dalam sel. Glutation sebagai suatu tripeptida (glutamat-sistein-glisin) pelindung dari radikal bebas, mereduksi peroksida-peroksida dan mempertahankan gugus-gugus tiol protein dalam keadaan tereduksi, didapati menurun pada darah dan hepar, serta menjadi salah satu penyebab toksisitas timbal di hepar.

Timbal (Pb) merupakan suatu logam berat yang lunak berwarna kelabu kebiruan dengan titik leleh  $327\text{ }^{\circ}\text{C}$  dan titik didih  $1.620\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Pada suhu  $550\text{--}600\text{ }^{\circ}\text{C}$  timbal menguap dan bereaksi dengan oksigen dalam udara membentuk timbal oksida. Walaupun bersifat lentur, timbal sangat rapuh dan mengkerut pada pendinginan, sulit larut dalam air dingin, air panas dan air asam. Timbal dapat larut dalam asam nitrit, asam asetat dan asam sulfat pekat, tahan terhadap korosi atau karat, sehingga sering digunakan sebagai bahan coating untuk baterai. Bentuk oksidasi yang paling umum adalah timbal (II) dan senyawa organometalik yang terpenting adalah timbal tetra etil (TEL: tetra ethyl lead), timbal tetra metil (TML : tetra methyl lead) dan timbal stearat (Fardiaz, 1992).

Timbal (Pb) telah ditemukan sejak zaman Romawi kuno sekitar tahun 500 SM. Di alam, timbal (Pb) terdapat sebagai unsur atau persenyawaan, dan umumnya terdapat sebagai  $\text{PbS}$  (*galena*),  $\text{PbSO}_4$  (*anglesite*),  $\text{PbCO}_3$  (*cerussite*),  $\text{Pb(OH)}_2$  serta  $\text{PbCO}_3$  (*white lead*). Dalam tabel periodik unsur, timbal (Pb) termasuk golongan IV dengan nomor atom 82 dan berat atom 207,19. Timbal (Pb) merupakan logam lunak berwarna abu-abu kebiruan, massa jenis  $11,34\text{ gr/cm}^3$ . Pada tekanan 1 atmosfer logam tersebut meleleh pada suhu  $327^{\circ}\text{C}$  dan mendidih pada suhu  $1740^{\circ}\text{C}$  (Wahab, 1982).

Polusi timbal (Pb) dapat terjadi di udara, air maupun tanah. Kandungan timbal (Pb) di dalam tanah rata-rata 16 ppm, tetapi pada daerah-daerah tertentu mungkin dapat mencapai beberapa ribu ppm. Kandungan timbal (Pb) di dalam udara seharusnya rendah karena nilai tekanan uapnya rendah. Timbal banyak digunakan untuk berbagai keperluan karena sifat-sifatnya sebagai berikut (Fardiaz, 1992):

1. Timbal mempunyai titik cair rendah sehingga jika digunakan dalam bentuk cair dibutuhkan teknik yang cukup sederhana dan tidak mahal.
2. Timbal merupakan logam yang lunak sehingga mudah diubah menjadi berbagai bentuk.
3. Sifat kimia timbal menyebabkan logam ini dapat berfungsi sebagai lapisan pelindung jika kontak dengan udara lembab.
4. Timbal dapat membentuk alloy (campuran beberapa jenis logam) dengan logam lainnya, dan alloy yang terbentuk mempunyai sifat berbeda dengan timbal yang murni.
5. Densitas timbal lebih tinggi dibandingkan dengan logam lainnya kecuali emas dan merkuri.

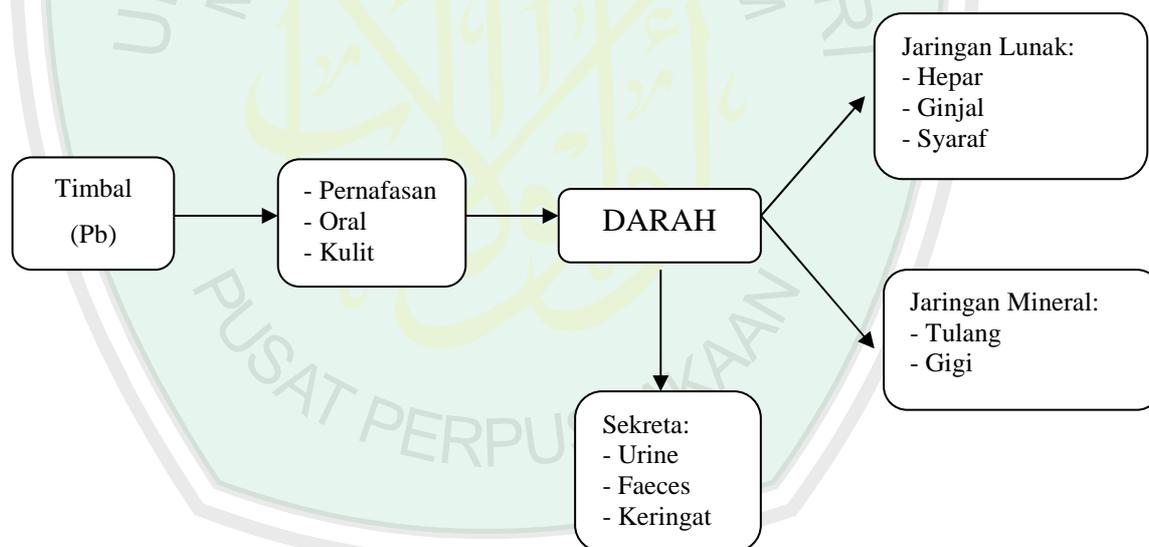
Timbal digunakan pada pelindung kabel listrik, pembuatan pipa-pipa, sambungan penyekat, tangki dan genting atap, pembuatan baterai, panci pemanas dan lain-lain. Alkil timbal (timbal tetraetil, timbal tetrametil) digunakan pada industri petroleum sebagai bahan aditif antiknock pada bahan bakar (Naria, 2005).

Timbal juga digunakan sebagai campuran dalam pembuatan pelapis keramik yang disebut *glaze*. *Glaze* adalah lapisan tipis gelas yang menyerap ke dalam permukaan tanah liat yang digunakan untuk membuat keramik.komponen

utama dari *glaze* keramik adalah silika yang bergabung dengan oksida lainnya membentuk silikat kompleks atau gelas. Komponen timbal yaitu PbO ditambahkan ke dalam *glaze* untuk membentuk sifat mengkilap yang tidak dapat dibentuk dengan oksida lainnya (Fardiaz, 1992).

Timbal dapat menyebabkan keracunan dan terakumulasi dalam tubuh manusia. Masuknya timbal ke dalam tubuh manusia dapat melalui sistem pernafasan, oral, ataupun langsung melalui permukaan kulit. Kira-kira 40% dari timbal yang masuk melalui pernafasan, diabsorpsi sampai ke saluran pernafasan. Sekitar 5-10% dari senyawa timbal yang masuk diserap oleh saluran gastrointestinal (Naria, 2005).

Akumulasi Timbal dalam tubuh manusia dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 2.5. Akumulasi Timbal dalam Tubuh Manusia (Depkes RI, 2001)

Ketika timbal masuk ke dalam tubuh maka timbal dapat memicu terjadinya radikal bebas. Secara umum radikal bebas dapat mencakup superoksida ( $O_2^*$ ), hidroksil ( $*OH$ ), peroksil ( $ROO^*$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), singlet oksigen ( $1O_2$ ), oksida nitrit ( $NO^*$ ), dan peroksinitrit ( $ONOO^*$ ) (Wahab, 1982).

### 2.3.1.3 Mekanisme Terbentuknya Radikal Bebas

Radikal bebas memiliki elektron yang tidak berpasangan pada lapisan terluarnya. Elektron mengelilingi suatu atom dalam satu atau lebih lapisan. Atom sering kali melengkapi lapisan luarnya dengan cara membagi elektron-elektron bersama atom yang lain. Dengan membagi elektron, atom-atom tersebut bergabung bersama dan mencapai kondisi stabilitas maksimum untuk membentuk molekul. Oleh karena radikal bebas sangat reaktif, maka mempunyai spesifitas kimia yang rendah sehingga dapat bereaksi dengan berbagai molekul lain. Untuk mendapatkan stabilitas kimia, radikal bebas tidak dapat mempertahankan bentuk asli dalam waktu lama dan segera berikatan dengan bahan sekitarnya. Radikal bebas akan menyerang molekul stabil yang terdekat dan mengambil elektron, zat yang terambil elektronnya akan menjadi radikal bebas juga sehingga akan memulai suatu reaksi berantai, yang akhirnya akan menyebabkan terjadinya kerusakan sel (Arief,2006).

Mekanisme kerusakan sel atau jaringan akibat serangan radikal bebas yang paling awal diketahui dan terbanyak diteliti adalah peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid paling banyak terjadi di membran sel, terutama asam lemak tidak jenuh yang merupakan komponen penting penyusun membran sel. Selama proses fosforilasi oksidatif ini molekul oksigen dapat berikatan dengan elektron tunggal, sehingga membentuk radikal superoksida ( $O_2$ ). Radikal superoksida yang terbentuk ini akan membentuk hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan hidroksil reaktif (OH.) dengan cara berinteraksi dengan logam transisi reaktif seperti tembaga dan besi (Raharjo, 2006).

Stres oksidatif terjadi diakibatkan kondisi yang tidak seimbang antara radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh (Hariyatmi, 2004). Kondisi ini menyebabkan efek toksik yang menyerang komponen sel yang berupa senyawa lipid, protein, asam lemak tak jenuh, DNA, dan RNA. Reaksi stres oksidatif tersebut menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif, yang dapat merusak organ-organ yang ada di dalam tubuh serta fungsi sel. Namun, adanya reaksi tersebut dapat dihambat oleh sistem antioksidan (Winarsi, 2007).

### **2.3.2 Antioksidan**

#### **2.3.2.1 Pengertian dan Sumber Antioksidan**

Radikal bebas dalam tubuh dapat terbentuk, sehingga tubuh dapat mengalami kerusakan organ. Kerusakan diawali dari rusaknya lipid membran. Radikal bebas dapat diatasi dengan antioksidan. Antioksidan dapat didefinisikan sebagai senyawa yang dapat memberikan elektron kepada radikal bebas yang terbentuk. Antioksidan dapat terjadi pada enzim yang mengubah senyawa radikal bebas menjadi senyawa yang stabil (Setiawan, 2012).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif, spesies nitrogen, dan radikal bebas lainnya sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskular, kanker, dan penuaan. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai (Halliwell dan Gutteridge, 2000).

Sumber-sumber antioksidan dapat berupa antioksidan sintetis maupun antioksidan alami. Tetapi saat ini penggunaan antioksidan sintetis mulai dibatasi karena ternyata dari hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa antioksidan sintetis seperti BHT (Butylated Hydroxy Toluena) ternyata dapat meracuni binatang percobaan dan bersifat karsinogenik. Oleh karena itu industri makanan dan obat-obatan beralih mengembangkan antioksidan alami dan mencari sumber-sumber antioksidan alami baru (Kumalaningsih, 2006).

Buah-buahan, sayuran dan biji-bijian adalah sumber antioksidan yang baik dan bisa meredam reaksi berantai radikal bebas dalam tubuh, sehingga dapat menekan proses penuaan dini. Misalnya likopene, yakni antioksidan yang ampuh menghentikan radikal bebas sehingga tidak mengikat asam lemak tak jenuh dalam sel. Lutein dan Zeaxantin juga diketahui aktif dalam mencegah reaksi oksidasi lipid pada membran sel lensa (mata) sehingga kita tidak terhindar dari katarak. Sedangkan antioksidan vitamin seperti vitamin C, E dan betakaroten akan menstabilkan membran sel lensa dan mempertahankan konsentrasi glutathione tereduksi dalam lensa (Sibuea, 2004).

### **2.3.2.2 Jenis-jenis dan Mekanisme Kerja Antioksidan**

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok, yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier. Antioksidan primer disebut juga antioksidan endogenous atau enzimatis. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera menjadi senyawa yang lebih stabil. Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathione peroksidase. Enzim tersebut

menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai (polimerasi), kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Antioksidan sekunder disebut juga sebagai antioksidan eksogeneus atau non-enzimatis. Antioksidan kelompok ini juga disebut sistem pertahanan preventif, yaitu terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkelatan metal atau dirusak pembentukannya. Kerja antioksidan sekunder yaitu dengan cara memotong reaksi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya. Antioksidan sekunder meliputi vitamin E, vitamin C,  $\beta$ -karoten, flavonoid, asam urat, bilirubin dan albumin. Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem DNA-*repair* dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzin ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang tereduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya struktur pada gugus non-basa maupun basa (Winarsi, 2007). Mekanisme kerja serta kemampuan antioksidan sangat bervariasi. Kombinasi beberapa antioksidan dapat memberikan perlindungan yang lebih baik terhadap oksidasi dibandingkan satu jenis antioksidan saja (Siagian, 2002).

Salah satu antioksidan sekunder yaitu vitamin E. Vitamin E berperan sebagai antioksidan pemutus rantai reaksi dalam melindungi sel dari radikal bebas dan menetralsir efek yang ditimbulkan dari paparan radikal bebas serta sebagai antioksidan preventif. Vitamin E berperan sebagai antioksidan preventif dengan cara menghambat tahap inisiasi pembentukan radikal bebas. Vitamin E dapat bereaksi dengan rantai peroksil dan radikal aloksil, sehingga akan menghambat pembentukan radikal bebas. Pemberian vitamin E akan mengakibatkan radikal bebas yang dibentuk akibat paparan timbal bisa distabilkan dan tidak reaktif

(Patrick, 2006). Menurut Hariyatmi (2004), vitamin E mengendalikan peroksida lemak dengan menyumbangkan hidrogen ke dalam reaksi, menyekat aktivitas tambahan yang dilakukan oleh peroksida, sehingga memutus reaksi berantai dan bersifat membatasi kerusakan. Vitamin E akan menyerahkan atom H dari gugus -OH ke dalam radikal bebas, sehingga radikal bebas akan stabil dan tidak reaktif.

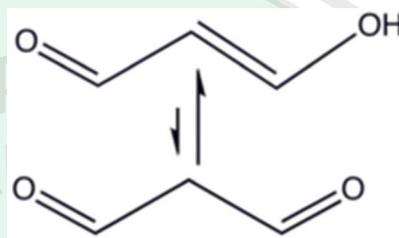
### **2.3.3 Malondialdehida (MDA)**

Malondialdehida (MDA) merupakan produk hasil peroksidasi lipid dalam tubuh dan terdapat dalam bentuk bebas atau kompleks dengan jaringan di dalam tubuh. Reaksi ionisasi senyawa-senyawa radikal bebas juga dapat membentuk MDA dan MDA juga merupakan produk samping biosintesis prostaglandin (Koeman, 1987).

Senyawa-senyawa aldehida dan keton seperti hidroksi alkenal dan tentunya MDA, terbentuk dari bereaksinya molekul lemak dengan asam lemak tak jenuh yang karbon metilennya telah teroksidasi, selanjutnya senyawa-senyawa ini telah diketahui bersifat toksik terhadap sel. Konsentrasi MDA dalam material biologi telah digunakan secara luas sebagai indikator dan kerusakan oksidatif pada lemak tak jenuh sekaligus merupakan indikator keberadaan radikal bebas (Zakaria, 1996). Menurut Endang (2005), rantai asam lemak tak jenuh jamak pada lapisan fosfolipid membran diserang oleh radikal hidroksil menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid.

Malondialdehyde (MDA) dipakai secara luas sebagai indikator adanya zat oksidan (Setijowati, 1998). Hancock (1999) menjelaskan Malondialdehyde (MDA) adalah senyawa toksik yang merupakan salah satu hasil akhir dari terputusnya rantai karbon asam lemak pada proses peroksidasi lipid. Lipid

hidroperoksida yang terbentuk pada proses propagasi peroksidasi lipid bersifat stabil, tetapi jika ada transisi metal misalnya Fe, maka substitusi tersebut akan dikatalisa menjadi radikal peroksi (L-O\*) yang pada akhirnya membentuk produk akhir yaitu malondialdehyde (MDA). Kadar MDA yang terbentuk dianggap identik dengan kadar peroksidasi lipid. Struktur kimia MDA digambarkan sebagai berikut:



Gambar 2.6 Struktur kimia MDA

Kadar MDA telah digunakan secara luas sebagai indikator stres oksidatif pada lemak tak jenuh sekaligus merupakan indikator keberadaan radikal bebas. MDA merupakan senyawa berbentuk kristal putih yang higroskopis diperoleh dari hidrolisis asam 1,1,3,3 tetraethoxypropane. Radioaktif  $^{14}\text{C}$ -MDA dapat dibuat dari 1,3 propanediol menggunakan alkohol dehidrogenase. MDA lebih stabil dalam plasma dan reaktivitasnya sangat tergantung pada pH.

#### 2.4 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oliefera* L)

##### Terhadap Kadar MDA dan Histopatologi Hepar Mencit (*Mus musculus* L) Balb/C Jantan yang Dipapar Timbal (Pb) Asetat

Timbal merupakan bahan kimia yang masuk dalam kelompok logam berat. Menurut Palaar (1994), logam berat merupakan bahan kimia golongan logam yang sama sekali tidak dibutuhkan oleh tubuh, di mana jika masuk ke dalam tubuh

organisme hidup dalam jumlah yang berlebihan akan menimbulkan efek negatif terhadap fungsi fisiologis tubuh. Logam berat yang masuk ke dalam tubuh dalam jumlah kecil akan terakumulasi di dalam tubuh, sehingga pada suatu saat juga dapat menimbulkan efek negatif dan gangguan kesehatan.

Stres oksidatif didefinisikan sebagai kelebihan produksi radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel, kondisi patologis dan kematian sel. Stres oksidatif timbul akibat reaksi metabolik yang menggunakan oksigen dan mengakibatkan gangguan pada keseimbangan antara oksidan dan antioksidan sel (Suarsana *et al*, 2013).

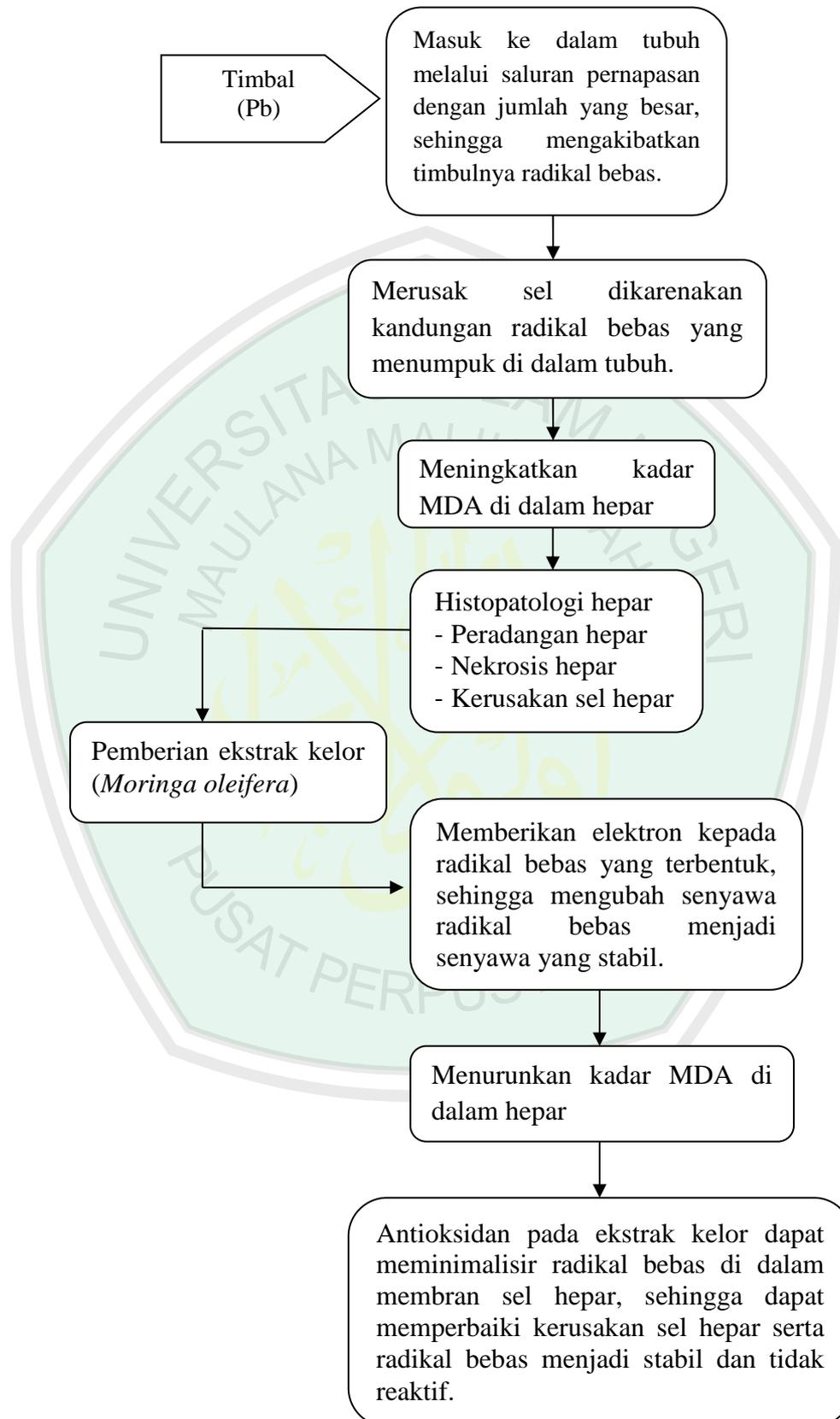
Menurut Hidayat *et al* (2013), tingginya kadar timbal dalam darah akan mengakibatkan tingkat kerusakan sel hepar semakin tinggi pula karena timbal yang diedarkan oleh darah akan berikatan dengan lipid dari membran sel hepar membentuk peroksidasi lipid dan menginduksi pembentukan radikal bebas. Koeman (1987) menjelaskan bahwa mitokondria akan terserang dan melepaskan ribosom dari retikulum endoplasmik sehingga pemasokan energi yang diperlukan untuk memelihara fungsi dan struktur retikulum endoplasmik terhenti, sintesis protein menjadi menurun, sel kehilangan daya untuk mengeluarkan trigliserida dan terjadi apa yang disebut degenerasi berlemak sel hepar. Bila bagian yang sangat luas dari hepar telah rusak maka hepar akan kehilangan fungsinya, yaitu sebagai organ detoksifikasi. Kerusakan pada organ hepar akan menyebabkan keracunan dalam tubuh.

Pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) memberikan pengaruh terhadap perbaikan sel pada hepar dan penurunan kadar MDA dalam hepar yang telah terpapar timbal. Hepar adalah organ utama untuk

membersihkan zat-zat toksin berasal dari bakteri maupun zat kimia seperti indotoksin, oksidan, dan pro-oksidan. Untuk melakukan detoksikasi dari bahan berbahaya tersebut, hepar mengandung antioksidan dengan berat molekul rendah dan enzim yang merusak kelompok oksigen reaktif (reactive oxygen species. ROS) yaitu glutathion tereduksi (GSH), vitamin C, vitamin E, superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase, dan katalase.

Kandungan kimia yang terdapat dalam tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) beberapa diantaranya vitamin C, vitamin E dan  $\beta$ -karoten berperan sebagai senyawa antioksidan yaitu memberikan donor elektron pada senyawa oksidan yang merusak sel hepar dan mencegah pembentukan malondialdehid (MDA) yang berlebihan.

Peta konsepnya disajikan dalam gambar berikut ini:



## 2.5 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan dua zat atau lebih dengan menggunakan pelarut yang tidak saling campur. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larut yang berbeda dari komponen-komponen dalam campuran (Harbone, 1987). Sampel yang digunakan adalah daun kelor yang memiliki bahan aktif didalamnya yaitu vitamin, mineral, flavonoid, protein, lemak, serat, kalsium dan lain-lain.

Macam-macam metode ekstraksi diantaranya yaitu:

### 1. Perkolasi

Proses ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) umumnya dilakukan pada suhu kamar. Proses ini melalui penyarian simplisia dengan jalan melewati pelarut yang sesuai secara lambat pada simplisia dalam suatu percolator. Tujuan perkolasi agar zat berkhasiat tertarik seluruhnya dan biasanya dilakukan untuk zat berkhasiat yang tahan ataupun tidak tahan pemanasan. Prinsip kerjanya : serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak kebawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, daya kapiler dan daya geseran.

## 2. Maserasi

Proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, tiraks dan lilin. Penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai pada temperatur kamar, terlindung dari cahaya. Cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

## 3. Refluks

Proses ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Ekstraksi refluks digunakan untuk mengekstraksi bahan-bahan yang tahan terhadap pemanasan. Prinsipnya adalah penarikan komponen kimia yang dilakukan dengan cara sampel dimasukkan ke dalam labu alas bulat bersama-sama dengan cairan penyari lalu dipanaskan, uap-uap cairan penyari terkondensasi pada kondensor bola menjadi molekul-molekul cairan penyari yang akan turun kembali menuju labu alas bulat, akan menyari kembali sampel yang berada pada labu alas bulat, demikian seterusnya berlangsung secara berkesinambungan sampai

penyarian sempurna, penggantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali setiap 3- 4 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan.

#### 4. Soxlet

Proses ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontiniu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Prinsip kerjanya ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya sehingga terjadi ekstraksi kontiyu dengan jumlah pelarut konstan dengan adanya pendingin balik.

Daun kelor akan diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% dan lemak, dikarenakan penelitian ini yang dibuat adalah ekstrak kasar, sehingga kandungan senyawa aktif yang diambil akan beragam (vitamin A, vitamin C, vitamin E, mineral, flavonoid, dan lain-lain). Etanol digunakan untuk melisiskan dinding sel daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) dan melarutkan kandungan vitamin E serta vitamin A yang bersifat nonpolar, sedangkan aquades berfungsi sebagai pelarut bagi vitamin C. Hasil dari ekstraksi maserasi akan dievaporasi sehingga akan didapatkan ekstrak kasar daun kelor (*Moringa olifera* Lamk.) tanpa campuran etanol dalam larutan ekstraksi (Harbone,1987).