



ARTIKEL PENELITIAN—RESEARCH ARTICLE

Optimasi Pelarut Pada Ekstraksi Senyawa Fenolik Dari Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Menggunakan Simplex Lattice Design

Kharis Farabi¹, Windah Anugrah Subaidah^{1*}, Nisa Isneni Hanifa¹

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Mataram

*Korespondensi:
windahanugrah@unram.ac.id

Abstrak

Latar belakang: Kelor (*Moringa oleifera* L.) merupakan bahan alam yang kaya akan antioksidan salah satunya senyawa fenolik. Pengembangan daun kelor sebagai sumber antioksidan membutuhkan pelarut yang tepat untuk memaksimalkan kadar senyawa fenolik yang diperoleh dari daun kelor sehingga perlu dilakukan optimasi pelarut. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan komposisi pelarut etanol 96% dan aquades yang optimum untuk ekstraksi senyawa fenolik dari daun kelor menggunakan metode Simplex Lattice Design (SLD) dan menentukan kadar fenolik total dari daun kelor berdasarkan komposisi pelarut optimum.

Metode: Metode penelitian meliputi proses ekstraksi sonikasi dengan 5 variasi komposisi pelarut etanol 96%:aquades (P1=100:0), (P2=75:25), (P3=50:50), (P4=25:75), (P5=0:100). Optimasi komposisi pelarut menggunakan metode SLD dengan respon berupa kadar fenolik total. Kadar senyawa fenolik total ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil: Kelompok pelarut dengan kadar fenolik yang optimum adalah kelompok P1 (etanol 96% 100 bagian dan aquades 0 bagian) dengan kadar fenolik total sebesar 3783,583 mg GAE/g ekstrak.

Kesimpulan: Semakin besar proporsi etanol 96% pada pelarut ekstraksi menunjukkan semakin besar pula kadar fenolik total ekstrak daun kelor.

Kata kunci: Daun kelor; Fenolik; Optimasi pelarut; Simplex Lattice Design

PENDAHULUAN

Salah satu tumbuhan yang dikenal di seluruh dunia sebagai tanaman bergizi dan sudah diperkenalkan sebagai salah satu pangan alternatif untuk mengatasi masalah malnutrisi adalah kelor 1. Tanaman kelor mengandung banyak nutrisi, memiliki khasiat dan banyak manfaatnya sehingga kelor mendapat julukan sebagai Miracle Tree. Daun kelor mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain saponin, fenolik, alkaloid dan tannin 2. Selain itu daun kelor juga mengandung senyawa antioksidan alami yaitu asam askorbat, fenolik dan karotenoid 3.

Senyawa fenolik pada daun kelor berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mencegah terjadinya

oksidasi dalam sel 4. Banyaknya fenolik dalam tanaman daun kelor dapat diketahui dengan menghitung nilai kadar total fenolik. Kandungan fenolik total dalam suatu sampel dapat diukur secara kolorimetri dengan metode Folin-Ciocalteu dan dinyatakan dengan massa ekuivalen asam galat, metode Folin-Ciocalteu merupakan metode yang sederhana, sensitif dan teliti 5.

Senyawa aktif tanaman kelor terdapat dalam jaringan, sehingga perlu dilakukan ekstraksi untuk mendapatkan senyawa aktifnya. Ekstraksi adalah proses pemisahan secara kimia dan fisika kandungan zat simplisia menggunakan pelarut yang sesuai 6. Efektivitas ekstraksi suatu senyawa oleh pelarut sangat tergantung pada kelarutan senyawa tersebut dalam pelarut, sesuai dengan prinsip like



dissolve like yaitu suatu senyawa akan terlarut pada pelarut yang sama 7.

Pemilihan jenis pelarut harus mempertimbangkan beberapa faktor antara lain selektivitas, kemampuan untuk mengekstrak, toksisitas, kemudahan untuk diuapkan dan harga pelarut 8. Pada penelitian Chaithada (2018) 9, ekstrak daun kelor yang memiliki kadar fenolik total tertinggi sebesar 325,79 mg GAE/g ekstrak yaitu ekstrak dengan pelarut metanol, namun metanol yang memiliki kepolaran lebih tinggi dari etanol memiliki sifat toksik terhadap manusia yang dapat menyebabkan asidosis metabolik. Etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat universal, polar dan mudah didapat.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sugihartini et al., (2019) 10 melaporkan bahwa ekstraksi daun kelor menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% menghasilkan kadar fenolik total tertinggi sebesar 132,54 mg GAE/g ekstrak dibandingkan pelarut etanol 50% dan 96%. Hasil penelitian oleh Daghaghele et al., (2021) 11 menyatakan bahwa proses ekstraksi daun kelor dengan metode sonikasi selama 15 menit, dengan amplitude ultrasonik 100% dan pelarut etanol 80% adalah kondisi optimum dan memperoleh kadar fenolik total sebesar 974 mg GAE/g ekstrak. Berdasarkan hal tersebut dapat terlihat metode yang paling baik untuk menghasilkan kadar fenolik total yang tertinggi adalah menggunakan metode sonikasi. Pada penelitian Daghaghele et al., (2021) 11 penggunaan rasio konsentrasi etanol masih belum luas sehingga perlu dilakukan penelitian dengan rasio konsentrasi etanol 0% sampai 96%. Dari penelitian yang telah dilakukan sebelumnya diketahui bahwa konsentrasi pelarut etanol yang berbeda-beda akan menghasilkan kadar fenolik total yang berbeda pula, sehingga perlu dilakukan optimasi konsentrasi pelarut.

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk optimasi adalah Simplex Lattice Design (SLD). Penggunaan SLD akan lebih memudahkan dalam mengoptimalkan variabel dan menentukan formula optimum dengan menggunakan jumlah percobaan yang sedikit sehingga dapat meminimalkan penggunaan bahan. Keunggulan metode ini juga cepat, praktis karena dapat menghindarkan penentuan formula secara coba-coba (trial and error) 8. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan perbandingan pelarut yang

optimum untuk ekstraksi senyawa fenolik dari daun kelor menggunakan Simplex Lattice Design dan kadar fenolik total dari ekstrak daun kelor pada pelarut optimum 12.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas Iwaki®, blender Kirin®, kain hitam, kain mori, rak tabung reaksi, penjepit tabung reaksi, timbangan analitik Ohaus®, spektrofotometer UV-Visible Specord® 200, sonikator Elmasonic®, mixer Vortex®, hotplate Labnet®, dan rotary evaporator Heidolph®.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L.). Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 96% teknik, aquades, asam galat Merck®, aquabidest, FeCl₃ Merck®, Na₂CO₃ Merck®, dan Folin-Ciocalteu Merck®.

Prosedur Kerja

Sampel yang telah diperoleh sebanyak 4,2 kg dikoleksi dari Apitaik Kecamatan Pringgabaya, Kabupaten Lombok Timur, Nusa Tenggara Barat (NTB). Daun kelor hasil panen dilakukan pengolahan pasca panen hingga menjadi simplia dan dihaluskan menggunakan blender serta diayak menggunakan ayakan 70 mesh, untuk selanjutnya dilakukan proses ekstraksi¹³.

Tabel 1. Komposisi Pelarut Pada Proses Ekstraksi Daun Kelor

Kelompok	Komposisi Pelarut	
	Etanol 96%	Aquades
P1	100 bagian	0 bagian
P2	75 bagian	25 bagian
P3	50 bagian	50 bagian
P4	25 bagian	75 bagian
P5	0 bagian	100 bagian

Sebanyak 50 g sampel masing-masing diekstraksi dengan metode sonikasi 3x30 menit menggunakan



pelarut etanol dan aquades sebanyak 250 mL dengan perbandingan pada tabel 1. Filtrat dipekatkan dengan rotary evaporator dan dilanjutkan menggunakan waterbath sederhana hingga didapatkan ekstrak kental. Kemudian dihitung persen rendemen dan diuji organoleptis (warna, bau, rasa dan tekstur) dari masing-masing ekstrak ¹⁴. Perhitungan rendemen ekstrak daun kelor menggunakan rumus :

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{berat ekstrak kental (g)}}{\text{berat simplisia awal (g)}} \times 100 \%$$

Penetapan kadar fenolik total

Penetapan kadar fenolik total dilakukan dengan metode Follin-Ciocalteu menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang mengacu pada prosedur Alfian & Susanti (2012) ¹³ dengan tahapan sebagai berikut:

a) Pembuatan larutan induk asam galat (0,5 mg/ml)

Sebanyak 0,05 g asam galat dilarutkan dalam 0,5 mL aquabidest, kemudian diencerkan dengan aquades sampai volume 100 mL.

b) Pembuatan larutan Na₂CO₃ 7,5%

Sebanyak 7,5 g Na₂CO₃ dilarutkan dengan aquabidest secukupnya, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dicukupkan volumenya hingga tanda batas.

c) Penentuan kurva baku

Sebanyak 300 µL larutan asam galat dengan konsentrasi 10, 15, 20, 25, 30, dan 35 µg/ml masing masing dimasukkan dalam tabung, kemudian ditambahkan dengan 1,5 mL reagen Follin-Ciocalteu yang diencerkan dengan aquades (1:10) dan divortex setelah didiamkan selama 8 menit, masing-masing larutan ditambah dengan 1,2 mL larutan Na₂CO₃ 7,5% divortex hingga homogen, dan didiamkan selama 75 menit pada suhu kamar. Semua larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 752 nm, kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi.

d) Penentuan kadar fenolik total ekstrak daun kelor

Sampel sebanyak 8 mg ekstrak daun Kelor dari masing masing komposisi pelarut dilarutkan sampai volume 10 ml. Larutan ekstrak 8 mg/ml kemudian diencerkan menjadi 0,08 mg/ml. Larutan ekstrak yang diperoleh dipipet 300 µL dan ditambahkan dengan 1,5 mL reagen Follin-Ciocalteu yang diencerkan dengan aquades (1:10) dan digojog. Didiamkan selama 8 menit, ditambah 1,2 mL larutan Na₂CO₃ 7,5% dan didiamkan selama 75 menit pada suhu kamar. Absorbansi larutan ekstrak diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang absorbansi maksimum 752 nm. Dilakukan 3 kali pengulangan dimulai dari penimbangan ekstrak hingga pengukuran absorbansi. Kandungan senyawa fenolik total didapatkan dari nilai absorbansi yang dimasukkan ke persamaan kurva baku asam galat dan hasilnya dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat (EAG) per gram sampel dengan menggunakan rumus berikut .

$$\text{Kadar fenolik total} = \frac{\text{EAG} \times V \times Fp}{W}$$

Keterangan :

EAG : kadar ekuivalen asam galat (mg EAG/g ekstrak)

V : volume larutan ekstrak daun kelor (mL)

W: bobot ekstrak (g)

Fp: faktor pengenceran

Optimasi pelarut ekstraksi menggunakan Simplex lattice Design

Data kadar fenolik untuk masing-masing ekstrak daun kelor dengan perbandingan komposisi etanol dan aquades kemudian dianalisis menggunakan metode *Simplex Lattice Design* untuk menghitung koefisien a, b, dan ab sehingga diperoleh persamaan :

$$Y = a(A) + b(B) + ab(A)(B)$$

Keterangan:

A: proporsi etanol 96%

B: proporsi aquades

Y: respon penelitian (kadar fenolik total)



Berdasarkan persamaan tersebut kemudian dibuat suatu profil yang menggambarkan kadar fenolik total yang dihasilkan pada komposisi etanol dan aquades. Hasil profil yang didapatkan digunakan untuk menentukan komposisi cairan penyari yang optimal. Persamaan yang diperoleh dari formula dihitung validitasnya menggunakan metode statistik yaitu uji F dengan taraf kepercayaan 95%¹⁶.

Analisis statistik

Digunakan analisis uji statistik secara parametrik menggunakan software SPSS. Analisis yang dilakukan adalah uji normalitas, homogenitas, dan uji hipotesis menggunakan oneway ANOVA disertai uji beda nyata (Tukey). Analisis statistik ini dilakukan untuk melihat adanya perbedaan yang bermakna pada hasil jika diperoleh nilai signifikansi $p < 0,05$.

HASIL

Pembuatan simplisia

Sebanyak 4,2 kg daun kelor dari Desa Apitaik, Kecamatan Pringgabaya, Kabupaten Lombok Timur, Nusa Tenggara Barat (NTB) selanjutnya disortasi basah kemudian dibersihkan dan ditiriskan. Sampel daun kelor kemudian dikeringkan dan disortasi kering. Dari proses pembuatan simplisia, didapatkan massa serbuk simplisia kering adalah 1 kg dengan jumlah simplisia 23,8%.

Ekstraksi sampel

Tabel 2. Hasil Rendemen Ekstrak Daun Kelor

Sampel	Komponen Pelarut (Etanol 96% : Aquades)	Rendemen (%)
P1	100 bagian : 0 bagian	13,284
P2	75 bagian : 25 bagian	14,396
P3	50 bagian : 50 bagian	36,956
P5	25 bagian : 75 bagian	22,260

4		
P	0 bagian : 100 bagian	37,970
5		

Hasil pada tabel 2 menunjukkan bahwa persen rendemen tertinggi diperoleh pada kelompok P5 yakni sebesar 37,970% kemudian diikuti dengan P3 (36,956%), P4 (22,260%), P2 (14,396%) dan P1 (13,284%). Hasil rendemen ini menggambarkan kemampuan pelarut untuk menyari. Sebagaimana yang dipaparkan oleh Harborne (1987) 17 bahwa jumlah senyawa aktif yang terdapat pada suatu sampel ditunjukkan dengan tingginya jumlah rendemen yang dihasilkan. Hasil ini menunjukkan senyawa dalam daun kelor banyak tersari pada pelarut aquades sedangkan pada pelarut etanol 96%, senyawa di dalam daun lebih sulit tersari. Hal ini menunjukkan senyawa polar pada daun kelor, seperti senyawa metabolit sekunder polar dan metabolit primer (berupa sakarida) akan tersari di pelarut aquades. Dimana umumnya sakarida memiliki bobot molekul yang besar, sehingga nilai rendemen ekstrak pada kelompok P5 akan bernilai besar.

Tabel 3. Hasil Data Rendemen dan Organoleptis Ekstrak Daun Kelor

Sampel	Rasa	Warna		Bau	Bentuk
		Warna	Bau		
P1	Putih	Hijau	Khas	Kental	Sangat
P2	Putih	Hitam-kecoklatan	Khas	Kental	Sangat
P3	Putih	Hitam-kecoklatan	Khas	Kental	Sangat
P4	Putih	Hitam-kecoklatan	Khas	Kental	Sangat



h	kecok	ik		
i	latan			
t				
F P	Hita	Khas	Kent	
5 a	m-	aromat	al	
h	kecok	ik		
i	latan			
t				

Keterangan :
Sampel P1-P5 perbandingan komposisi pelarut etanol 96% : aquades yaitu :
P1 = (100:0); P2 = (75:25); P3 = (50:50); P4 = (25:75); P5 = (0:100)

P	2589.917 ± 24.417 ^{abce}
4	
P	2279.542 ± 2.350 ^{abcd}
5	

Keterangan :
Sampel P1-P5 perbandingan komposisi pelarut etanol 96% : aquades yaitu :
P1 = (100:0); P2 = (75:25); P3 = (50:50); P4 = (25:75); P5 = (0:100)
TPC = rerata kadar fenolik total ± SD
^a = Berbeda signifikan terhadap P1 (p<0,05)
^b = Berbeda signifikan terhadap P2 (p<0,05)
^c = Berbeda signifikan terhadap P3 (p<0,05)
^d = Berbeda signifikan terhadap P4 (p<0,05)
^e = Berbeda signifikan terhadap P5 (p<0,05)

Hasil rendemen pada tabel 3 menunjukkan bahwa kelompok P1 dengan 100 bagian etanol 96% memiliki warna dan tekstur yang berbeda dibandingkan kelompok lainnya. Kelompok P1 dengan komponen 100 bagian etanol 96% memiliki warna yang berbeda, warna pada kelompok P1 lebih hijau dibandingkan dengan ekstrak yang lain karena pada ekstrak P1 kemungkinan mengandung zat hijau (klorofil) lebih besar. Hal ini dikarenakan etanol 96% (P1) memiliki tingkat kepolaran paling rendah dibandingkan pelarut lain, sedangkan klorofil yang bersifat non polar akan mudah larut dalam pelarut non polar, hal ini sesuai dengan prinsip like dissolved like 7. Pada kelompok P1 hingga P5 tekstur ekstrak yang dihasilkan sangat kental dan kental. menyatakan bahwa ekstrak yang memiliki kandungan air lebih besar bersifat lebih liat dan basah jika dibandingkan dengan ekstrak yang dihasilkan dari campuran pelarut dengan kandungan etanolnya lebih besar. Oleh karenanya, ekstrak P1 dengan komponen air paling sedikit bertekstur sangat kental.

Penetapan kadar fenolik total ekstrak daun kelor

Tabel 4 Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun Kelor

Sampe	TPC (mg EAG/g ekstrak)
P	3783,583 ± 1.332 ^{bcd}
1	
P	3250.000 ± 0.884 ^{acde}
2	
P	2844.208 ± 2.350 ^{abde}
3	

Hasil pada tabel 4 menunjukkan bahwa kadar fenolik total tertinggi diperoleh pada kelompok P1 yakni sebesar 3783,583 mg EAG/g ekstrak kemudian diikuti dengan P2 (3250.000), P3 (2844.208), P4 (2589.917) dan P5 (2279.542) mg EAG/g. Perbedaan kadar fenolik total antar setiap perlakuan dianalisis dengan metode OneWay ANOVA. Uji normalitas digunakan untuk menentukan bahwa data yang digunakan terdistribusi normal atau tidak. Uji ini dilakukan dengan metode Shapiro-Wilk, diperoleh bahwa data terdistribusi normal. Hal ini diketahui berdasarkan nilai signifikansi yang diperoleh dari masing-masing komponen pelarut etanol 96% dan aquades untuk sampel P1, P2, P3, P4, dan P5 secara berturut-turut sebesar 0,583; 0,847; 0,208; 0,917; dan 0,542 (p > 0,05). Kemudian uji homogenitas data varian antar kelompok digunakan Levene's Test. Kriteria pengambilan keputusan uji homogenitas yaitu jika nilai signifikansi > 0,05, maka varian kelompok data adalah sama (homogen). Berdasarkan hasil Levene's Test diperoleh bahwa data bersifat homogen dengan nilai signifikansi sebesar 0,418 > 0,05.

Analisis dilanjutkan dengan uji OneWay ANOVA. Berdasarkan masing-masing kelompok ekstrak kelor yang digunakan diperoleh kadar fenolik total yang berbeda signifikan dengan nilai signifikansi yaitu 0,00 < 0,05. Hasil ini menunjukkan bahwa faktor komponen pelarut etanol 96% dan aquades untuk proses ekstraksi kelor menghasilkan kadar fenolik total yang berbeda signifikan.



Selanjutnya, dilakukan uji beda nyata (Post Hoc). Uji ini bertujuan untuk menentukan perbedaan dari masing-masing kelompok dengan menggunakan metode Tukey. Hasil uji yang diperoleh yaitu masing-masing kelompok pelarut memiliki kadar fenolik total yang berbeda signifikan ditandai dengan nilai signifikansinya yaitu $0,00 < 0,05$, sehingga secara statistik, pelarut yang paling baik untuk memperoleh TPC tertinggi adalah etanol 96%.

Optimasi komposisi pelarut ekstraksi senyawa fenolik dari daun kelor menggunakan Simplex Lattice Design Berdasarkan hasil perhitungan, diperoleh persamaan Simplex Lattice Design (SLD) yang mengacu pada persamaan berikut:

$$Y = 37,836 [A] + 22,795 [B] - 0,075 [A.B]$$

Hasil penetapan kadar fenolik total ekstrak daun kelor ini menunjukkan bahwa pelarut etanol merupakan komponen yang memberikan pengaruh paling besar terhadap respon kadar fenolik total ekstrak daun kelor. Hal ini ditunjukkan dengan koefisien etanol yang lebih besar dibandingkan dengan aquades yaitu sebesar 37,836. Secara tunggal, jumlah atau proporsi etanol dan aquades berpengaruh positif terhadap respon kadar fenolik total, sehingga peningkatan konsentrasi masing-masing komponen secara tunggal akan meningkatkan respon kadar fenolik total. Namun campuran komponen pelarut etanol dan aquades dapat menurunkan respon kadar fenolik total ekstrak daun kelor yang besarnya 0,075.

aquades dengan respon kadar fenolik total pada ekstrak daun kelor. Uji validasi ini dilakukan berdasarkan data kadar fenolik total ekstrak daun kelor dari percobaan di laboratorium dan kadar fenolik total berdasarkan persamaan SLD. Selanjutnya, dilakukan uji F untuk memvalidasi persamaan SLD yang telah diperoleh sebelumnya dalam menentukan respon kadar fenolik total yang maksimal dari beberapa variasi komponen pelarut etanol 96% dan aquades.

Validasi persamaan SLD dilakukan dengan cara membandingkan nilai Fhitung dan Ftabel dari uji F. Hasil uji validasi persamaan SLD yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 5. Fhitung 4,204 > Ftabel 3,480 jadi H0 ditolak yang menunjukkan bahwa persamaan SLD yang diperoleh valid. Persamaan SLD yang telah valid digunakan untuk menghitung respon Y berupa kadar fenolik total dengan berbagai perbandingan nilai A (etanol 96%) dan nilai B (aquades). Hasilnya menunjukkan bahwa pelarut optimum untuk menghasilkan TPC tertinggi adalah pelarut etanol 96% 100 bagian dan aquades 0 bagian yang merupakan kelompok P1.

KESIMPULAN

Komposisi pelarut optimum untuk ekstraksi senyawa fenolik dari daun kelor (*Moringa oleifera* L.) adalah 100 bagian etanol 96% dan aquades 0 bagian (100% etanol 96%) dengan kadar fenolik sebesar $3783,583 \pm 1.332$ mg EAG/g ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

1. Broin B., Growing and Processing Moringa Leaves. Imprimerie Horizon.; 2010.
2. Wayan DPP. Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) di Bali. Jurnal Indonesi Medicus Veterinus. 2016;5(5):468-469.
3. Becker d. Comparative Nutritional Evaluation of Raw, Methanol Extracted Residues and Methanol Extracts Of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) Leaves on Growth Performance and Feed Utilization in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). Aquac Res. 2003;34(13):1147-1159.
4. Utami P, Pupaningtyas DE. The Miracle of Herbs. PT AgroMedia Pustaka.; 2013.
5. Kate DI. Penetapan Kandungan Fenolik Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Pikrilhidrazil) Ekstrak Metanolik Umbi Bidara Upas . Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma; 2014.

Tabel 5. Hasil Validasi Persamaan SLD

Uji F	Nilai Uji F Kadar Fenolik Total Secara SLD
F _{hitung}	4,204
F _{tabel}	3,480
Kesimpulan	Valid

Berdasarkan Persamaan SLD yang diperoleh tersebut masih perlu dilakukan pengujian untuk memastikan validitasnya menggunakan uji F. Jika diperoleh persamaan Simplex Lattice Design (SLD) yang valid, maka persamaan tersebut dapat digunakan untuk optimasi pelarut etanol 96% dan



6. Meigaria KM, Mudianta IW,, Martiningsih NW,. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak aseton daun kelor (*Moringa oleifera*). *J Wahana Mat dan Sains*. 2009;10(1):1-11.
7. Verdiana, Wayan, Dewa. Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 2018;7(4):213-222.
8. Suryani. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Total Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata*). *Jurnal ITEPA*. 2016;5(1):200-212.
9. Chaithada P, Juthamas, S. PR, C. S. Total Flavonoids, Total Phenolic Content and Antioxidant Activity From Fruits, Leaves, Twigs and Flowers of *Moringa oleifera* L. *Walailak J Sci Technol*. 2018;15(4):295-304.
10. Sugihartini N, Dessy EMS, Mochammad SB,, Supto Y,. The amount of β carotene, total phenolic and total flavonoid of ethanol extract of leaf *Moringa oleifera* with variation concentration of solvent. *Advances in Health Sciences Research*. 2019;18(1):110-114.
11. Daghaghele S, Ali RK, Seyed M. S. A., Roya M,. Intensification of extraction of antioxidant compounds from *Moringa oleifera* leaves using Ultrasound-Assisted Approach: BBD-RSM Design. . *International Journal of Fruit Science*. 2021;21(1):693-705.
12. Dai J, Mumper RJ. Plant Phenolics: Extraction, Analysis And Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*. 2010;15(1):7313-7352.
13. Alfian R, Susanti H. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Pharmaciana*. 2012;2(1):73-80.
14. Setiawansyah A, Sellyma YW, Nadya AT,, Rosnani YA,. Optimasi Metode Dan Pelarut Ekstraksi Terhadap Kadar Kurkumin Pada Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan*. Published online 2017:1-7.
15. Lestari, Susanti LU, Dwiatmaka Y. Optimasi Pelarut Etanol-Air Dalam Proses Ekstraksi Herba Pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) Pada Suhu Terukur. . *Bionatura*. Published online 2015:87-93.
16. Harborne JB,. *Metode Fitokimia*, Edisi Ke II. ITB Press.; 1987.