

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN HASIL *FREEZE DRY* DARI EKSTRAK AIR DAUN KELOR (*Moringa oleifera*), UMBI BIT (*Beta vulgaris L.*) DAN BROKOLI (*Brassica oleracea L.*) SEBAGAI BAHAN TAMBAHAN MINUMAN SUPLEMEN**

**Tukiran\*, Mauren Gita Miranti, Idah Dianah Wati, Titik Mardiyanti Sofyah, Tiara Rahmawati, Hidayatul Maulida Fatikhurohmah, Fauzia Indah Sabila**

*Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Surabaya*

*<sup>b</sup>Jurusan Pendidikan Tata Boga, FT, Universitas Negeri Surabaya*

*Jl. Ketintang Surabaya (60231), Telp. 031-8298761*

*\*email : tukiran@unesa.ac.id*

**ABSTRAK**

Upaya pencegahan infeksi covid-19 pada lansia dilakukan dengan peningkatan daya tahan tubuh salah satunya dengan konsumsi suplemen atau minuman kesehatan yang mengandung antioksidan. Antioksidan alami dapat diperoleh kandungan senyawa aktif dari tumbuhan, diantaranya daun kelor, umbi bit dan brokoli yang diekstraksi dengan metode freeze dry. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak daun kelor, umbi bit dan brokoli hasil freeze dry. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis melalui metode penangkapan radikal bebas bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Hasil penelitian menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> dari ekstrak daun kelor hasil freeze dry sebesar 162,98 ppm tergolong antioksidan kategori lemah, ekstrak buah bit sebesar 231,25 ppm ppm tergolong antioksidan kategori sangat lemah dan ekstrak brokoli sebesar 379,11 ppm tergolong antioksidan kategori sangat lemah.

**Kata kunci :** antioksidan, brokoli, DPPH, daun kelor, IC<sub>50</sub>, umbi bit.

**ABSTRACT**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TESTING OF FREEZE DRY FROM MORINGA LEAF (*Moringa oleifera*), BIT (*Beta vulgaris L.*) AND BROCOLI (*Brassica oleracea L.*) EXTRACTS AS ADDITIONAL INGREDIENTS FOR BEVERAGE SUPPLEMENTS..** *Efforts to prevent COVID-19 infection in the elderly are carried out by increasing body resistance, one of which is the consumption of supplements or health drinks containing antioxidants. Natural antioxidants can be obtained from active compounds from plants, including Moringa leaves, beetroot, and broccoli which were extracted using the freeze-drying method. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of the extract of Moringa leaves, beetroot, and broccoli from freeze-dried. Testing the antioxidant activity of UV-Vis spectrophotometer via free radical fishing methods 1, 1 - diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). The results showed the IC<sub>50</sub> value of Moringa leaf extract from freeze-dried results of 162.98 ppm classified as weak antioxidant category, beetroot extract of 231.25 ppm classified as very weak antioxidant category, and broccoli extract of 379.11 ppm classified as a very weak antioxidant category.*

**Keyword :** *Anti-oxidant, beet root, broccoli, IC<sub>50</sub>, Moringa leaves*

## PENDAHULUAN

Covid-19 merupakan salah satu penyakit menular yang menyerang saluran pernafasan yang disebabkan infeksi *severe acute respiratory syndrome corona virus 2* (SARS-CoV-2) (Cao, 2020). Kelompok yang beresiko tinggi terinfeksi Covid-19 adalah kelompok usia lanjut atau lansia. Pada lansia terjadi proses penuaan, yaitu proses penurunan kemampuan fungsi sel pada organ-organ dalam memperbaiki, mengganti dan mempertahankan fungsi normal sehingga rentan terhadap penyakit menular dan tidak dapat memperbaiki kerusakan yang diderita. Lansia juga dapat mengalami perubahan fisik dan psikologis akibat proses degeneratif (Tursina, 2020).

Penyakit degeneratif dipicu oleh gaya dan pola hidup yang buruk, seperti kurang beraktivitas serta tidak memperhatikan asupan zat gizi makro dan gizi mikro pada pola makan. Asupan makanan yang tidak seimbang diketahui menjadi salah satu faktor penting dalam timbulnya penyakit degenerative, diantaranya diabetes mellitus, hiperlipidemia dan hipertensi yang merupakan komorbid dari COVID-19 (Marwiati *et al.*, 2021).

Upaya pencegahan infeksi covid-19 pada lansia dilakukan peningkatan daya tahan tubuh dengan memperhatikan asupan gizi. Menurut Syam *et al.*, (2013) kekurangan asupan gizi secara kualitas maupun kuantitas dapat menyebabkan penurunan imunitas sehingga rentan terserang penyakit, terutama penyakit infeksi. Sedangkan lansia termasuk kelompok rentan maka perlu upaya lebih dalam peningkatan daya tahan tubuh salah satunya dengan konsumsi suplemen atau minuman kesehatan yang mengandung antioksidan selama masa pandemik (Galanakis, 2020; Nurislaminingsih, 2020).

Antioksidan merupakan senyawa yang diperlukan tubuh untuk menetralkan dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh reaksi radikal bebas terhadap sel normal, protein dan lemak. Struktur molekul yang dimiliki senyawa antioksidan mampu mendonorkan elektronnya pada molekul radikal bebas untuk memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Murray *et al.*, 2009). Pada kasus covid-19, antioksidan berperan terhadap sistem imun, diantaranya meningkatkan subset dari sel T, meningkatkan respon limfosit untuk merespon adanya mitogen, dan meningkatkan produksi interleukin-2 yang berperan sebagai antiinflamasi (Muscogiuri *et al.*, 2020). Senyawa antioksidan juga berperan dalam memodulasi pengaktifan *natural killer* (NK) *cells*, yaitu *first line* dari sistem pertahanan tubuh dalam menghadapi infeksi virus (Nuriannisa & Yuliani, 2021).

Antioksidan dapat berasal dari kandungan senyawa aktif pada tanaman. Berbagai macam tanaman di Indonesia sudah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh

masyarakat antara lain yaitu daun kelor, buah bit dan brokoli. Daun kelor mengandung flavonid, sterol, triterpenoid, alkaloid, saponin dan fenol (Ikalinus *et al.*, 2015). Kelor tinggi akan kandungan nutrisi berupa protein,  $\beta$ -karoten, vitamin C, mineral terutama zat besi dan kalsium (Palupi *et al.*, 2015). Buah bit mengandung vitamin dan mineral seperti vitamin B, vitamin C, kalsium, fosfor, besi dan senyawa aktif betasianin, yang merupakan senyawa yang termasuk kelompok flavonoid dan bersifat polar karena mengikat gula dan pigmen bernitrogen dan diketahui memiliki efek antioksidan (Mastuti *et al.*, 2010). Brokoli merupakan salah satu jenis sayuran yang banyak mengandung vitamin (A, C, E, riboflavin, tiamin, nikotinamid), beta, karoten, dan glutation. Brokoli memiliki kandungan vitamin C yang lebih tinggi dari sayuran lain yaitu sebesar 89,2 mg dan 2,6 mg sehingga dapat berperan sebagai antioksidan (USDA, 2012).

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode penangkapan radikal bebas menggunakan radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). DPPH secara luas digunakan untuk menguji kemampuan senyawa bertindak sebagai pencari radikal bebas atau donor hidrogen, dan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari makanan. Metode ini dipilih aktivitas penangkap radikal bebas yang tinggi dalam pelarut organik pada suhu kamar, metode sederhana, mudah, menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dalam waktu yang singkat dan hanya membutuhkan spektrofotometer UV-Vis (Hanani E., 2005).

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : neraca analitik (Advanturer Ohaus), labu ukur, gelas kimia, pipet tetes, mikromter pipet, kertas saring, vial kaca, Erlenmeyer, ayakan 60 mesh, corong kaca, botol plastik, botol kaca gelap, wadah, *slow juicer*, *freeze dryer*, Spektrofotometer UV-1800 SHIMADZU.

### **Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : daun kelor, buah bit, brokoli, asam askorbat, serbuk DPPH, metanol teknis, metanol p.a, dan aquades,

## **Prosedur Penelitian**

### **1. Pembuatan Ekstrak Daun Kelor**

Sampel daun kelor, buah bit dan brokoli yang digunakan sebanyak  $\pm$  1 kg dan diperoleh dari Pasar Wonokromo, Surabaya. sampel dibersihkan dari kotoran yang menempel, setelah bersih kemudian di blender dengan menggunakan *slow juicer* dengan menggunakan air 100 mL. Filtrat yang dihasilkan disaring menggunakan saringan no. 60 mesh, kemudian dipisahkan filtrat dan residu masing-masing sampel. Filtrat dipindahkan pada erlenmeyer kemudian dibekukan dalam *freezer* suhu  $-80$  °C selama  $\pm$  24 Jam. Setelah itu dilakukan proses running pada mesin *freeze dry* pada suhu  $-50$  °C hingga masing-masing ekstrak sampel kering kurang lebih selama 48 jam.

### **2. Penentuan Aktivitas Antioksidan**

#### **a. Pembuatan Larutan DPPH 0,004%**

Sebanyak 4 mg serbuk DPPH kemudian dilarutkan dalam 100 mL metanol sehingga didapatkan larutan DPPH 0,004%. Larutan DPPH 0,004% diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm, sehingga didapatkan panjang gelombang maksimum.

#### **b. Pengujian Aktivitas Antioksidan**

Sebanyak 2 mL metanol ditambahkan kedalam larutan DPPH 0,004% sebanyak 2 mL. Kemudian dikocok dan larutan didiamkan selama 30 menit pada ruang gelap. Setelah itu dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang optimum, sehingga didapatkan nilai absorbansi dari larutan blangko. Sebanyak 2 mL larutan sampel 50 ppm ditambahkan dengan 2 mL larutan DPPH 0,004% dalam metanol p.a, campuran kemudian dikocok setelah itu didiamkan selama 30 menit pada ruangan gelap. Setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang optimum sehingga didapatkan nilai absorbansi sampel. Dengan langkah yang sama dapat dilakukan untuk larutan sampel dengan konsentrasi 100, 150, 200, dan 250 ppm. Setiap larutan sampel dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Setelah itu dilakukan perhitungan % inhibisi dan ditentukan IC50. Untuk mencari nilai IC50 untuk vitamin C dapat diulangi dengan langkah yang sama.

## **PEMBAHASAN**

### **Pembuatan Ekstrak dengan Metode *Freeze Dry***

Sampel daun kelor, bah bit dan brokoli yang digunakan dalam keadaan segar. Masing-masing sampel yang telah dibersihkan selanjutnya diekstrak dengan mesin *slow juicer* .

Prinsip kerja mesin *slow juicer* yaitu pengekstrakan dengan menekan (*pressing*) sampel dengan uliran serat khusus dengan kecepatan yang rendah sekitar 32 rpm sehingga filtrat yang terekstrak lebih banyak sekaligus mampu memisahkan ampas yang tersisa (Rumahorbo *et al.*, 2015). Filtrak ekstrak masing-masing sampel disimpan dalam erlenmeyer dan didinginkan dalam lemari es suhu -80 °C selama 24 jam sebelum dilakukan pengeringan ekstrak dengan mesin *freeze dry* selama 48 jam.

Prinsip dari teknik *Freeze dry* atau pengeringan beku dimulai dengan proses pembekuan pangan, dan dilanjutkan dengan pengeringan; yaitu mengeluarkan/ memisahkan hampir sebagian besar air dalam bahan yang terjadi melalui mekanisme sublimasi dengan kondisi vakum untuk menghindari terbentuknya kristal-kristal es yang dapat merusak sampel (Adams *et al.*, 2015). Proses pengeringan beku terjadi melalui mekanisme sublimasi yang terjadi pada suhu dingin. Karena itu, proses gelatinisasi, karamelisasi, dan denaturasi tidak terjadi, sehingga pada bagian pangan yang kering tidak terjadi perubahan pembentukan kerak. Keunggulan pengeringan ekstrak dengan *freeze dry* diantaranya mampu mempertahankan mutu, salinitas produk dan stabilitas struktur bahan serta menghambat aktivitas mikroba serta mencegah terjadinya reaksi-reaksi kimia dan aktivitas enzim yang dapat merusak kandungan gizi bahan pangan (Nofrianti, 2013).

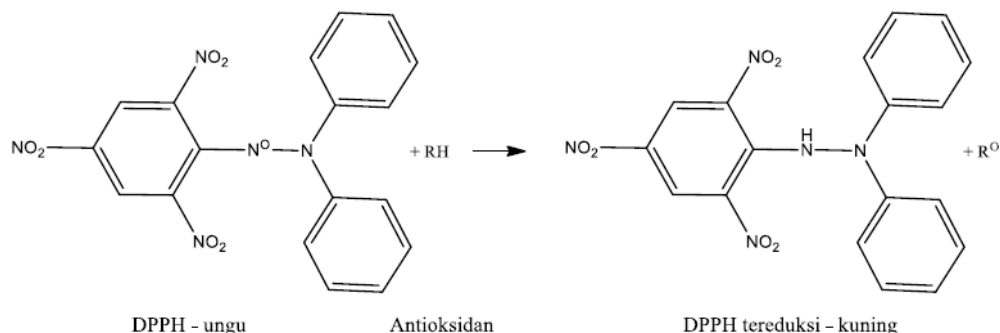
### **Aktivitas Antioksidan**

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode pengujian 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) untuk mengetahui seberapa kuat aktivitas antioksidan yang disebabkan oleh ekstrak daun kelor, buah bit dan brokoli hasil *freeze dry*. Larutan uji yang terdiri dari larutan sampel masing-masing hasil *freeze dry* dengan konsentrasi (50, 100, 150, 200 dan 250 ppm) dan vitamin C (1,5,10,15 dan 20 ppm) ditambahkan dengan larutan DPPH 0,004% dan diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi larutan uji dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 514 nm. Nilai absorbansi larutan uji digunakan untuk menentukan nilai persen inhibisi senyawa antioksidan dalam masing-masing sampel terhadap DPPH. Adapun hasil pengukuran absorbansi dan perhitungan % inhibisi radikal bebas terdapat di tabel 1.

**Tabel 1.** Pengukuran Absorbansi dan % inhibisi Larutan Uji

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% inhibition (%)	Linier Regression
Blangko	-	0,4456	-	-
Daun Kelor	50	0,3358	23,8300	$y = 0,2579x + 7,9663$ $R^2 = 0,986$
	100	0,3060	30,5965	
	150	0,3083	45,9288	
	200	0,1824	58,6376	
	250	0,1136	74,2950	
Umbi Bit	50	0,3581	19,6365	$y = 0,1161x + 11,589$ $R^2 = 0,9943$
	100	0,3142	29,4883	
	150	0,2877	35,4354	
	200	0,2492	44,0754	
	250	0,2056	53,8600	
Brokoli	50	0,3872	13,1031	$y = 0,1128x + 7,2362$ $R^2 = 0,9676$
	100	0,3718	16,5666	
	150	0,3268	26,6667	
	200	0,3131	29,7297	
	250	0,2908	34,7247	
Vitamin C	1	0,4359	1,1265	$y = 1,3894x - 1,9789$ $R^2 = 0,9848$
	5	0,4259	3,4021	
	10	0,3927	10,9322	
	15	0,3571	19,0066	
	20	0,3241	26,4988	

Berdasarkan tabel 1. Diketahui bahwa semakin meningkatnya konsentrasi larutan uji sampel maka nilai absorbansi yang diperoleh semakin kecil, sehingga persen inhibisi atau peredaman radikal semakin tinggi. Absorbansi yang diperoleh dipengaruhi akibat perubahan warna larutan uji dari berwarna violet menjadi kuning, yang menandakan adanya aktivitas senyawa antioksidan dalam sampel terhadap penangkapan radikal bebas DPPH. Hal tersebut menyebabkan radikal DPPH akan tereduksi oleh proses donasi hidrogen atau electron sehingga berakibat pada berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi dan tidak ada resonansi electron pada DPPH sehingga terjadi penurunan intensitas warna pada larutan uji. Adapun reaksi antara senyawa antioksidan dengan radikal bebas DPPH sebagai berikut :



**Gambar 1.** Reaksi senyawa antioksidan dengan DPPH (Molyneux, 2004)

Hasil persen inhibisi yang didapatkan tersebut kemudian digunakan untuk menghitung nilai  $IC_{50}$  sebagai parameter utama dalam pengukuran aktivitas antioksidan dalam larutan uji. Nilai  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk mengurangi radikal bebas DPPH sebesar 50%. Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak sebagai sumbu x dan %inhibisi sebagai sumbu y. Hasil analisis persamaan regresi linier pada tabe 1. dapat menentukan nilai  $IC_{50}$  pada masing-masing ekstrak hasil *freeze dry*.

**Tabel 2.** Tingkat Aktivitas Antioksidan

Sampel	$IC_{50}$	Tingkat Aktivitas Antioksidan ( $IC_{50}$ )			
		Sangat Kuat (< 50)	Kuat (50-100)	Lemah (101-250)	Sangat Lemah (250-500)
Daun Kelor	162,98			√	
Umbi Bit	231,25				√
Brokoli	379,11				√
Vitamin C	37,41	√			

Berdasarkan tabel 2. dapat diketahui nilai  $IC_{50}$  dari masing-masing ekstrak yang menunjukkan aktivitas antioksidan yaitu ekstrak hasil freeze dry daun kelor tergolong antioksidan lemah, umbi bit dan brokoli yang tergolong antioksidan sangat lemah dengan vitamin C digunakan sebagai standart yang tergolong sebagai antioksidan yang sangat kuat. Rendahnya aktivitas antioksidan ini kemungkinan disebabkan oleh berbagai faktor, diantaranya karena metode ekstraksi yang digunakan kemungkinan tidak cukup menarik komponen kimia yang bersifat antioksidan dalam ekstrak air daun kelor. Buah bit dan brokoli.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa hasil uji aktivitas antioksidan hasil freeze dry dari ekstrak air daun kelor menunjukkan kategori lemah dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 162,98 ppm, ekstrak umbi bit menunjukkan kategori sangat lemah dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 231,25 ppm, dan ekstrak brokoli menunjukkan kategori sangat lemah dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 379,11 ppm. sedangkan aktivitas antioksidan vitamin c menunjukkan kategori kuat dengan  $IC_{50}$  sebesar 37,41 ppm.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adams, G. D., Cook, I., & Ward, K. R. (2015). The Principles of Freeze-Drying. *Methods in Molecular Biology*, 257(1), 121–143.
- Cao, X. (2020). COVID-19: Immunopathology and Its Implications for Therapy. *Nature Reviews Immunology*, 20(1), 269–270.
- Galanakis, C. M. (2020). The Food System in the Era of the Coronavirus (COVID-19) Pandemic Crisis. *Foods*, 9(1), 1–10.
- Hanani, E. M. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callyspongia* sp. Dari kepulauan seribu. *Majalah ilmu kefarmasian*, 2, 127.
- Ikalinus, R., Sri, K. W., & Setiasih, N. L. E. (2015). Skrining fitokimia ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79.
- Marwiati, Setyawati, A., & Fahrurozi, M. (2021). Screening Degeneratif Disease Di Era Pandemi COVID-19. *Karya Kesehatan Journal of Community Engagement*, 2(1), 6–9.
- Mastuti, Yizhong, C., & Harold, C. (2010). Identifikasi Pigmen Betasianin pada Beberapa Jenis Inflorescence *Celosia*. *Jurnal Biologi UGM*, 66(6), 664-: 672.
- Molyneux, P. (2004). The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakar Journal of Science and Technology*, 26(2), 211–221.
- Murray, R. K., Granner, D., & Rodwell, V. (2009). *Biokimia Harper*. Penerbit Buku Kedokteran, EGC.
- Muscogiuri, G., Barrea, L., Savastano, S., & Colao, A. (2020). Nutritional Recommendations for CoVID-19 Quarantine. *European Journal of Clinical Nutrition*, 74(1), 850–851.
- Nofrianti, R. (2013). *Metode Freeze Drying Bikin Keripik Makin Crunchy*. Institut Pertanian Bogor.
- Nuriannisa, F., & Yuliani, K. (2021). Implementasi Konsep Health Belief Model terhadap Asupan Antioksidan Mahasiswa Gizi selama Pandemi COVID-19. *Jurnal Gizi Unimus*, 10(1), 14–22.
- Nurislaminingsih, R. (2020). Layanan Pengetahuan tentang COVID-19 di Lembaga Informasi. *Jurnal Ilmu Perpustakaan Dan Informasi*, 5(1), 19–37.
- Palupi, H., Agung, T. D., Muzaki, R., & Ratna, B. (2015). Pengaruh penambahan ekstrak daun kelor terhadap kualitas yoghurt. *Jurnal Teknologi Pangan*, 6(2), 59–66.
- Rumahorbo, P., Karo-Karo, T., & Julianti, E. (2015). Pengaruh konsentrasi sorbitol dan lama perendaman terhadap mutu manisan kering pepaya. *Jurnal Rekayasa Pangan Dan Pertanian*, 3(1), 63–70.



- Syam, F. M., Lubis, Z., & Siregar, M. A. (2013). Gambaran Asupan Zat Gizi, Status Gizi, dan Produktivitas Kerja pada Pekerja Pabrik Kelapa Sawit Bagerpang Estate PT. PP. Lonsum. *Jurnal Gizi, Kesehatan Reproduksi, Dan Epidemiologi*, 2(5).
- Tursina, A. (2020). *KOPID PEDIA-Bunga Rampai Artikel Covid-19: Covid-19 dan lansia*. FK Universitas Islam Bandung.
- USDA, U. S. D. o. A., 2018. *Nutrient Database for Standard Reference of raw sample 100g*. [Online] Available at: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/> [Diakses 1 Agustus 2021].