

Standarisasi Kualitas Fraksi Etil Asetat Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.)

Rini Sulistyawati^{1*}, Laela Hayu Nurani², Sholihatil Hidayati¹, Ahmad Mursyidi² dan Mustofa³

¹ Analis Farmasi dan Makanan, Akademi Analis Farmasi Al Islam Yogyakarta

² Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta 55164

³ Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta 55281

*Email: sulistyawati.rini@yahoo.co.id

Abstrak

Keywords:
Standarisasi;
kelor; *Moringa*
oleifera Lamk;
parameter
spesifik; parameter non
spesifik

Mutu dan kanfaat obat tradisional ditentukan oleh bahan baku yang digunakan. Kelor merupakan salah satu bahan baku utama obat tradisional sehingga perlu dilakukan standarisasi untuk meningkatkan mutu. Standarisasi fraksi etil asetat daun kelor (FEDK) meliputi penetapan parameter spesifik dan nonspesifik. Uji parameter spesifik meliputi organoleptis, penetapan kadar senyawa marker. Uji parameter non spesifik meliputi susut pengeringan, kadar air, kadar abu total serta cemaran mikroba dan cemaran kapang khamir. Hasil standarisasi menunjukkan fraksi berbentuk kental, warna hijau kehitaman, bau khas kelor. Hasil pengukuran kadar kuersetin dengan metode spektrofotometri UV-Vis sebesar $3,35\% \pm 0,02$. Nilai susut pengeringan $13,12 \pm 0,05$, adapun kadar air sebesar $12,5\% \pm 0,17$, kadar abu total $4,8 \pm 0,21$, serta tidak terdapat cemaran mikroba maupun kapang khamir. Hasil standarisasi parameter spesifik dan non spesifik FEDK memenuhi persyaratan umum Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat

1. PENDAHULUAN

Tumbuhan obat Indonesia atau yang dikenal dengan nama obat bahan alam Indonesia telah semakin banyak dimanfaatkan baik sebagai obat tradisional/jamu, obat herbal terstandar maupun fitofarmaka [1]. Bahan baku obat herbal berasal dari tanaman utuh, bagian tanaman, bahan setengah jadi (ekstrak, fraksi, minyak atsiri) dan bahan jadi. Melihat jumlah penggunaan bahan alam sebagai bahan baku obat tradisional yang semakin meningkat perlu ditetapkan standar mutu dan keamanan [2]. Standarisasi merupakan proses penjaminan produk akhir agar mempunyai nilai parameter yang konstan. Standarisasi dilakukan untuk memperoleh bahan baku

yang seragam yang akan menjamin aktivitas farmakologi [3] Standarisasi mencakup parameter spesifik dan nonspesifik.

Tanaman kelor telah terbukti memiliki berbagai aktivitas farmakologi seperti antibiotik [4], antiinflamasi dan antinosiseptik [5]. Kelor juga terbukti bermanfaat sebagai antidiabetes [6]. Fraksi etil asetat daun kelor memiliki aktivitas antioksidan melalui mekanisme penghambatan radikal DPPH [7]. Melihat besarnya potensi kelor sebagai tanaman obat maka perlu dilakukan standarisasi fraksi etil asetat daun kelor (FEDK). Standarisasi FEDK diperlukan untuk mempermudah penjaminan konsistensi kualitas. Standarisasi terhadap fraksi etil asetat daun kelor belum pernah

dilakukan. Oleh karena itu penelitian ini perlu dilakukan untuk melengkapi data standarisasi.

2. METODE

2.1 Bahan dan Alat

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian adalah daun kelor yang diperoleh dari Dusun Legundi, Desa Girimulyo Kecamatan Panggang, Kabupaten Gunungkidul. Tanaman kelor dipanen pada umur kurang lebih 1 tahun. Pelarut yang digunakan adalah etanol 80%, akuabidestilata, etanol, n-heksana, etilasetat, natrium klorida 0,9%, plat KLT silica gel 60 F₂₅₄, *plate count agar* (PCA, Oxoid), *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan standar *quercetin* (Sigma).

Peralatan yang digunakan meliputi timbangan analitik, oven, *rotary evaporator* (Heidolph-L4000), pemijar (Vulcan a-550), *Halogen Moisturizer Analyzer* (Mettler Toledo HB43), penangas air, alat hitung koloni, incubator, *laminar air flow cabinet* (LAF), instrument spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1800), alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

2.2. Metode Pengumpulan dan determinasi tanaman

Daun kelor diambil dari daerah Dusun Legundi, Desa Girimulyo Kecamatan Panggang, Kabupaten Gunungkidul. Tanaman kelor dipanen pada umur kurang lebih 1 tahun. Pelaksanaan determinasi dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

Sortasi dan Pengeringan Daun Kelor Daun yang telah dipanen disortasi antara ranting dan daunnya, bagian tumbuhan yang dipakai hanyalah bagian daunnya saja. Daun yang telah disortasi dikeringkan pada lemari pengering selama ± 1 hari

Ekstraksi Serbuk. Serbuk kering diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 80%. Proses ekstraksi dilakukan selama 3 hari dengan remaserasi pada hari ke-4. Setelah

didapatkan ekstrak cair maka dapat dilakukan pemekatan ekstrak menggunakan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapat difraksinasi dengan *n*-heksana dan fraksi tidak larut *n*-heksana dimurnikan dengan etil asetat dan diperoleh fraksi etilasetat. Fraksi etilasetat akan digunakan untuk dilakukan uji parameter spesifik dan non spesifik.

Uji Identitas Ekstrak secara Organoleptik. Uji ini dilakukan sebagai pengenalan awal yang sederhana dan seobyektif mungkin. Uji dilakukan dengan menggunakan panca indera meliputi pengenalan bentuk, bau, rasa dan warna dari ekstrak.

Skrining fitokimia meliputi pemeriksaan polifenol, flavonoid, alkaloid, dan saponin

Identifikasi flavonoid

Fraksi 0,5 gram dalam cawan ditambahkan 2 ml etanol 70% dan diaduk, ditambahkan serbuk magnesium 0,5 g dan 3 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna jingga sampai merah menunjukkan adanya flavon, dan merah padam sampai merah keunguan menunjukkan flavanon

Identifikasi alkaloid

Fraksi 0,5 gram dalam tabung reaksi ditambahkan 2 ml etanol 70%, ditambahkan 5 ml HCl 2 N, dipanaskan di penangas air. Setelah dingin campuran disaring dan filtrat ditambahkan beberapa tetes reagen Mayer. Warna keruh atau adanya endapan menunjukkan sampel mengandung alkaloid

Identifikasi saponin

Fraksi sebanyak 0,5 gram dalam tabung reaksi ditambahkan 2 ml etanol 70% diaduk dan ditambahkan 20 ml aquadest dikocok dan didiamkan 15-20 menit. Adanya busa stabil dengan tinggi lebih dari 2 cm menunjukkan positif saponin.

Kadar Senyawa Marker secara spektrofotometri

Dibuat seri larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 5 ppm, 7,5 ppm, 10 ppm, 12,5 ppm, 15 ppm dan 17,5 ppm. Masing-masing konsentrasi diambil 1 ml dan ditambahkan AlCl_3 2% dan dilakukan pengukuran secara spektrofotometri pada λ 424 nm.

Ditimbang 50 mg fraksi etil asetat dan dilarutkan dalam aquadest 10 ml selanjutnya diambil 250 dan ditambahkan aquadest sampai 5,0 ml, selanjutnya diambil 1 ml dan ditambahkan 2 ml 1 AlCl_3 2% dan dilakukan pengukuran secara spektrofotometri pada λ 424 nm

Uji Parameter Non Spesifik.

Kadar Air. Fraksi ditimbang 5 gram dimasukkan ke labu kering. Sebanyak 200 ml toluen jenuh air dimasukkan ke dalam labu, pasang rangkaian alat. Toluena jenuh dimasukkan ke dalam tabung penerima melalui pendingin sampai leher alat penampung. Labu dipanaskan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluen mendidih kecepatan penyulingan diatur 2 tetes per detik, kemudian dinaikkan hingga 4 tetes per detik. Penyulingan dilanjutkan selama 5 menit. Tabung penerima didinginkan sampai suhu ruang. Volume air dibaca setelah air dan toluen memisah sempurna.

Susut pengeringan. Uji susut pengeringan dilakukan dengan alat *Halogen Moisturizer Analyzer*

Kadar Abu Total. Ditimbang dengan seksama \pm 3 g fraksi. Dimasukkan pada krus silika yang sebelumnya telah dipijarkan dan ditara, kemudian ratakan. Secara perlahan dipijarkan hingga arang habis, kemudian didinginkan dan ditimbang. Jika arang tidak habis, maka dapat ditambahkan air panas dan dilakukan penyaringan dengan kertas saring bebas abu. Sisa kertas dan

kertas saring dipijarkan pada krus yang sama. Dimasukkan filtrate ke dalam krus dan diuapkan. Dilakukan pemijaran kembali hingga bobot tetap, selanjutnya ditimbang dan dihitung kadar abu terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

Cemaran Mikroba (Angka Lempeng Total).

Larutan pengencer dibuat dengan melarutkan 0,9 g NaCl ke dalam 100 mL air. 5 buah tabung reaksi disiapkan untuk masing-masing dituangkan 9 mL NaCl 0,9%. Tabung tersebut dihomogenisasi sebanyak 10 mL atau pengenceran 10^{-1} . Dari hasil homogenisasi pada penyediaan contoh dipipet pengenceran 10^{-1} sebanyak 1 mL ke dalam tabung yang berisi pengencer NaCl 0,9% pertama hingga diperoleh pengenceran 10^{-2} dan dikocok hingga homogen. Pengenceran berikutnya dibuat hingga 10^{-3} . Setelah proses sterilisasi, media agar PCA dituangkan ke dalam 11 cawan petri masing-masing sebanyak 20 mL. segera cawan petri digoyang dan diputar hingga suspensi tersebar secara merata. Dari 11 cawan petri ini satu cawan digunakan sebagai control dan sepuluh lainnya digunakan sebagai perlakuan yang dituangkan masing-masing 1 mL dari tiap-tiap pengenceran. Jika media telah memadat, cawan petri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dengan posisi cawan terbalik. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung.

Cemaran Kapang dan Khamir.

Disiapkan 3 tabung reaksi yang telah diisi 9 mL pengencer NaCl 0,9%. Dilakukan homogenisasi dan pengenceran hingga 10^{-3} . Diambil 0,5 mL dari tiap-tiap pengenceran dan dituangkan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Segera digoyang dan diputar agar media tersebar rata. Dibiarkan memadat

selanjutnya diinkubasi pada suhu 20-25^oC selama 5-7 hari. Koloni ragi dibedakan karena bentuknya bulat kecil-kecil menyerupai bakteri. Lempeng yang diamati adalah yang mengandung 40-60 koloni kapang / khamir

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian standarisasi fraksi etil asetat daun kelor penting dilakukan sebagai upaya untuk menjamin bahwa produk akhir mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan terlebih dahulu (8)

Standarisasi fraksi etil asetat daun kelor meliputi parameter spesifik dan nonspesifik. Parameter spesifik meliputi aspek organoleptik dan penetapan kadar senyawa marker. Sedangkan parameter non spesifik terdiri dari pengukuran kadar air, susut pengeringan, kadar abu total, penetapan cemaran mikroba dan kapang khamir. Pengukuran kadar air, susut pengeringan serta kadar abu dilakukan dengan tiga kali replikasi kemudian diambil nilai rata-rata.

3.1 Standarisasi parameter spesifik

Parameter spesifik meliputi identitas fraksi, organoleptik dan kadar kandungan kimia fraksi

Hasil pengujian parameter standar spesifik tersaji pada tabel 1 dan tabel 2.

Tabel 1. Hasil Penapisan fitokimia

No	Uji tabung	Pereaksi	Hasil
1.	Polifenol	FeCl ₃	++hijau kebiruan
2.	Flavonoid	Uap amonia	++ warna kuning
3.	Saponin	deteksi dengan penggojogan	+ buih
4.	Alkaloid	Pereaksi Dragendorf	++warnaoranye/endapan oranye

Tabel 2. Hasil standarisasi spesifik fraksi etilasetat daun kelor

Parameter	Hasil pengamatan
Organoleptik	
Bentuk	Kental
Warna	Hijau kehitaman
Bau	Khas
Rasa	pahit
Kadar kuersetin	3,35% ± 0,02

Penapisan fitokimia bertujuan untuk memberikan gambaran awal golongan

senyawa metabolit sekunder yang ada dalam fraksi. Penapisan fitokimia FEDK menunjukkan kandungan senyawa polifenol, flavonoid, alkaloid dan saponin. Proses identifikasi bertujuan untuk memberikan kebenaran jenis untuk membedakan dengan tanaman lain yang masih satu genus. Pada penetapan kadar senyawa marker dalam FEDK dengan metode Spektrofotometri UV-Vis dengan baku pembanding kuersetin didapatkan kadar kuersetin dalam FEDK sebesar 3,35% ± 0,02. Kuersetin merupakan senyawa aktif utama dalam daun kelor [9] yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan [7].

3.1 Parameter non spesifik

Parameter non spesifik memberikan gambaran kualitas proses pembuatan fraksi mulai dari pemanenan, penyortiran, pembuatan ekstrak sampai tahap fraksi. Parameter non spesifik terdiri dari pengukuran kadar air, susut pengeringan, kadar abu total, penetapan cemaran mikroba dan kapang khamir. Susut pengeringan menunjukkan nilai hilangnya kandungan air atau senyawa menguap pada saat pengeringan. Pada penetapan susut pengeringan didapatkan nilai 13,12%±0,05. Hasil standarisasi parameter non spesifik tersaji pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil standarisasi non spesifik fraksi etil asetat daun kelor

Parameter	Hasil pengamatan	Acuan
Rendemen	3,72%	
Susut pengeringan	13,12% ±0,05	10%
Kadar air	12,5% ± 0,17	ekstrak kental (5% - 30%)
Kadar abu total	4,8% ± 0,21	< 9% ⁽¹¹⁾
Cemaran mikroba	negatif	BPOM: negatif
Cemaran kapang khamir	negatif	BPOM: negatif

Pada penetapan kadar air yang bertujuan untuk memberikan batasan maksimal atau rentang besarnya kandungan air didapatkan nilai 12,5%±0,17, FEDK merupakan fraksi kental dan masuk dalam batas kadar air 5-30% [10]. Penetapan kadar abu secara gravimetri bertujuan memberikan

gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya FEDK. Nilai kadar abu total FEDK $4,8\% \pm 0,21$. Nilai kadar abu FEDK sesuai memenuhi ketentuan [11]. Cemaran mikroba (Angka Lempeng Total) dan Angka Kapang Khamir bertujuan untuk menghitung mikroba patogen maupun nonpatogen dalam FEDK apakah melebihi batas yang ditetapkan karena akan berpengaruh terhadap stabilitas sediaan dan keamanan. Metode yang digunakan adalah cawan sebar dan hasil pemeriksaan menunjukkan tidak ada kontaminasi mikroba serta kapang khamir. Hasil yang didapatkan memenuhi syarat yaitu dibawah batas maksimum 10^4 CFU/g untuk cemaran mikroba dan dibawah batas maksimum 1×10^3 untuk angka kapang khamir [3]. Tidak adanyacemaran mikroba, dan kapang khamir pada fraksi etil asetat sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan karena fraksi yang digunakan adalah etilasetat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau mikroba dalam fraksi

4. KESIMPULAN

Secara keseluruhan proses fraksinasi daun kelor untuk telah terstandarisasi dengan baik. Hasil penetapan parameter spesifik meliputi kadar senyawa marker (kuersetin) sebesar $3,35\% \pm 0,02$. Penetapan parameter non spesifik meliputi susut pengeringan sebesar $13,12\% \pm 0,05$, kadar air $12,5\% \pm 0,17$, kadar abu total $4,8\% \pm 0,21$ dan tidak terdapat cemaran mikroba serta kapang khamir

REFERENSI

- [1] Hayati F, Wibowo A, Jumaryatno P, Nugraha AT, dan Amalia D. Standarisasi Ekstrak Daun Kangkung Darat Hasil Budi Daya di Wilayah Sardonoharjo Sleman dan Potensinya sebagai Antioksidan. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2015; 13(2): 151-157
- [2] Nikam P, Karepramban J, Jadhav A, Kadam V. Future Trends in Standardization of Herbal Drugs. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2012;06:38-44.
- [3] Direktorat Pemeriksaan Obat dan Makanan. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: BPOM RI; 2000. 13-33
- [4] Eleirt U, Wolters B, Nahrstedt A. The Antibiotic Principle of Seeds of *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala*. *Journal of Medicinal Plant Research*. 2007; 42:55-61
- [5] Sashidara KV, Rosaiah JN, Tyagi E, Sukhla R, Rabhubir. Rare Dipeptide and Urea Derivatives from Roots of *Moringa oleifera* as Potential Antiinflammatory and Antinociceptive Agents. *European Journal of Medicine Chemistry*. 2009; 44(1): 432-436
- [6] Jaiswal D, Rai PK, Mehta S, Kumar A, Watal G. Effect of *Moringa oleifera* Lamk., Leaves Aqueous Extract Therapy on Hyperglycemic Rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 123:392-3
- [7] Dellima BE dan Sulistyawati R. Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH oleh Fraksi n-heksan dan Etil Asetat Daun Kelor. *Media Farmasi*. 2014; 11(1):1-6
- [8] Zainab, Gunanti F, Witasari HA, Edityaningrum CA, Mustofa, Murrukmihadi M. Penetapan Parameter Standarisasi Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dalam: *Prosiding Rakernas dan Pertemuan Ilmiah Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia*. Yogyakarta; 2016
- [9] Moyo B, Oyedemi S, Masika PJ, Muchenje V. Polyphenolic content and antioxidant properties of *Moringa oleifera* leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with *Moringa oleifera*

- leaves/sunflower seed cake, *Meat Science*, 2012;91:461-467
- [10] Saifudin A, Rahayu V, Teruna HY. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu; 2011
- [11] Departemen Kesehatan RI. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta; 1995.168-172