

**UJI ANTIOKSIDAN DAN FITOKIMIACOKELAT KELOR
(*Moringaolifera*) HASIL EKSTRAKSI ULTRASONIK DENGAN VARIASI
PENGERINGAN**

SKRIPSI

**Oleh
DIYANI WAHYU NINGSIH
16630082**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**UJI ANTIOKSIDAN DAN FITOKIMIA
COKELAT KELOR (*Moringa oleifera*) HASIL EKSTRAKSI ULTRASONIK
DENGAN VARIASI PENGERINGAN**

SKRIPSI

**Oleh
DIYANI WAHYU NINGSIH
16630082**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 26 April 2021**

Pembimbing I



**Eny Yulianti, M.Si
NIP. 19760611 200501 2 006**

Pembimbing II



**Dr. Akyunul Janah, S.Si, M.P.
NIP. 19750410 200501 2 009**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**







**Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

**UJI ANTIOKSIDANDAN FITOKIMIA COKELAT KELOR
(*Moringaoliefera*) HASIL EKSTRAKSI ULTRASONIK DENGAN VARIASI
PENGERINGAN**

SKRIPSI

Oleh
DIYANI WAHYU NINGSIH
16630082

**Telah Dipertahankan di Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 26 April 2021**

Penguji Utama	: Rachmawati Ningsih, M.Si NIP. 19810811 200801 2 010	()
Ketua Penguji	: Ahmad Hanapi, M.Sc NIDT. 19851225 20160801 1 069	()
Sekretaris Penguji	: Eny Yulianti, M.Si NIP.19760611 200501 2 006	()
Anggota Penguji	: Dr. Akyunul Jannal, S.Si, M.P NIP. 19750410 200501 2 009	()

**Mengesahkan,
Ketua Program Studi**



Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN ORISINILITAS PENELITIAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Diyani Wahyu Ningsih

NIM : 16630082

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : “Uji Antioksidan dan Fitokimia Cokelat Kelor (*Moringa oleifera*) Hasil Ekstraksi Ultrasonik dengan Variasi Pengeringan

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pemikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pemikiran saya, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan pada daftar pustaka. Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia mempertanggung jawabkan sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 26 April 2021

Yang Membuat Pernyataan,



Diyani Wahyu Ningsih

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin, atas limpahan rahmat, nikmat dan inayah dari Allah SWT, penulis mempersembahkan karya ini kepada:

Kedua orang tua yang tersayang yaitu Bapak Nurhadi dan Ibu Puji Astutik.
Alhamdulillah jazakumullohu khoiro atas do'a, nasihat, materil dan kesabaran yang diberikan sehingga dapat mengantarkan saya menjadi sarjana.

Ibu Eny Yulianti selaku pembimbing skripsi dengan sabar dan telaten memberikan arahan, nasihat selama 5 tahun. Ibu Rachmawati Ningsih selaku penguji utama, Pak Ahmad Hanapi dan Ibu Akyunul Jannah , terimaka kasih banyak atas bimbingan dan saran yang diberikan. Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan Bapak/Ibu.

Adek tercinta Ferdiansyah dan Andini Nurlaili serta Mas Jais Sahidin,
Alhamdulillah jazakumullohu khoiro atas dukungan, dorongan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.

Sahabat saya yang paling pengertian Laili, Firda, Ida, Mila, Fia, Ani yang telah memberi semangat dan do'a ,terimakasih banyak sudah berjuang bersama-sama pada saat ngelab. Semoga urusan kita kedepan dilancarkan oleh Allah SWT.

Aamiin..

Cobaan Covid-19 telah menguji kesabaran dan telah memberikan kesan berbeda dalam proses penelitian.

MOTTO

“Satu cobaan kau lalui maka beribu hikmah kau dapat dan tetap istiqomah”

~ **Diyani Wahyu Ningsih** ~

Harta terbaik adalah KEJUJURAN, senjata terkuat itu KESABARAN. Aset terbesar kita IMAN, alat komunikasi yang paling canggih DO'A. Semoga kita semua punya itu.

“Pendidikan mampu merubah dunia”

~ **Nelson Mandela** ~

إِنَّمَا الْأَعْمَالُ بِالنِّيَّاتِ

“Segala sesuatu tergantung niat”

~**HR. Bukhari dan Muslim**~

KATA PENGANTAR

Segala puji kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq hidayah dan kemudahan bagi hamba-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal berjudul **“Uji Antioksidan dan Fitokimia Cokelat Kelor (*Moringa oleifera*) Hasil Ekstraksi Ultrasonik Dengan Variasi Pengeringan”**. Sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Besar Muhammad SAW yang telah menuntun ke jalan yang lurus. Penyusunan skripsi dengan maksud memenuhi mata kuliah Skripsi di Program Study Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.

Penulis mengucapkan terimakasih yang tiada batas kepada semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penulisan proposal ini, terutama kepada:

1. Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku ketua Program Study Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang serta seluruh staff administrasi.
2. Eny Yulianti, M.Si dan Akyunul Jannah, S.Si, M.Pselaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu memberi pengarahan, dan pengalaman yang berharga. Serta Rachmawati Ningsih dan Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberi bimbingan dan masukan demi tersusunnya skripsi ini.
3. Seluruh Dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman dan wejangan.

4. Kedua orang tua penulis, Bapak Nurhadi dan Ibu Puji Astutik yang selalu memberikan do'a, materil, perhatian kasih sayang, semangat dan motivasi agar terus bisa menyelesaikan kuliah dengan lancar.
5. Teman-teman angkata 2016 terkhusus tim kelor dan beads yang selalu mendukung dan menyemangati dalam pengerjaan proposal ini hingga bisa terselesaikan dengan baik.

Akhir kata penulis megakui bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat dan menambah khasanah ilmu pengetahuan. Demikian laporan ini kami buat semoga dapat memberikan manfaat bagi semua pihak.

Malang, 26 April 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN ORISINILITAS PENELITIAN.....	iv
PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK.....	xiv
المخلص.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.4 Batasan Masalah	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kelor (<i>Moringa Oleifera</i>).....	6
2.1.1 Morfologi Tanaman Kelor (<i>Moringa Oleifera</i>).....	6
2.1.2 Manfaat Kelor	7
2.1.3 Kandungan Senyawa Daun Kelor	8
2.1 Ekstraksi Ultrasonik	9
2.2 Perananan Cokelat	10
2.3 Antioksidan.....	11
2.4 Radikal Bebas	12
2.5 Mekanisme Antioksidatif	12
2.6 Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH	13
2.7 Uji Fitokimia Menggunakan Reagen	14
2.7.1 Alkaloid 15	
2.7.2 Flavonoid	16
2.7.3 Tanin 17	
2.7.4 Saponin 18	
2.7.5 Triterpenoid/Steroid	19
2.8 Identifikasi Senyawa Metabolit dengan Spektrofotometer FT-IR.....	20
BAB III METODE PENELITIAN	22
3.1 Tempat Penelitian	22
3.2 Alat dan Bahan.....	22
3.2.1 Alat	22
3.2.2 Bahan 22	
3.3 Tahapan Penelitian	23

3.4.1Preparasi Sampel.....	23
3.4.2 Uji Kadar Air	23
3.4.3Pembuatan Permen Cokelat Tepung Kelor	24
3.4.4 Ekstraksi Ultrasonik Permen Cokelat Tepung Daun Kelor	25
3.4.5Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH	25
3.4.6Identifikasi Metabolit Sekunder dengan Uji Fitokimia	27
3.4.7Karakterisasi Menggunakan Spektrofotometer FT-IR.....	28
3.4.8Analisis Data.....	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Preparasi Sampel.....	30
4.2 Penentuan Kadar Air	30
4.3 Ekstraksi Ultrasonik Cokelat Kelor	31
4.5 Analisis Aktivitas Antioksidan	33
4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	33
4.5.2 Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel Metode DPPH.....	34
4.6 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dengan Penambahan Reagen	40
4.7 Karakterisasi Menggunakan Spektrofotometer FT-IR.....	42
4.8 Pemanfaatan Moringa oleifera dan Cokelat Ditinjau dari Perpektif Islam ...	44
BAB V PENUTUP	46
5.1 Kesimpulan.....	46
5.2 Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA.....	46
LAMPIRAN	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Daun kelor (<i>Moringa Oleifera</i>)	6
Gambar 2. 2 Reaksi radikal dengan antioksidan	13
Gambar 2. 3 Dugaan reaksi antara flavonoid, logam Mg dan HCl pekat	16
Gambar 2. 4 Dugaan reaksi antara tanin dengan FeCl ₃	17
Gambar 2. 5 Golongan senyawa saponin	19
Gambar 2. 6 Reaksi hidrolisis saponin dalam air	19
Gambar 2. 7 Dugaan reaksi terpenoid dengan Lieberman Burchard.....	20
Gambar 2. 8 FT-IR pada daun moringa oleifera	21
Gambar 3. 1 Gambaran Sampel.....	25
Gambar 4. 1 Hasil spektra penentuan panjang gelombang	33
Gambar 4. 2 Ilustrasi reaksi tanin (antioksidan) dengan DPPH	37
Gambar 4. 3 Interaksi protein dan polifenol melalui ikatan non kovalen.....	39
Gambar 4. 4 Spektra hasil FT-IR sampel tepung angin dan tepung jemur	42

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Perbandingan nilai gizi 100 gram daun kelor segar dan 100 gram	9
Tabel 2. 2 Penelitian terdahulu variasi waktu lama ekstraksi ultrasonik	10
Tabel 2. 3 Rentang kekuatan antioksidan	13
Tabel 4. 1 Hasil penentuan kadar air	31
Tabel 4. 2 Hasil rendemen hasil ekstraksi ultrasonik	32
Tabel 4. 3 Nilai IC50 pada tiap-tiap sampel.....	36
Tabel 4. 4 Hasil uji fitokimia dengan reagen	40
Tabel 4. 5 Hasil karakterisasi FT-IR.....	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian.....	53
Lampiran 2. Diagram Alir.....	54
Lampiran 3. Perhitungan.....	61
Lampiran 4. Data Hasil Penelitian	63
Lampiran 5. Dokumentasi.....	74

ABSTRAK

Ningsih, D.W. 2020. **Uji Antioksidan dan Fitokimia Cokelat Kelor (*Moringa oleifera*) Hasil Ekstraksi Ultrasonik Dengan Variasi Pengeringan**. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Eny Yulianti, M.Si; Pembimbing II: Akyunul Jannah, S.Si., M.P.

Kata Kunci: Antioksidan, Daun kelor (*Moringa oleifera*), Cokelat kelor, Ekstraksi Ultrasonik.

Daun kelor (*Moringa oleifera*) adalah tanaman yang umum dijumpai di masyarakat sebagai tanaman multifungsi salah satunya untuk mengatasi masalah malnutrisi. Daun kelor diolah menjadi tepung untuk daya simpan lebih lama dan bisa disubstitusikan dalam *dark coklat compound*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan coklat kelor, metabolit sekunder dan gugus fungsi.

Daun kelor dilakukan variasi pengeringan yaitu kering jemur dan kering angin. Dibuat coklat kelor kemudian dilakukan ekstraksi menggunakan metode ultrasonik dengan pelarut akuades selama 20 menit. Hasil ekstrak sampel diuji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*1,1-dipheyl-2-picrylhydrazyl*), dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan dilakukan karakterisasi menggunakan spektrofotometer FT-IR.

Hasil EC_{50} tertinggi adalah tepung jemur yaitu 391,9 ppm. Penambahan tepung kelor pada coklat menurunkan aktivitas antioksidan. Pengeringan jemur memiliki EC_{50} yang lebih tinggi daripada pengeringan angin. Senyawa metabolit sekunder dalam sampel kelor dan coklat kelor yaitu tanin, flavonoid, saponin dan triterpenoid sedangkan coklat tidak mengandung tanin hanya memiliki metabolit sekunder flavonoid, saponin dan triterpenoid. Hasil karakterisasi FT-IR serbuk *Moringa oleifera* terdapat gugus -O-H alkohol, C=C alkena, C-H sp^3 alkana, C=O ester, C-O asam karboksilat dan C-H aromatik.

ABSTRACT

Ningsih, D.W. 2020. **Antioxidant and Phytochemicals Test of Chocolate (*Moringa oleifera*)Flour The Result of Ultrasonic Extraction withDrying Variations.** Skripsi. Chemistry Department, Faculty of Science and Technologi, Islamic State University Maulana Malik Ibrahim. Supervisor I: Eny Yulianti, M.Si; Supervisor II: Akyunul Jannah, S.Si.,M.P.

Keywords: Antioxidant, *Moringa oleifera*leaf, Chocolate Kelor, Ultrasonic Extraction.

Moringa oleifera (*Moringa oleifera*) leaf is a plant that is commonly found in the community as a multifunctional plant, one of which is to treat malnutrition. *Moringa* leaves are processed into flour to make it more durable and long lasting, as well as the nutrition increases when substituted in chocolate. The purpose of this study was to determine the effect of adding *Moringa* leaf flour to the antioxidant activity of *Moringa* chocolate and drying variations, namely drying and wind and secondary metabolites.

The extraction of *moringa* leaf flour chocolate candy used the ultrasonic method with distilled water and the extraction time was 20 minutes. The results of the sample extract were tested for antioxidant activity using the DPPH (1,1-dipheyl-2-picrylhydrazyl) method, phytochemical tests were carried out and characterization was carried out using a FT-IR spectrophotometer.

The highest EC50 result was sun flour, which was 391.9 ppm. The addition of *moringa* flour to chocolate decreased antioxidant activity. Sun drying has a higher EC50 than wind drying. The secondary metabolites in the sample are tannins, flavonoids, saponins and triterpenoids. The FT-IR characterization of *Moringa oleifera simplicia* contained -O-H groups of alcohol, C = C alekene, C-H sp³ alkanes, C = O esters, C-O carboxylic acids and C-H aromatics.

الملخص

نيجسة، د ٢٠٢١. اختبار مضادات الأكسدة والكيماويات النباتية لشوكولاتة المورينجا أوليفيرا . قسم الكيمياء ، نتيجة الاستخراج بالموجات فوق الصوتية مع اختلافات التجفيف. أطروحة إيني .المستشار الثاني : كلية العلوم والتكنولوجيا ، جامالدولة أعين الجنة ، الماجستيرة الأولالمستشار : يوليانتى، الماجستيرة

الكلمات المفتاحية: مضادات الأكسدة ، أوراق المورينجا أوليفيرا (المورينجا أوليفيرا) ، حلوى الشوكولاتة ، الاستخراج بالموجات فوق الصوتية

مورينجا ولييفيرا (هو نبات شائع في المجتمع كنبات متعدد الوظائف ، أحدها لعلاج سوء التغذية. تتم معالجة أوراق المورينجا في الدقيق لجعلها أكثر متانة وطويلة الأمد ، بالإضافة إلى العناصر الغذائية التي تزيدها عند استبدالها بالشوكولاتة. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد تأثير إضافة دقيق أوراق المورينجا إلى النشاط المضاد للأكسدة لشوكولاتة المورينجا وتغيرات التجفيف ، وهي التجفيف والرياح والمستقلبات الثانوية.

استخلاص حلوى الشوكولاتة بدقيق أوراق المورينجا باستخدام طريقة الموجات فوق الصوتية مع الماء المقطر وكانت مدة الاستخلاص ٢٠ دقيقة. تم اختبار نتائج مستخلص العينة لمعرفة النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة DPPH 1، ٤، ٥ ديههليل 2، ٤ بيچريلهيدرازيل (، وتم إجراء الاختبارات الكيميائية النباتية والتوصيف باستخدام مقياس الطيف الضوئي FT-IR.

وكانت أعلى نتيجة EC₅₀ هي دقيق الشمس عند ٣٩١،٩ جزء في المليون. أدت إضافة دقيق المورينجا إلى الشوكولاتة إلى تقليل نشاط مضادات الأكسدة. التجفيف الشمسي له تركيز أكبر 50 من التجفيف بالرياح. المستقلبات الثانوية في العينة هي التانينات والفلافونويد والسابونين والتريترينويدس. احتوى توصيف FT-IR لمورينجا ولييفيرا على مجموعات -O-H من الكحول ، C = C الكينا، C-H sp³ الكانيس، C = O كاستيرس، C-O اسام كاربوكسيلات C-H اروماتيک.

BABI

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Stunting adalah masalah pertumbuhan pada anak dikarenakan malnutrisi atau kekurangan gizi dimana pada umur yang sama tinggi badan anak lebih pendek dibandingkan tinggi anak pada umumnya (Ariati, 2019). Data kemenkes, stunting di Indonesia tahun 2015 sebanyak 29% turun tahun 2016 1,5% menjadi 27,5% tetapi naik tahun 2017 sebanyak 29,6% tahun 2018 turun menjadi 28% dan tahun 2019 turun menjadi 27,67%. Hal ini masih tergolong tinggi karena WHO telah menetapkan negara dengan status gizi buruk maksimal 20%, sedangkan Indonesia melebihi batas normal (Kemenkes RI, 2018).

Seiring bertambahnya tahun jaman semakin maju yang berdampak pada pola hidup terutama pola makan yang cenderung instan dan pilih-pilih tanpa memperhatikan dampak akibatnya. Makanan cepat saji mengandung lemak jenuh yang dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas. Ditambah juga adanya radikal bebas di lingkungan sekitar misalnya asap rokok, polusi udara. Penyebab malnutrisi pada anak zaman millennial adalah camilan yang kurang bergizi. Oleh karena itu solusi masalah tersebut dapat dikurangi dengan mengganti camilan yang kurang sehat menjadi camilan yang bergizi (Rohmatussolihat, 2015).

Fortifikasi salah satu upaya untuk menanggulangi masalah malnutrisi dengan cara mensubstitusi tepung daun kelor kedalam permen coklat (Arisman, 2004). Kelor mempunyai antioksidan terbanyak terutama pada daun yang mengandung 46 antioksidan, 18 asam amino, 36 senyawa anti inflamasi dan 90 mineral dan

vitamin (Krisnadi, 2015). Daun kelor diolah menjadi tepung agar lebih awet dan tahan lama begitupun nutrisinya semakin meningkat.

Penambahan tepung kelor pada makanan masih terkendala rasa karena bau langu dari daun kelor. Menurut Yulianti (2008) penambahan perisa dalam produk makanan dan minuman kelor sangat penting untuk menetralkan bau langu kelor. Cara menyamarkan bau langu daun kelor yaitu cokelat karena cokelat mempunyai aroma yang dominan. Cokelat adalah produk olahan dari kakao yang mengandung senyawa fenolik dan sumber flavanol sebagai antioksidan alami. Keterkaitan dengan ayat al-Qur'an yaitu Allah telah menciptakan bermacam-macam tanaman di muka bumi dengan segala manfaat dan tanpa ada yang sia-sia. Salah satunya Allah menciptakan tanaman kelor (*Moringa oleifera*) agar manusia memikirkan penciptanya dan bersyukur kepadanya. Sebagaimana firman Allah dalam al-Qur'an surat Luqman [31] ayat 10 :

خَلَقَ السَّمَاوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۗ وَالْأَرْضَ فِي أَرْوَاسٍ ۗ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝

Artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik”.

Tafsir al-Qur'an surat Luqman [31] ayat 10 : Dia menciptakan langit yang kokoh sejadat raya tanpa tiang dan tidak roboh sedikitpun, lalu menciptakan gunung-gunung yang besar, tinggi sebagai paku bumi agar bumi tidak bergeser. Demikian juga bumi, terdapat beberapa macam binatang dan tumbuhan dalam berbagai bentuk, jumlah dan jenis. Tumbuhan tumbuh subur karena terkena air

hujan yang turun dari langit. Dia menciptakan tumbuhan yang baik salah satunya pohon kelor yang mempunyai segudang manfaat bagi makluknya (Muliati, 2019).

Antioksidan sangat dibutuhkan tubuh untuk menetralkan radikal bebas sebagai bentuk metabolisme oksidatif hasil reaksi kimia yang terjadi dalam tubuh. Antioksidan dapat mengurangi dampak buruk dari radikal bebas, sehingga anak tidak gampang terserang penyakit. Antioksidan alami dibuat dengan ekstrak tumbuh-tumbuhan dan bahan alami lainnya termasuk daun kelor (Yuliani and Dienina, 2015).

Sampel daun kelor didapatkan di Desa Balong Jeruk Kecamatan Kunjang, Kabupaten Kediri. Menurut Mendieta-Araica (2013) tanaman kelor tumbuh dengan lebat dan subur pada dataran rendah hingga 700 meter di atas permukaan laut. Variasi preparasi pengeringan dengan memanfaatkan sumber daya alam yang dapat diperbaharui dan lebih alternatif diantaranya kering matahari dan kering angin. Kering matahari dilakukan selama 21 jam dalam 3 hari (Saini et al., 2014), sedangkan kering angin dilakukan selama 336 jam dalam 14 hari (Rizkayanti et al., 2017).

Ekstraksi ultrasonik sangat efisien dan efektif daripada ekstraksi konvensional. Gelombang ultrasonik dapat meningkatkan hasil ekstraksi dan hemat pelarut. Menurut Peralta-Jiménez and Cañizares-Macías (2013) ekstraksi ultrasonik dapat meningkatkan 57,7% untuk kafein dan 43,6% untuk theobromin sedangkan ekstraksi konvensional menggunakan stirer hanya menghasilkan 12% kafein dan 23% theobromin untuk analisis produk coklat. Menurut Chooklin (2013) ekstraksi ultrasonik kandungan total fenolik 15,31% lebih tinggi dibanding ekstraksi konvensional.

Lama waktu ekstraksi dalam penelitian Dadi et al. (2018) pada *Moringa oleifera* bervariasi waktu 20 menit. Aktivitas antioksidan tertinggi pada menit ke 20 sebesar 336,5 mg/g. Oleh sebab itu dalam penelitian ini digunakan lama ekstraksi 20 menit.

Proses ekstraksi membutuhkan pelarut, pelarut yang digunakan adalah aquades karena sebagian besar antioksidan alami yang bersifat polar mudah larut dalam aquades. Menurut Sedjati (2017) penelitian aktivitas antioksidan pada *Sargassum sp.* Menggunakan pelarut metanol, etanol, air panas dan perebusan air 30 menit berturut-turut adalah 11%, 13%, 56% dan 81%. Hasil antioksidan tertinggi adalah menggunakan pelarut aquades dengan perebusan 30 menit. Uji aktivitas antioksidan dengan *1,1-difenil-2-pikrihidrazil* (DPPH) paling umum digunakan karena metode yang sangat sensitif, sampel yang dibutuhkan sedikit, mudah dan sederhana (Yuliani and Dienina, 2015).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan dengan mensubstitusi tepung daun kelor 500 mg kedalam coklat kemudian dilakukan ekstraksi ultrasonik selama 20 menit. Hasil ekstraksi diuji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH lalu diuji fitokimia untuk menentukan senyawa metabolit sekunder kemudian dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer FT-IR.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini, yaitu :

1. Berapakah nilai EC_{50} pada sampel kelor jamur, kelor angin, coklat, coklat kelor jamur dan coklat kelor angin?
2. Apa saja golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada sampel?
3. Apa saja gugus fungsi pada sampel hasil spectra FT-IR?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini, yaitu :

1. Mengetahui nilai EC_{50} pada sampel kelor jemur, kelor angin, cokelat, cokelat jemur dan cokelat angin
2. Mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada sampel
3. Mengetahui gugus fungsi pada sampel hasil spectra FT-IR?

1.4 Batasan Masalah

1. Daun kelor yang digunakan berasal dari daerah Kediri.
2. Preparasi sampel kering angin dan kering jemur.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan untuk memberikan informasi hasil penelitian kepada masyarakat mengenai cokelat kelor yang aman dikonsumsi anak-anak pada masa pertumbuhan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kelor (*Moringa Oleifera*)

2.1.1 Morfologi Tanaman Kelor (*Moringa Oleifera*)

Tanaman kelor berasal dari Agra dan Outh tepatnya di sebelah barat laut India, wilayah selatan pegunungan Himalaya, namun kelor tumbuh di semua negara tropis termasuk Timur Tengah bahkan Indonesia. Tanaman ini biasa disebut *drumstick* karena polongnya yang mirip dengan stik drum (Krisnadi, A.D.2015). *Moringa oleifera* banyak ditemukan di daerah tropis dan sub tropis bahkan di tanah yang paling keras (Bey, 2010). Morfologi *Moringa Oleifera* dapat dilihat pada gambar dibawah ini:



Gambar 2. 1 Daun kelor (*Moringa Oleifera*)

Klasifikasi Tanaman kelor (*Moringa Oleifera*) sebagai berikut

Klasifikasi tanaman kelor
Kingdom : *Plantae*
Divisio : *Spermatophyta*
Sub Divisio : *Angiospermae*
Kelas : *Dicotyledoneae*
Ordo : *Brassicales*
Suku : *Moringaceae*
Marga : *Moringa*
Jenis : *Moringa oleifera* Lam.

Allah berfirman dengan perintah untuk mempelajari sesuatu dalam al-Alaq (96) ayat 1-5 :

اقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ (1) خَلَقَ الْإِنْسَانَ مِنْ عَلَقٍ (2) اقْرَأْ وَرَبُّكَ الْأَكْرَمُ (3) الَّذِي عَلَّمَ بِالْقَلَمِ (4) عَلَّمَ الْإِنْسَانَ مَا لَمْ يَعْلَمْ (5)

Artinya : “*Bacalah dengan menyebut nama Tuhanku yang menciptakan. Yangmana Alloh telah menciptakan manusia dari segumpal darah. Bacalah , adapun Tuhanmu Allah adalah Dzat Yang Maha Mulya. Allah yang teah mengajarkan segala sesuatu yang manusia belum tahu lalu menjadi tahu*”. Q.S al-alaq (96) ayat 1-5

Berdasarkan ayat tersebut, Allah memerintahkan kepada seluruh umat manusia untuk selalu membaca, dalam artian berfikir secara sistematis dalam ciptaan-Nya. Pengetahuan manusia diperoleh dengan cara proses belajar, melalui observasi dengan alat indra (Baiquni, 1990). Oleh karena itu, kita akan mempelajari dan melakukan riset khususnya tentang antioksidan pada daun kelor (*Moringa oleifera*). Tujuannya supaya menambah wawasan dan ilmu pengetahuan betapa besar dan agung ciptaanNya.

2.1.2 Manfaat Kelor

Tanaman kelor yang mempunyai banyak manfaat, gizi dan nutrisi adalah bagian daun. Tanaman mendapat julukan *Tree For Life* karena bermanfaat di berbagai bidang misalnya: pangan, kecantikan dan lingkungan. Banyak masyarakat yang belum mengetahui segudang manfaatdari kelor karena kurangnya sosialisasi (Isnani and Muin, 2017).Mulai dari biji kelor, dapat digunakan bahan bakar biodiesel yang menggantikan minyak bumi(Nasir et al., 2010).Minyak kelor dapat digunakan untuk pembuatan salad, pembuatan parfum,

dan perawatan rambut. Orang barat mengenal kelor dari serbuk biji untuk menjernihkan air. Bijinya juga dapat dimakan, dipanggang, bahkan diseduh seperti pembuatan teh (Fahey, 2005).

WHO telah menetapkan kelor sebagai tanaman sehat bergizi dan suatu bahan pangan untuk menanggulangi malnutrisi. Di Afrika dan Asia tanaman ini sangat ditujukan pada ibu menyusui dan pada masa pertumbuhan anak. Dunia pengobatan tradisional merekomendasikan kelor untuk mengatasi berbagai penyakit. Kelor sebagai anugerah Tuhan yang dititipkan dari alam untuk kesejahteraan makhluk ciptaannya (Krisnadi, 2015).

Bidang kesehatan kelor sangat bermanfaat sebagai pengobatan herbal misalnya sebagai anti kanker payudara MCF7 (Adebayo et al., 2017), anti kanker (Khor et al., 2018), anti-hipertensi (Yanti, 2019), anti diabetes (Villarruel-López et al., 2018), kardioprotektif (Nandave et al., 2009), anti bakteri (Zaffer et al., 2014) dan menurunkan kolesterol (Ghasi et al., 2000; Ulfiah et al., 2020). Bidang pangan sebagai cemilan bernutrisi tinggi untuk ibu menyusui (Wahyuningtyas, 2019). Substitusi tepung daun kelor pada pakan ayam (Satria et al., 2016).







2.1.3 Kandungan Senyawa Daun Kelor

Zat kimia yang bermanfaat dalam daun kelor antara lain: steroid, flavonoid, steroid, alkaloid, saponin dan antarquinon. Daun kelor juga mengandung asam amino, mineral dan kaya akan antioksidan (Kasolo et al., 2010). Kandungan antioksidan pada kelor antara lain : vitamin A, B, B₁, B₂, B₃, B₆, C, K, *Arginine*, *Alanin*, *Asam Indole Acetic*, *Alpha-carotene*, *Beta-sitosterol*, *Beta-carotene*, *Campesterol*, *Caffeoylquinic Asam*, *Chromium*, *Delta-7-*

Avenasterol, Delta-5-Avenasterol, Delta-5-Avenasterol, Glutathione, Histidine, Indoleacetonitrile, Kaempferal, Klorofil, Lutein, Leusin, miristat-Asam, Metionin, Proline, palmitat-Asam, Prolamine, Selenium, Rutin, Quercetin, Triptofan, Treonin, Xanthophyll, Xanthins, zeaxanthin, Zeatin, Zinc(Krisnadi. 2015).

Daun kelor lebih praktis dan tahan lama apabila diolah menjadi tepung. Nilai gizi dan nutrisi lebih tinggi tepung daun kelor dibandingkan dengan daun kelor segar karena kadar air telah menguap dan konsentrasi tepung daun kelor meningkat. Sehingga untuk dijadikan bahan substitusi pada makanan, tepung daun kelor sangat praktis dan efisien (Sarwatt et al., 2002).

Tabel 2. 1Perbandingan nilai gizi 100 gram daun kelor segar dan 100 gram tepung daun kelor

Daun kelor segar	3x kalium pisang	4 x vitamin A wortel	3x zat besi bayam	7x vitamin C jeruk	4x kalsium susu	2x protein yogurt
						
Tepung Daun Kelor	15 x kalium pisang	10x vitamin A wortel	25x zat besi bayam	0,75x vitamin C jeruk	17x kalsium susu	9x protein yogurt

Sumber (Bey, 2010)

2.1 Ekstraksi Ultrasonik

Ekstraksi ultrasonik merupakan metode ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik berfrekuensi 20 kHz – 500 MHz dengan getaran tinggi. Prinsip kerja ultrasonik adalah mengamati sifat gelombang ultrasonik yang merambat melalui medium yang dilewati. Ketika gelombang merambat, medium yang dilewati terjadi getaran yang menjadi pengadukan yang intensif. Gelombang ultrasonik menghasilkan gelembung kavitas yang pecah di dekat dinding sel maka cairan

yang bergerak cepat dapat menimbulkan pecahnya dinding sel menuju ke pelarut (Lickiss, 1990).

Keunggulan ekstraksi ultrasonik dibanding ekstraksi konvensional, Soxhlet yaitu waktu proses lebih efisien, cepat, permeabilitas tinggi, meningkatkan senyawa alkaloid dan fenolik, volume pelarut yang dibutuhkan sedikit dan menghasilkan nilai rendemen tinggi. Suhu rendah yang meminimalisir hilangnya panas, penguapan zat serta mempertahankan zat aktif (Priego Capote and Luque de Castro, 2006).

Tabel 2. 2 Penelitian terdahulu variasi waktu lama ekstraksi ultrasonik

Sumber	Sampel	Variasi waktu	Hasil
(Hammi et al., 2019)	<i>Moringa oleifera</i>	20,30 dan 40 menit	Antioksidan terbesar pada menit ke 20 yaitu $6,87 \pm 0,32$
(Dadi et al., 2018)	<i>Moringa oleifera</i>	10, 20 dan 30 menit	Antioksidan menit ke 20 sebesar 336,5 mg/g

2.2 Perananan Cokelat

Cokelat adalah olahan dari kakao yang mengandung banyak mengandung flavonoid, saponin, triterpenoid, alkaloid, kafein, theobromine (Kayaputri et al., 2014). Senyawa aktif cokelat antara lain theobromine, kafein, phenylethylalanine, methyl-xanthine dapat mengurangi kelelahan dan mood menjadi baik sehingga dapat dimanfaatkan sebagai obat anti depresi (Tsang et al., 2019). Kandungan antioksidan pada dark chocolate adalah flavonoid yang mempunyai oligomer berupa procyanidin yang dapat menurunkan tekanan darah tinggi (Erti Siti Rohmah et al., 2017).

Dunia kesehatan manfaat coklat antara lain : kandungan theobromine dalam coklat dapat meningkatkan sistem imun atau antibodi (Camps-Bossacoma et al., 2018). Konsumsi coklat dapat meminimalkan resiko terjadinya stroke (Larsson et al., 2012), menurunkan risiko penyakit kardiovaskular (Buijsse et al., 2010). Menjadikan mood lebih baik dan meningkatkan kemampuan kognitif (Scholey et al., 2010). Cokelat dapat mencegah penyakit alzheimer (Martorell et al., 2013). Menurunkan tekanan darah (Ried et al., 2010), menjaga kesehatan kardiovaskular (Keen et al., 2005), mencegah kanker akibat radikal bebas (Mostofsky et al., 2017). Fortifikasi pangan coklat misalnya ditambahkan pada susu, permen, minuman, es krim (Ide, pangkalan. 2008, n.d.).

2.3 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat mendonorkan elektron kepada radikal bebas tanpa memutus reaksi rantai. Antioksidan sebagai pahlawan pelindung molekul normal dengan cara mengalihkan perhatian radikal bebas. Molekul antioksidan memiliki elektron yang mudah diambil, sehingga radikal bebas lebih tertarik dengan antioksidan (Winarsi, 2005).

Sumber antioksidan dibagi mejadi dua yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami berasal dari ekstraksi bahan alam yang kandungan antioksidannya lebih tinggi dibanding antioksidan sintetik dan tidak memiliki efek samping. Antioksidan alami terdiri dari asam fenolat (fenol), flavonoid, tanin dinamakan polifenol (Mohammed and Manan, 2015). Antioksidan sintetik dapat diperoleh dari hasil sintesa reaksi senyawa kimia misalnya BHT, TBHQ, PG

dantokoferol tetapi kelemahan antioksidan sintetik ini mempunyai efek samping karsinogenik (Kumalaningsih, 2006).

Salah satu tanaman yang mengandung antioksidan tinggi adalah *Moringa oleiferayang* mempunyai 46 antioksidan (Kumalaningsih, 2006). Antioksidan dapat menyelamatkan sel tubuh dari penyakit, karena timbulnya penyakit sebagian besar ditimbulkan oleh radikal bebas berlebih(Rohmatussolihat, 2015).

2.4 Radikal Bebas

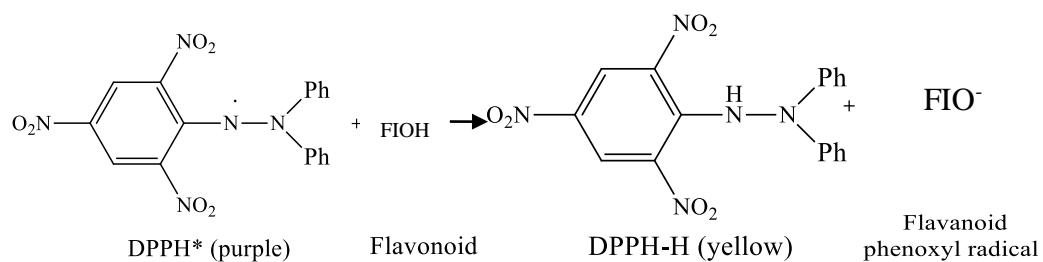
Radikal bebas adalah suatu molekul yang kelebihan elektron bebas sehingga tidak stabil dan sangat reaktif. Radikal bebas apabila bertemu dengan molekul non radikal maka akan terbentuk radikal baru begitu seterusnya disebut reaksi berantai. Reaksi berantai ini terus berlanjut terus menerus sampai radikal bebas ini dapat diredam oleh antioksidan tubuh. Bila ada dua radikal bebas bertemu maka akan membentuk ikatan kovalen(Yuslianti, 2018).

Sumber radikal bebas terdiri dari dalam sel tubuh sendiri dan dari luar tubuh yaitu lingkungan. Radikal bebas dari dalam tubuh dapat terbentuk pada proses metabolisme sel, oksidasi enzimatis, transport elektron pada mitokondria. Sedangkan radikal dari luar tubuh misalnya asap rokok, sinar ultraviolet, radiasi, ozon, asap kendaraan bermotor, senyawa hasil pemanggangan, makanan dan minuman cepat saji atau *junk food*, pewarna dan zat kimia klorotetrafluorida (Wijeratne et al., 2005).

2.5 Mekanisme Antioksidatif

Senyawa DPPH berperan sebagai radikal bebas sedangkan sampel berperan sebagai antioksidan. Antioksidan memiliki dua peran penting yaitu secara

kimiadan biologi. Secara kimia yaitu senyawa antioksidan dari sampel memberi satu elektron hidrogen untuk mengubah radikal DPPH mejadi lebih stabil. Secara biologis disebut antioksidan sekunder yaitu senyawa yang mampu meredam reaksi oksidatif sebelum mengakibatkan kerusakan sel berujung penyakit. Berikut adalah reaksi antara DPPH dengan antioksidan flavonoid :



Gambar 2. 2Reaksi radikal dengan antioksidan(Amić et al., 2003, p.)

2.6 Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan terdapat beberapa macam diantaranya secara *in-vitro* seperti metode DPPH, metode ABTS, aktivitas penghambatradikal hidroksil. Metode DPPH(*1,1-dipheyl-2-picrylhydrazyl*) dipilih karena sebagai uji aktivitas antioksidan yang cepat, sederhana, sensitif, tidak membutuhkan banyak sampel, biaya terjangkau dan mudah cara didapat(Prakash et al., 2001).

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\% \dots\dots (2.1)$$

Tabel 2. 3 Rentang kekuatan antioksidan

Intensitas	Nilai EC₅₀
Sangat kuat	< 50 µg/L
Kuat	50 – 100 µg/L
Sedang	100 – 150 µg/L
Lemah	150 – 200 µg/L
Sangat lemah	>200 µg/L

Sumber (Molyneux, 2004)

Panjang gelombang diuji terlebih dahulu karena setiap reagen DPPH belum tentu memiliki panjang gelombang yang sama. Menurut Yuliani and Dienina (2015) pengukuran DPPH mempunyai λ_{maks} sebesar 517,6 nm. Menurut Ajibola (2015) pengukuran λ_{maks} DPPH sebesar 517 nm. Pengukuran λ_{maks} dan absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang 200-400 nm pada rentang ultraviolet dan 400-800 nm pada sinar tampak (Sastrohamidjojo, 1991).

2.7 Waktu Paruh Obat

Waktu paruh obat yaitu waktu yang diperlukan obat untuk dimetabolisme. Efektivitas obat menggunakan bahan alam lebih lama diserap tubuh daripada obat sintetis. Setiap obat bahan alam memiliki waktu paruh yang berbeda-beda. Menurut penelitian Sugiharti and Sundari, (2018) pemberian rempah kunyit dan jahe asam dapat menurunkan skala nyeri haid primer. Kunyit asam lebih efektif dalam menurunkan nyeri haid dibandingkan rempah jahe asam.

Waktu paruh obat sintetis salah satunya ibuprofen sebagai obat antiinflamasi, antianalgesik dan antipiretik. Absorpsi ibuprofen dalam lambung berlangsung 1-2 jam dalam plasma, sehingga ibuprofen perlu dikonsumsi 3-4 kali sehari untuk mempertahankan kadarnya dalam tubuh (Sumargo and Hadisoewignyo, 2011).

Bahan alam secara empiris dimanfaatkan untuk pengobatan, namun memiliki kelarutan rendah dalam air dan kurangnya kemampuan permeabilitas menembus *barrier* absorpsi. Sistem penghantar obat baru merupakan sistem penghantar obat baru dengan cara mengontrol pelepasan obat sehingga aktivitas farmakologis menjadi lebih baik (Ramadon and Mun'Im, 2016).

2.8 Uji Fitokimia Menggunakan Reagen

Uji fitokimia adalah metode pengujian yang digunakan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa metabolit sekunder pada suatu sampel. Metabolit sekunder adalah produk metabolisme sebagai pembeda pada taksonomi dan tidak mempunyai peran penting dalam pertumbuhan dan perkembangan suatu organisme. Metode yang digunakan berupa penambahan reagen sehingga terbentuk perubahan warna maupun bentuk.

2.8.1 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa yang bersifat basa mengandung satu atau lebih atom heterosiklik yang berasal dari asam amino. Struktur alkaloid termasuk bentuk senyawa heterosiklik. Alkaloid dapat dibedakan menjadi dua yaitu alkaloid sejati dan protoalkaloid. Alkaloid sejati yaitu yang memiliki cincin heterosiklik (A Ilyas.2013.).

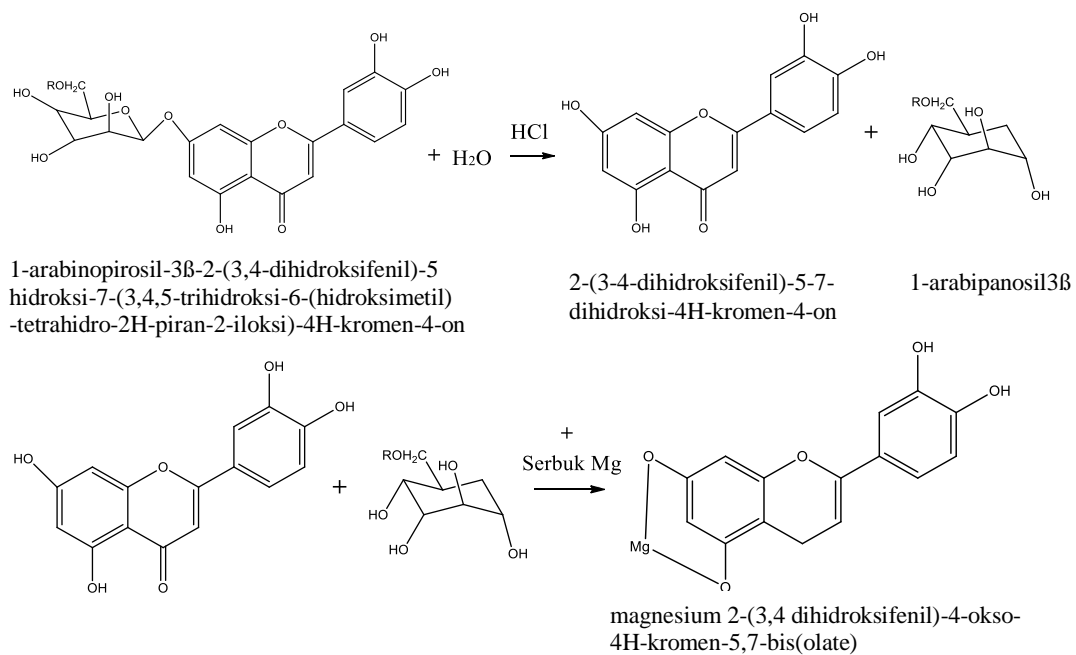
Senyawa alkaloid basa hanya larut pada pelarut organik meskipun beberapa pseudoalkaloid dan protoalkaloid larut dalam air. Garam alkaloid dan alkaloid kuaterner sangat larut dalam air. Sifat kimia dari senyawa alkaloid adalah basa yang tergantung pada pasangan elektron pada nitrogen (A Ilyas.2013).

Prinsip uji alkaloid adalah pengendapan dengan logam berat menggunakan pereaksi dragendorff dan mayer. Dragendorff adalah logam berat yang mengandung bismut (Sirait, 2007). Ikatan kovalen koordinat dengan ion logam terbentuk karena adanya pasangan elektron bebas (Marliana.2012). Hasil positif apabila ditambahkan Dragendorff terbentuk endapan jingga dan ditambahkan mayer terbentuk endapan kekuning-kuningan.

2.8.2 Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah senyawa yang paling besar dalam golongan fenolik alam. Struktur senyawa flavonoid mempunyai struktur C₆-C₃-C₆. Setiap C₆ adalah cincin benzena yang dihubungkan oleh C₃ dan merupakan rantai alifatik. Flavonoid memiliki sifat yang khas yaitu terikat pada gula seperti glukosa, galaktosa dan gula sederhana lainnya (A Ilyas.2013).

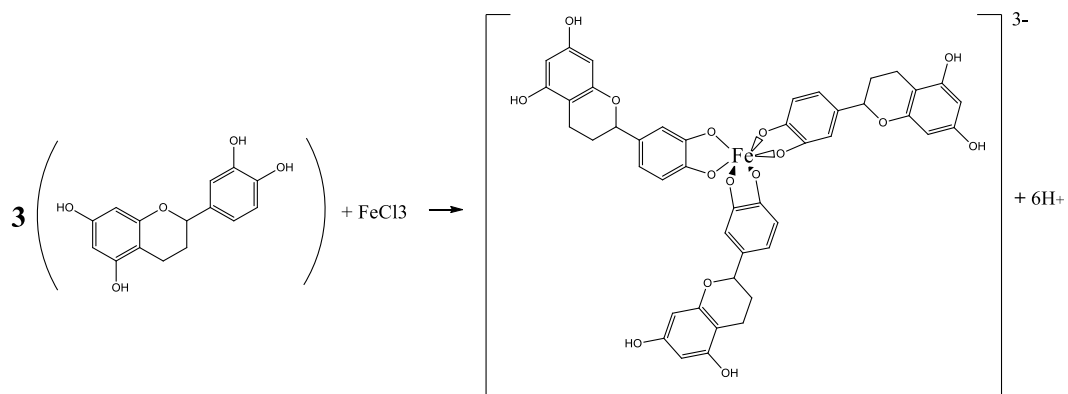
Flavonoid disebut juga sebagai glikosida dan sebagai pereduksi yang baik, dapat menghambat reaksi oksidasi dan mempunyai kemampuan antioksidan. Flavonoid adalah senyawa polar karena mempunyai gugus hidroksil atau gula (glikosida flavonoid) sehingga dapat larut dalam pelarut polar. Flavonoid dalam bentuk aglikon seperti flavanon, isoflavon dan flavanol cenderung bersifat polar. Diantaranya flavon memiliki oksidasi rendah. Dugaan reaksi yang terjadi antara senyawa Flavonoid dengan logam Mg dan HCl pekat dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 2. 3 Dugaan reaksi antara flavonoid, logam Mg dan HCl pekat (Mariana and Andayani, 2013).

2.8.3 Tanin

Tanin adalah senyawa golongan polifenol karena mempunyai 2 cincin aromatik yang diikat oleh tiga atom karbon. Tanin tersebar dalam tumbuhan misalnya sayuran, buah-buahan dan biji-bijian. Pada umumnya tanin terdapat pada daun, kulit kayu, batang dan buah. Tanin banyak digunakan dalam industri anggur yaitu sebagai penstabil warna, penyeimbang kompleksitas anggur dan penghambat enzim tertentu dalam buah-buahan (Luz Sanz, 2008). Tanin mempunyai kemampuan mengendapkan protein dan alkaloid (Amarowicz, Ryszard, 2007). Berikut adalah reaksi pengujian tanin :



Gambar 2. 4Dugaan reaksi antara tanin dengan FeCl_3 (Perron and Brumaghim, 2009).

Reaksi ikatan kovalen koordinasi antara atom Fe dengan 6 atom O dari tanin. Disebut senyawa koordinasi karena melibatkan pembentukan ikatan kovalen antara logam dan non logam. Atom Fe bertindak sebagai logam sedangkan atom O sebagai non logam. Senyawa kompleks yang bertindak sebagai atom pusat adalah Fe yang menerima donor elektron sedangkan atom O mendonorkan elektron. Ligan yaitu ion netral yang dikoordinasikan pada atom pusat. Ligan O bertindak sebagai basa lewis yang mendonorkan PEB (Pasangan Elektron Bebas). Terisi 6

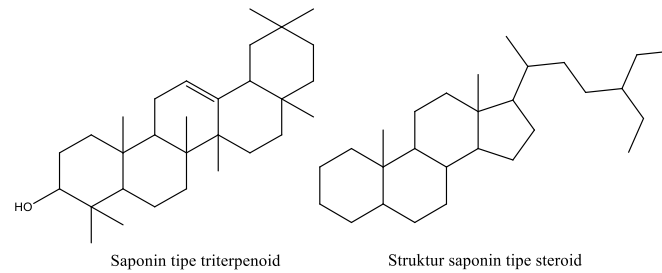
pasang elektron O karena pembentukan senyawa kompleks Fe^{3+} membentuk hibridisasi $d^2 sp^3$ (Effendy.2007).

Ion bertindak Fe^{3+} sebagai asam (kation) sedangkan OH^- bertindak sebagai basa (anion). Semakin sedikit jumlah elektronnya, semakin kecil ukurannya, semakin keras sifatnya karena semakin kuat tarikan inti dengan awan elektron. Ion Fe^{3+} cenderung berikatan dengan O karena O bersifat basa keras. Hal ini sesuai dengan aturan Pearson bahwa asam yang bersifat keras lebih menyukai basa yang bersifat keras dan begitupun sebaliknya (Latupeirissa and Latupeirissa, n.d.2012).

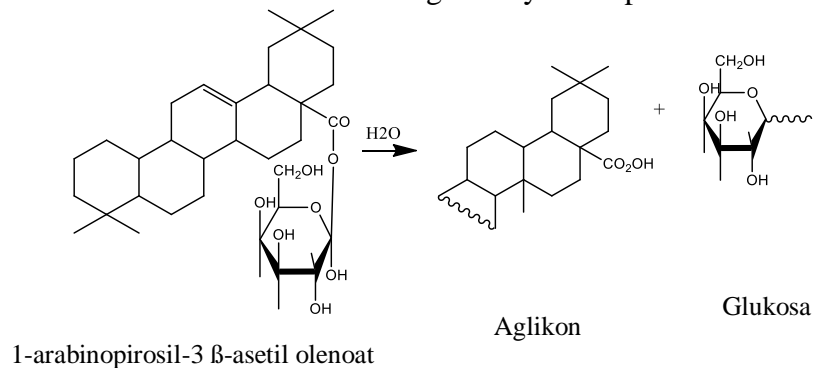
2.8.4 Saponin

Saponin adalah senyawa glikosida kompleks yang terdiri dari hasil kondensasi gula dengan senyawa hidroksil organik. Saponin disebut surfaktan karena bersifat seperti sabun (TS Hawley, n.d.2004). Saponin dapat ditemukan pada tumbuhan, akan terbentuk buih apabila direaksikan dengan air dengan cara dikocok(Gunawan, 2018).

Dampak positif saponin dalam bidang kesehatan antara lain sebagai antioksidan, agregasi trombosit, anti inflamasi, sitotoksik dan menghambat karies gigi (Guclu-Ustundag and Mazza, 2007). Sifat saponin sangat larut dalam air dan tidak larut dalam eter rusak apabila dipanaskan (Bogoriani, W. (2008), n.d.).Saponin dibagi menjadi dua kelompok yaitu saponin triterpenoid yang ditemukan pada tanaman dikotil sedangkan saponin steroid pada tanaman monokotil (Sparg *et al.*, 2004).



Gambar 2. 5 Golongan senyawa saponin

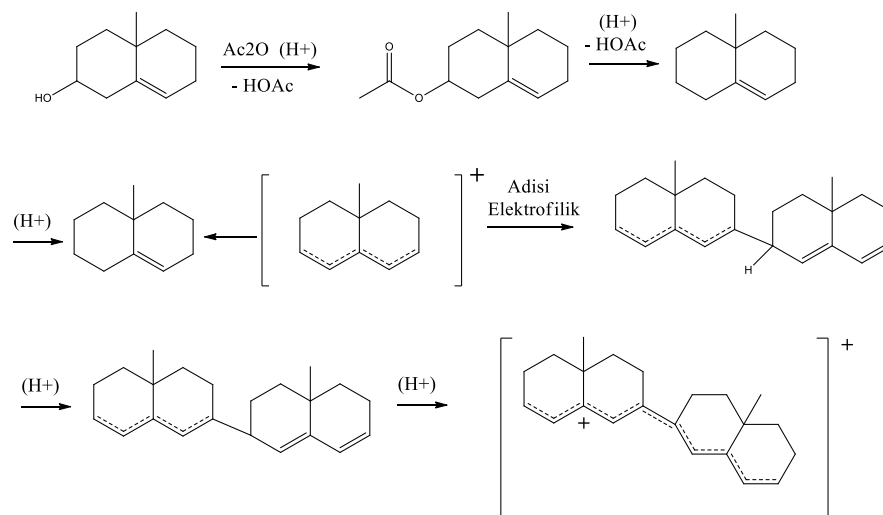


Gambar 2. 6 Reaksi hidrolisis saponin dalam air (Illing, 2017)

2.8.5 Triterpenoid/Steroid

Triterpenoid adalah golongan senyawa dengan jumlah enam isopren dan memberikan aktivitas biologis yang penting. Senyawa ini berbentuk kristal dengan titik leleh tinggi. Steroid merupakan senyawa yang terbentuk dari jalur terpenoid tetapi mempunyai stereokimia yang unik dan menarik. Senyawa steroid dan turunannya berperan penting dalam kehidupan sebuah organisme (A Ilyas.2013).

Hasil positif steroid jika ekstrak ditambahkan dengan Lieberman Burchard menghasilkan perubahan warna hijau, sedangkan positif triterpenoid terbentuk cincin coklat (Madjid et al., 2020).



Gambar 2. 7Dugaan reaksi terpenoid dengan Liebermann Burchard

Terbentuknya cincin pada kedua pelarut dikarenakan adanya penggabungan dengan karbokation dan pelepasan H_2O . Penambahan asam asetat anhidrat menghasilkan pembentukan gugus asetil. Gugus asetil lepas dan terbentuk ikatan rangkap. Terjadi pelepasan gugus hidrogen bersamaan dengan elektronnya sehingga ikatan rangkap berpindah mengalami resonansi berperan sebagai karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik lalu terjadi pelepasan atom hidrogen. Gugus hidrogen dan elektronnya lepas sehingga senyawa mengalami perpanjangan konjugasi ditandai dengan adanya cincin warna coklat pada perbatasan dua pelarut (Siadi, 2012).

2.9 Identifikasi Senyawa Metabolit dengan Spektrofotometer FT-IR

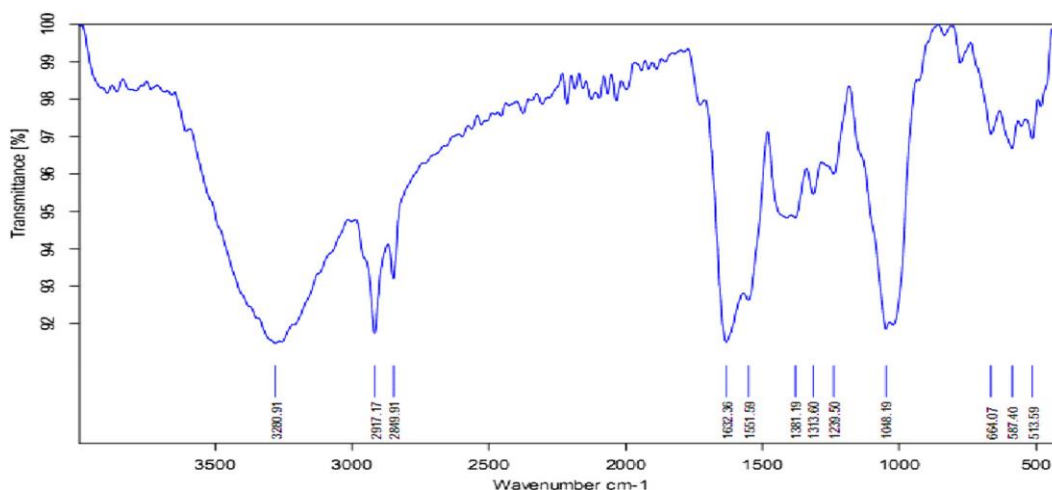
Spektrofotometer inframerah adalah instrumen yang digunakan mengidentifikasi senyawa aktif menggunakan bantuan Infra merah. Frekuensi dinyatakan dalam bilangan gelombang $4000-400\text{ cm}^{-1}$. Massa atom yang terikat dan tegangan ikatan mempengaruhi jumlah energi untuk meregangkan suatu ikatan. Bilangan gelombang dihitung dengan persamaan hukum Hooke. Semakin

kuat suatu ikatan maka diperlukan energi yang besar untuk memutuskannya (Gunawan and Azhari, n.d.).

Prinsip kerja FTIR yaitu mengidentifikasi gugus fungsi senyawa dengan absorbansi inframerah. Gugus fungsi dapat dibedakan karena pola absorbansi tiap senyawa berbeda. Ikatan berbeda dapat terdeteksi dengan menghasilkan vibrasi yang berbeda sehingga memiliki frekuensi vibrasi dengan pita serapan yang berbeda (Sankari, G., E dkk. 2010).

Penelitian terdahulu hasil karakterisasi FT-IR pada serbuk *Moringa leifera* yaitu bilangan gelombang 3280 cm^{-1} menunjukkan adanya OH, bilangan gelombang 2849 dan 2917 cm^{-1} adanya C-H *stretching*. Bilangan gelombang 1551 dan 1632 cm^{-1} adanya C=C aromatik *stretching*. Bilangan gelombang 1381 cm^{-1} menunjukkan adanya CH sp³, 1239 cm^{-1} menunjukkan adanya C-O (Bello et al., 2017).

Gambar 2. 8FT-IR pada daun moringa oleifera (Bello et al., 2017)



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Fisik Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker glass 100 ml, beaker glass 100 mL dan 500 mL, panci, baskom steam, bantak, baskom adonan, neraca analitik, spatula, kaca arloji, vial, tabung reaksi beserta tutup, pengaduk, vorteks, corong pisah, inkubator, pipet volume 1, 5 dan 10 mL, hot plate, seperangkat alat ultrasonik, peralatan freeze dry dan seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis.

3.2.2 Bahan

Bahan sampel untuk membuat cokelat kelor adalah tepung kelor dan dark chocolate merk Tulip. Bahan-bahan kimia yang digunakan meliputi aquades, etanol pa, metanol, kertas saring, alumunium foil, DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), asam askorbat, HCl 37% pa, HCL 1%, H₂SO₄ pekat, serbuk logam Mg, kloroform, Liberman, pereaksi Mayer dan Dragendroff.

3.3 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui tahapan-tahapan berikut:

1. Preparasi sampel,
2. Penentuan kadar air,
3. Pembuatan cokelat kelor,
4. Ekstraksi ultrasonik sampel dengan waktu 20 menit
5. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200 dan 250 ppm,
6. Uji fitokimia semua sampel dengan menggunakan reagen
7. Karakterisasi menggunakan spektrofotometer FT-IR
8. Analisis data.

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Preparasi Sampel (Mishra et al., 2012)

Daun kelor/*Moringa oleifera* dipetik di pagi hari sebanyak 2 kg lalu dicuci dengan air sampai bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel kemudian ditiriskan. Variasi preparasi yaitu kering jemur dan kering angin. Pengeringan jemur dilakukan selama 21 jam dalam 3 hari dengan kontak sinar matahari secara langsung sedangkan pengeringan angin dijemur selama 336 jam dalam 14 hari tanpa kontak sinar matahari. Kemudian digiling menggunakan mesin penggiling dengan ayakan 90 mesh sehingga dihasilkan tepung daun kelor siap pakai.

3.4.2 Uji Kadar Air

Cawan porselen dioven suhu 105° C selama 15 menit lalu disimpan dalam

desikator 10 menit dan ditimbang dan dilakukan sampai berat cawan konstan.

Sampel 1 gram dimasukkan cawan porselen di oven suhu 105° C selama 15 menit, lalu sampel ditaruh dalam desikator 10 menit kemudian ditimbang. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan. Kadar air *Moringa oleifera* dihitung dengan persamaan 3.1

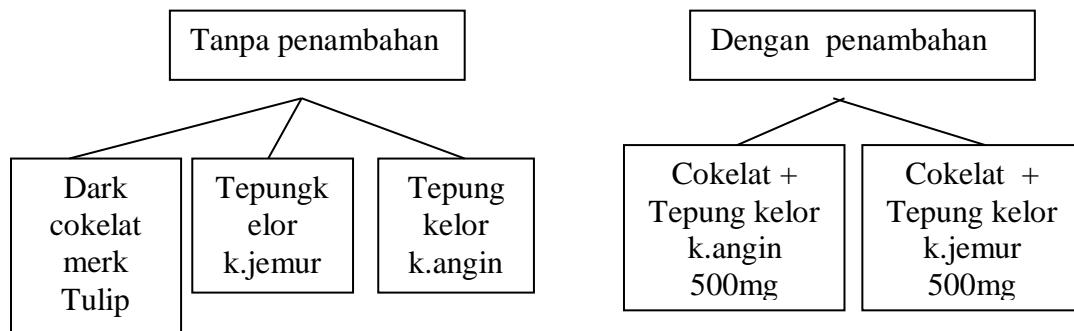
$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \text{ OAC (2006)} \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan : a= bobot cawan kosong
 b= bobot cawan + sampel sebelum dikeringkan
 c= bobot cawan + sampel setelah dikeringkan

3.4.3 Pembuatan Cokelat Kelor (De Clercq et al., 2012)

Cokelat yang digunakan adalah darkchocolate compound merk Tulip. Cokelat satu kotak batangan 166,67 gram dipotong kecil-kecil kemudian dilelehkan dengan metode *steaming*. Dipanaskan panci yang berisi aquades dengan syarat tidak sampai mendidih, lalu di atasnya diletakkan wadah yang berisi cokelat yang telah dipotong kecil-kecil. Diaduk hingga meleleh secara sempurna, setelah itu dimatikan kompor dan diangkat wadah yang berisi cokelat.

Tepung daun kelor ditambahkan pada cokelat sebanyak 22 gram diaduk lagi sampai tercampur rata. Setiap satu cokelat kelor terdiri dari 4 gram dark cokelat merk Tulip dan 500 mg tepung kelor. 1 batang dark cokelat ditimbang massanya 166,67 gram menjadi 44 buah cokelat kelor. Maka penambahan tepung kelor $500 \text{ mg} \times 44 = 22.000 \text{ mg} = 22 \text{ gram}$. Setelah ditambahkan tepung kelor diaduk sampai rata sempurna dan dicetak. Ditunggu hingga mengeras lalu diambil dari cetakan dan siap dilakukan uji. Berikut adalah gambaran sampel :



Gambar 3.1 Gambaran Sampel

3.4.4 Ekstraksi Ultrasonik Cokelat Daun Kelor (Peralta-Jiménez and Cañizares-Macías, 2013)

Sampel permen coklat tepung kelor ditimbang 1 gram lalu dihaluskan dengan pisau hingga terbentuk serbuk kecil-kecil. Hasil serbuk dimasukkan ke beaker glass 25 mL dan ditambahkan 10 mL aquades lalu diaduk hingga larut sempurna. Larutan diekstraksi menggunakan bantuan ultrasonik dengan waktu 20 menit. Kemudian hasil ekstraksi disaring dengan kertas saring, pelarut diuapkan dengan metode rotary evaporator dengan kecepatan 50 rpm suhu 60°C dan tekanan pompa udara 800. Setelah itu dikerok dan disimpan pada vial lalu ditaruh pada lemari pendingin supaya tahan lama. Cokelat saja dan tepung kelor saja digunakan sebagai kontrol dan diperlakukan sama dengan sampel. Ekstrak pekat lalu dihitung rendemennya dengan persamaan 3.2

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.2)$$

3.4.5 Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

3.4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (Lailah, N.D. 2014)

Reagen DPPH 0,2 Mm sebanyak 1,5 mL dimasukkan ke tabung reaksi dan

ditambahkan etanol 4,5 mL ditutup rapat. Didiamkan selama 10 menit lalu dimasukkan dalam kuvet dan diukur absorbansi λ_{maks} dengan spektrofotometer UV-Vis. Hasil dicatat untuk tahap selanjutnya.

3.4.5.2 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel

a. Absorbansi Kontrol

Reagen DPPH 0,2 mM diambil 1 mL dimasukkan tabung reaksi lalu ditambahkan pelarut etanol 3 mL ditutup. Dilakukan inkubasi suhu 37°C selama waktu 30 menit kemudian dimasukkan kuvet lalu diukur absorbansi dengan λ_{maks} yang telah didapat.

b. Sampel Dengan Variasi Konsentrasi

Tiap-tiap sampel dibuat dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200 dan 250 ppm. Tabung reaksi disiapkan untuk masing-masing konsentrasi diisi 4,5 mL ekstrak dan ditambahkan reagen DPPH sebanyak 1 mL. Tabung reaksi tiap konsentrasi dihomogenkan menggunakan vorteks kemudian diinkubasi suhu 37°C selama waktu kestabilan. Larutan dimasukkan kuvet diukur absorbansi pada λ_{maks} . Data absorbansi dari tiap-tiap ekstrak dihitung persentase aktivitas antioksidan dengan persamaan 3.3

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Sample}}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100\% \dots\dots (3.3)$$

Tiap-tiap ekstrak dihitung IC_{50} pada persamaan regresi menggunakan program “*GraphPad prism5 software, Regression for analyzing dose-response data*”

c. Pemanding

Vitamin C atau asam askorbat diperlakukan persis sampel.

3.4.6 Identifikasi Metabolit Sekunder dengan Uji Fitokimia

3.4.6.1 Identifikasi Alkaloid(Hayati and Halimah, 2010)

Ekstrak permen coklat tepung kelor 3 mL dimasukkan tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 mL HCl 1% dan larutan dibagi menjadi dua tabung yaitu tabung I dan tabung II. Tabung I ditambah 2-3 tetes reagen Dragendroff sedangkan tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Apabila tabung I terbentuk endapan jingga dan tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan menunjukkan adanya alkaloid.

3.4.6.2 Identifikasi Favonoid

Ekstrak permen coklat tepung kelor 0,5 gram dimasukkan tabung reaksi dan dilarutkan 1-2 mL metanol 50%. Kemudian ditambahkan logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Jika larutan berwarna merah atau jingga menunjukkan adanya flavonoid.

3.4.6.3 Identifikasi Tanin

Ekstrak 1 mg dilarutkan dalam 1 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl 1%. Hasil positif menunjukkan perubahan warna menjadi hijau kebiruan.

3.4.6.4 Identifikasi Saponin

Sebanyak 0,1 gram ekstrak pekat aquades dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL aquades. Dikocok selama 10 detik. Diamati perubahan

yang terjadi, jika muncul busa ditambahkan 2 tetes HCl 2N. Hasil positif saponin apabila busa tetap stabil setelah pengocokan

3.4.6.5 Identifikasi Steroid/Triterpenoid

Ekstrak permen coklat tepung kelor 1 mL dimasukkan tabung reaksi kemudian dilarutkan 0,5 mL kloroform dan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Larutan ditambakan 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung. Apabila hasil seperti cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut maka menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan apabila terbetuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.

3.4.7 Karakterisasi Menggunakan Spektrofotometer FT-IR

Identifikasi gugus fungsi menggunakan spektrofotometer FT-IR dengan bilangan gelombang 4000-400 cm⁻¹. Perbandingan sampel tepung kelor jamur dan angin dan KBr (2%:98%). Selanjutnya ditambahkan KBr dan dimasukkan dalam *cell holder* pada instrumen FT-IR lalu dianalisa.

3.4.8 Analisis Data

Analisis data dilakukan menghitung persen (%) aktivitas antioksidan dari asil data absorbansi masing-masing ekstrak kasar dengan pembanding standart vitamin C atau asam askorbat. Tiap ekstrak digunakan konsentrasi 50, 100, 150, 200 dan 250 ppm. Setelah diperoleh data % aktivitas antioksidan pada tiap-tiap sampel dan pembanding lalu dilakukan perhitungan IC₅₀ menggunakan persamaan regresi. Sumbu (x) menyatakan log konsentrasi ekstrak sedangkan sumbu

(y) menyatakan % aktivitas antioksidan. Dianalisis nilai IC_{50} masing-masing sampel. Sampel yang mempunyai nilai IC_{50} rendah berarti memiliki aktivitas antioksidan tinggi dan sebaliknya. Kemudian membandingkan nilai IC_{50} sampel dengan pembanding bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan alami dan sintetik. Identifikasi golongan dilakukan secara kualitatif dengan uji reagen dengan sampel coklat saja, daun kelor saja, serta sampel yang memiliki IC_{50} rendah dan tinggi. Dianalisis gugus fungsi hasil FT-IR dengan membandingkan penelitian sebelumnya.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Proses pembuatan serbuk untuk memperbesar luas permukaan, sehingga ekstraksi dapat berjalan secara optimal. Sampel yang digunakan adalah cokelat batangan dark chocolate merk Tulip dan tepung daun kelor (*Moringa oleifera*) yang didapat di Desa Balong Jeruk, Kecamatan Kunjang, Kabupaten Kediri. Daun dipetik dari bawah pucuk atau tangkai pertama hingga tangkai ke tujuh yang masih hijau. Daun muda memiliki aktivitas antioksidan tinggi karena dipengaruhi oleh perkembangan jaringan sel pada tumbuhan (Natsir, 2018).

Hasil preparasi sampel ditunjukkan pada lampiran L.3.1. Pengerinan ini bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga aktivitas biologis dapat diminimalisir. Sampel kering terjadi perubahan warna menjadi hijau kecoklatan. Pengerinan dapat menyebabkan struktur sel sampel terjadi perubahan bentuk ukuran, densitas dan porositas bahan. Perubahan ukuran dan bentuk akan mempengaruhi sifat-sifat fisik dan transpor produk (Yan et al., 2008). Menurut Mabruroh (2015) semakin kecil ukuran sampel maka luas permukaan semakin besar sehingga proses ekstraksi dapat berjalan secara maksimal.

4.2 Penentuan Kadar Air

Penentuan kadar air digunakan untuk mengetahui kualitas produk dan seberapa banyak kandungan air yang terdapat dalam tepung daun kelor. Sampel berasal dari tumbuhan yang mengandung air dalam jumlah relatif tinggi. Kadar air

sebagai syarat utama mutu produk yang akan mempengaruhi daya tahan terhadap aktivitas mikroba dan daya simpan.

Tabel 4. 1 Hasil penentuan kadar air

Daun kelor <i>Moringa oleifera</i>	Warna <i>Moringa oleifera</i>	Kadar air (% b/b)
Daun basah	Hijau segar	64,93%
KJ	Hijau kekuningan	8,22%
KA	Hijau kecoklatan	9,79%

Kadar air sampel basah sebesar 64,93% sangat tinggi karena belum melalui proses preparasi. Menurut (Depkes, 2000) dan Keputusan Menteri Kesehatan RI No.661/Menkes/K/VII/1994 tentang persyaratan Obat Tradisional, serbuk memenuhi standart jika kadar air maksimum 10%. Kadar air kelor jemur dan kelor angin dibawah 10% sehingga dapat mengurangi aktivitas mikroba pada masa penyimpanan(Doymaz, 2008).

4.3 Ekstraksi Ultrasonik Cokelat Kelor

Metode ekstraksi pada penelitian ini menggunakan ekstraksi ultrasonik pelarut aquades selama 20 menit dengan 5 sampel yaitu kelor jemur, kelor angin, cokelat, cokelat jemur dan cokelat angin. Komposisi *dark chocolate coumpound* terdiri dari gula, lemak nabati, cokelat bubuk dan pengemulsi makanan. Lemak tidak larut dalam aquades sedangkan gula mempunyai daya larut yang tinggi terhadap aquades.

Prinsip ekstraksi ultrasonik yaitu perambatan gelombang ultrasonik merambat melalui medium yang dilewatinya dengan cara memberikan pengadukan intensif pada kelima sampel tersebut. Getaran ini menyebabkan terbentuknya gelembung. Pada kelompok kelor yaitu kelor jemur dan kelor angin

memiliki sedikit gelembung sedangkan pada kelompok cokelat antara lain cokelat, cokelat kelor jemur maupun cokelat angin memiliki banyak gelembung. Hal ini karena adanya komposisi glukosa dan cokelat bubuk yang larut dalam air yang dapat menyerap energi dari getaran ultrasonik. Semakin banyak gelembung maka sampel dapat menerima getaran ultrasonik lebih banyak. Gelembung ini disebut gelembung kavitasi menyebabkan gangguan fisik pada dinding sel maupun penurunan ukuran partikel. Efek tersebut berdampak pada penetrasi pelarut yang lebih baik dan dapat meningkatkan laju perpindahan massa dan perpindahan senyawa aktif dari sel ke pelarut atau proses pelarutan zat terlarut (Novak et al., 2008). Proses ini menggunakan pelarut akuades sehingga senyawa polar saja yang akan tersari. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* yang berfungsi untuk menguapkan pelarut. Hasil ekstraksi ditunjukkan tabel 4.2

Tabel 4. 2 Hasil rendemen hasil ekstrak sampel

Sampel	Berat Sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
KJ	30	7,411	24,7%
KA	30	7,793	25,97%
C	30	13,971	46,57%
CKJ	30	14,816	49,39%
CKA	30	13,051	43,50%

Keterangan

- KJ : Kelor Jemur
- KA : Kelor Angin
- C : Cokelat
- CKJ : Cokelat Kelor Jemur
- CKA : Cokelat Kelor Angin

Rendemen kelor jemur dan kelor angin tidak signifikan, berbeda 1,27% Rendemen cokelat 3,07% lebih tinggi daripada cokelat angin. Rendemen cokelat 2,82% lebih rendah daripada cokelat kelor jemur. Rendemen cokelat kelor jemur lebih tinggi 5,89% daripada rendemen cokelat angin. Menurut Babiker *et al.* (2018) bahwa pengeringan mempengaruhi kandungan senyawa metabolit

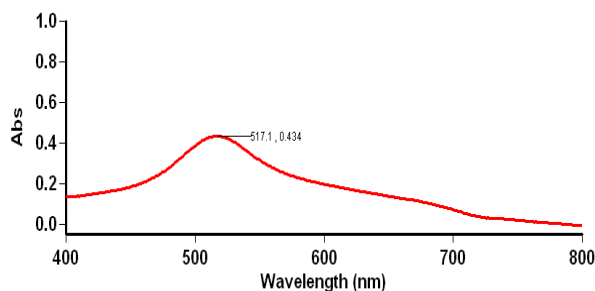
sekunder yang mana kelor jamur memiliki total fenolik 198,37 dan kelor angin 153,6 (mg GAE/100gram)

Kelompok coklat memiliki rendemen tinggi daripada kelompok kelor karena komposisi coklat terdiri dari gula, lemak nabati 20-25%, coklat bubuk dan pengemulsi makanan. Komposisi coklat terdapat glukosa yang mempunyai sifat higroskopis karena adanya gula reduksi yang memiliki gugus hidroksil sehingga mudah mengikat air (Kurniawan et al., 2018). Kandungan berat awal kelompok coklat lebih banyak zat terlarut yaitu gula dan coklat bubuk. Selain itu adanya lemak nabati 20-25% yang menyebabkan tidak mudah menguap sehingga rendemen kelompok coklat lebih besar daripada kelompok kelor.

4.5 Analisis Aktivitas Antioksidan

4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum untuk mengetahui panjang gelombang dengan nilai absorbansi tertinggi. Spektra hasil penentuan panjang gelombang maksimum DPPH 0,2 Mm sebesar 517,1 nm. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian menyatakan bahwa panjang gelombang maksimum DPPH dengan pelarut etanol adalah 517 nm (Handayani *et al.*, 2016 ; Sastrawan et al., 2013).



Gambar 4. 1 Hasil spektra penentuan panjang gelombang

4.5.2 Penentuan Aktivitas Antioksidan pada Sampel dengan Metode DPPH

Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan DPPH dengan panjang gelombang maksimum 517,1 nm. Masing-masing sampel menggunakan konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250 ppm. Larutan pada tabung reaksi dilapisi aluminium foil tujuannya untuk meminimalkan reaksi oksidasi oleh cahaya.

Larutan kontrol yang berisi etanol dan DPPH digunakan sebagai penentuan persen aktivitas antioksidan. Nilai absorbansi didapatkan dari pengukuran DPPH sisa yang tidak bereaksi dengan antioksidan sehingga untuk menentukan kuantitas DPPH yang bereaksi dengan antioksidan dihitung selisih antara absorbansi kontrol dengan absorbansi sampel. Secara kualitatif dapat dilihat dari perubahan warna ungu menjadi ungu pudar (Sakinah, 2017). Perubahan warna disebabkan karena senyawa antioksidan dari sampel telah mendonorkan atom hidrogen sehingga molekul DPPH tereduksi. Hasil pengukuran % aktivitas antioksidan ditunjukkan tabel 4.3

Tabel 4. 3 Hasil % Aktivitas Antioksidan

Sampel	% Aktivitas Antioksidan				
	50 ppm	100 ppm	150 ppm	200 ppm	250 ppm
KJ	6,77	13,16	21,91	28,74	35,62
KA	6,10	13,06	19,22	26,65	32,65
C	8,90	10,89	15,20	16,92	36,46
CKJ	-1,94	0,82	1,99	2,61	4,15
CKA	2,95	0,48	5,86	7,92	9,34

Keterangan

- KJ : Kelor Jemur
- KA : Kelor Angin
- C : Cokelat
- CKJ : Cokelat Kelor Jemur
- CKA : Cokelat Kelor Angin

Berdasarkan tabel 4.3 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi persen aktivitas antioksidan. Hal ini dikarenakan semakin

banyak senyawa metabolit sekunder yang mendonorkan atom H pada radikal DPPH.

Pada konsentrasi coklat kelor jamur menunjukkan hasil negatif, absorbansi sampel lebih besar daripada absorbansi kontrol. Hal ini berarti DPPH sisa pada sampel terdeteksi lebih banyak dari pada DPPH pada larutan kontrol. Terdapat beberapa faktor yang menyebabkan persen aktivitas antioksidan negatif, faktor pertama karena akuades bukan pelarut yang sesuai untuk mengekstrak senyawa flavonoid. Ketika proses ekstraksi, metabolit sekunder sulit terlarut pada akuades. Hal ini sesuai dengan penelitian Riyani and Adawiah (2015) konsentrasi flavonoid pelarut aquades 2,6104 mg/L; metanol 8,3625 mg/L; etanol 7,7128 mg/L; etil asetat 5,4023 mg/L. Menurut Ramadan and Mun'Im, (2016) bahwa senyawa alam memiliki kelarutan yang rendah dalam air serta kurangnya permeabilitas menembus permukaan absorpsi.

Faktor kedua pada saat pelarutan sampel hasil ekstraksi menggunakan etanol sulit terlarut walaupun pengadukan cukup lama dan masih terdapat butiran-butiran hasil ekstraksi. Hal ini dapat mempengaruhi deteksi pada spektrofotometer UV-Vis kurang maksimal yang menyebabkan absorbansi sampel lebih tinggi daripada absorbansi kontrol. Pada saat perhitungan persen aktivitas antioksidan

Faktor ketiga DPPH pada sampel melebihi batas waktu kestabilan, sampel dilakukan inkubasi selama 30 menit kemudian sampel diletakkan di ruang uji menunggu operator spektrofotometer UV-Vis dengan waktu yang tidak tentu. Sampel yang telah diinkubasi tidak langsung diuji spektrofotometer UV-Vis. Hal tersebut mempunyai dampak absorbansi DPPH sisa tidak stabil sehingga absorbansi sampel lebih tinggi daripada absorbansi kontrol. Menurut Noviana,

(2015) dari hasil reaksi terlihat pada menit ke 25 sampai 40 larutan memberikan absorbansi yang stabil sehingga pengukuran absorbansi DPPH yang tersisa dilakukan pada rentang waktu ini dan pada waktu tersebut reaksi sudah berjalan secara sempurna.

Persen aktivitas antioksidan yang diperoleh digunakan untuk menentukan EC_{50} . Log konsentrasi sebagai sumbu x dan persen aktivitas antioksidan sebagai sumbu y menggunakan *software GraphPad Prism 8* dengan regresi nonlinear.

Tabel 4. 4Nilai EC_{50} pada tiap-tiap sampel

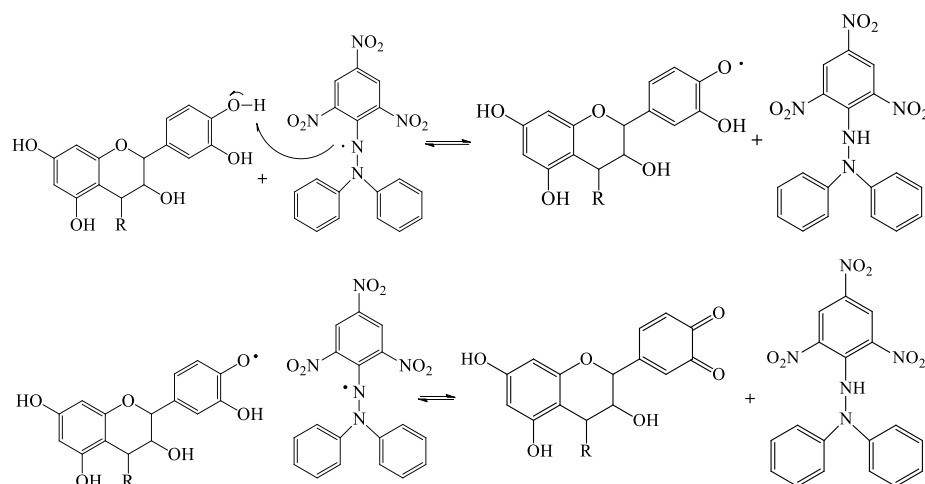
Sampel	EC_{50} (ppm)
Vitamin C	4,128 ppm
KJ	391,9 ppm
KA	442,1 ppm
C	419,4 ppm
CKJ	1065 ppm
CKA	1232 ppm

Keterangan KJ : Kelor Jemur
 KA : Kelor Angin
 C : Cokelat
 CKJ : Cokelat Kelor Jemur
 CKA : Cokelat Kelor Angin

Tabel 4.4 menunjukkan bahwa vitamin C memiliki nilai EC_{50} berarti vitamin C memiliki persen aktivitas yang sangat tinggi dan kuat dalam mereduksi DPPH. Vitamin C memiliki struktur yang lebih stabil dan mampu mendonorkan dua atom hidrogen kepada radikal DPPH. Vitamin C memiliki bentuk siklik dengan ikatan rangkap sehingga dapat mendelokalisasikan elektronnya (Yokozawa et al., 1998).

Nilai EC_{50} adalah nilai yang menunjukkan senyawa uji dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Larutan kontrol positif atau vitamin C untuk mengetahui seberapa kuat potensi aktivitas antioksidan. Nilai EC_{50} kelor jemur, kelor angin, cokelat, cokelat jemur dan cokelat kelor angin sangat tinggi hal ini

menandakan untuk mereduksi radikal DPPH sangat lemah dibanding vitamin C. Walaupun demikian tetap memiliki aktivitas antioksidan untuk meredam radikal DPPH. Hal ini dibuktikan dengan semakin bertambahnya konsentrasi maka persen aktivitas antioksidan semakin meningkat. Reaksi tanin sebagai antioksidan dengan DPPH ditunjukkan gambar 4.2



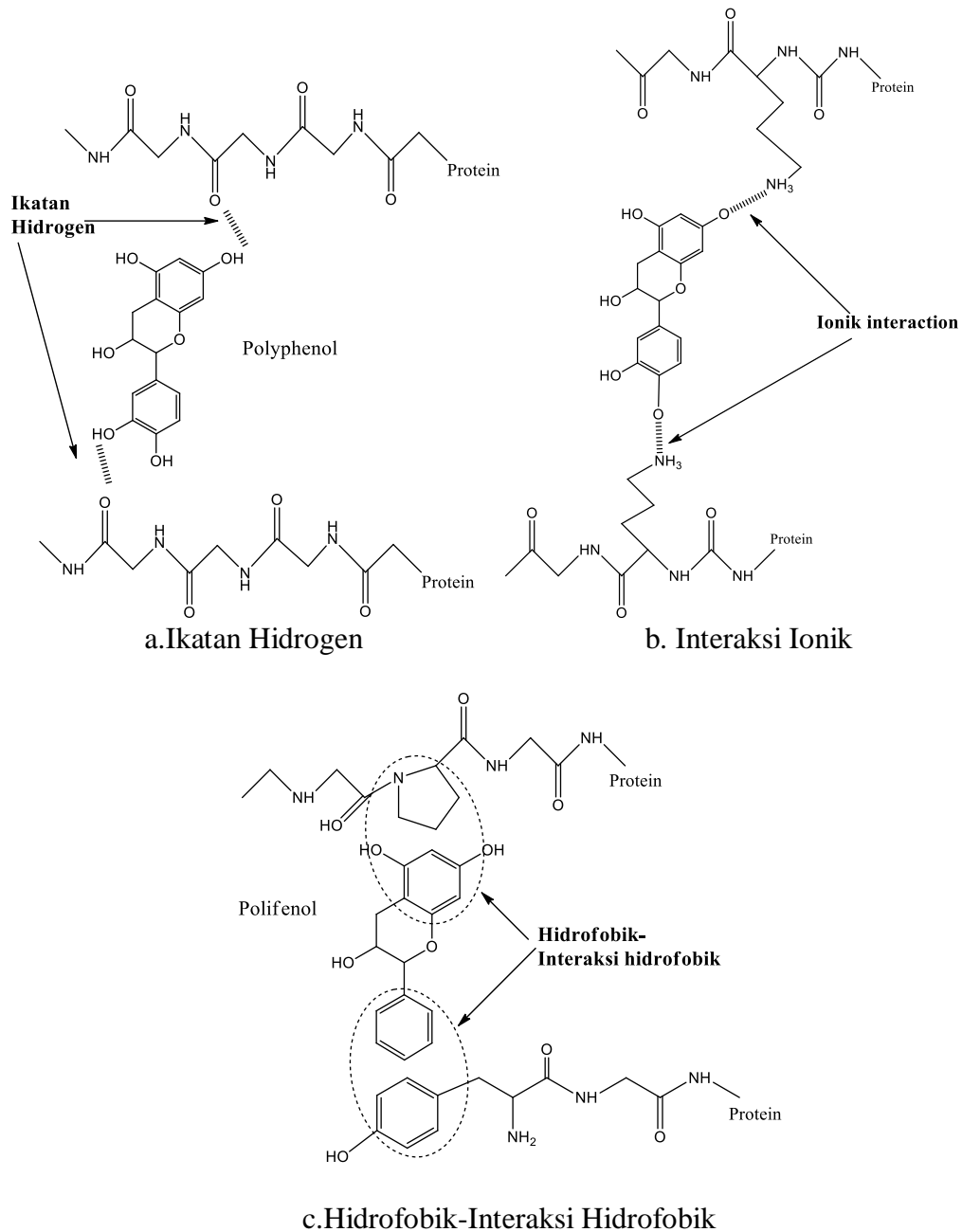
Gambar 4. 2Ilustrasi reaksi tanin (antioksidan) dengan DPPH (Mabruroh, 2015).

Reaksi antara antioksidan dan DPPH adalah reaksi oksidasi dan reduksi. Antioksidan mengalami oksidasi karena kehilangan satu elektron sehingga meningkatkan bilangan oksidasi. DPPH mengalami reduksi karena mendapat atom H dari antioksidan. Terjadi pemutusan ikatan sigma dan pembentukan ikatan sigma baru DPPH-H. Reaksi bawah menunjukkan antioksidan menyumbangkan atom H ke DPPH yang lain sehingga O menjadi radikal. Ikatan phi pada cincin masing-masing menuju O. Hal inilah yang menjadikan O rangkap 2 bukan lagi radikal.

Pengaruh pengeringan jamur dan angin menurut penelitian Babiker *et al*(2018) bahwa daunkelor setelah dijemur dapat mempertahankan total fenolik. Pengeringan jamur dapat mempertahankan total fenolik, mengurangi aktivitas

radikal bebas, meskipun terjadi penurunan kandungan vitamin C yang sedikit berbeda. Rusaknya sel dapat memicu lepasnya enzim oksidatif dan hidrolitik pada daun kelor yang akan merusak aktivitas antioksidan (Oboh and Akindahuni, 2004). Temperatur yang berlebihan dari proses udara panas akan menonaktifkan enzim dan mencegah hilangnya senyawa fenolik, oleh karena itu aktivitas antioksidan dapat dipertahankan.

Faktor pertamakarena kandungan senyawa yang terdapat dalam sampel belum diketahui pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan. Adakalanya metabolit sekunder yang ada pada alam bekerja secara individu, tetapi ada juga yang bekerja secara sinergis. Berdasarkan hal tersebut senyawa yang terkandung dalam cokelat kelor tidak saling bersinergis sehingga aktivitas antioksidan sangat lemah. Hal ini sesuai dengan penelitian Baycar *et al.* (2021) dimana *black carrot* mempunyai kapasitas antioksidan $43,2 \pm 3,2$ TEAC mg Trolox/g ketika ditambah dengan cokelat *compound* dengan perbandingan 1:100, kapasitas antioksidan menurun, namun seiring dengan penambahan *black carrot* yang semakin bertambah akan meningkatkan aktivitas antioksidan. Hal ini adanya interaksi protein dan polifenol yang menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan. Pada dasarnya protein dan polifenol berinteraksi melalui ikatan non kovalen (hidrofobik, ionik dan ikatan hidrogen) atau ikatan kovalen. Namun ikatan kovalen lebih disukai karena interaksinya lebih kuat dan lebih stabil. Interaksi protein dan polifenol secara kovalen dibentuk oleh enzimatis melalui reaksi basa atau radikal bebas (Liu *et al.*, 2017). Adanya ikatan tersebut dapat menghambat antioksidan pada cokelat kelor mendonorkan hidrogen kepada radikal DPPH sehingga aktivitas antioksidan rendah.



Gambar 4. 3 Interaksi protein dan polifenol melalui ikatan non kovalen (Quan et al., 2019).

Interaksi non kovalen antara protein dan polifenol salah satunya ikatan hidrogen. Gugus fenol telah dikenal sebagai donor hidrogen yang sangat baik dapat membentuk ikatan hidrogen dengan gugus C=O protein. Selain itu ikatan hidrogen juga terbentuk melalui interaksi gugus OH dari polifenol dan

oksigen atau nitrogen, terutama hidroksil (-OH) dan amino (-NH₂) dari kelompok protein. Bahwa jika gugus hidroksil fenolik berinteraksi dengan C, O, dan NH dari polipeptida utama rantai albumin membentuk ikatan hidrogen yang kuat (Ojha et al., 2012). Interaksi hidrofobik antara protein dan polifenol, dimana asam amino hidrofobik berinteraksi dengan cincin aromatik nonpolar polifenol (Kanakis et al., 2011). Interaksi ion terjadi pada interaksi protein dan polifenol, kelompok protein seperti gugus amino dari lisin yang bermuatan positif berinteraksi dengan gugus hidroksil polifenol yang bermuatan negatif (Bourvellec and Renard, 2012).

4.6 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dengan Penambahan Reagen

Uji fitokimia digunakan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder dalam suatu sampel. Uji fitokimia dilakukan untuk memperkuat kandungan yang berperan sebagai antioksidan. Hasil uji fitokimia ditunjukkan pada tabel 4.5

Tabel 4. 5 Hasil uji fitokimia dengan reagen

Golongan senyawa	Sampel				
	KJ	KA	C	CKJ	CKA
Alkaloid	-	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+	+
Tanin	+	+	-	+	+
Saponin	+	+	+	+	+
Triterpenoid	+	+	+	+	+
Steroid	-	-	-	-	-

Keterangan : KJ : Kelor Jemur
 KA : Kelor Angin
 C : Cokelat
 CKJ : Cokelat Kelor Jemur
 CKA : Cokelat Kelor Angin
 Tanda + : ada
 Tanda - : tidak ada

Tabel 4.5 menunjukkan trend yang sama pada kelima sampel, kecuali coklat tidak mengandung tanin, tetapi setelah dilakukan uji aktivitas antioksidan hasilnya berbeda-beda. Menurut Pascal et al., (2007) menyatakan bahwa tanin pada daun kelor berinteraksi dengan protein coklat kelor melalui ikatan non kovalen maupun ikatan kovalen. Ikatan non kovalen misalnya gugus fenol pada polifenol lebih memilih berikatan dengan C=O pada protein untuk membentuk ikatan hidrogen daripada mendonorkan hidrogen kepada radikal DPPH (Quan et al., 2019). Hal inilah yang menghambat aktivitas antioksidan sehingga Nilai EC₅₀ coklat kelor tinggi dan aktivitas antioksidan rendah.

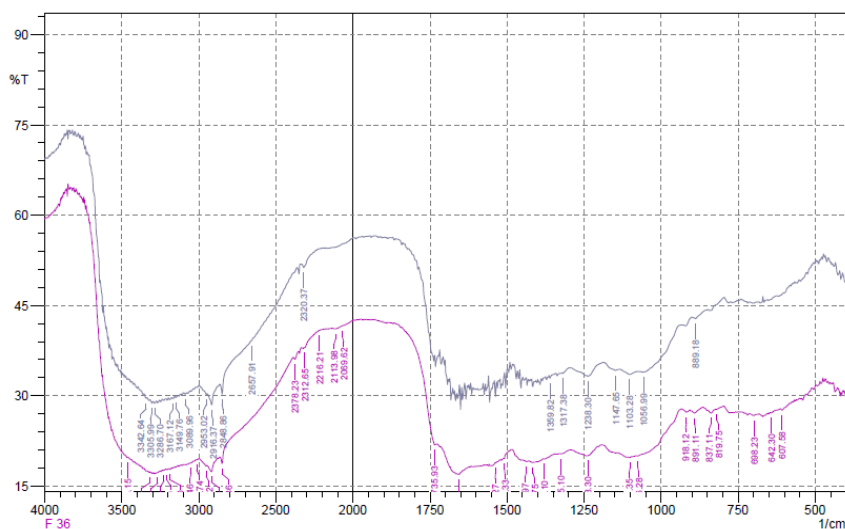
Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya flavonoid positif pada kelima sampel ditandai adanya perubahan warna larutan merah atau jingga. Hasil uji tanin pada kelor jemur, kelor angin, coklat kelor jemur dan coklat kelor angin positif ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kebiruan sedangkan coklat tidak mengandung tanin. Adanya tanin dalam sampel kelor tersebut sesuai penelitian Mensah *et al.*, (2012) menyatakan bahwa ekstrak aquades daun kelor (*Moringa oleifera*) mengandung metabolit sekunder tanin, alkaloid, flavonoid.

Hasil uji fitokimia saponin sampel kelor jemur, kelor angin, coklat, coklat jemur dan coklat angin positif. Ditandai dengan adanya busa yang bertahan selama 1 menit. Hal ini sesuai dengan penelitian Dzotam, (2016); Jr, (2017) pada ekstrak aquades daun kelor (*Moringa oleifera*) mengandung metabolit sekunder saponin. Hasil uji fitokimia triterpenoid kelima sampel positif ditunjukkan adanya cincin kecoklatan pada perbatasan dua pelarut. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu ekstrak daun *Moringa oleifera* mengandung metabolit sekunder triterpenoid (Dzotam, 2016).

4.7 Karakterisasi Menggunakan Spektrofotometer FT-IR

Analisis suatu senyawa menggunakan spektrofotometer FT-IR berfungsi untuk menentukan gugus fungsi, menentukan tingkat kemurnian suatu senyawa.

Adapun hasil spektra FT-IR dibawah ini :



Gambar 4. 4 Spektra hasil FT-IR sampel tepung angin dan tepung jamur

Keterangan : abu-abu = kelor jamur
Ungu = kelor angin

Tabel 4. 6 Hasil analisis FT-IR serbuk kelor jamur dan angin

Gugus fungsi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})		
	Referensi	Kelor Jamur	Kelor angin
-OH (<i>stretching</i>)	3200-3600	3342, 3305	3464, 3267
sp^2 C-H (<i>stretching</i>)	3000 – 3100	3089	3049, 3014
sp^3 C-H (<i>stretching</i>)	2850 – 3000	2953	2953, 2918
C-H aldehyd	2800 – 2860	2848	2848
$\text{C}\equiv\text{C}$ (<i>stretching</i>)	2100 – 2250	-	2216, 2113
C=O aromatis	1650 – 1800	1740	1735
C=C	1600 – 1660	1650	1654
sp^3 C-H (<i>bending</i>)	1365 – 1395	1369	1380
C-O (<i>stretching</i>) ester	1150 – 1350	-	1325
C-O asam	1200 – 1320	1317	1238
C-O alkoksi	1000 – 1260	1103, 1147	1101, 1076
sp^2 C-H (<i>bending</i>)	700 – 1000	889	918, 891
Cis disubstitusi alkena	675 – 730	-	698
Para disubstitusi aromatik	790 – 840	-	607

(Silverstein, 2005)

Berdasarkan tabel 4.5 dan gambar diatas hasil spektra FT-IR tepung jemur terdapat vibrasi-OH *stretching* pada bilangan gelombang 3342 cm^{-1} diperkuat dengan C-O alkoksi pada bilangan gelombang 1103 cm^{-1} , sehingga menunjukkan adanya alkohol. Bilangan gelombang 3089 cm^{-1} adanya gugus sp^2 C-H *stretching* diperkuat pada bilangan gelombang 889 cm^{-1} adanya sp^2 C-H *bending*, hal ini menunjukkan adanya alkena. Pada bilangan gelombang 1740 cm^{-1} adanya C=O dan 2848 cm^{-1} menunjukkan C-H aldehyd merupakan ciri khas aldehyd. Asam karboksilat ditunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 1740 cm^{-1} sebagai C=O, bilangan gelombang 3342, 3305 cm^{-1} adanya -OH *stretching*.

Hasil spektra tepung angin menunjukkan adanya vibrasi -OH *stretching* pada bilangan gelombang 3464, 3267 cm^{-1} dan diperkuat adanya gugus fungsi C-O pada daerah 1101, 1076 cm^{-1} menandakan adanya alkohol. Alkana ditunjukkan serapan bilangan gelombang 2953, 2918 adanya sp^3 C-H (*stretching*) dan 1380 adanya sp^3 C-H (*bending*). Gugus karbonil pada bilangan gelombang 1735 dapat mengidentifikasi adanya ester, asam karboksilat dan aldehyd. Ciri khas ester pada bilangan gelombang 1325 adanya C-O. Ciri khas asam karboksilat pada bilangan gelombang 1238 adanya C-O dan 3464, 3267 adanya O-H overlap. Ciri khas aldehyd 2848 adanya C-H aldehyd.

Hal ini sesuai dengan penelitian Bello *et al*, (2017) bahwa daun *Moringa oleifera* mempunyai spektra FT-IR gugus OH group pada bilangan gelombang 3280 cm^{-1} dan hal ini diperkuat dengan adanya gugus C-O pada daerah 1239 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang 1632 dan 1551 cm^{-1} menunjukkan adanya C=C *stretching* yang merupakan ciri khas alkena.

4.8 Pemanfaatan *Moringa oleifera* dan Cokelat Ditinjau dari Perpektif Islam

Penelitian ini mengkaji ekstrak tepung daun (*Moringa oleifera*) dan cokelat kelor sebagai antioksidan. Daun *Moringa oleifera* dan cokelat yang mempunyai berbagai manfaat bagi kehidupan manusia. Sebagai sumber makanan juga sebagai obat-obatan alami yang telah Allah turunkan untuk manusia. Maka dari itu untuk mengetahui manfaat dari daun *Moringa oleifera* maupun dark cokelat harus dilakukan penelitian dan melakukan riset terlebih dahulu.

Dijelaskan dalam Alqur'an surat Asy-Syuaraa ayat 7 :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ بَدَأْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya : “Dan apakah mereka belum tahu berapa banyak macam tumbuhan-tumbuhan yang baik yang kami ciptakan di bumi ?” (Q.S Asy-Syuaraa’ : 7)

Surat Asy-Syuaraa ayat 7 menerangkan bahwa Allah menciptakan berbagai macam tumbuhan yang baik. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang mempunyai manfaat bagi manusia dan lingkungan sekitar (Quraish, 2000). Berdasarkan penelitian ini, diketahui cokelat kelor memiliki aktivitas antioksidan lemah, tetapi potensi dari daun kelor semakin memperjelas bahwa segala sesuatu yang diciptakan Allah tidak sia-sia. Hal ini tercantum dalam al-Qur'an surat Al 'Imran ayat 191 berbunyi :

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya : “(yang) dikatakan orang iman atau orang mengingat Allah adalah orang yang ingat pada Allah dalam keadaan bagaimana saja, sambil berdiri, duduk, berbaring dan mereka sama berfikir dalam kejadiannya langit dan bumi. Mereka berdoa : “wahai Tuhan kami, Engkau tidak menciptakan sesuatu dengan sia-sia, Engkau menciptakan sesuatu pasti ada maksud dan tujuannya. Maha suci engkau Allah menjauhkan kami dari siksa neraka”.

Ayat diatas menjelaskan bahwa manusia harus senantiasa bersyukur atas segala ciptaan-Nya. Manusia telah diberi kesempurnaan yang berbeda dari segala ciptaan-Nya yaitu berupa akal pikiran. Akal pikiran digunakan untuk senantiasa ingat pada Allah dan mempelajari semua yang ada di alam semesta bahwa Allah maha kaya. (رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَدًا) bahwasanya Allah menciptakan segala sesuatu tidak ada yang sia-sia. Segala sesuatu yang ada di langit dan bumi pasti ada manfaatnya. Salah satunya yaitu tanaman kelor yang kaya antioksidan

Adanya uji antioksidan untuk skrining awal mengetahui aktivitas antioksidan pada coklat kelor dan uji fitokimia digunakan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder pada sampel. Senyawa metabolit sekunder pada coklat kelor yaitu flavonoid, tanin, saponin dan triterpenoid. Antioksidan sangat penting untuk menangkal radikal bebas karena sumber penyakit berawal dari radikal bebas yang berlebihan dalam tubuh. Hal ini dapat diminimalisir dengan antioksidan yang terdapat pada makanan khususnya coklat kelor.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Hasil EC₅₀ sampel kelor jamur 391,9 ppm ; kelor angin 442,1 ppm, cokelat 419,4 ppm ;cokelat kelor jamur 1065 ppm dan cokelat kelor angin 1232 ppm.
2. Berdasarkan uji fitokimia metabolit sekunder yang terdapat pada kelor jamur, kelor angin, cokelat kelor jamur dan cokelat kelor angin adalah flavonoid, tanin, saponin dan triterpenoid sedangkan sampel cokelat tidak memiliki tanin tapi mengandung flavonoid, saponin dan triterpenoid.
3. Hasil identifikasi spektra FT-IR sampel memiliki gugus fungsi –OH, C-H, C=O aromatis dan C=C

5.2 Saran

Proses ekstraksi sebaiknya menggunakan variasi pelarut, variasi lama waktu dan uji total fenolik untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- A Ilyas.2013, n.d. Kimia Organik Bahan Alam
- Adebayo, I.A., Arsad, H., Samian, M.R., 2017. Antiproliferative effect on breast cancer (MCF7) of Moringa oleifera seed extracts. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines 14, 282-287–287.
- Ajibola, C.F., Oyerinde, V.O., Adeniyani, O.S., 2015. Physicochemical and Antioxidant Properties of Whole-Wheat Biscuits Incorporated with Moringa oleifera Leaves and Cocoa Powder. 1 195–206.
- Amarowicz, Ryszard, 2007. Tannins: the new natural antioxidants? - Amarowicz - 2007 - European Journal of Lipid Science and Technology - Wiley Online Library
- Amić, D., Davidović-Amić, D., Bešlo, D., Trinajstić, N., 2003. Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. Croatica Chemica Acta
- Ariati, L.I.P., 2019. Faktor-Faktor Resiko Penyebab Terjadiya Stuting Pada Balita Usia 23-59 Bulan. Oksitosin : Jurnal Ilmiah Kebidanan 6, 28–37.
- Arisman, M.B., 2004. Gizi dalam daur kehidupan. Jakarta: EGC 76–87.
- Babiker, E.E., Juhaimi, F.A.L., Ghafoor, K., Abdoun, K.A., 2018. Effect of drying methods on nutritional quality of young shoots and leaves of two Moringa species as non-conventional fodders. Agroforest Syst 92, 717–729.
- Baiquni, A., 1990. Filsafat Fisika dan Alqur'an. dalam jurnal Ulumul Qur'an 11.
- Baycar, A., Konar, N., Poyrazoglu, E.S., Goktas, H., Sagdic, O., 2021. Using white spread and compound chocolate as phenolic compound delivering agent: A model study with black carrot extract. Journal of Food Processing and Preservation e15392.
- Bello, O.S., Adegoke, K.A., Akinyunni, O.O., 2017. Preparation and characterization of a novel adsorbent from Moringa oleifera leaf. Appl Water Sci 7, 1295–1305.
- Bey, H., 2010. All Things Moringa. The Story of an Amazing Tree of Life.
- Bogoriani, W. (2008), n.d. Isolasi dan Identifikasi Glikosida Steroid dari Daun... -
- Bourvellec, C.L., Renard, C.M.G.C., 2012. Interactions between Polyphenols and Macromolecules: Quantification Methods and Mechanisms. Critical Reviews in Food Science and Nutrition.

- Buijsse, B., Weikert, C., Droogan, D., Bergmann, M., Boeing, H., 2010. Chocolate consumption in relation to blood pressure and risk of cardiovascular disease in German adults. *European Heart Journal* 31, 1616–1623.
- Camps-Bossacoma, M., Pérez-Cano, F.J., Franch, À., Castell, M., 2018. Theobromine Is Responsible for the Effects of Cocoa on the Antibody Immune Status of Rats. *The Journal of Nutrition* 148, 464–471.
- Chooklin, S., 2013. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from brown rice and their antioxidant activities. *Kasetsart J.*
- Dadi, D.W., Emire, S.A., Hagos, A.D., Assamo, F.T., 2018. Influences of different drying methods and extraction solvents on total phenolic and flavonoids, and antioxidant capacity of *Moringa stenopetala* leaves. *J Pharmacogn Phytochem* 7, 962–7.
- De Clercq, N., Moens, K., Depypere, F., Vila Ayala, J., Calliauw, G., De Greyt, W., Dewettinck, K., 2012. Influence of cocoa butter refining on the quality of milk chocolate. *Journal of Food Engineering* 111, 412–419.
- Depkes, R.I., 2000. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia 3–30.
- Doymaz, İ., 2008. Convective drying kinetics of strawberry. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 47, 914–919.
- Dzotam, J.K., 2016. Antibacterial and antibiotic-modifying activities of three food plants (*Xanthosoma mafaffa* Lam., *Moringa oleifera* (L.) Schott and *Passiflora edulis* Sims) against multidrug-resistant (MDR) Gram-negative bacteria. *Escherichia coli* 8.
- Erti Siti Rohmah, 133020343, Yusep Ikrawan, D.S., Ela Sutrisno, D., 2017. *Kajian Karakteristik Dark Chocolate Dengan Penambahan Black Powder (Camellia sinensis L) dan Gula Stevia (Stevia rebaudiana bertonii) (other)*. Fakultas Teknik.
- Fahey, J.W., 2005. *Moringa oleifera*: A review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. *Trees for life Journal* 1, 21205–2185.
- Ghasi, S., Nwobodo, E., Ofili, J.O., 2000. Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed Wistar rats. *Journal of ethnopharmacology* 69, 21–25.
- Guclu-Ustundag, Ö., Mazza, G., 2007. Saponins: Properties, Applications and Processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47, 231–258.
- Gunawan, 2018. Penurunan Senyawa Saponin Pada Gel Lidah Buaya Dengan Perebusan dan Pengukusan. tp 9.

- Gunawan, B., Azhari, C.D., n.d. Karakterisasi Spektrofotometri IR dan Scanning Elektron Microscopy (SEM) Sensor Gas Dari Bahan Polimer Poly Ethelyn Glicol 17.
- Hammi, K.M., Essid, R., Tabbene, O., Elkahoui, S., Majdoub, H., Ksouri, R., 2019. Antileishmanial activity of *Moringa oleifera* leaf extracts and potential synergy with amphotericin B. *South African Journal of Botany*
- Handayani, V., Ahmad, A.R., Sudir, M., 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Pharmaceutical Sciences and Research*
- Hayati, E.K., Halimah, N., 2010. Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethally Test Against *Artemia salina* Leach Anting-anting (*Achalypha indica* Linn.) Plant Ekstrak. *Alchemy: Journal of Chemistry* 1, 53–103.
- Ide, pangkalan. 2008, n.d. Dark Chocolate Healing.
- Illing, I., 2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan 19.
- Isnani, W., Muin, N., 2017. Ragam Manfaat Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) bagi Masyarakat. *Buletin Eboni* 14, 63–75.
- Jr, D.E.C., 2017. Anthelmintic activity of *Moringa oleifera* seed aqueous and ethanolic extracts against *Haemonchus contortus* eggs and third stage larvae 5.
- Kanakis, C.D., Hasni, I., Bourassa, P., Tarantilis, P.A., Polissiou, M.G., Tajmir-Riahi, H.-A., 2011. Milk β -lactoglobulin complexes with tea polyphenols. *Food Chemistry* 127, 1046–1055.
- Kasolo, J.N., Bimenya, G.S., Ojok, L., Ochieng, J., Ogwal-Okeng, J.W., 2010. Phytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves in Ugandan rural communities. *Journal of Medicinal Plants Research* 4.
- Kayaputri, I.L., Sumanti, D.M., Djali, M., Indiarso, R., Dewi, D.L., 2014. Kajian Fitokimia Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Chimica et Natura Acta* 2.
- Keen, C.L., Holt, R.R., Oteiza, P.I., Fraga, C.G., Schmitz, H.H., 2005. Cocoa antioxidants and cardiovascular health. *The American Journal of Clinical Nutrition* 81, 298S-303S.
- Khor, K.Z., Lim, V., Moses, E.J., Abdul Samad, N., 2018. The In Vitro and In Vivo Anticancer Properties of *Moringa oleifera*
- Krisnadi.2015. Kelor Super Nutrisi

- Kumalaningsih, S., 2006. Antioksidan alami: penangkal radikal bebas. Trubus Agrisarana.
- Kurniawan, H., Bintoro, N., W.k, J.N., 2018. Pendugaan Umur Simpan Gula Semut Dalam Kemasan Dengan Pendekatan Arrhenius (Shelf Life Prediction of Palm Sugar on Packaging using Arrhenius Equation). 1 6, 93–99.
- Lailah, N., n.d. Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan n-Heksana Ekstrak Metanol Alga Coklat 149.
- Larsson, S.C., Virtamo, J., Wolk, A., 2012. Chocolate consumption and risk of stroke: A prospective cohort of men and meta-analysis. *Neurology* 79, 1223–1229.
- Latupeirissa, Latupeirissa, A.N., n.d. Poli (etil eugeniloksi asetat) sebagai ekstraktan ion logam. 2012 2, 6.
- Lickiss, P.D., 1990. Chemistry with ultrasound: edited by TJ Mason, Elsevier Applied Science, London, 1990, viii+ 195 pages, \pounds 46 (hardcover). ISBN 1-85166-422-X. Elsevier.
- Liu, F., Ma, C., Gao, Y., McClements, D.J., 2017. Food-Grade Covalent Complexes and Their Application as Nutraceutical Delivery Systems: A Review: Covalent complexes and their application.... *Comprehensive Reviews in Food Science And Food Safety* 16, 79-95.
- Luz Sanz, 2008. Identification of the origin of commercial enological tannins by the analysis of monosaccharides and polyalcohols. *Food Chemistry* 111.
- Mabruroh, A.I., 2015. Uji aktivitas antioksidan ekstrak tanin dari daun rumput bambu (*lopathерum gracile brongn*) dan identifikasinya (undergraduate). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Madjid, A.D.R., Rahmawati, D.A., Fasya, A.G., 2020. Variasi Komposisi Eluen pada Isolasi Steroid dan Triterpenoid Alga Merah *Eucheuma cottonii* dengan Kromatografi Kolom Basah. *Al* 8, 35–40.
- Mariana, L., Andayani, Y., 2013. Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih. . November 6, 6.
- Marliana.2012, n.d. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Andong (*Cordyline camasi*).
- Martorell, P., Bataller, E., Llopis, S., Gonzalez, N., Álvarez, B., Montón, F., Ortiz, P., Ramón, D., Genovés, S., 2013. A Cocoa Peptide Protects *Caenorhabditis elegans* from Oxidative Stress and β -Amyloid Peptide Toxicity. *PLoS One* 8.

- Mendieta-Araica, B., Spörndly, E., Reyes-Sánchez, N., Salmerón-Miranda, F., Halling, M., 2013. Biomass production and chemical composition of *Moringa oleifera* under different planting densities and levels of nitrogen fertilization. *Agroforestry Systems* 87, 81–92.
- Mensah, J.K., Ikhajiagbe, B., Edema, N.E., Emokhor, J., 2012. Phytochemical, nutritional and antibacterial properties of dried leaf powder of *Moringa oleifera* (Lam) from Edo Central Province, Nigeria 6.
- Mishra, S.P., Singh, P., Singh, S., 2012. Processing of *Moringa oleifera* leaves for human consumption. *Bulletin of Environment, Pharmacology and life sciences* 2, 28–31.
- Mohammed, S., Manan, F.A., 2015. Analysis of total phenolics, tannins and flavonoids from *Moringa oleifera* seed extract 4.
- Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol* 26, 211–219.
- Mostofsky, E., Johansen, M.B., Tjønneland, A., Chahal, H.S., Mittleman, M.A., Overvad, K., 2017. Chocolate intake and risk of clinically apparent atrial fibrillation: the Danish Diet, Cancer, and Health Study. *Heart* 103, 1163–1167.
- Muliati, B., 2019. Media Pendidikan (Seri Tafsir Tarbawi). *Jurnal Al-Hikmah* 6, 57–61.
- Nandave, M., Ojha, S.K., Joshi, S., Kumari, S., Arya, D.S., 2009. *Moringa oleifera* Leaf Extract Prevents Isoproterenol-Induced Myocardial Damage in Rats: Evidence for an Antioxidant, Antiperoxidative, and Cardioprotective Intervention. *Journal of Medicinal Food* 12, 47–55.
- Nasir, S., Soraya, D.F., Pratiwi, D., 2010. Pemanfaatan ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera*) untuk pembuatan Bahan Bakar Nabati. *Jurnal Teknik Kimia* 17.
- Natsir, H., 2018. Analisis Kadar β -Karoten Dalam Ekstrak Petroleum Eter Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Dari Daerah Pesisir dan Pegunungan Serta Potensinya Sebagai Antioksidan 10.
- Novak, I., Janeiro, P., Seruga, M., Oliveira-Brett, A.M., 2008. Ultrasound extracted flavonoids from four varieties of Portuguese red grape skins determined by reverse-phase high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Analytica Chimica Acta* 630, 107–115.
- Noviana, S., 2015. Testing Scavenger Activity of Radical 2,2 Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) by Heksamavunon. *Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada* 5.

- Oboh, G., Akindahunsi, A.A., 2004. Change in the Ascorbic Acid, Total Phenol and Antioxidant Activity of Sun-dried Commonly Consumed Green Leafy Vegetables in Nigeria. *Nutr Health* 18, 29–36.
- Ojha, H., Mishra, K., Hassan, M.I., Chaudhury, N.K., 2012. Spectroscopic and isothermal titration calorimetry studies of binding interaction of ferulic acid with bovine serum albumin. *Thermochimica Acta* 548, 56–64.
- Pascal, C., Poncet-Legrand, C., Imberty, A., Gautier, C., Sarni-Manchado, P., Cheynier, V., Vernhet, A., 2007. Interactions between a Non Glycosylated Human Proline-Rich Protein and Flavan-3-ols Are Affected by Protein Concentration and Polyphenol/Protein Ratio. *J. Agric. Food Chem.* 55, 4895–4901.
- Peralta-Jiménez, L., Cañizares-Macías, M.P., 2013. Ultrasound-Assisted Method for Extraction of Theobromine and Caffeine from Cacao Seeds and Chocolate Products. *Food Bioprocess Technol* 6, 3522–3529.
- Perron, N.R., Brumaghim, J.L., 2009. A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. *Cell Biochem Biophys*
- Prakash, A., Rigelhof, F., Miller, E., 2001. Medallion laboratories analytical progress: Antioxidant activity. J. DeVries, PhD (ed), *Medallion Laboratories* 19, 1–6.
- Priego Capote, F., Luque de Castro, M.D., 2006. Ultrasound in analytical chemistry. *Anal Bioanal Chem* 387, 249–257.
- Qoriyati, Y., 2018. Optimasi ekstraksi ultrasonik dengan variasi pelarut dan lama ekstraksi terhadap kadar alkaloid total pada tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.) menggunakan spektrofotometer UV-VIS (undergraduate). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Quan, T.H., Benjakul, S., Sae-leaw, T., Balange, A.K., Maqsood, S., 2019. Protein–polyphenol conjugates: Antioxidant property, functionalities and their applications. *Trends in Food Science & Technology* 91, 507–517.
- Quraish, S.M., 2000. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Alquran* Cet I. Jakarta: Lentera Hati.
- Ramadon, D., Mun’Im, A., 2016. Pemanfaatan Nanoteknologi dalam Sistem Penghantaran Obat Baru untuk Produk Bahan Alam 14, 10.
- Rejeki, S., 2018. Pengaruh Penambahan Daun Kelor Terhadap Aktivitas Antioksidan Chips Sagu 3,12.
- Ried, K., Sullivan, T., Fakler, P., Frank, O.R., Stocks, N.P., 2010. Does chocolate reduce blood pressure? A meta-analysis. *BMC Med* 8, 39.

- Riyani, A., Adawiah, R., 2015. Ekstraksi Flavonoid metode Soxhletasi dari batang pohon pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*) dengan berbagai jenis pelarut. *Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains* 625–628.
- Rizkayanti, R., Diah, A.W.M., Jura, M.R., 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* LAM). *Jurnal Akademika Kimia* 6, 125–131.
- Rohmatussolihat, R., 2015. Antioksidan, Penyelamat Sel-sel Tubuh Manusia. *Biotrends* 4, 5–9.
- Saini, R.K., Shetty, N.P., Prakash, M., Giridhar, P., 2014. Effect of dehydration methods on retention of carotenoids, tocopherols, ascorbic acid and antioxidant activity in *Moringa oleifera* leaves and preparation of a RTE product. *J Food Sci Technol* 51, 2176–2182.
- Sakinah, F., 2017. Uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak rimpang Kunyit Putih (*Curcuma longa* L.) dan Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.) menggunakan metode DPPH serta identifikasi golongan senyawa aktifnya (undergraduate). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Sankari, G., E dkk. 2010, n.d. Analysis of Serum Immunoglobulins Using Fourier Transform
- Sarwatt, S.V., Kapange, S.S., Kakengi, A.M.V., n.d. Substituting sunflower seed-cake with *Moringa oleifera* leaves as a supplemental goat feed in Tanzania.
- Sastrawan, I.N., Sangi, M., Kamu, V., 2013. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji adas (*Foeniculum vulgare*) menggunakan metode DPPH.
- Sastrohamidjojo, H., 1991. Spektroskopi. Yogyakarta: Liberty.
- Satria, E.W., Sjojfan, O., Djunaidi, I.H., 2016. Respon Pemberian Tepung Daun Kelor (*Moringa oleifera*) pada Pakan Ayam Petelur terhadap Penampilan Produksi dan Kualitas Telur. *BuletinPeternak* 40, 197.
- Scholey, A.B., French, S.J., Morris, P.J., Kennedy, D.O., Milne, A.L., Haskell, C.F., 2010. Consumption of cocoa flavanols results in acute improvements in mood and cognitive performance during sustained mental effort. *J Psychopharmacol* 24, 1505–1514
- Sedjati, S., Suryono, S., Santosa, A., Supriyantini, E., Ridlo, A., 2017. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Senyawa Fenolik Makroalga Coklat *Sargassum* sp. *Jurnal Kelautan Tropis* 20, 124–130.

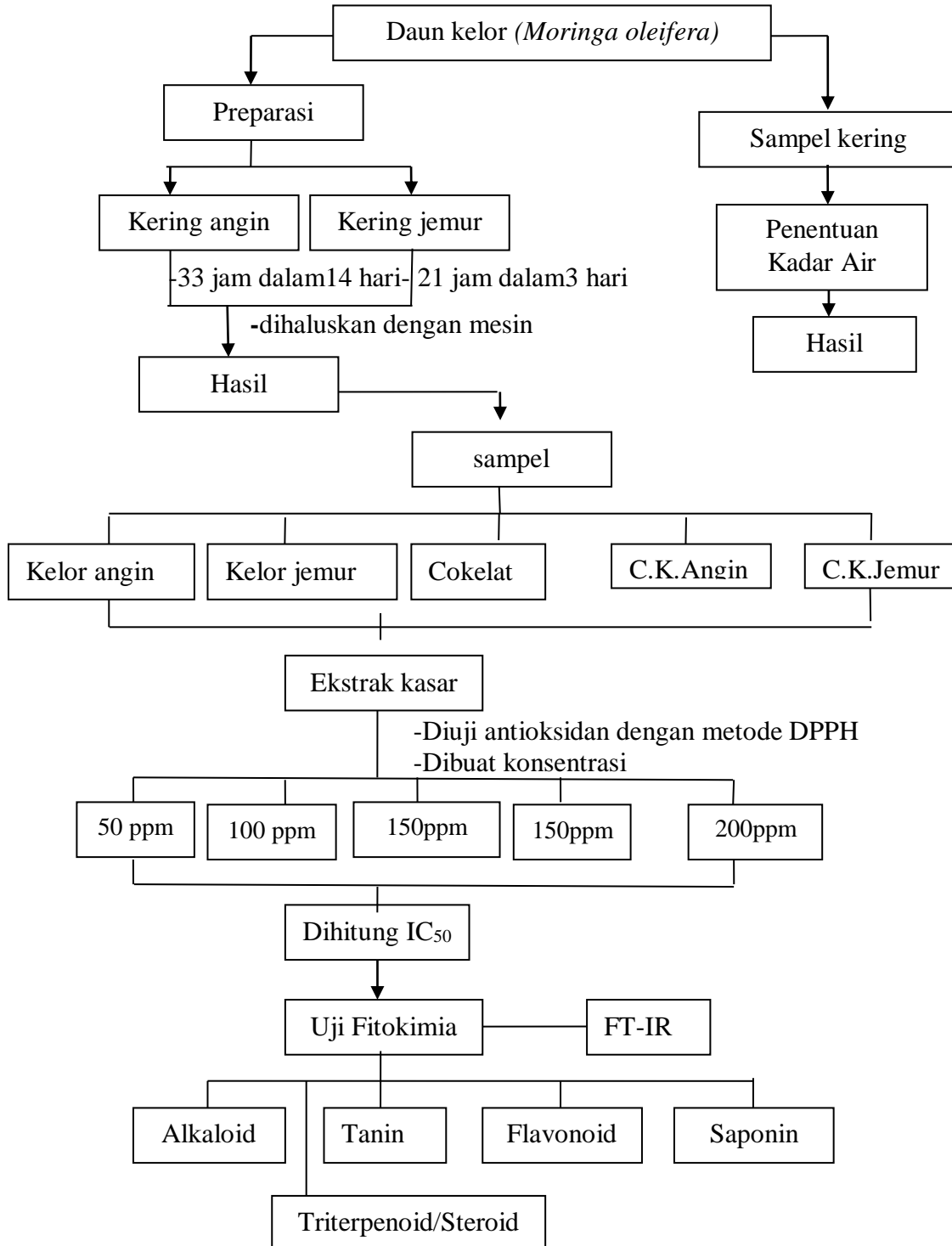
- Siadi, K., 2012. Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences* 35.
- Silverstein, R.M., 2005. Spectrometric identification of organic compounds 7ed 2005-Silverstein, Webster & Kiemle. pdf. *Microchemical Journal*. doi 10, 90069–2.
- Sirait, n.d. Penuntun Fitokimia dalam Farmasi
- Sparg, S.G., Light, M.E., van Staden, J., 2004. Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology* 94, 219–
- Sugiharti, R.K., Sundari, R.I., 2018. Efektivitas minuman kunyit asam dan rempah jahe asam terhadap penurunan skala nyeri haid primer. *medisains*
- Sumargo, F., Hadisoewignyo, L., 2011. Optimasi Formula Tablet Lepas Lambat Ibuprofen 5, 11.
- TS Hawley, n.d. Flow Cytometry Protocols.
- Tsang, C., Hodgson, L., Bussu, A., Farhat, G., Al-Dujaili, E., 2019. Effect of Polyphenol-Rich Dark Chocolate on Salivary Cortisol and Mood in Adults. *Antioxidants* 8, 149.
- Ulfiah, A., Arifin, A.F., Pratiwi, R., Gayatri, S.W., Nurmadilla, N., 2020. Efektifitas Pemberian Ekstrak Daun Kelor terhadap Kadar Kolesterol Darah pada Hewan Coba Mencit. *UMJ* 5, 28–37.
- Villarruel-López, A., López-de la Mora, D.A., Vázquez-Paulino, O.D., Puebla-Mora, A.G., Torres-Vitela, M.R., Guerrero-Quiroz, L.A., Nuño, K., 2018. Effect of *Moringa oleifera* consumption on diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 18, 127.
- Wahyuningtyas, T.A., 2019. Pukis Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) Sebagai Cemilan Bernutrisi Tinggi Untuk Ibu Menyusui. *Home Economics Journal* 3.
- Wijeratne, S.S., Cuppett, S.L., Schlegel, V., 2005. Hydrogen peroxide induced oxidative stress damage and antioxidant enzyme response in Caco-2 human colon cells. *Journal of agricultural and food chemistry* 53, 8768–8774.
- Winarsi, H., 2005. Antioksidan alami dan radikal. Kanisius.
- Yan, J., Xu, L., Yang, J., 2008. A study on the thermal decomposition of coal-derived pyrite. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 82, 229–234.

- Yanti, E., 2019. Pengaruh Pemberian Rebusan Daun Kelor (Moringa Olifera) Terhadap Tekanan Darah Pada Penderita Hipertensi. *JIK (Jurnal Ilmu Kesehatan)* 3, 24–29.
- Yokozawa, T., Chen, C.P., Dong, E., Tanaka, T., Nonaka, G.-I., Nishioka, I., 1998. Study on the Inhibitory Effect of Tannins and Flavonoids against the 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical. *Biochemical Pharmacology* 56.
- Yuliani, N.N., Dienina, D.P., 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (Moringa Oleifera, Lamk) dengan Metode 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (Dpph). *Jurnal info kesehatan* 13, 1060–1082.
- Yulianti, R., 2008. Pembuatan Minuman Jeli Daun Kelor (Moringa oleifera lam) sebagai Sumber Vitamin C dan Beta Karoten. Skripsi yang tidak.
- Yuslianti, E.R., 2018. Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan. Deepublish.
- Zaffer, M., Ahmad, S., Sharma, R., Mahajan, S., Gupta, A., Agnihotri, R.K., 2014. Antibacterial activity of bark extracts of Moringa oleifera Lam. against some selected bacteria. *Pak J Pharm Sci* 27, 1857–62.

LAMPIRAN

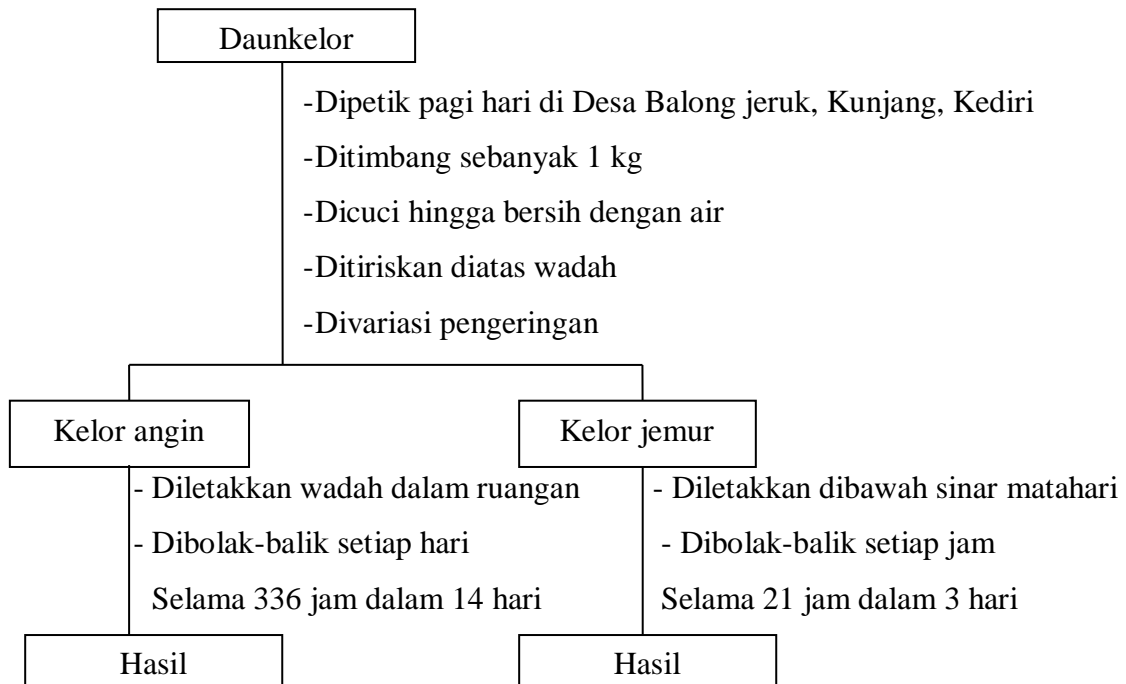
Lampiran 1. Rancangan Penelitian

RANCANGAN PENELITIAN

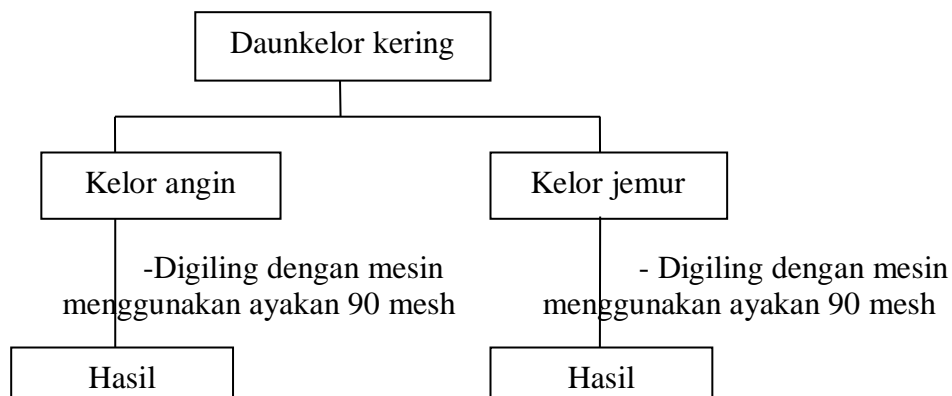


Lampiran 2. Diagram Alir

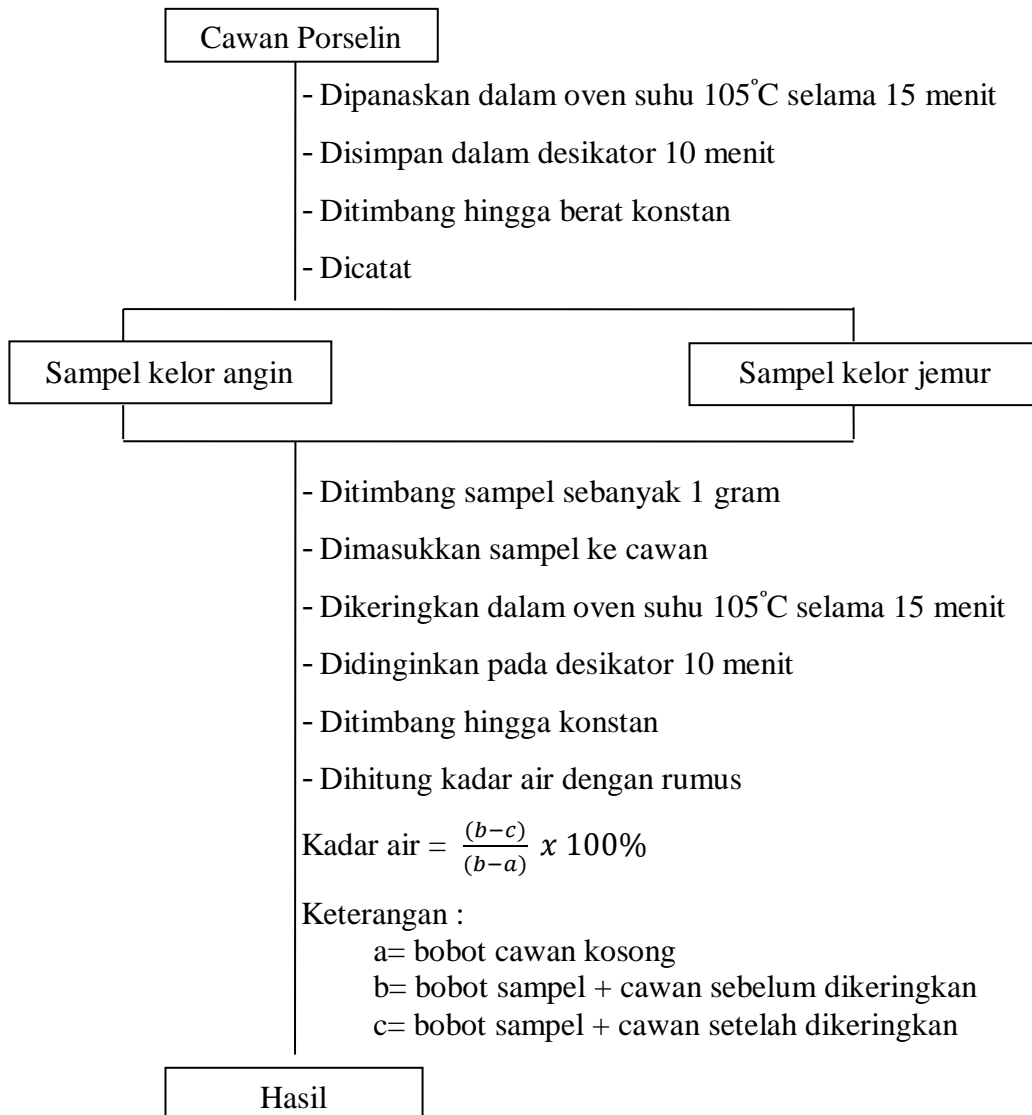
1. Preparasi Sampel Daun Kelor



1.2 Pembuatan TepungKelor

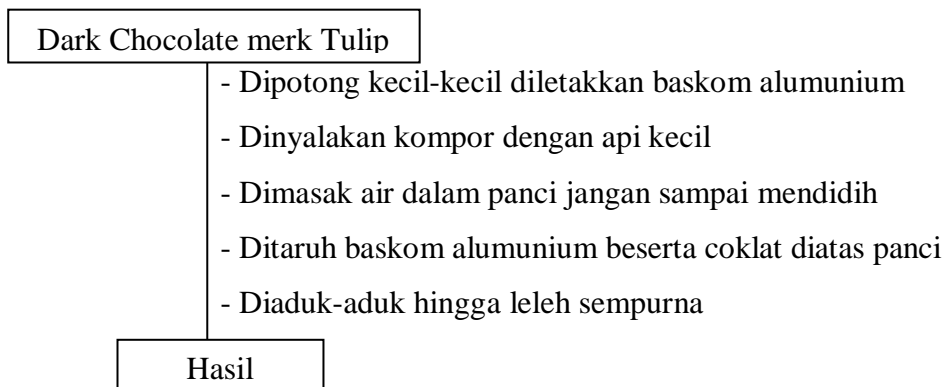


2 Penentuan Kadar Air Secara Thermografimeter (AOAC, 2006)

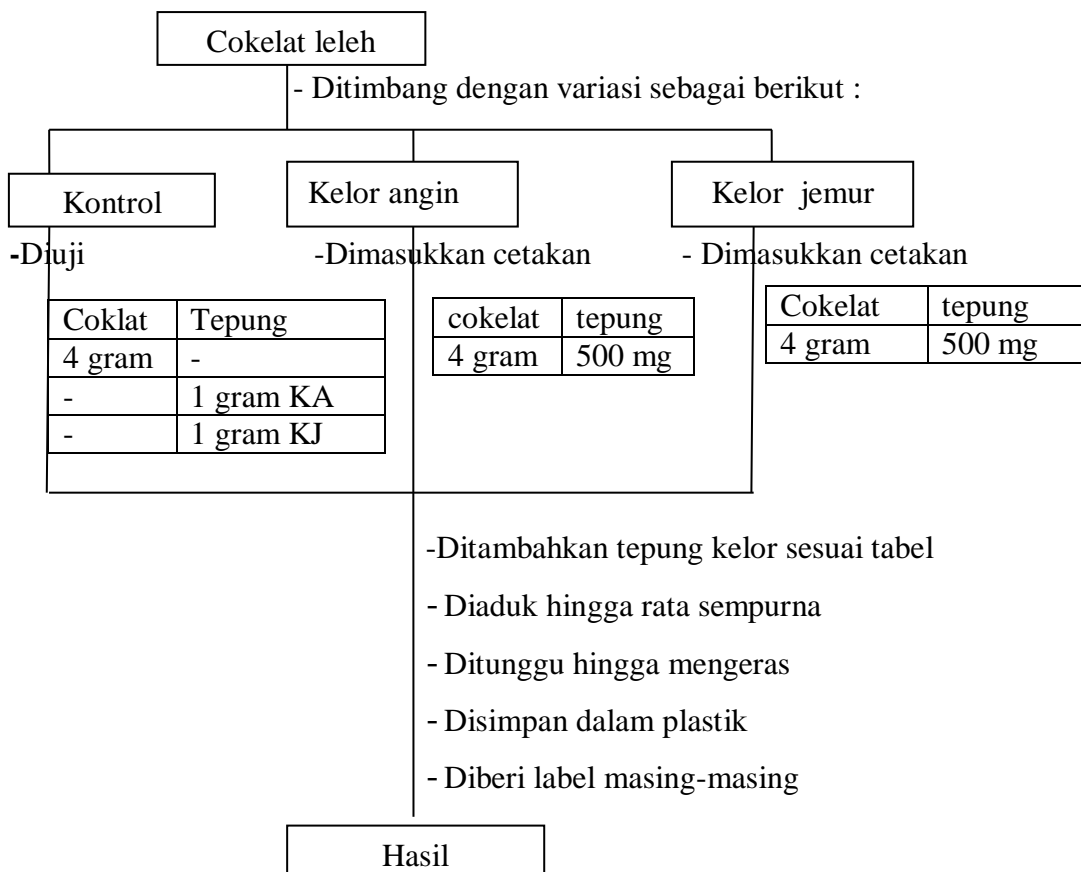


3 Pembuatan Permen Cokelat Kelor

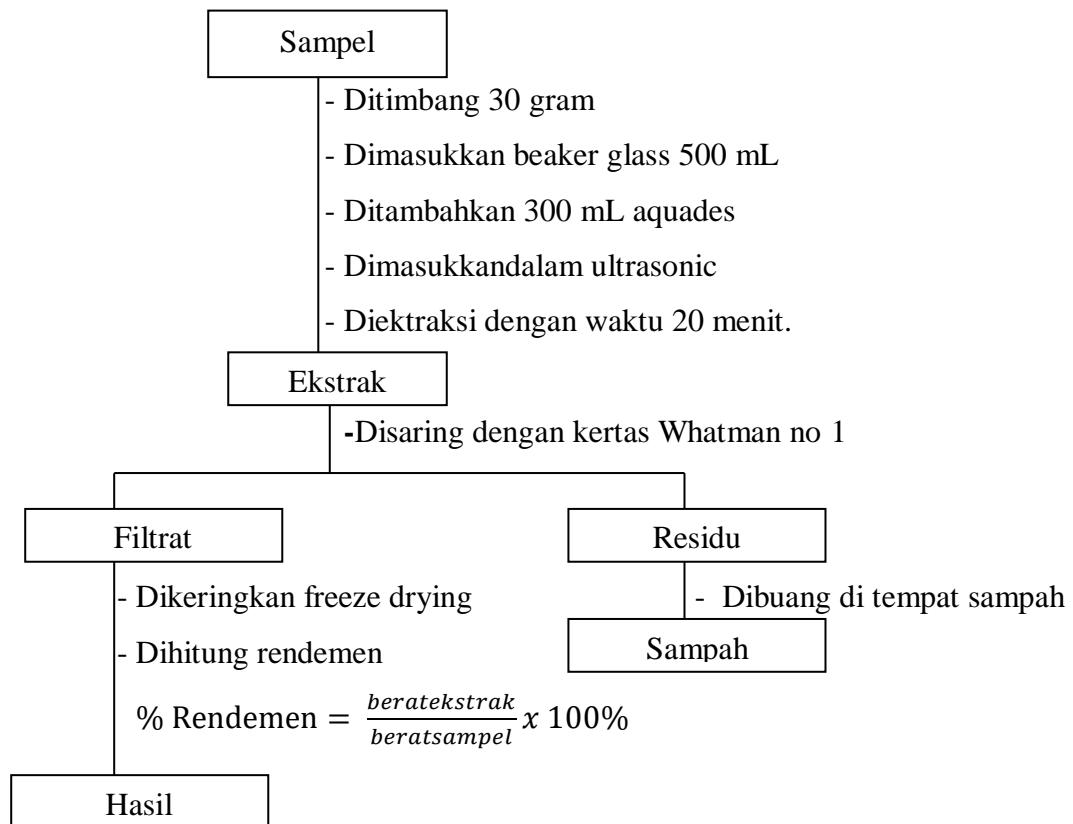
3.1 Preparasi Cokelat Dengan Metode Steam



3.2 Pembuatan Permen Cokelat Tepung Daun Kelor

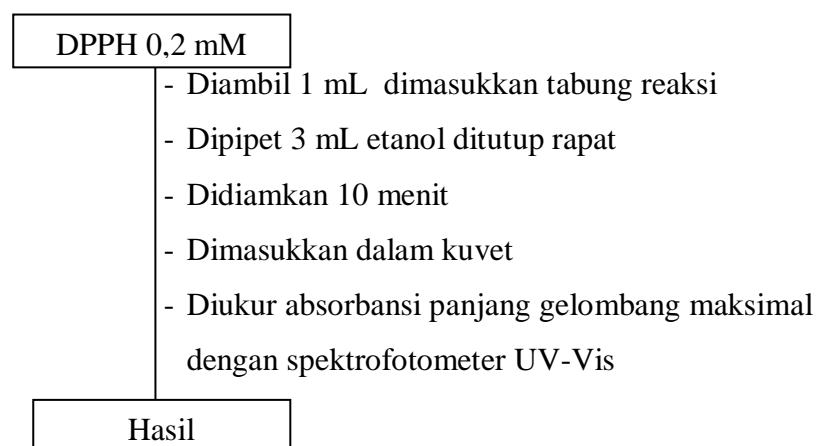


4 Ekstraksi Ultrasonik

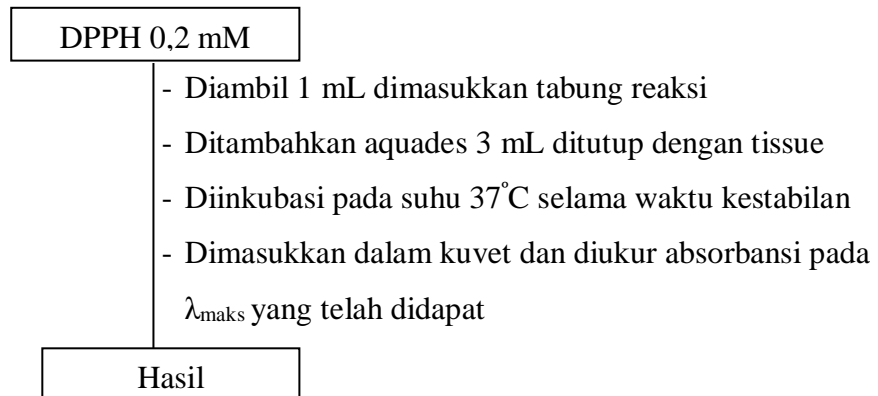


5. Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

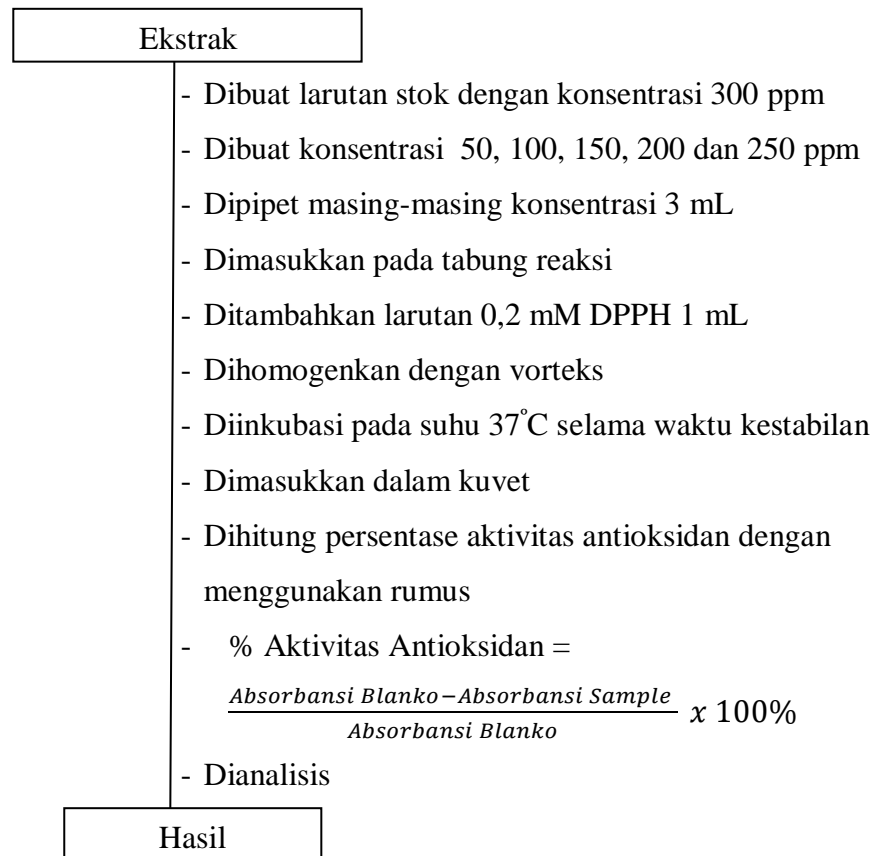
5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



5.2 Absorbansi kontrol

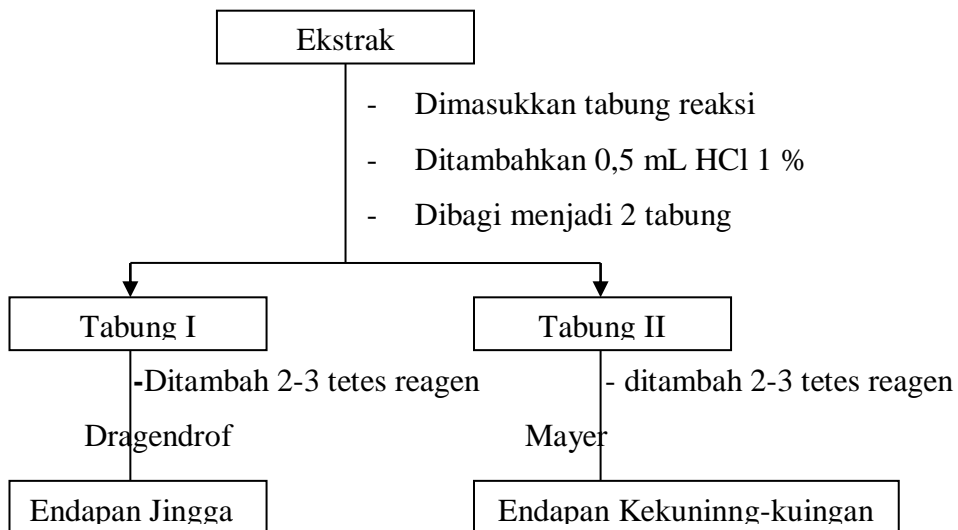


5.3 Absorbansi sampel dengan variasi konsentrasi

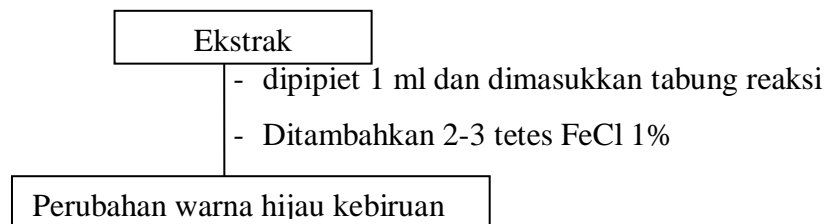


6. Uji Fitokimia dengan reagen

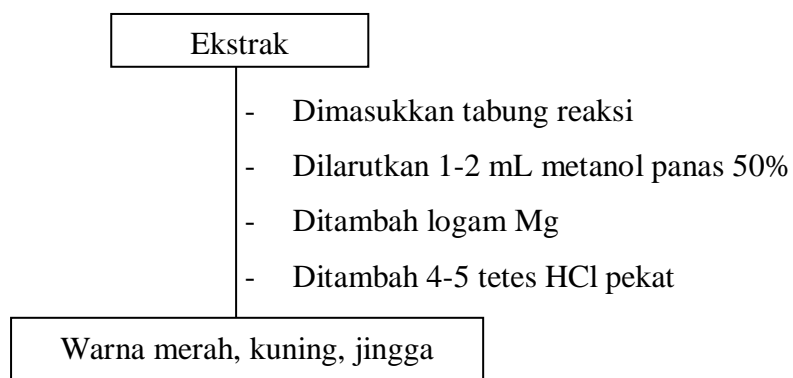
6.1 Identifikasi Alkaloid



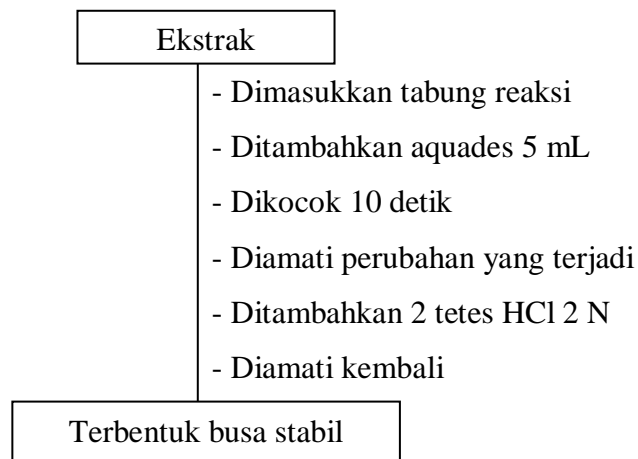
6.2 Identifikasi Tanin



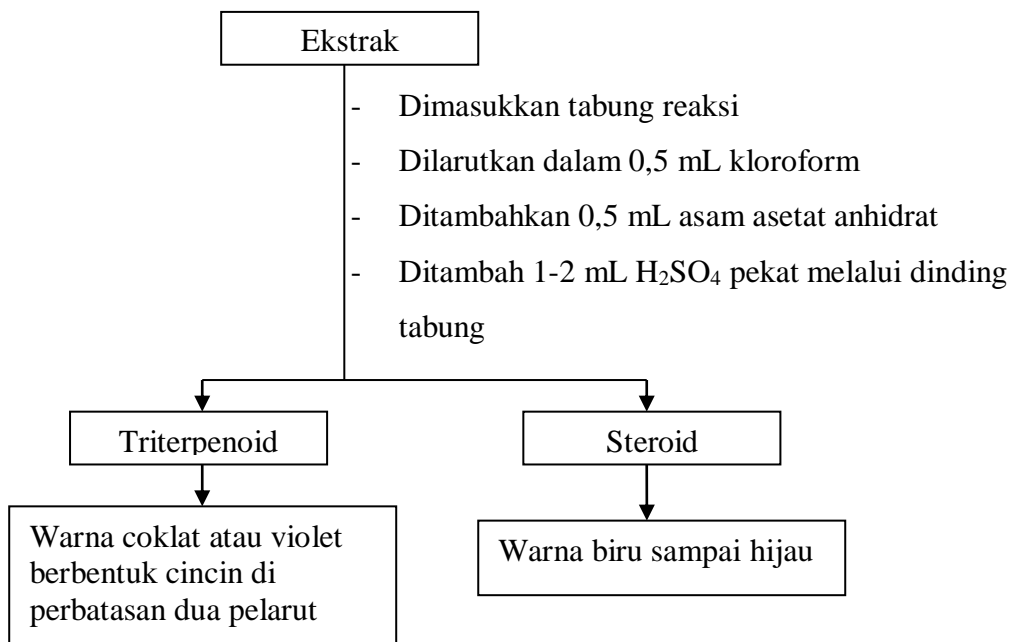
6.3 Identifikasi Flavonoid



6.4 Identifikasi Saponin



6.5 Identifikasi Triterpenoid/ Steroid



Lampiran 3. Perhitungan

1. Pembuatan Reagen

Pembuatan larutan DPPH 0,2 mM

DPPH 0,2 mM dalam 25 mL etanol (99,9%)

$$\text{Mr DPPH} = 394,33 \text{ g/mol}$$

$$\text{Mol DPPH} = M \times V$$

$$= 0,2 \text{ mM} \times 25 \text{ mL} = \frac{0,2M}{1000} \times 25 \text{ mL} = 0,005 \text{ mmol}$$

$$\text{Mg DPPH} = 0,005 \text{ mmol} \times \text{Mr DPPH}$$

$$= 0,005 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ g/mol}$$

$$= 1,97 \text{ mg}$$

2. Pembuatan Larutan HCl 1 %

$$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$$

$$37\% \times V_1 = 1\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,3 \text{ mL}$$

Pembuatan larutan HCl 1% dengan cara memipet HCl 37% sebanyak 0,3 mL lalu dilarutkan dalam labu ukur 10 mL.

3. Pembuatan Larutan Sampel

a. Pembuatan antioksidan stok 500 ppm

$$500 \text{ ppm ekstrak kasar atau pembanding} = \frac{\text{mg}}{0,02 \text{ L}} = 500 \text{ ppm}$$

$$\text{mg} = 10 \text{ mg}$$

b. Pembuatan larutan sampel 250 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_2 = \frac{V_1 \cdot M_1}{M_2} = \frac{10 \text{ mL} \times 250 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 5 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 10 mL larutan sampel 250 ppm dipipet larutan stok 500 ppm sebanyak 5 mL.

c. Pembuatan larutan sampel 200 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_2 = \frac{V_1 \cdot M_1}{M_2} = \frac{10 \text{ mL} \times 200 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 4 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 10 mL larutan sampel 200 ppm dipipet larutan stok 500 ppm sebanyak 4 mL.

d. Pembuatan larutan sampel 150 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_2 = \frac{V_1 \cdot M_1}{M_2} = \frac{10 \text{ mL} \times 150 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 3 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 10mL larutan sampel 150 ppm dipipet larutan stok 500 ppm sebanyak 3 mL.

e. Pembuatan larutan sampel 100 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_2 = \frac{V_1 \cdot M_1}{M_2} = \frac{10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 2 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 10mL larutan sampel 100 ppm dipipet larutan stok 500 ppm sebanyak 2 mL.

f. Pembuatan larutan sampel 50 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_2 = \frac{V_1 \cdot M_1}{M_2} = \frac{10 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 10mL larutan sampel 50 ppm dipipet larutan stok 500 ppm sebanyak 1 mL.

Tabel Pembuatan Larutan Sampel

Konsentrasi (ppm)	Volume Larutan Dipipet mL
250	5
200	4
150	3
100	2
50	1

Lampiran 4 Data dan Perhitungan Hasil Penelitian

L.4.1 Preparasi Sampel

Tabel L3.1 Hasil Preparasi Sampel

Sampel	Preparasi Pengerinan	Berat Awal (kg)	Berat Akhir (g)
Tepung daun kelor	Kering Jemur	2	745
Tepung daun kelor	Kering Angin	2	600

L.4.2 Kadar Air Tepung Daun Kelor

Tabel. L.3.2 Perhitungan Kadar Air Sampel Kelor (Kering Jemur)

Pengulangan	Berat Cawan Kosong (g)	Berat Cawan + Sampel (g)	Berat Cawan + Sampel dikeringkan (g)
1	65,0347	66,0555	65,9872
2	65,0547		65,9822
3	65,0549		65,9908
4	65,0555		65,9749
5	65,0555		65,9759
6	65,0555		65,9736
7	65,0555		65,9733

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

Keterangan:

a = berat cawan kosong

b = berat sampel + cawan sebelum dikeringkan

c = berat cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Kadar Air} = \frac{(66,0555-65,9733)}{(66,0555-65,0555)} \times 100\% = 8,22\%$$

L.4.3 Perhitungan Kadar Air Sampel Kelor (Kering Angin)

Pengulangan	Berat Cawan Kosong (g)	Berat Cawan + Sampel (g)	Berat Cawan + Sampel dikeringkan (g)
1	73,4301	74,4606	74,3731
2	73,4603		74,3659
3	73,4604		74,3758
4	73,4605		74,3651
5	73,4606		74,3636
6	73,4606		74,3616
7	73,4606		74,3627

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

Keterangan:

a = berat cawan kosong

b = berat sampel + cawan sebelum dikeringkan

c = berat cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Kadar Air} = \frac{(74,4606-74,3627)}{(74,4606-73,4606)} \times 100\% = 9,79\%$$

L.4.4 Perhitungan Rendemen

	Berat Wadah (mg)	Berat Wadah dan Ekstrak (mg)	Berat Ekstrak (mg)
Cokelat	3.212,8	17.184,7	13.971,9
Kering Jemur	3.364,8	10.775,8	7.411
Kering Angin	3.672,8	11.465,8	7.793
Cokelat Jemur	3.178,3	17.995,0	14.816,7
Cokelat Angin	3.366,5	16.417,8	13.051,3

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{beratekstrak}}{\text{beratsampel}} \times 100\%$$

➤ Rendemen Cokelat

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{13.971,9(\text{mg})}{30.000(\text{mg})} \times 100\% = 46,57\%$$

➤ Rendemen Kering Jemur

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{7.411(\text{mg})}{30.000(\text{mg})} \times 100\% = 24,7\%$$

➤ Rendemen Kering Angin

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{7.793(\text{mg})}{30.000(\text{mg})} \times 100\% = 25,97\%$$

➤ Rendemen Cokelat Jemur

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{14.816,7(\text{mg})}{30.000(\text{mg})} \times 100\% = 49,39\%$$

➤ Rendemen Cokelat Angin

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{13.051,3(\text{mg})}{30.000(\text{mg})} \times 100\% = 43,50\%$$

L.4.5 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

1. Vitamin C sebagai pembanding

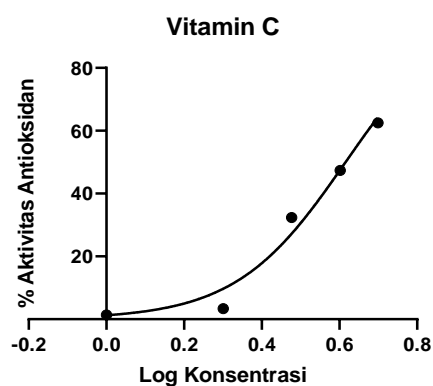
Konsentrasi	A1	A2	A3	Absorbansi rata-rata
Kontrol	0.4830	0.4835	0.4830	0.4831667
1 ppm	0.4730	0.4783	0.4786	0.4766333
Kontrol	0.4838	0.4866	0.4843	0.4849
2 ppm	0.4682	0.4708	0.4667	0.4685667
Kontrol	0.4853	0.4844	0.4847	0.4848
3 ppm	0.3289	0.3259	0.3290	0.3279333
Kontrol	0.4872	0.4864	0.4859	0.4865
4 ppm	0.2553	0.2591	0.2534	0.2559333
Kontrol	0.488	0.4861	0.4865	0.4868667
5 ppm	0.1823	0.1824	0.1828	0.1825

Aktivitas antioksidan Vitamin C hasil ekstraksi ultrasonik				
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi kontrol	Absorbansi sampel	% Aktivitas Antioksidan(y)	Log konsentrasi (x)
1	0.483167	0.476633	1.35219	0.131038
2	0.4849	0.468567	3.368392	0.527423
3	0.4848	0.327933	32.35699	1.509968
4	0.4865	0.255933	47.39294	1.675714
5	0.486867	0.1825	62.5154	1.795987

Perhitungan EC₅₀ Vitamin C

Best-fit values

Bottom	0,000
Top	100,0
LogEC50	0,6158
HillSlope	3,076
EC50	4,128
Span	100,0
95% CI (profile likelihood)	
LogEC50	0,5623 to 0,6853
HillSlope	1,856 to 4,856
EC50	3,650 to 4,845
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0,9759
Sum of Squares	69,68
Sy.x	4,819
Constraints	
Bottom	Bottom = 0
Top	Top = 100



2. Cokelat

Konsentrasi	A1	A2	A3	Absorbansi rata-rata
Kontrol	0.7411	0.6147	0.4159	0.59056667
50 ppm	0.6021	0.5952	0.4166	0.53796667
Kontrol	0.7518	0.6143	0.4143	0.59346667
100 ppm	0.5997	0.5763	0.4104	0.5288
Kontrol	0.7437	0.615	0.4138	0.59083333
150 ppm	0.5837	0.5442	0.3751	0.501
Kontrol	0.7399	0.6166	0.415	0.5905
200 ppm	0.5703	0.5245	0.3769	0.49056667
Kontrol	0.7492	0.6102	0.4145	0.5913
250 ppm	0.322	0.4347	0.3704	0.3757

Aktivitas antioksidan cokelat hasil ekstraksi ultrasonik

konsentrasi (ppm)	Absorbansi kontrol	Absorbansi sampel	% Aktivitas Antioksidan(y)	Log konsentrasi (x)
50	0.590567	0.537967	8.9067	1.69897
100	0.593467	0.5288	10.89643	1.037284
150	0.590833	0.501	15.20451	1.181973
200	0.590567	0.490567	16.92351	1.22849
250	0.5913	0.3757	36.46203	1.561841

Perhitungan EC₅₀ cokelat hasil ekstraksi ultrasonik

Best-fit values

LogEC50 2,623

HillSlope 1,561

EC50 419,4

Std. Error

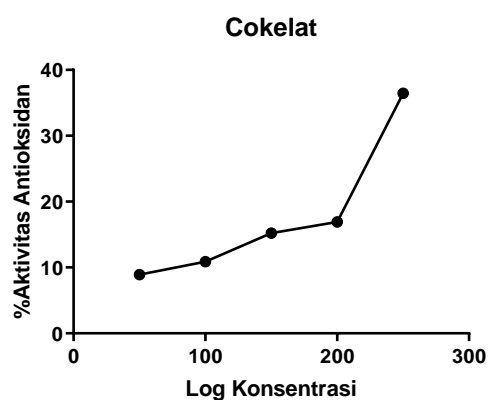
LogEC50 0,1430

HillSlope 0,6277

95% CI (profile likelihood)

LogEC50 2,396 to +infinity

HillSlope	-0,02617 to 9,051
EC50	249,0 to ???
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0,7635
Sum of Squares	114,1
Sy.x	6,167
Constraints	
LogEC50	LogEC50 is shared
HillSlope	HillSlope is shared



3. Kelor jemur

Konsentrasi	A1	A2	Absorbansi rata-rata
Kontrol	0.9863	0.9836	0.7421
50 ppm	0.9111	0.9253	0.685733
Kontrol	0.9843	0.9842	0.739467
100 ppm	0.8635	0.8458	0.612567
Kontrol	0.9857	0.9847	0.740033
150 ppm	0.771	0.7675	0.522367
Kontrol	0.9847	0.9848	0.741367
200 ppm	0.733	0.6703	0.485533
Kontrol	0.9848	0.9866	0.739867
250 ppm	0.6496	0.6195	0.451033

Aktivitas antioksidan tepung jemur hasil ekstraksi ultrasonik

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi kontrol	Absorbansi sampel	% Aktivitas Antioksidan(y)	Log konsentrasi (x)
50	0.98495	0.9182	6.776994	1.69897
100	0.98425	0.85465	13.16739	2
150	0.9852	0.76925	21.91941	2.176091
200	0.98475	0.70165	28.74841	2.30103
250	0.9857	0.63455	35.62443	2.39794

Perhitungan EC₅₀ kering jamur hasil ekstraksi ultrasonik

Best-fit values

Bottom	0,000
Top	100,0
LogEC50	2,593
HillSlope	1,336
EC50	391,9
Span	100,0

95% CI (profile likelihood)

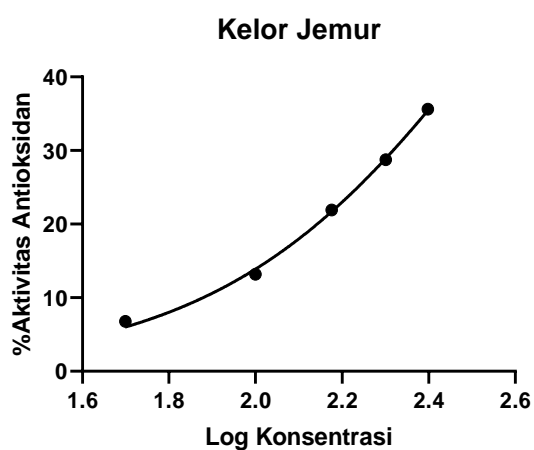
LogEC50	2,555 to 2,640
HillSlope	1,183 to 1,500
EC50	358,5 to 436,5

Goodness of Fit

Degrees of Freedom	3
R squared	0,9977
Sum of Squares	1,236
Sy.x	0,6419

Constraints

Bottom	Bottom = 0
Top	Top = 100
LogEC50	LogEC50 is shared
HillSlope	HillSlope is shared



4. Kelor Angin

Konsentrasi	A1	A2	A3	Absorbansi rata-rata
Kontrol	0.4513	0.4505	0.4507	0.450833
50 ppm	0.4177	0.4279	0.4243	0.4233
Kontrol	0.4504	0.4517	0.451	0.451033
100 ppm	0.3936	0.3913	0.3914	0.3921
Kontrol	0.4513	0.4516	0.4514	0.451433
150 ppm	0.3627	0.3694	0.3618	0.364633
Kontrol	0.4514	0.4517	0.4515	0.451533
200 ppm	0.3346	0.3301	0.3288	0.331167
Kontrol	0.4518	0.4524	0.4524	0.4522
250 ppm	0.3094	0.2974	0.3068	0.304533

Aktivitas antioksidan tepung angin hasil ekstraksi ultrasonik				
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi kontrol	Absorbansi sampel	% Aktivitas Antioksidan(y)	Log konsentrasi (x)
50	0.450833	0.4233	6.107209	1.69897
100	0.451033	0.3921	13.06629	1.116152
150	0.451433	0.364633	19.22765	1.283926
200	0.451533	0.331167	26.65732	1.425816
250	0.4522	0.304533	32.65517	1.513952

Perhitungan EC50 kering angin hasil ekstraksi ultrasonik

Best-fit values

Bottom = 0,000

Top = 100,0

LogEC50 = 2,646

HillSlope = 1,286

EC50 = 442,1

Span = 100,0

95% CI (profile likelihood)

LogEC50 = 2,608 to 2,690

HillSlope = 1,159 to 1,420

EC50 = 405,2 to 490,0

Goodness of Fit

Degrees of Freedom = 3

R squared = 0,9983

Sum of Squares = 0,7599

Sy.x = 0,5033

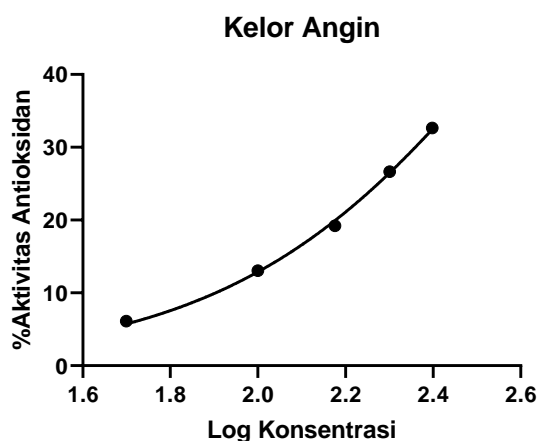
Constraints

Bottom = Bottom = 0

Top = Top = 100

LogEC50 = LogEC50 is shared

HillSlope = HillSlope is shared



5. Cokelat Tepung Jemur

Konsentrasi	A1	A2	Absorbansi rata-rata
Kontrol	0.8046	0.3548	0.5797
50 ppm	0.8242	0.3578	0.591
Kontrol	0.8057	0.3549	0.5803
100 ppm	0.8038	0.3472	0.5755
Kontrol	0.8072	0.3551	0.58115
150 ppm	0.7989	0.3402	0.56955
Kontrol	0.8069	0.3555	0.5812
200 ppm	0.7967	0.3353	0.566
Kontrol	0.8071	0.3552	0.58115
250 ppm	0.7877	0.3263	0.557

Aktivitas antioksidan coklat tepung jamur hasil ekstraksi ultrasonik

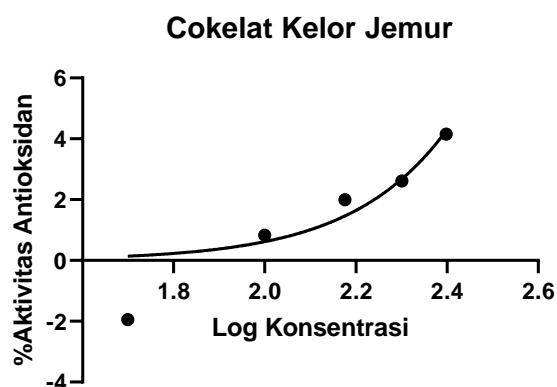
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi kontrol	Absorbansi sampel	% Aktivitas Antioksidan(y)	Log konsentrasi (x)
50	0.5797	0.591	-1.9493	1.69897
100	0.5803	0.5755	0.82716	2
150	0.58115	0.56955	1.99604	2.176091
200	0.5812	0.566	2.61528	2.30103
250	0.58115	0.557	4.15555	2.39794

Perhitungan EC₅₀ coklat jamur hasil ekstraksi ultrasonik

Best-fit values

Bottom	0,000
Top	100,0
LogEC50	3,027
HillSlope	2,148
EC50	1065
Span	100,0

95% CI (profile likelihood)	
LogEC50	111,5
HillSlope	0,01650 to +infinity
EC50	3,031e+111
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0,7746
Sum of Squares	4,708
Sy.x	1,253
Constraints	
Bottom	Bottom = 0
Top	Top = 100



6. Cokelat Tepung Angin

Konsentrasi	A1	A2	A3	Absorbansi rata-rata
Kontrol	0.4972	0.5015	0.4959	0.4982
50 ppm	0.4826	0.4814	0.4864	0.483467
Kontrol	0.4967	0.4962	0.4957	0.4962
100 ppm	0.4976	0.4914	0.4924	0.4938
Kontrol	0.4968	0.4964	0.4966	0.4966
150 ppm	0.4679	0.4662	0.4683	0.467467
Kontrol	0.4954	0.4976	0.4966	0.496533
200 ppm	0.4602	0.4565	0.4548	0.457167
Kontrol	0.4967	0.4958	0.4963	0.496267
250 ppm	0.4501	0.4533	0.4463	0.4499

Aktivitas antioksidan cokelat tepung angin hasil ekstraksi ultrasonik

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi kontrol	Absorbansi sampel	% Aktivitas Antioksidan(y)	Log konsentrasi (x)
50	0.4982	0.483467	2.957313	1.69897
100	0.4962	0.4938	0.483676	2
150	0.4966	0.467467	5.866559	2.176091
200	0.496533	0.457167	7.928303	2.30103
250	0.496267	0.4499	9.343095	2.39794

Perhitungan EC₅₀ coklat angin hasil ekstraksi ultrasonik

Best-fit values

Bottom	0,000
Top	100,0
LogEC50	3,090
HillSlope	1,397
EC50	1232
Span	100,0

95% CI (profile likelihood)

LogEC50	2,590 to 16,03
HillSlope	0,08938 to 4,507
EC50	389,3 to 1,078e+016

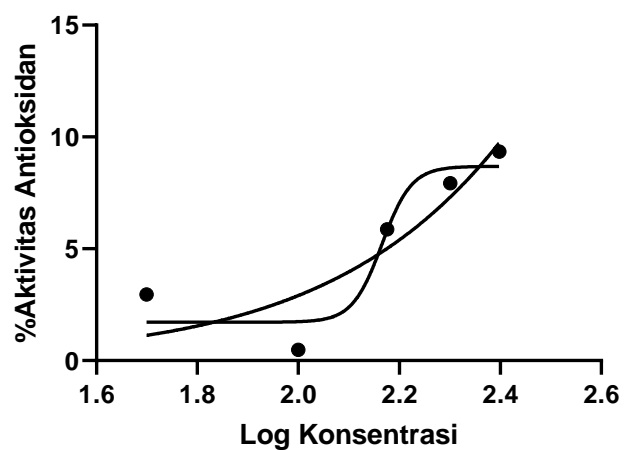
Goodness of Fit

Degrees of Freedom	3
R squared	0,7992
Sum of Squares	10,49
Sy.x	1,870

Constraints

Bottom	Bottom = 0
Top	Top = 100
LogEC50	LogEC50 is shared
HillSlope	HillSlope is shared

Cokelat Kelor Angin



L.4.6 Uji Fitokimia

Tabel. Hasil uji fitokimia

No	Sampel	P	Alkaloid			Flavono id	Tanin	Saponin	Steroid	Triterpenoid
			Drogen droff	Mayer						
1	Cokelat	1	-	-	+	-	+	-	+	
		2	-	-	+	-	+	-	++	
		3	-	-	-	-	+	-	++	
2	Kering jemur	1	-	-	++	+	+	-	++	
		2	-	-	++	+	+	-	++	
		3	-	-	-	+	+	-	+	
3	Kering angin	1	-	-	+	+	+	-	++	
		2	-	-	+	+	+	-	++	
		3	-	-	+	+	+	-	++	
4	Cokelat jemur	1	-	-	+	+	+	-	+	
		2	-	-	+	+	+	-	++	
		3	-	-	-	+	+	-	+	
5	Cokelat angin	1	-	-	+	+	++	-	+	
		2	-	-	+	+	++	-	++	
		3	-	-	-	+	++	-	++	

Keterangan :

- Tanda ++ : terkandung senyawa warna pekat
 Tanda + : terkandung senyawa warna muda
 Tanda - : tidak terkandung senyawa dan tidak mengalami perubahan yang telah ditentukan

1.5 Dokumentasi Penelitian

1.5.1 Preparasi sampel



Pengambilan sampel daun kelor



Pemetikan daun kelor dari rantingnya



Pengeringan dibawah sinar matahari



Pengeringan angin tanpa terkena sinar matahari



Penggilingan daun kelor yang telah dijemur



Hasil penggilingan daun kelor

1.5.2 Uji Kadar Air



Sampel dioven pada suhu 105°C



Sampel ditaruh pada desikator

1.5.3 Pembuatan Cokelat Kelor



Bahan yang dibutuhkan yaitu coklat compound merek Tulip dan tepung kelor angin, jemur



Setelah dilelehkan dengan metode steam lalu dicetak



Hasil coklat dengan penambahan tepung kelor jamur



Hasil coklat dengan penambahan tepung kelor angin

1.5.4 Ekstraksi Ultrasonik



30 mg tepung kelor angin/jemur dengan aquades 300 mL dengan perbandingan 1:10



Cokelat dipotong kecil-kecil lalu ditimbang sebanyak 30 mg



30 mg coklat dilarutkan dengan 300 mL aquades diaduk hingga larut sempurna



Proses ekstraksi ultrasonik selama 20 menit



Hasil coklat setelah diekstraksi selama 20 menit



Kemudian disaring dengan kertas saring



Proses rotav untuk menghilangkan pelarut aquades dengan tekanan pompa 800 dan suhu 60°C



Proses freeze dry untuk menghilangkan pelarut aquades



Hasil dari setengah rotav



Hasil dari rotav 5 sampel

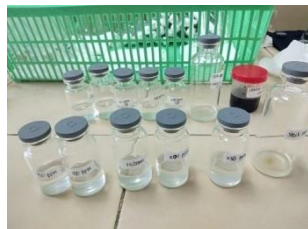
1.5.5 Analisis Aktivitas Antioksidan



Tabung reaksi harus dilapisi dengan aluminium foil



Rak tabung reaksi juga dilapisi dengan aluminium foil



Pembuatan larutan konsentrasi

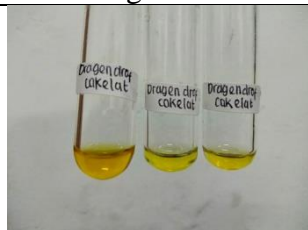


Pembuatan larutan stok

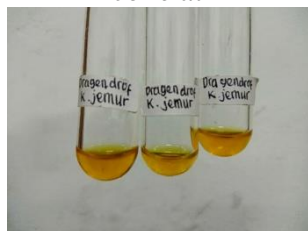
1.5.6 Uji Fitokimia

1.5.6.1 Alkaloid

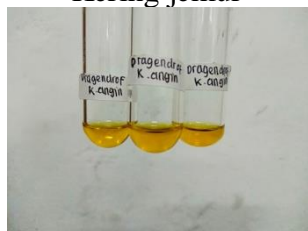
Dragendroff



cokelat

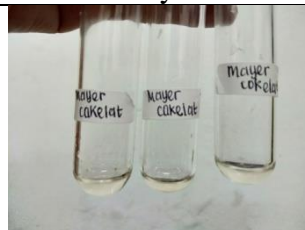


Kering jamur



Kering angin

Mayer



cokelat



Kering jamur



Kering angin



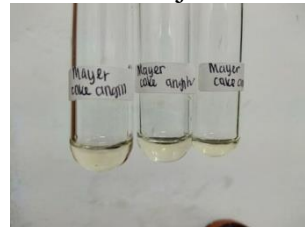
Cokelat jamur



Cokelat jamur

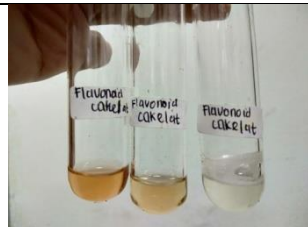


Cokelat anjin



Cokelat anjin

1.5.6.2 Flavonoid



Cokelat



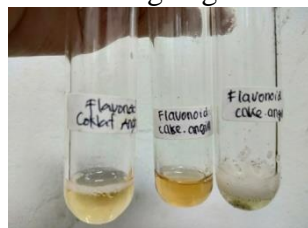
Kering jamur



Kering anjin



Cokelat jamur



Cokelat anjin



Uji flavonoid

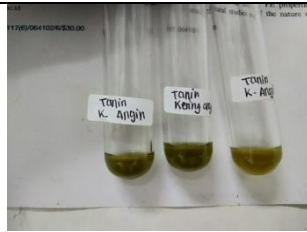
1.5.6.3 Tanin



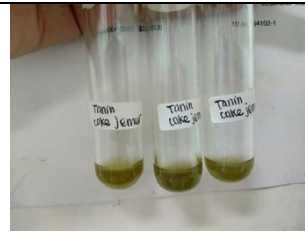
cokelat



Kering jamur



Kering angin



Cokelat jamur



Cokelat angin

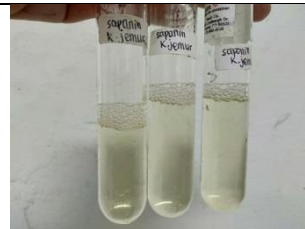


Uji tanin

1.5.6.4 Saponin



cokelat



Kering jamur



Kering angin



Cokelat jamur



Cokelat angin



Uji triterpenoid

1.5.6.5 Steroid/ Triterpenoid



cokelat



Kering jamur



Kering angin



Cokelat jamur



Cokelat angin
