

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUNGA TELANG  
DENGAN METODE DPPH**

**Laporan Tugas Akhir**

**Harry Supriyanto  
12171008**



**Universitas Bhakti Kencana  
Fakultas Farmasi  
Program Strata I Farmasi  
Bandung  
2021**

## **ABSTRAK**

### **UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUNGA TELANG DENGAN METODE DPPH**

**Oleh :**  
**Harry Supriyanto**  
**12171008**

Antioksidan merupakan suatu zat yang dapat mencegah terjadinya proses oksidasi dari radikal bebas. Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) mengandung flavonoid yang tinggi. Flavonoid telah diketahui mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol dan metanol bunga telang segar. Penelitian ini dimulai dengan mengumpulkan sampel pembuatan ekstrak dalam etanol dan metanol dan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak.

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan metanol bunga telang segar diukur pada panjang gelombang 515,74 nm. Dari data tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol dan ekstrak methanol bunga telang segar termasuk kuat untuk menangkal radikal bebas dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 77,328 bpj untuk ekstrak etanol dan 93,180 bpj untuk ekstrak methanol bunga telang segar.

Kata kunci : antioksidan, bunga telang, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), spektrofotometer sinar tampak.

## **ABSTRACT**

### **ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF TELANG FLOWER EXTRACT WITH DPPH METHOD**

By:  
Harry Supriyanto  
12171008

Antioxidants are substances that can prevent the oxidation process from free radicals. Telang flower (*Clitoria ternatea* L.) contains high flavonoids. Flavonoids have been known to have antioxidant activity. The purpose of this study was to determine the differences in antioxidant activity of ethanol and methanol extracts of fresh telang flower. This research was started by collecting samples of extracts in ethanol and methanol and testing their antioxidant activity using the DPPH method using a visible spectrophotometer.

The antioxidant activity test of the ethanol and methanol extracts of fresh telang flower was measured at a wavelength of 515.74 nm. From these data, it shows that the antioxidant activity of 70% ethanol extract and fresh telang flower methanol extract is strong to ward off free radicals with an  $IC_{50}$  value of 77,328 bpj for ethanol extract and 93,180 bpj for flower methanol extract fresh eggplant.

**Keywords** : antioxidant, telang flower, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil), UV-Vis spectrophotometer

**LEMBAR PENGESAHAN**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUNGA TELANG  
DENGAN METODE DPPH**

**Laporan Tugas Akhir**

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Farmasi

**Harry Supriyanto  
12171008**

Bandung, 20 Juni 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(apt. Winasih Rachmawati, M.Si)  
NIDN. 0412097702



(Dr. apt. R. Herni Kusriani, M.Si)  
NIDN. 0001037701

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan karunia-Nya yang telah diberikan kepada saya. Maha suci ALLAH yang sudah memberi nikmat dan memudahkan segala urusan, karena kasih sayang-Nya lah saya dapat menyelesaikan tugas akhir (skripsi) ini yang berjudul “UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUNGA TELANG DENGAN METODE DPPH”.

Penelitian ini merupakan salah satu syarat yang harus terpenuhi untuk dapat mencapai Gelar Sarjana (S1) Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung. Pada penelitian ini saya menyadari masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna, hal ini dikarenakan keterbatasan kemampuan dan pengetahuan yang saya miliki. Oleh karena itu saya sangat mengharapkan adanya masukan untuk membangun dan menyempurnakan penelitian ini supaya dapat menjadi salah satu inspirasi untuk penelitian kedepannya. Atas segala kekurangan dan keterbatasan pada penulisan penelitian ini saya mohon maaf karena masih jauh dari kata sempurna.

Dalam melaksanakan penulisan skripsi ini saya sadar bahwa dukungan dan doa serta bimbingan sangat diperlukan untuk terselesaikannya penelitian ini. Pada kesempatan ini saya ingin mengucapkan banyak terimakasih yang sebesar – besarnya kepada seluruh pihak yang telah membantu, khususnya kepada:

- apt. Aris Suhadirman, M.Si selaku ka prodi S1 Universitas Bhakti Kencana Bandung
- Ibu apt. Winasih Rachmawati, M.Si selaku pembimbing utama yang sudah banyak memberi masukan, ilmu dan waktunya
- Ibu Dr. apt. R. Herni Kusriani, M.Si selaku pembimbing serta
- apt. Dita Meidinata, M.Si selaku APJ di Klinik Utama Cimahi Sehat
- Gina Rahmawati, Amd Keb selaku owner Klinik Utama Cimahi Sehat yang telah bersedia memberikan waktu luang kepada saya untuk dapat melaksanakan penelitian.

Bandung, 20 Juni 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>ABSTRAK</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iv
<b>DAFTAR ISI</b> .....	v
<b>DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI</b> .....	vii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	viii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	ix
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan masalah .....	3
1.3. Tujuan dan manfaat penelitian.....	3
1.4. Tempat dan waktu Penelitian.....	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
2.1. Bunga Telang ( <i>Clitoria ternatea</i> L.).....	4
2.2. Antosianin .....	5
2.3. Antioksidan.....	6
2.3.1 Uji Antioksidan .....	7
2.3.2 Spektrofometer Ultraviolet Visibel (UV-Vis).....	9
2.3.3 Prinsip Kerja Spektrofotometer.....	10
<b>BAB III. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	11
<b>BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN</b> .....	12
4.1. Penyiapan Alat dan Bahan .....	12
4.2. Pembuatan Simplisia.....	12
4.3. Ekstraksi Bunga Telang Menggunakan Metode Maserasi .....	12
4.4. Pembuatan Ekstrak Metanol Bunga Telang.....	13
4.5. Penampisan Fitokimia.....	13
4.5.1 Uji Alkaloid .....	13
4.5.2 Uji Flavonoid .....	13
4.5.3 Uji Saponin .....	13
4.5.4 Uji Kuinon .....	14
4.5.5 Uji Tanin .....	14
4.5.6 Uji Steroid.....	14

4.6.	Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH .....	14
4.7.	Pembuatan Larutan Blangko.....	14
4.8.	Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol dan Methanol Bunga Telang.....	14
4.9.	Pengukuran Serapan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	15
4.10.	Pembuatan Larutan Vitamin C Sebagai Standar .....	15
4.11.	Penentuan IC50 Ekstrak Etanol Bunga Telang .....	15
<b>BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>16</b>
5.1.	Penyiapan Sampel.....	16
5.2.	Penampisan Fitokimia.....	16
5.3.	Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum .....	17
5.4.	Uji Kuantitatif .....	17
<b>BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN.....</b>		<b>19</b>
VI.1 KESIMPULAN .....		19
VI.2 SARAN.....		19
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>20</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>		<b>22</b>

## DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI

Gambar II. 1 Bunga Telang ( <i>Clitoria ternatea</i> L.) .....	4
Gambar II. 2 Struktur Kimia Antosianidin .....	5
Gambar V. 1 Hasil Penentuan Panjang Gelombang DPPH .....	17



## DAFTAR TABEL

Tabel V. 1 Hasil Ekstraksi Bunga Telang .....	16
Tabel V. 2 Hasil Penampisan Bunga Telang .....	16
Tabel V. 3 Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan metanol bunga telang .....	18

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1 Hasil Determinasi Bunga Telang .....	22
Lampiran 2 Penimbangan Simplisia Bunga Telang .....	23
Lampiran 3 Proses Maserasi.....	23
Lampiran 4 Proses Rotary Evaporator.....	24
Lampiran 5 Pemekatan Ekstrak.....	24
Lampiran 6 Uji Flavonoid .....	25
Lampiran 7 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol 70% .....	25
Lampiran 8 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Methanol Bunga Telang Segar.....	26
Lampiran 9 Pembuatan DPPH.....	26
Lampiran 10 Pembuatan Vitamin C .....	27
Lampiran 11 Grafik pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga telang.....	27
Lampiran 12 Grafik pengujian aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga telang .....	28
Lampiran 13 Format Surat Pernyataan Bebas Plagiasi .....	29
Lampiran 14 Format Surat Persetujuan untuk dipublikasikan di media online .....	30
Lampiran 15 Hasil Turnitin .....	31
Lampiran 16 Bukti WhatsApp Dosen .....	33

# **BAB I. PENDAHULUAN**

## **1.1. Latar Belakang**

Radikal bebas merupakan suatu senyawa yang berbahaya dan dapat berdampak buruk terhadap kesehatan. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan radikal bebas yaitu polusi, paparan sinar UV yang berlebihan, suhu dan bahan kimia. Jika dalam tubuh terdapat jumlah radikal bebas yang berlebihan, sehingga akan memicu timbulnya reaksi berantai dan menyebabkan rusaknya sel didalam tubuh (Caesalpinia and Hotdelina, 2012). Salah satu solusi untuk menangkal radikal bebas yaitu dengan penggunaan antioksidan.

Antioksidan ialah suatu zat yang bisa mencegah terjadinya proses oksidasi pada radikal bebas. Karena pada reaksinya dapat mentransfer elektron dari suatu zat kepada oksidator. Terjadinya suatu reaksi oksidasi karena hilangnya satu elektron apabila dua atau lebih zat berinteraksi yang dapat menghasilkan kesetimbangan antara molekul radikal bebas dengan molekul antioksidan endogen (Wahid et al., 2017). Saat jumlah radikal bebas yang terdapat didalam tubuh melebihi kapasitasnya untuk menetralkannya, sehingga terjadi stres oksidatif dan apabila itu berlangsung lama, maka akan terjadi rusaknya sel serta jaringan yang bisa mengakibatkan timbulnya penyakit degeneratif (Su et al., 2011). Berbagai penyakit degeratif seperti kardiovaskuler, kerusakakan retina, katarak, hepatitis, arthritis reumatoid, stroke, asma, diabetes militus, imunodepresi, kanker, hiperoksia, dermatitis dan penuaan dini (Phaniendra et al., 2015).

Ada beberapa jenis antioksidan yang secara efektif bisa menghalangi proses oksidasi diantaranya yaitu antioksidan kimia misalnya buthylatedhydroxytoluene (BHT), buthylated hidroksianisol (BHA), serta ters-butylhydroquinone (TBHQ) (Bahriul et al., 2014). Sayangnya pada antioksidan sintesis mempunyai sifat karsinogenik yang apabila masuk kedalam tubuh dalam waktu lama akan menjadi racun didalam tubuh, sehingga penggunaan antioksidan alami dibutuhkan untuk dikonsumsi dalam jangka waktu panjang. Antioksidan alami sendiri bisa terkandung dalam buah-buahan serta sayur mayur yang mempunyai kandungan fitokimia misalnya flavonoid, isoflavin, flavon, antosianin, serta vitamin C (Sumartini and Ikrawan, 2020).

Bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) adalah tumbuhan yang berasal dari Asia tenggara, salah satunya Indonesia serta banyak muncul dipekarangan rumah, kebun dan hutan. *Clitoria ternatea L* diketahui mempunyai kandungan flavonoid, antosianin, flavonol glikosida, kaempferol glikosida, quersetin glikosida, mirisetin glikosida. Selain itu *Clitoria ternatea L* juga mengandung terpenoid, tannin dan steroid (Gupta et al., 2010). Salah satu kandungan yang ada pada *Clitoria ternatea L* yakni antosianin yang menghasilkan warna ungu. Antosianin merupakan senyawa alkaloid yang secara luas tersusun pada polifenol tumbuhan. Dalam oksidasi antosianin, flavonoid terbagi atas lima kelas seperti flavonol, flavan-3-ol, flavon, flavanon serta flavanonol (Andriani and Murtisiwi, 2020). Sifat fisika-kimia pada bunga telang bisa diamati dalam larutan antosianin yang dilarutkan pada pelarut polar misalnya methanol, kloroform, aquadest dan air. Antosianin dapat dikatakan normal apabila berada dalam pH 3,5 dengan suhunya 50°C dengan berat molekul 207,08 gram/mol serta memiliki rumus kimia C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>O. Antosianin dikatakan tidak normal apabila kondisi yang netral ataupun basa, maka untuk mengekstraksi senyawa antosianin dilakukan menggunakan pelarut asam. Pelarut yang sering digunakan ialah etanol, methanol, isopropanol, aseton dan aquadest. Pelarut tersebut dapat juga di kombinasikan dengan pelarut asam misalnya HCl, CH<sub>3</sub>COOH, C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>, asam kromat, asam askorbat dan asam organik. Penambahan pelarut asam bertujuan untuk mengoptimalkan ekstraksi antosianin.

Bunga telang telah banyak digunakan dan dijadikan untuk pewarna alami pada makanan atau minuman serta dijadikan sebagai obat herbal dengan cara merebusnya langsung. Informasi mengenai bunga telang belum banyak tergal, sehingga kurang begitu dikenal di masyarakat untuk mengembangkan suatu produk lanjutan.

Terdapat metode yang dapat dipergunakan dalam menguji adanya keaktifan antioksidan yaitu menggunakan metode DPPH, dimana DPPH ini mempunyai kapabilitas antioksidan agar dapat menangkal radikal bebas yaitu dengan memberikan atom hidrogen (Molyneux, 2004). Selain itu, alasan penggunaan metode DPPH sendiri yaitu selain simple, sederhana, mudah, cepat serta tanggap adalah karena sekedar memerlukan sample yang sedikit (Ferdinan and Prasetya, 2018). Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan tanda-tanda berubahnya warna ungu DPPH ke warna ungu kemerahan atau kuning tergantung dari kemampuan antioksidan itu sendiri (Bahriul et al., 2014). Berdasarkan penjelasan latar belakang sebelumnya, sebaiknya dilaksanakan suatu riset agar dapat mengetahui aktivitas antioksidan dari bunga telang.

## **1.2. Rumusan masalah**

Berapakah nilai  $IC_{50}$  aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan metanol bunga telang ?

## **1.3. Tujuan dan manfaat penelitian**

Mengetahui aktivitas antioksidan dari bunga telang dengan metode DPPH

## **1.4. Tempat dan waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret – Mei 2021 di Laboratorium Kimia Bhakti Kencana University

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) merupakan tumbuhan rambat yang banyak dijumpai dipekarangan rumah, kebun dan hutan. Tumbuhan ini termasuk dalam suku *Papilionaceae* atau *Fabaceae* (polong-polongan) yang berasal dari Asia tropis dan telah tersebar diseluruh kawasan tropis. Masyarakat banyak yang tidak tahu tentang kegunaan dari *Clitoria ternatea* L, dan hanya dapat ditanam dipekarangan rumah dan dijadikan sebagai tanaman hiasan. Berikut klasifikasi dari bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sebagai berikut (Alok et al., 2015) :



**Gambar II. 1** Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Kingdom : Plantae  
Divisi : Tracheophyta  
Infrodivisi : Angiospermae  
Kelas : Mangnoliopsida  
Ordo : Fabales  
Familia : Fabacea  
Genus : Clitoria L  
Spesies : *Clitoria ternatea*

Bunga telang merupakan tumbuhan yang memiliki ciri khas bunga berwarna biru sampai ungu dan termasuk tumbuhan berbiji keping satu (monokotil). Bunga telang termasuk bunga yang memiliki kelamin dua (*hermaphroditus*) sebab mempunyai benang sari (alat kelamin jantan) serta putik (alat kelamin betina)

dinamakan juga bunga sempurna maupun bunga lengkap. Beberapa kandungan kimia yang ada dalam mahkota bunga telang bisa diamati dibawah ini.

**Tabel II. 1** Kadar Senyawa Aktif Mahkota Bunga Telang

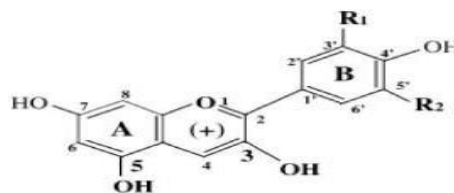
Senyawa	Konsentrasi (mmol/mg bunga)
Flavonoid	20,07 ± 0,55
Antosianin	5,40 ± 0,23
Flavonol glikosida	14,66 ± 0,33
Kaempferol glikosida	12,71 ± 0,46
Quersetin glikosida	1,92 ± 0,12
Mirisetin glikosida	0,04 ± 0,01

Sumber : (Kazuma et al., 2003)

## 2.2. Antosianin

Antosianin adalah zat pewarna alami yang ada dalam kandungan bunga serta buah-buahan. Antosianin mempunyai ciri khas warna seperti merah, ungu sampai biru (Ohtani et al., 2000). Antosianin adalah senyawa flavonoid yang mempunyai kelebihan untuk antioksidan. Berbentuk glikosida, antosianin kurang aktif dari pada bentuk aglikonnya (Ariviani, 2010). Antosianin memiliki zat warna alami yang termasuk turunan dari benzopiran yang disertai dengan adanya cincin aromatik (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>) yang menghubungkan beberapa atom karbon yang berbentuk cincin (Sahraeni et al., 2018).

Enzim glukosidase dan PPO (*Polipenil Oksidase*) bisa berfungsi untuk proses degradasi antosianin. Enzim glukosidase dapat merangsang terjadinya hidrolisis pada ikatan gula antara gugus aglikon dengan gugus glikon, yang dapat membuat membentuk cincin aromatik dan membentuk senyawa kalkon. Antosianin merupakan zat warna yang mempunyai sifat polar, sehingga dapat larut kedalam pelarut polar.



**Gambar II. 2** Struktur Kimia Antosianidin

Ada beberapa jumlah antosianin dialam yang berhasil di isolasi berjumlah 539 jenis, namun cuma ada enam yang terdapat dibahan pangan, yaitu pelargonidin,

cyanidin, peonidin, dephinidin, petunidin dan malvidi (Mendoza-Rodríguez et al., 2017).

Pada proses ekstraksi, pengolahan dan penyimpanan dapat menimbulkan terjadinya degradasi antosianin. Adapun faktor yang menyebabkan pengaruh stabilitas antosianin diantaranya terjadinya modifikasi struktur spesifik pada antosianin, pH, temperatur, pencahayaan, adanya ion logam, oksigen, kadar gula, enzim dan pengaruh sulfur oksida (Budiyati et al., 2012). Pada larutan asam, umumnya antosianin lebih stabil daripada dengan larutan netral maupun alkali. Struktur antosianin berbeda-beda tergantung pada pH larutan. Antosianin dapat berbentuk kation flavinium dan memiliki warna merah pada pH 1. Dalam pH 2-4 membentuk campuran kation flavinium serta quinoidal, sedangkan karbinol pseudobasa dan kalkon pada pH 5-6 (Castañeda-Ovando et al., 2009). Pengaruh suhu dapat mempengaruhi kestabilan dari antosianin. Pada proses penyimpanan, kerusakan antosianin akan meningkat yang dipengaruhi oleh kenaikan suhu. Hilangnya warna dan terjadi kecoklatan disebabkan oleh degradasi termal.

### **2.3. Antioksidan**

Antioksidan adalah suatu zat yang bisa menghalangi terjadinya oksidasi pada bahan pangan. Pada saat radikal bebas mendapatkan elektron dari antioksidan, sehingga radikal bebas tidak akan menyerang sel sehingga reaksi berantai oksidasi dapat terputus. Antioksidan akan menjadi radikal bebas setelah memberikan elektron. Kondisi ini sangat berbahaya karena antioksidan akan merubah elektron tanpa menjadi reaktif. Pada jiwa makhluk hidup sebetulnya mempunyai antioksidan sendiri yang di bentuk didalam tubuh serta didapatkan dari makanan misalnya sayur-mayur, buah-buahan, kacang-kacangan, daging serta minyak. Pertahanan antioksidan tubuh terdapat didalam sel yang terdapat pada membran sel larut lemak yang mengandung vitamin A, E serta coenzim Q (Clarkson and Thompson, 2018).

Umumnya mekanisme radikal bebas dapat melawan pertahanan antioksidan, dimana didalam tubuh radikal bebas dapat menyerang komponen biokimia sehingga membentuk hidroperoksida. Pada kondisi tersebut, sel akan bekerja menghasilkan radikal bebas dalam jumlah besar disebabkan stres eksogen seperti unsur kimia, fisik serta biologi maupun aktivitas metaboliknya



pada membran plasma, mitokondria, retikulum endoplasma dan sitosol. Pada sitosol terdapat radikal hidroksil (HOH), salah satu reaktif oxygen spesies (ROS) yang paling berbahaya. Radikal hidroksil dapat menyerang berbagai macam molekul yang menyebabkan setiap molekul akan kehilangan satu molekul kemudian menjadi radikal (Iorio, 2007).

Secara mekanisme kerja, antioksidan dapat di bagi dalam tiga, antara lain :

1. Antioksidan Primer

Antioksidan ini mekanisme kerjanya dengan menangkal terbentuknya senyawa radikal bebas yang sudah membentuk suatu molekul yang tidak aktif.

Contohnya seperti glutathion peroksidase dan enzim superoksida dismutase (SOD) berfungsi untuk melindungi hancurnya sel-sel pada tubuh oleh radikal bebas.

2. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder mekanisme kerjanya dengan memutus reaksi oksidasi berantai radikal bebas. Contohnya yaitu vitamin A,C,E, dan flavonoid yang dapat ditemukan pada buah- buahan.

3. Antioksidan Tersier

Antioksidan Tersier ini dapat memperbaiki rusaknya sel-sel dan jaringan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Contohnya yaitu enzim metionin sulfoksi dan reduktase yang berfungsi sebagai perbaikan DNA pada inti sel.

### 2.3.1 Uji Antioksidan

Ada beberapa pengujian untuk antioksidan diantaranya dengan metode *in vivo* dan *in vitro*. Beberapa peneliti banyak menggunakan metode *in vitro*, sebab *in vivo* ini tidak memerlukan waktu lama dalam pengerjaannya dibandingkan dengan metode *in vivo*.

Metode *in vitro* terbagi atas 4 metode, diantaranya :

1. Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Metode berikut banyak digunakan untuk uji antioksidan sebab merupakan metode yang sederhana, mudah dan tidak membutuhkan banyak sampel, serta waktu pengerjaan yang cukup singkat. Panjang gelombang maksimum DPPH untuk uji aktivitas antioksidan yang digunakan adalah

panjang gelombang 517 nm, dengan konsentrasi DPPH 50  $\mu$ m. Aktivitas antioksidan pada sampel ditandai dengan berubahnya warna larutan DPPH pada etanol yang diawal memiliki warna violet pekat berubah menjadi kuning pucat (Regina et al., 2008).

Metode berikut salah satu pengukur penangkal radikal bebas sintetik dengan pelarut organik dalam suhu kamar pada senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Cara tersebut dilakukan dengan mekanisme pelepasan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas dan menerima satu elektron dari antioksidan. Untuk pelarut etanol dan metanol, metode ini sangat baik untuk menguji aktivitas antioksidan (Ismayanti and Bahri, 2013).

## 2. Metode Xantin Oksidase

Metode dengan menetapkan nilai hambat sample pada radikal bebas dengan menghitung aktivitasnya mempergunakan superoksida dismutase (SOD).

Prinsip dari metode xantin oksidase yaitu metabolisme xantin oksidase, dimana akan menciptakan radikal anion superoksida. Pada metode ini superoksida dismutase (SOD) akan diubah menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), maka metode tersebut bisa dipergunakan agar dapat mengetahui aktivitas antioksidan untuk mencegah radikal anion superoksida. Selain hanya membutuhkan waktu yang cepat, metode berikut ini harus dilewati oleh beberapa tahap inkubasi untuk membentuk radikal bebas (Hu et al., 2011).

## 3. Metode Tiosianat

Metode tiosianat memerlukan senyawa pembanding kontrol positif untuk menentukan radikal bebas. Prinsipnya yaitu dengan lipid peroksida dengan membentuk radikal alkoksi. Metode ini mempergunakan asam lemak tak jenuh sebagai radikal bebas. Kekurangan dari metode tiosianat adalah membutuhkan proses pengukuran serapan yang lama dan harus terus dilakukan sampai didapat nilai absorbansi maksimum (Zuhriyah, 2017).

## 4. Metode Deoksiribosa

Metode ini memakai reaksi deoksiribosa dengan radikal bebas yang diperoleh dari  $FeSO_4$  dan  $H_2O_2$ . Pencampuran antara radikal bebas dengan sampel dan 2- deoksiribosa menghasilkan malonaldehida (MDA). Ekstrak

tanaman yang mengandung antioksidan dapat mencegah radikal hidroksil dan merusak 2- deoksiribosa, maka produk MDA terhambat. Selanjutnya larutan ditambahkan tiobarbiturat (TBA), sehingga memiliki ikatan dengan MDA yang menghasilkan warna merah (Hu et al., 2011).

Sama halnya dengan metode tiosinat, metode deoksiribosa juga memerlukan pembanding sebagai kontrol positif. Kekurangan dari metode ini membutuhkan banyak tahapan dikarenakan sebelum melakukan pengukuran nilai serapan pada panjang gelombang, produk MDA harus terhenti terlebih dahulu oleh TBA (Atun, 2014).

### **2.3.2 Spektrofotometer Ultraviolet Visibel (UV-Vis)**

Spektrofotometer ialah ilmu mengenai penentuan jumlah senyawa yang terkandung pada sebuah sample dengan cara mengukur banyak dan tidaknya cahaya yang diserap maupun di emisikan oleh atom dan molekul-molekul yang ada didalam sample itu. Spektrofotometer UV-Vis adalah gabungan antara spektrofotometer UV dan Visible yaitu panjang gelombang 200 nm – 700 nm. Sesuai dengan namanya, spektrofotometer terdiri atas spektrometer yang meniptakan cahaya dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu, serta fotometer agar dapat mengukur intensitas cahaya yang di transmisikan ataupun di absorpsi. Spektrofotometer disusun dari sumber spektrum yang kontinu, monokromator, sel pengabsorpsi pada larutan sampel ataupun blangko serta suatu alat yang digunakan untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel, blangko serta pembanding.

Menurut Mulja dan Suharman, 1995: 28 Beberapa sampel seperti larutan, gas ataupun uap dapat ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penggunaan pelarut harus diperhatikan ketika sampel berupa larutan, seperti :

1. Menggunakan pelarut yang tidak berikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna.
2. Tidak mempengaruhi molekul lain yang akan dianalisis.
3. Memiliki derajat kemurnian tinggi agar dapat analisa.

### 2.3.3 Prinsip Kerja Spektrofotometer

Spektrum elektromagnetik terdiri atas daerah yang bercahaya. Sebuah daerah hendak di absorpsi oleh atom ataupun molekul dan panjang gelombang cahaya yang di absorpsi akan menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik memiliki panjang gelombang yang luas dari sinar gamma, gelombang pendek energi tinggi sampai panjang gelombang mikro. Pada dasarnya spektrum absorpsi di daerah ultra ungu dan sinar tampak terdapat satu atau beberapa pita absorpsi yang lebar dan molekulnya dapat menyerap radiasi pada daerah sinar tampak.

Keuntungan dari metode spektrofotometer ialah metode ini penggunaannya yang cukup mudah agar dapat menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Hasil yang didapat juga lebih akurat, yang mana setelah mendapatkan angka dengan cepat ditulis oleh detector serta tercetak dalam bentuk angka digital atau grafik yang telah di regresikan.

Beberapa komponen yang ada pada spektrofotometer mempunyai fungsi, antara lain :

1. Sumber tenaga radiasi
2. Monokromator mempunyai fungsi untuk mendapatkan sumber cahaya yang monokromatis.
3. Sel sampel untuk meletakkan sampel UV dengan menggunakan sel kuarsa, sedangkan Visibel menggunakan kuvet kaca atau kaca cortex.
4. Detektor radiasi berfungsi untuk menangkap cahaya dari berbagai panjang gelombang.

### **BAB III. METODOLOGI PENELITIAN**

Berdasarkan hasil riset berikut yang dilaksanakan dalam sejumlah tahapan, berawal pada pengumpulan bahan bunga telang yang diperoleh pada Bumi Herbal Dago, Bandung Jawa Barat. Selanjutnya dilakukan pembuatan simplisia dari bunga telang segar dengan karakteristik bunga berwarna ungu tua sampai biru muda.

Kemudian dilakukan sortasi basah agar dapat memilah bahan yang kurang diperlukan seperti debu dan jamur yang kemungkinan mencemari bahan hasil panen. Tahap kedua yakni pencucian memiliki tujuan agar dapat menghilangkan kotoran yang masih menempel dibahan. Bahan dicuci menggunakan air bersih yang mengalir serta dilaksanakan secara singkat agar dapat menghindari tersisihnya zat yang ada dalam simplisia.

Setelah itu bahan yang sudah disortasi kemudian dikeringkan dibawah UV langsung atau mempergunakan oven dengan suhu 40-50°C sampai kadar air <10%. Tahap terakhir adalah sortasi kering yaitu memisahkan bahan yang tidak diperlukan atau menghilangkan kotoran yang masih tertinggal pada saat pengeringan. Setelah itu simplisia di kemas mempergunakan bahan yang tidak mengandung racun atau yang tidak memiliki reaksi pada bahan yang akan disimpannya. Tujuan dari pengemasan sendiri yaitu untuk menghindari kerusakan atau berubahnya mutu sebab terdapat beberapa faktor-faktor, bisa dari internal ataupun eksternal.

Langkah selanjutnya yaitu mengekstraksi simplisia menggunakan metode maserasi menggunakan larutan etanol 70% dan didiamkan dengan waktu 3x24 jam. Filtrat yang didapat kemudian dilakukan penyaringan serta residunya di maserasi kembali menggunakan etanol 70%. Hasil yang didapat kemudian dikentalkan menggunakan *rotary evaporator*.

Selanjutnya membuat larutan uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH dan membuat larutan blangko. Kemudian membuat larutan uji ekstrak etanol 70% bunga telang dan ekstrak methanol bunga telang segar, kemudian dilakukan pengukuran serapan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Tahap selanjutnya membuat larutan vitamin C sebagai baku pembandingan, kemudian dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimal mempergunakan spektrofotometer UV-Vis. Tahap terakhir yaitu membuat kurva kalibrasi pengujian kadar antioksidan untuk tiap ekstrak dan terakhir penentuan nilai IC<sub>50</sub>.