

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN VARIASI PERLAKUAN BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L.) DENGAN METODE DPPH

Syauqul Jannah¹, Dika Rizki Kurniawan², Elly Mulyani³
^{1,2,3}Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Al Fatah

email : ¹syauqulj@gmail.com

Abstrak

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) mengandung senyawa antosianin golongan flavonoid. Antosianin mampu memperlambat penuaan, menghambat penyakit neurologis inflamasi, diabetes, dan infeksi bakteri dengan cara memperbaiki biomolekul yang telah di rusak, menurunkan kadar kolesterol serta memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari bunga telang (*Clitoria ternatea* L.).

Penelitian ini dilakukan dengan membuat seri bunga telang segar dan kering (*Clitoria Ternatea* L.) yaitu 1.250 ppm, 2.500 ppm, 3.750 ppm, 5000 ppm, dan 6.250 ppm. Sebagai blanko yang digunakan DPPH 0,1 mM. Pengujian dilakukan dengan metode DPPH. Data yang diperoleh kemudian dihitung aktivitas antioksidannya dan dihitung nilai IC₅₀.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi perlakuan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) memiliki kemampuan antioksidan. Bunga telang segar tergolong lemah, bunga telang kering tergolong sedang dan Vitamin C tergolong sangat kuat. Nilai aktivitas antioksidan dan IC₅₀ dari bunga telang segar sebesar 2.735 ppm, bunga telang kering sebesar 126,80, dan Vitamin C sebesar 1,85 ppm.

Keywords : Ekstraksi, Anti oksidan, DPPH

PENDAHULUAN

Di Indonesia, kesehatan merupakan masalah yang cukup serius. Banyak penyakit yang di sebabkan oleh radikal bebas, salah satunya adalah penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskuler, kanker, diabetes mellitus dan penuaan dengan cara mengoksidasi asam nukleat protein sehingga menginisiasi terjadinya degeneratif dan kerusakan sel. Faktor lingkungan seperti polusi, intensitas sinar UV yang berlebih, suhu, bahan kimia, dan kekurangan gizi dapat mengakibatkan tubuh manusia terpapar radikal bebas, bila radikal bebas berlebihan, akan menciptakan ketidakseimbangan antara

molekul radikal bebas dan antioksidan endogen. Cara menetralkan radikal bebas dengan memberikan satu elektron pada radikal bebas sehingga menjadi senyawa yang lebih stabil dan stress oksidatif tidak akan terjadi. Namun ketika jumlah radikal bebas melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya maka terbentuk stress oksidatif, yang menyebabkan kerusakan struktur sel, jaringan, dan organ (Vierkotter & Krutmann, 2012).

Antioksidan alami merupakan salah satu alternatif pengobatan dengan menggunakan senyawa bioaktif yang berguna untuk pengobatan. Dari sejumlah senyawa flavanoid yang terdapat pada bunga telang, antosianin

adalah yang paling utama yang bertanggung jawab untuk kebanyakan warna merah, biru, ungu, pada buah, sayur, dan tanaman hias.

Antioksidan adalah senyawa yang dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan radikal bebas. Antioksidan akan berinteraksi radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan yang di akibatkan oleh radikal bebas. Antioksidan alami berupa senyawa flavonoid yang merupakan kelompok senyawa polifenol yang berasal dari tanaman seperti teh, buah -buahan dan sayuran. Senyawa flavonoid dapat bekerja langsung untuk meredam radikal bebas oksigen seperti superoksida yang dihasilkan dari reaksi enzim xantin oksidase (Handayani, Najib, & Wati, 2018).

DPPH atau biasa disebut 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik maka akan stabil selama bertahun-tahun (Tristantini, Ismawati, Pradana, & Gabriel, 2016).

Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk penapisan aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa. Selain itu metode ini terbukti praktis dan akurat. Metode peredaman radikal bebas DPPH di dasarkan pada reduksi dari larutan metanol radikal bebas DPPH yang berwarna

oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning (Tristantini, Ismawati, Pradana, & Gabriel, 2016).

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan analitik, pipa kapiler, labu ukur, pinset, kertas saring, erlemeyer, batang pengaduk, gelas ukur, botol kaca gelap, masker, sarung tangan, spektrofotometri UV-Vis, *magnetic stirrer*, pendingin, aluminium foil, dan mikro pipet.

Bahan utama yang digunakan adalah bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) Segar dan Kering, Etanol 96%, Vitamin C, dan DPPH.

Ekstraksi Bunga Telang Kering

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sering ditimbang 7,5 gram kemudian dimasukkan ke dalam wadah beaker gelas 500 ml dan ditambahkan pelarut berupa etanol 96% sebanyak 300 ml. Pengadukan dilakukan menggunakan *magnetic stirrer*. Ekstraksi dilakukan selama 180 menit pada suhu 50°C. setelah jenuh pengadukan 180 menit ekstrak diambil dan dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Larutan yang digunakan etanol 96% (Fanany, 2020)

Ekstraksi Bunga Telang Segar

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L) segar ditimbang 7,5 gram kemudian dimasukkan kedalam wadah beaker gelas 500ml dan ditambahkan pelarut berupa etanol 96 % sebanyak 300 ml. Pengadukan dilakukan menggunakan *magnetic stirrer*. Ekstraksi dilakukan selama 180 menit pada suhu 50 °C. setelah jenuh pengadukan selama 180 menit ekstrak diambil dan dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Fanany, 2020).

Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 0,1 mM disiapkan dalam etanol, dimana DPPH ditimbang sebanyak 1,97 gram dilarutkan dalam etanol *p.a* hingga 50 mL. Lalu ditempatkan dalam botol gelap dan buat larutan stok DPPH sesuai konsentrasi yang sama dengan konsentrasi pada larutan stok sebelumnya yaitu 12.500 ppm. Pada masing masing konsentrasi, ditambahkan etanol sampai tanda batas (25 mL). Selanjutnya larutan yang di buat untuk uji aktivitas antioksidan yaitu ekstrak etanol bunga telang segar dan kering. di pipet sebanyak 0,5 mL dimasukan ke dalam tabung reaksi dengan masing-masing konsentrasi 1.250, 2.500, 3.750, 5.000, dan 6.250 mg/L dan ditambahkan 3,5 mL larutan DPPH ke dalam masing-masing konsentrasi dan di homogenkan (*vortex*) selama 2 detik (Yanuarto, 2019).

Penentuan Aktivitas Antioksidan

Larutan kontrol DPPH diuji pada

spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 525 nm sebagai absorbansi kontrol dalam pengujian ini. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Untuk mengetahui aktivitas dari penangkal radikal bebas tersebut, di uji pada spektrofotometer. Berubahnya warna ungu menjadi warna kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Diukur absorbansi pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 525 nm setelah diinkubasi selama 30 menit berubahnya warna menjadi kuning menunjukkan bahwa, masing-masing konsentrasi menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas di uji dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 525 nm. Kemudian diamati perbandingannya dengan vitamin C *p.a* sebagai standar. Aktivitas penangkapan radikal bebas (persen inhibisi) dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan rumus.

Analisis Data

Penentuan aktivitas antiradikal dilakukan dengan perhitungan *inhibitory concentration* (IC_{50}). Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi ekstrak dan vitamin C yang memberikan % aktivitas antiradikal sebesar 50% dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis regresi linier antara kadar terhadap % penangkapan radikal (Ic, 2013).

% aktivitas antiradikal =

$$\frac{(\text{abs.kontrol} - \text{abs. sampel}) \times 100\%}{\text{abs. kontrol}}$$

Keterangan :

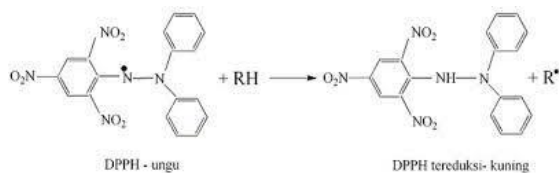
Absorbansi blangko = Absorbansi DPPH

Absorbansi Sampel = Absorbansi antioksidan ekstrak bunga telang dan absorbansi Vitamin C.

Hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi $Y = bX + a$ dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % inhibisi (antioksidan) sebagai ordinat (sumbu Y). Nilai IC_{50} dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Metode ini menggunakan senyawa radikal bebas, yaitu DPPH karena terdapat elektron yang tidak berpasangan pada strukturnya sehingga dapat digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan suatu senyawa yang dapat mendonorkan elektronnya sehingga terjadi penurunan intensitas warna atau absorbansi larutan DPPH.



Gambar 1. Reaksi terbentuknya warna kuning oleh adanya antioksidan

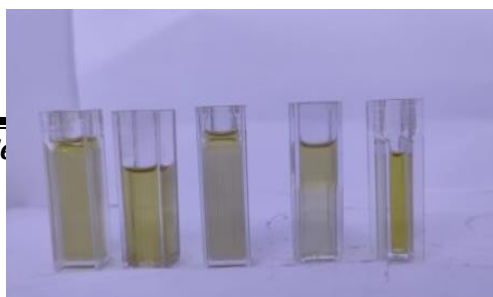
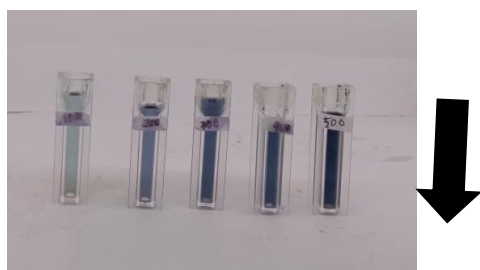
Pengurangan intensitas warna larutan DPPH (Gambar 1) dihasilkan oleh bereaksinya molekul radikal DPPH dengan satu atom

hidrogen yang dilepaskan komponen bahan uji sehingga terbentuk senyawa 1,1 difenil-2-pikrilhidrazin yang berwarna kuning. Pengurangan intensitas warna ungu larutan DPPH karena adanya penambahan senyawa penangkap radikal bebas dapat dihitung secara kuantitatif dari berkurangnya absorbansi larutan tersebut. Pada prinsipnya absorbansi yang diukur adalah absorbansi larutan DPPH yang tidak bereaksi dengan bahan uji atau DPPH yang masih tersisa dalam larutan, sehingga dengan bertambahnya konsentrasi senyawa penangkap radikal bebas dalam larutan, maka absorbansi larutan akan berkurang. Hal ini berarti bahwa aktivitas penangkapan radikal bebasnya semakin meningkat. Menurut metode ini, aktivitas antioksidan dari senyawa uji dinyatakan dengan IC_{50} . Nilai IC_{50} bisa diperoleh dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa uji dengan persen penangkapan radikal yang dimilikinya. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka semakin aktif suatu fraksi/ekstrak tanaman sebagai antioksidan (Fidrianny, Darmawati, & Sukrasno, 2014). Berikut hasil uji perubahan warna yang terjadi pada sampel bunga telang.

Uji aktivitas antioksidan sari bunga telang dilakukan dengan menimbang 25 ml sampel ad 25 ml etanol 96% dalam labu ukur 50 ml. Larutan induk pada sampel yaitu 12.500 yang lalu dilakukan pengenceran dari larutan uji tersebut dibuatlah berbagai

konsentrasi 1.250, 2.500, 3.750, 5000, dan 6.250. Yaitu konsentrasasi 1.250 ppm diambil sebanyak 2,5 ml, 2.500 ppm diambil 5 ml, 3.750 ppm diambil 7,5 ml, 5000 ppm diambil 10 ml, dan 6.250 ppm diambil 12,5 ml. Dari masing-masing konsentrasi tersebut diambil sebanyak 0,5 ml ditambahkan 3,5 ml DPPH masukan ke dalam tabung reaksi yang sudah di lapisi aluminium foil. Diinkubasi pada tempat gelap, operating time selama 30 menit. Dari masing-masing sampel. Setelah di inkubasi terjadilah perubahan warna, jika terdapat senyawa antioksidan pada sampel yang digunakan maka sampel akan berubah menjadi kuning (Fidrianny, Darmawati, & Sukrasno, 2014).

Pada sampel tersebut terjadilah perubahan warna dari ungu ke kuning. Setelah itu larutan tersebut diambil dan dimasukkan ke dalam kuvet lalu diukur nilai absorbansinya di spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 525 nm (Fidrianny, Darmawati, & Sukrasno, 2014). Hasil uji perubahan warna yang terjadi pada sampel bunga telang bisa dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Perubahan warna aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan pada Bunga Telang Segar dengan metode DPPH di lihat pada tabel I dan Aktivitas antioksidan pada Bunga Telang Kering dengan metode DPPH di lihat pada tabel II.

Tabel I. Data bunga telang segar (*Clitoria ternatea.L*) antioksidan

Konsentrasi	Absorbansi	% antioksidan
1.250	0.619	34.49 %
2.500	0.541	42.75%
3.750	0.212	77.56%
5000	0.210	77.77%
6.250	0.205	78.30%

Tabel II. Data bunga telang kering (*Clitoria Ternatea L*) absorbansi dan antioksidan.

Konsentrasi	Absorbansi	% antioksidan
1.250	0.613	35.13 %
2.500	0.280	70.37 %
3.750	0.238	74.81 %
5000	0.200	78.83 %
6.250	0.132	86.03 %

Menurut penulis (Mulangsri, Dewi, Agnes, & Endah, 2017) untuk pembandingan Vitamin C nya yaitu, Nilai Regresi dari vitamin C :

$$Y = 4,2378x + 42,134$$

$$R^2 =$$

$$0,9579$$

Linearitas suatu metode didasarkan pada nilai koefisien korelasi (r) yang dihasilkan dari suatu persamaan regresi linier. Semakin nilai r mendekati ± 1 maka linearitasnya semakin baik. Bunga telang segar = 0,7985, telang kering = 0,7752, dan Vitamin C = 0,9579. data linearitas dapat diterima jika memenuhi nilai $r > 0,9$. Dari hasil tersebut, persamaan kurva baku untuk ke dua larutan uji belum memenuhi persyaratan linieritas yang baik hal ini disebabkan oleh beberapa factor seperti suhu penyimpanan, tempat penyimpanan, sampel yang digunakan udah terlalu lama dan sampel yang di gunakan telah melalui beberapa uji (Indraningsih, 2020).

IC_{50} merupakan konsentrasi antioksidan yang diperlakukan untuk menangkap 50% radikal DPPH. Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan konsentrasi senyawa uji (x) dengan Aktivitas antioksidan yang dihasilkan (y). semakin kecil nilai IC_{50} , maka sampel uji mempunyai keefektifan sebagai antioksidan yang lebih baik.

Nilai IC_{50} pada Bunga Telang Segar dan kering serta vitamin C dapat dilihat pada tabel III dan untuk tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH intensitas dapat dilihat pada tabel IV.

Tabel III. Nilai IC_{50} sampel bunga telang segar, bunga telang kering dan Vitamin C

Sampel Dan Baku pembandingan	IC_{50} (ppm)	Tingkat aktivitas antioksidan (IC_{50}) dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH		
		Sangat kuat (<50 ppm)	Sedang (101-150)	Lemah > 150
Sampel bunga telang segar	2.735			√
Sampel bunga telang	126,80			

kering			√	
Vitamin C	1,85	√		

Tabel IV. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH intensitas

Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH Intensitas	Nilai IC_{50} (μ /m)
Sangat kuat	< 50
Kuat	50-100
Sedang	101-150
Lemah	>150

[Sumber : (Fidrianny, Darmawati, & Sukrasno, 2014)]

Dari hasil perhitungan IC_{50} untuk bunga telang segar dan telang kering mempunyai nilai antioksidan karena pada uji perubahan warna larutan uji bunga telang segar dan kering mengalami perubahan warna. Sedangkan untuk bunga telang segar nilai IC_{50} nya 2.735 ppm, bunga telang kering nilai IC_{50} nya 126,80 ppm dan Vitamin C nya 1,85 ppm. Dari nilai tersebut dapat di ketahui bahwa bunga telang segar memiliki aktivitas antioksidan yang lemah, bunga telang kering memiliki aktivitas antioksidan sedang dan Vitamin C sangat kuat karena dilihat dari nilai IC_{50} >150 lemah 2.735 ppm, 101-150 Sedang 126,80 ppm, dan Vitamin C < 150 sangat kuat 1,85 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa daya

aktivitas antioksidan sampel bunga telang segar dan kering lebih besar di banding Vitamin C dengan menggunakan metode DPPH, karena jika IC_{50} lebih kecil maka nilai antioksidan pada sampel lebih banyak mengandung antioksidan (Filbert, 2014).

Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut :

- Bunga telang Segar dan Kering (*Clitoria Ternatea L*) memiliki aktivitas sebagai antioksidan.
- Terdapat perbedaan nilai IC_{50} bunga telang segar, bunga telang kering (*Clitoria Ternatea L*) dan Vitamin C yaitu sampel bunga telang segar (2.735 ppm) memiliki aktivitas antioksidan lemah, sampel bunga telang kering memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan IC_{50} sebesar (126,80 ppm) , dan Vitamin C sebagai pembanding memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat (1,85 ppm).
- Dari sampel bunga telang kering dan segar, sampel yang paling bagus mengandung antioksidannya yaitu bunga telang kering, karena sampel bunga telang kering sudah melalui beberapa tahap yaitu, penjemuran

selama dua hari dan disimpan dalam wadah yang tertutup atau kedap udara agar memastikan kualitas kandungannya tetap terjaga.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, D., & Murtisiwi, L. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dari daerah sleman dengan metode DPPH. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 70-76.
- Angriani. (2019). Potensi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sebagai pewarna alami lokal pada berbagai industri pangan. *Canrea Journal*, 32-37.
- Cahyaningsih, E., Yuda, P., & Santoso, P. (2019). Skrinning Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 51-57.
- Fanany, T. (2020). Measurements and modelling of free-surface turbulent flows induced by a magnetic stirrer in an unbaffled stirred tank reactor. *Chemical Engineering Science*, 4197-4209.
- Fidrianny, I., Darmawati, A., & Sukrasno. (2014). Antioxidant Capacities from Different Polarities Extracts of Cucurbitaceae Leaves Using FRAP, DPPH Assays and Correlation with Phenolic, Flavonoid, Carotenoid Content. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 858-862.
- Filbert. (2014). Penentuan Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC50 Ekstrak Metanol dan Fraksi Hasil Partisinya pada Kulit Biji Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke). *Jurnal MIPA Unsrat Online*, 149-154.
- Handayani, S., Najib, A., & Wati, N. P. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* L.) Dengan Metode Peredaman Radikal Bebas 1, 1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil (DPPH). *Journal Fitofarmaka Indonesia*, 299-308.
- Ic, N. (2013). Ekstrak Etanol Bunga Kertas (*Bougainvillea*) Pink Sebagai Anti Oksidan dengan Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Penelitian Kimia dan Pendidikan Kimia*, 1-7.
- Indraningsih. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Dan Fraksi Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Dengan Metode ABTS. *Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional*.
- Kusuma, A. D. (2019). Potensi Teh Bunga Telang (*Clitoria Ternatea*) Sebagai Obat Pengencer Dahak Herbal Melalui Uji Mukositas. *Risenologi Kpm Unj*, 13-19.
- Marjoni, R. (2016). *Buku Dasar-Dasar Fitokimia*. Jakarta Timur: Trans Indo Media.
- Mastuti, E., Fristianingrum, G., & Andika, Y. (2013). Ekstraksi Dan Uji Kestabilan Warna Pigmen Antosianin Dari Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Sebagai Bahan Pewarna Makanan. *Simposium Nasional RAPI XII*, 44-51.
- Mulangsri, Dewi, A., Agnes, B., & Endah, N. (2017). Aktivitas antioksidan fraksi dietileter buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) dengan metode DPPH. *Journal Pharmascience*.
- Sari, A. N. (2015). Antioksidan Alternatif Untuk Menangkal Bahaya Radikal Bebas Pada Kulit. *Journal of Islamic Science and Technology*, 63-68.
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Gabriel, J. (2016). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (

- Mimusops elengi L.). *Universitas Indonesia*, 2.
- Vierkotter, A., & Krutmann, J. (2012). Environmental influences on skin aging and ethnic-specific manifestations. *Dermatoendocrinol. Dermatoendocrinol*, 227-231.
- Yanuarto, T. (2019). Uji Antioksidan Ekstrak Daun Kembang Pukul Empat (Mirabilis jalapa L.) Merah Dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Pharmacy*, 6.