

Antioxidant Activity of Methanol Extract Leaves of Neem (*Azadirachta indica*)

Syamsul Bahri^{1*}, Wirdullutfi¹, Baiq Isti Hijriani¹

¹Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia;

Article History

Received : November 13th, 2025

Revised : December 17th, 2025

Accepted : December 23th, 2025

*Corresponding Author:

Syamsul Bahri, Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia;

Email:

syamsulsaliu@gmail.com

Abstract: *Azadirachta indica* Juss. (neem), a medicinal plant belonging to the *Meliaceae*. The leaves of this species contain bioactive compounds such as flavonoids, alkaloids, steroids, saponins, tannins, and azadirachtin. These compounds exhibit antimicrobial activity against *Salmonella* and *Escherichia coli*. This study aimed to determine the antioxidant activity of the neem leaves' methanol extract by using the DPPH method. The research method used phytochemical screening by separating chemical compounds from samples using 70% methanol solvent. The result showed that the antioxidant activity of the neem leaves' methanol extract is classified in the weak category with an IC₅₀ score of 426.15 mg/mL. One of the main factors explaining the high IC₅₀ values is the differences in the chemical structure and molecular shape of the secondary metabolites contained in the extracts. The antioxidant activity of flavonoids and phenolics is greatly influenced by the number and position of hydroxyl groups, the degree of conjugation, and the presence of sugar groups.

Keywords: Antioxidant activity, *Azadirachta indica*, DPPH assay, IC₅₀, neem leaves.

Pendahuluan

Tanaman Mimba yang juga dikenal dengan nama *Azadirachta indica*, termasuk dalam famili *Meliaceae*. Tanaman obat ini berasal dari India dan tumbuh subur di kawasan tropis. Di Indonesia, pohon mimba paling banyak dijumpai di Bali dengan perkiraan 500.000 pohon, dikenal pula sebagai intaran, serta ditemukan pula di Lombok dengan jumlah sekitar 250.000 sampai 300.000 pohon (Lestari *et al.*, 2025).

Tanaman mimba (*Azadirachta indica* Juss) memiliki batang yang dapat mencapai tinggi 20 meter, dengan batang yang pendek, lurus, dan banyak cabang. Kulit pohon tua berwarna abu-abu tua, tebal, dan bermotif bergerigi. Daunnya majemuk, berbentuk bulat dengan tepi bergerigi dan pangkal daun runcing asimetris, terdiri dari 7 hingga 17 pasang tangkai daun. Ukuran daun lebar antara 1 hingga 3 cm dan panjang 6 hingga 8 cm (Hasibuan *et al.*, 2021).

Tanaman ini mengandung berbagai senyawa bioaktif di batang, daun, dan bijinya. Daun mimba mengandung senyawa seperti sitosterol, hyperoside, nimbolide, quercetin, quercitrin, rutin, azadirachtin, dan nimbine (Asif, 2012). Susmitha *et al.* (2013) melaporkan bahwa mimba memiliki kandungan alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, dan tannin, yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella* dan *E. coli*. Ekstrak daun mimba juga memiliki aktivitas antioksidan (Balaji dan Cheralathan, 2015).

Antioksidan berfungsi melindungi sel dari kerusakan oleh molekul tak stabil yang dikenal sebagai radikal bebas. Zat ini sangat penting bagi kehidupan dan harus ada dalam makanan untuk mendukung kesehatan. Antioksidan dapat berbentuk enzim, seperti superoksida dismutase, katalase, glutathione peroksidase, serta glutathione reduktase, atau mineral seperti selenium, tembaga, besi, dan seng. Selain itu, terdapat antioksidan non-enzimatik berupa vitamin A, C, dan E.

Fitonutrien dari berbagai makanan juga berperan sebagai antioksidan. Beberapa sumber makanan kaya antioksidan meliputi Vitamin C (asam askorbat) melimpah dalam buah dan sayuran segar, vitamin E (tokoferol dan tokotrienol) terdapat pada minyak nabati, kacang-kacangan, serta biji-bijian, sedangkan karotenoid (pro-vitamin A) banyak ditemukan di buah, sayuran, dan telur. (Ansyori et al., 2024). Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak daun mimba, yang diharapkan dapat memberikan gambaran dan menjadi dasar untuk penelitian selanjutnya yang terkait.

Bahan dan Metode

Metode penelitian

Cara untuk mendeteksi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol daun mimba dilakukan skrining fitokimia dengan cara memisahkan senyawa-senyawa kimia dari sampel menggunakan pelarut metanol 70%. Tahapan ini kemudian dilanjutkan dengan melakukan uji aktivitas antioksidan untuk mendeteksi secara kuantitatif daya antioksidan pada ekstrak daun mimba.

Preparasi Sampel

Sampel daun mimba dibersihkan, kemudian dipotong kecil, dan dikeringkan pada suhu ruang. Daun kering selanjutnya dihaluskan dengan blender, lalu diayak hingga memperoleh serbuk halus.

Prosedur Ekstraksi

Sampel diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol 70%. Tahapan ekstraksi dimulai dengan mencampurkan pelarut metanol dengan serbuk daun mimba dengan rasio 1:2. Selanjutnya ekstrak direndam selama 72 jam, kemudian disaring untuk memperoleh ekstrak yang diinginkan. Ekstrak hasil tersebut selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya diuji aktivitas antioksidan.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Uji DPPH

Membuat larutan induk dari ekstrak daun mimba 1000 ppm. Larutan induk tersebut

kemudian dibuat dalam berbagai variasi konsentrasi yaitu 100 ppm, 150 ppm, 250 ppm, 350 ppm, dan 500 ppm. Sebanyak 5 ml dari setiap konsentrasi ditambahkan pada masing-masing tabung reaksi dan ditambahkan dengan 10 ml larutan DPPH 1000 g/mL. Nilai absorbansi untuk masing-masing larutan diukur pada panjang gelombang 517 nm.

Hasil dan Pembahasan

Senyawa bioaktif dalam tanaman merupakan metabolit sekunder yang memberikan efek farmakologis atau toksikologis pada manusia dan hewan. Metabolit sekunder sendiri adalah senyawa hasil metabolisme yang tidak tersebar merata pada semua makhluk hidup dan biasanya ditemukan dalam jumlah terbatas (Nurlita et al., 2024). Contoh senyawa metabolit sekunder meliputi alkaloid, flavonoid, dan terpenoid (Riska et al., 2013).

Senyawa metabolit sekunder memiliki manfaat penting, termasuk sebagai mekanisme pertahanan terhadap stres biotik dan abiotik. Selain itu, metabolit sekunder juga dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan atau obat (Nurlita, 2024). Keberadaan senyawa flavonoid dan saponin pada daun mimba menunjukkan potensinya sebagai agen antimikroba, anti-inflamasi, antioksidan, serta antivirus (Galeane et al., 2017).

Daun mimba mengandung antioksidan seperti flavonoid dan polifenol yang berfungsi melawan radikal bebas, meningkatkan sistem imun, serta memiliki sifat antiradang dan antibakteri. Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun mimba diukur menggunakan nilai IC_{50} , yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang dapat menetralkan 50% radikal bebas DPPH (Supriyanto et al., 2017).

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan secara kuantitatif melalui metode penangkapan radikal bebas DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Metode DPPH dipilih karena sederhana, cepat, sensitif, dan hanya membutuhkan sampel sedikit untuk menilai aktivitas senyawa dari bahan alam. Perubahan radikal bebas DPPH menjadi bentuk non-radikal ditandai oleh pergeseran warna dari ungu ke kuning dan penurunan nilai absorbansi, yang mencerminkan efektivitas ekstrak sebagai antioksidan (Monangin et al., 2024).

Menurut penelitian Salikode (2023), nilai absorbansi akan menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi sampel, karena semakin banyak DPPH yang berhasil dihambat, semakin sedikit DPPH yang tersisa, sehingga absorbansi yang tercatat menjadi lebih rendah. Berdasarkan data absorbansi ekstrak daun mimba dan DPPH yang ditampilkan dalam tabel 1, terlihat adanya hubungan antara konsentrasi ekstrak dan nilai absorbansi, di mana peningkatan konsentrasi ekstrak menyebabkan penurunan nilai absorbansi. Hal ini disebabkan oleh bertambahnya kandungan antioksidan pada konsentrasi yang lebih tinggi, sehingga kemampuan sampel dalam menghambat radikal bebas DPPH juga meningkat. Penurunan absorbansi terjadi akibat elektron radikal bebas DPPH berpasangan dengan elektron dari sampel, sehingga menyebabkan perubahan warna larutan dari ungu pekat menjadi kuning muda. Perubahan warna ini secara langsung berkorelasi dengan peningkatan persentase inhibisi (Monangin et al., 2024).

Tabel 1. Analisis daya Antioksidan IC₅₀

No	C (mg/mL)	Abs. Sampel	Abs. DPPH	Inhibisi %	IC ₅₀ (mg/L)
1	50.28	1.647	1.693	2.72	426.15
2	100.56	1.516	1.693	10.45	
3	150.84	1.432	1.693	15.42	
4	201.12	1.311	1.693	22.56	
5	301.68	1.088	1.693	35.74	

Nilai persen inhibisi ekstrak daun mimba yang ditunjukkan pada tabel 1 berturut-turut adalah 2,72% (50,28 mg/mL); 10,45% (100,56 mg/mL); 15,42% (150,84 mg/mL); 22,56% (201,12 mg/mL); 35,74% (301,68 mg/mL); dan 46,13% (402,24 mg/mL). Menurut Molyneux (2013), standar kadar antioksidan efektif adalah 50%. Data ini mengindikasikan ekstrak mimba memiliki aktivitas antioksidan yang lemah namun tetap potensial. Kenaikan persen inhibisi menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak menurunkan absorbansi dan menaikkan persen inhibisi, yang didukung oleh Damanis et al. (2020) bahwa penghambatan radikal bebas akan meningkat seiring bertambahnya konsentrasi.

Menurut Molyneux (2004), aktivitas antioksidan pada senyawa uji dengan metode DPPH dapat diklasifikasikan berdasarkan nilai

IC₅₀. Kategori sangat kuat ditunjukkan oleh IC₅₀ < 50 ppm, kuat untuk 50-100 ppm, sedang pada 101-150 ppm, serta lemah jika > 150 ppm. Klasifikasi ini memungkinkan evaluasi potensi antioksidan secara kuantitatif, di mana nilai IC₅₀ yang lebih rendah mencerminkan kemampuan netralisasi radikal DPPH yang lebih efektif. Rentang kategori membantu membandingkan ekstrak daun mimba dengan standar referensi dalam penelitian fitokimia.

Penelitian ini ekstrak daun mimba dilarutkan dengan menggunakan methanol 70%, dan diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 426.15 mg/mL yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak daun mimba yang diuji sangat rendah. Hasil yang serupa didapatkan pada Muslihin et al (2022) yang menunjukkan hasil aktivitas antioksidan hasil fraksinasi ekstrak etanol daun mimba memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah dengan nilai IC₅₀ fraksi n-heksan sebesar 1420µg/mL, fraksi etanol 70% sebesar 1007,34µg/mL dan fraksi etil asetat sebesar 642,75µg/mL. akan tetapi hasil yang diperoleh berbanding terbalik dengan penelitian Supriyanto et al (2017) terhadap ekstrak daun mimba dengan berbagai pelarut menghasilkan nilai IC₅₀ sebagai berikut: air sebesar 90,39ppm; etanol 60% sebesar 88,69ppm; etanol 80% sebesar 88,12ppm; metanol 60% sebesar 87,51ppm; serta metanol 80% sebesar 83,27ppm. Data ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun mimba memiliki aktivitas antioksidan kuat (IC₅₀ < 100), dengan nilai IC₅₀ terendah dicapai pada ekstrak menggunakan pelarut metanol 80%.

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun mimba cenderung lebih rendah dengan pelarut metanol 70% dibandingkan metanol 80% karena perbedaan kemampuan pelarut dalam mengekstrak senyawa antioksidan. Metanol 80% memiliki polaritas yang lebih rendah, sehingga lebih efektif melarutkan senyawa semi-polar dan non-polar seperti flavonoid serta polifenol yang bertanggung jawab atas aktivitas antioksidan. Konsentrasi metanol yang lebih tinggi juga meningkatkan kelarutan total senyawa bioaktif, menghasilkan ekstrak dengan kadar antioksidan lebih tinggi dan nilai IC₅₀ lebih rendah (Azizah et al., 2024).

Meskipun sejumlah penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun mimba mengandung berbagai metabolit sekunder dalam jumlah yang signifikan,

termasuk flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan saponin tetapi hasil uji DPPH menunjukkan nilai IC_{50} yang relative tinggi yang mengindikasikan aktivitas penangkapan radikal bebas yang lemah. Fenomena ini menunjukkan bahwa keberadaan metabolit sekunder secara kualitatif maupun kuantitatif tidak selalu berkorelasi langsung dengan aktivitas antioksidan yang terukur menggunakan metode DPPH (Abderrezzak, et al., 2025).

Salah satu faktor utama yang dapat menjelaskan tingginya nilai IC_{50} adalah perbedaan struktur kimia dan bentuk molekul metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak. Aktivitas antioksidan flavonoid dan fenolik sangat dipengaruhi oleh jumlah dan posisi gugus hidroksil, tingkat konjugasi, serta keberadaan gugus gula. Flavonoid dalam bentuk glikosida umumnya menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan bentuk aglikonnya karena hambatan sterik dan keterbatasan transfer electron atau atom hydrogen kepada radikal DPPH. Dengan demikian, meskipun kandungan flavonoid dan fenol terdeteksi tinggi, efektivitasnya dalam uji DPPH dapat tetap rendah apabila senyawa dominan berada dalam bentuk kurang reaktif (Gulcin & Alwasel, 2023).

Selain itu karakter ekstrak kasar hasil ekstraksi methanol 70% juga berkontribusi terhadap rendahnya aktivitas antioksidan yang terukur. Pelarut methanol berair mengekstraksi campuran senyawa polar dan semi polar secara luas, termasuk senyawa non-antioksidan atau senyawa yang berpotensi menghambat aktivitas radikal scavenging. Dalam ekstrak kompleks, interaksi antar senyawa dapat bersifat antagonistic, sehingga mengurangi kemampuan senyawa aktif dalam mereduksi radikal DPPH. Hal ini menjelaskan mengapa fraksinasi sering menghasilkan peningkatan aktivitas antioksidan dibandingkan ekstrak kasar (Baliyan, et al., 2022).

Metode DPPH hanya mempresentasikan satu mekanisme antioksidan, terutama melalui single electron transfer (SET) dan Sebagian hydrogen atom transfer (HAT). Beberapa senyawa antioksidan bekerja melalui mekanisme lain, seperti khelasi ion logam atau penghambatan pembentukan radikal, yang tidak terdeteksi secara optimal oleh uji DPPH. Oleh karena itu, aktivitas antioksidan daun mimba

kemungkinan lebih tercermin melalui metode alternatif seperti SBTS, FRAP, atau uji khelasi logam (Aini & Tilaqza, 2025)

Variasi biologis dan lingkungan juga dapat mempengaruhi hasil. Kandungan dan komposisi metabolit sekunder daun mimba dipengaruhi oleh faktor geografis, umur daun, kondisi lingkungan, serta metode pascapanen. Perbedaan ini dapat menyebabkan dominasi senyawa tertentu yang kurang efektif sebagai donor elektron dalam sistem DPPH, sehingga menghasilkan nilai IC_{50} yang tinggi meskipun kandungan metabolit sekunder terdeteksi signifikan (Abderrezzak, et al., 2025).

Hasil penelitian ini menegaskan bahwa aktivitas antioksidan tidak dapat disimpulkan hanya berdasarkan keberadaan atau tingginya kandungan metabolit sekunder, tetapi harus dikaitkan dengan struktur kimia senyawa, komposisi ekstrak, serta metode pengujian yang digunakan. Nilai IC_{50} DPPH yang tinggi pada ekstrak methanol 70% daun mimba menunjukkan bahwa potensi antioksidan tanaman ini mungkin lebih optimal apabila dievaluasi melalui fraksinasi lanjutan atau menggunakan beberapa metode uji antioksidan yang berbeda untuk memperoleh gambaran aktivitas yang lebih komprehensif.

Kesimpulan

Hasil penelitian mengungkapkan bahwa uji aktivitas antioksidan ekstrak daun mimba menghasilkan nilai IC_{50} yang rendah, menegaskan bahwa potensi tanaman mimba (*Azadirachta indica* Juss.) sebagai agen antioksidan yang potensial.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang terlibat dalam penelitian sehingga dapat berjalan dengan baik.

Referensi

Abderrezzak, A., Lakhdari, W., Nacer, SN., Dehliz, A., Khelafi, H., Salem, RB., Younes, M. (2025). *Azadirachta indica* Leaf Extract: Phytochemical Composition and Antioxidant, Antibacterial, and Antifungal Activities. *International*

- Journal of Secondary Metabolite*, 12(3), 615 – 629. Doi: 10.21448/ijsm.1511401
- Aini, N & Tilaqza, A. (2025). Antioksidant activity of Methanol Extract of Neem Leaves (*Azadirachta indica*) Using DPPH, ABTS, and FRAP Methods. *SCIENA*, 4(5). Doi:10.56260/sciena.v4i5.267
- Ansyori, A.K., Tamri, M., Sa'adah, H. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Buah Nyirih (*Xylocarpus Granatum*) Dengan Metode Dpph Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia* Vol. 6 No.2.
- Asif, M. 2012. Antimicrobial Potential of *Azadirachta indica* Against Pathogenic Bacteria and Fungi. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(4), pp.78±83. E-ISSN: 2278-4136.
- Azizah, T.N., Harmastuti, N., Wijayanti, T. (2024). Perbandingan Studi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol, Etanol 70%, Dan Etanol 96% Daun Kawista (*Limonia acidissima* L.). *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik (JIFFK)* Vol. 21, No.1. <https://doi.org/10.31942/jiffk.v21i1.8559>
- Balaji, G. & Cheralathan, M., 2015. Experimental investigation of antioxidant effect on oxidation stability and emissions in a methyl ester of neem oil fueled DI diesel engine. *Renewable Energy*, 74(x), pp.910±916. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2014.09.019>.
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadashini, S., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, RP., Chung-Ming, C. (2022). Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4), 1326. Doi: 10.3390/molecules27041326
- Damanis, F. V., Wewengkan, D. S., & Antasionasti, I. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ascidian *Herdmania Momus* Dengan Metode Dpph (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *PHARMACON*, 9(3), 464–469. <https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.30033>
- Galeane, M.C., Martins, C.H.G., Massuco, J., Bauab, T.M., Sacramento, L.V.S. (2017). *Phytochemical screening of Azadirachta indica* A. Juss for antimicrobial activity. *African Journal of Microbiology Research*, 11(4), 117-122. DOI: 10.5897/AJMR2016.8337
- Gulcin, I & Alwasel, SH. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11(8), 2248
- Hasibuan, M., Manurung, E.D., Nasution, L.Z. (2021). Pemanfaatan Daun Mimba (*Azadirachta indica*) sebagai Pestisida Nabati: Review. *Agrista: Jurnal ilmiah Mahasiswa Agribisnis UNS* Vol 5, No.1. E-ISSN: 2615-7721. <https://doi.org/10.33759/jrki.v6i2.527>
- Lestari, N.W., Safutri, W., Safitri, O.S. (2025). Narrative Riview: Potensi Terapeutik Dan Fitokimia Daun Mimba (*Azadirachta Indica*) Dalam Pengobatan Tradisional. *Journal Pharmacy Aisyah* 4 (1), 51-58. <https://orcid.org/0009-0002-1284-924X>
- Molyneux, P. 2004, The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26, 211±219
- Monangin, S., Yudistira, A., & Rumondor, E. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons Aaptos aaptos yang diperoleh dari Pantai Parentek Kabupaten Minahasa. *PHARMACON*, 13(2), 580–585. <https://doi.org/10.35799/pha.13.2024.55063>
- Muslihin, A., Astuti, R. A., & Irwandi, I. (2022). Analisis Aktivitas Antioksidan Fraksi Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A.Juss) Dengan Metode Dpph. *JURNAL ETNOFARMASI*, 1(02), 1–7. <https://doi.org/10.36232/jurnalfarmasiunimuda.v1i02.1726>
- Nurlita, D., Chatri, M., Siregar, B.A., Handayani, D., Irdawati. (2024). Flavonoid, Alkaloid, dan Terpenoid: Senyawa Metabolit Sekunder dari Tumbuhan dan Peranannya Terhadap Perlindungan Tanaman dari Penyakit. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 4(2), 901–909. <https://doi.org/10.24036/prosemnasbio/vo14/1074>.
- Riska, A., Weny, J.A.M. & La, A., 2013. Identifikasi Senyawa Alkaloid Dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga

- (Mangifera indica L.). *Jurnal Entropi*, 7(1), pp.514–519.
- Salikode, J.S. 2023. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons Aaptos aaptos yang Diperoleh dari Pantai Selatan Kabupaten Minahasa. [Skripsi] Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT. Manado
- Supriyanto., Simon, B.W., Rifa'I, M., Yunianta. (2017). Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mimba (Azaradiracta indica Juss). Prosiding SNATIF Ke-4 tahun 2017. ISBN: 978-602-1180-50-1.
- Susmitha, S., Ranganayaki, P., Vijayaragavan, R. 2013. Phytochemical extraction and antimicrobial properties of azadirachta indica (neem). *Global Journal of Pharmacology*, 7(3), pp.316±320.