

**Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Fenol Total serta Aktivitas Antioksidan dari
Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)**

Laporan Tugas Akhir

**Siti Nuriyah Azizah
191FF04079**



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

LEMBAR PENGESAHAN

Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Fenol Total serta Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Farmasi

Siti Nuriyah Azizah
191FF04079

Bandung, 19 Juni 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(apt. Aris Suhardiman, M. Si)
NIDN.0401018308

Pembimbing Serta,



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

ABSTRAK

Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Fenol Total serta Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Oleh:
Siti Nuriyah Azizah
191FF04079

Antioksidan merupakan senyawa yang dibutuhkan oleh tubuh untuk melawan radikal bebas dan mencegah kerusakan sel normal pada tubuh yang dapat menyebabkan penyakit. Antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh manusia tidak cukup untuk melawan radikal bebas sehingga dibutuhkan antioksidan dari luar. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, uji aktivitas antioksidan menggunakan metode CUPRAC kemudian dilakukan penetapan kadar flavonoid total dan fenol total. Hasil penelitian membuktikan adanya aktivitas antioksidan dari bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sebanyak $62,77 \mu\text{g/mL} \pm 0,21$ dengan kadar flavonoid total sebanyak 4,865 g QE/100 g ekstrak dan kadar fenol total sebanyak 2,133 g GAE/100 g ekstrak.

Kata Kunci: Antioksidan, Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.), Cuprac, Flavonoid, Fenol

ABSTRACT

Determination of Total Flavonoid and Total Phenol Levels and Antioxidant Activity from Telang Flower Extract (*Clitoria ternatea* L.)

By:
Siti Nuriyah Azizah
191FF04079

Antioxidants are compounds needed by the body to fight free radicals and prevent damage to normal cells in the body that can cause disease. Antioxidants produced by the human body are not enough to fight free radicals, so antioxidants are needed from the outside. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of the extract of telang flower (*Clitoria ternatea* L.) which was extracted by maceration method using 96% ethanol solvent using the CUPRAC method and total flavonoid content. The results showed that the antioxidant activity of the telang flower (*Clitoria ternatea* L.) was $62.77 \mu\text{g/mL} \pm 0.21$ with a total flavonoid content of 4.865 g QE/100 g extract and a total phenol content of 2.133 g GAE/100 g extract.

Keywords: Antioxidants, Telang flower (*Clitoria ternatea* L.), Cuprac, Flavonoid, Phenol

KATA PENGANTAR

Tiada kata yang paling indah selain puji dan syukur kehadiran Allah SWT, karena dengan rahman dan rahiim-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Fenol Total serta Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)”, yang merupakan syarat guna memperoleh gelar sarjana pada Fakultas Farmasi di Universitas Bhakti Kencana Bandung.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis menerima banyak bantuan dan dukungan sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. apt. Aris Suhardiman, M. Si sebagai pembimbing utama dan Dr. apt. R. Herni Kusriani, M. Si sebagai pembimbing serta yang senantiasa membantu, membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan penyusunan tugas akhir.
2. Kedua orangtua dan kedua saudari tercinta atas doa, dukungan, dorongan motivasi baik secara moral ataupun material.
3. Sahabat dan teman seperjuangan yang telah memberikan banyak bantuan secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna karena adanya keterbatasan pengetahuan dan kemampuan yang dimiliki. Oleh karena itu, semua kritik dan saran yang bersifat membangun sangat kami harapkan. Penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Bandung, 19 Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1. Latar belakang	1
I.2. Rumusan masalah	2
I.3. Tujuan dan manfaat penelitian	2
I.4. Hipotesis penelitian	2
I.5. Tempat dan waktu Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
II. 1 Tanaman Bunga Telang (<i>Clitoria ternatea</i> L.)	4
II. 2 Ekstraksi	5
II. 3 Radikal bebas	6
II. 4 Antioksidan	6
II. 5 Uji aktivitas antioksidan	7
II. 6 Metode uji aktivitas antioksidan CUPRAC	8
II. 7 Flavonoid	9
II. 8 Fenol	10
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	11
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	12
IV. 1 Instrumen Penelitian	12
IV. 2 Prosedur Penelitian	12
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	18
V.1 Penyiapan bahan	18
V.2 Pengolahan Bahan	18
V.3 Penetapan Karakterisasi Simplisia	18
V.4 Ekstraksi	19
V.5 Skrining Fitokimia	20
V.6 Pemantauan Ekstrak	20
V.7 Penetapan Kadar Flavonoid Total	22

V.8 Penetapan Kadar Fenol Total	24
V.9 Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Cuprac	25
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN	27
V.1 Kesimpulan	27
V.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	30

DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI

Gambar 2.1 Tanaman Bunga Telang (<i>Clitoria ternatea</i> L.).....	4
Gambar 5.1 Kromatogram Ekstrak Etanol Bunga Telang Dengan Fase Gerak Non Polar...	22
Gambar 5.2 Kromatogram Ekstrak Etanol Bunga Telang Dengan Fase Gerak Semi Polar...	23
Gambar 5.3 Kromatogram Ekstrak Etanol Bunga Telang Dengan Fase Gerak Polar.....	23
Gambar 5.4 Kurva Baku Asam Galat.....	24
Gambar 5.5 Kurva Baku Kuersetin.....	25

DAFTAR TABEL

Tabel V.1 Hasil Karakterisasi Simplisia Bunga Telang (<i>Clitoria ternatea</i> L.).....	20
Tabel V.2 Hasil Skrining Fitokimia Simplisia Bunga Telang (<i>Clitoria ternatea</i> L.).....	21
Tabel V.3 Hasil Pengukuran Absorbansi Kuersetin	24
Tabel V.4 Hasil Pengukuran Absorbansi Asam Galat	24
Tabel V.5 Hasil EC ₅₀	25

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Pernyataan Bebas Plagiasi	35
Lampiran 2 Surat Persetujuan untuk dipublikasikan di media online	36
Lampiran 3 Bagan Alir Kerja	37
Lampiran 4 Determinasi Tanaman	38
Lampiran 5 Perhitungan Kadar Fenol Total	39
Lampiran 6 Perhitungan Kadar Flavonoid Total	40
Lampiran 7 Perhitungan EC ₅₀ Vitamin C.....	41
Lampiran 8 Perhitungan EC ₅₀ Ekstrak Bunga Telang.....	42

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	NAMA
BHA	<i>Butylated Hydroxyl Anisole</i>
BHT	<i>Butylated Hydroxyl Toluene</i>
CUPRAC	<i>Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity</i>
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
Gpx	<i>Glutathione Peroxidase</i>
IC ₅₀	<i>Inhibitory Concentration</i>
EC ₅₀	<i>Efficient Concentration</i>
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
MDA	<i>Malonaldehid</i>
NDGA	<i>Nordihydro Guaretic Acid</i>
ORAC	<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>
PG	<i>Propyl Gallate</i>
SOD	<i>Superoxide Dismutase</i>
TAC	<i>Total Antioxidant Capacity</i>
TBARS	<i>Thiobarbituric Acids Reactive Substances</i>
TBHQ	<i>Tertiary Butyl Hydroquinone</i>

BAB I PENDAHULUAN

I.1. Latar belakang

Antioksidan merupakan senyawa penting yang dibutuhkan tubuh guna melawan radikal bebas dan mencegah kerusakan sel normal pada tubuh yang dapat menyebabkan penyakit. Sedangkan radikal bebas merupakan zat yang terbentuk dalam metabolisme tubuh secara alami. Namun, radikal bebas bisa juga berasal dari luar tubuh, seperti asap rokok, polusi, atau obat-obatan. Senyawa radikal bebas akan menyerang daerah sekelilingnya sehingga menimbulkan reaksi yang menghasilkan senyawa radikal baru. Reaktivitas senyawa radikal bebas di dalam tubuh yaitu dengan merusak susunan DNA sel, menyebabkan peradangan, meningkatkan kadar kolesterol jahat, kerusakan jaringan atau sel, melemahkan daya tahan tubuh, menyebabkan penyakit degeneratif, autoimun, sampai kanker (Irianti *et al.*, 2017).

Oleh karena itu tubuh membutuhkan antioksidan agar bisa melawan efek dari paparan radikal bebas tersebut. Antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh tentunya kurang cukup untuk melawan radikal bebas sehingga dibutuhkan antioksidan dari luar. Antioksidan terbagi menjadi dua macam yaitu antioksidan alami yang didapatkan dari proses ekstraksi dan antioksidan buatan atau sintetik yang didapatkan dari reaksi kimia. Contoh senyawa antioksidan alami salah satunya yaitu senyawa flavonoid, sedangkan contoh untuk senyawa antioksidan sintetik salah satunya yaitu Butil Hidroksi Anisol (BHA). Senyawa antioksidan buatan atau sintetik (BHA dan BHT) dapat menyebabkan kerusakan hati dan karsinogenesis (Basma *et al.*, 2011).

Sehingga hal ini mengakibatkan peningkatan pada penelitian dan penggunaan antioksidan alami. Senyawa antioksidan alami bisa didapatkan dari ekstrak tanaman seperti bunga telang (*Clitoria ternatea* L.).

Bunga telang adalah tanaman yang diduga berasal dari daerah tropis, hidup dengan baik pada berbagai jenis tanah, dapat menyesuaikan terhadap hujan berlebih ataupun kekeringan. Jika dilihat dari pemantauan fitokimia bunga telang memiliki berbagai bahan aktif yang berpotensi terapeutik diantaranya adalah sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, analgetik, antiparasit, antifungi, antidiabetes, antikanker, antihistamin, dan immunomodulator. Bunga telang memiliki kandungan diantaranya flavonoid, saponin, terpenoid, dan tanin (Kun Sri Budiasih, 2017). Sehingga telah dilakukan uji aktivitas antioksidan pada bunga telang menggunakan metode DPPH yang dilakukan oleh (Cahyaningsih Erna, Sandhi K Putu Era, 2019) dengan hasil nilai IC_{50} sebesar 87,86 ppm, (Jadhav. V Int *et al.*, 2018) dengan hasil aktivitas tertinggi yaitu $87,75 \pm 0,05$ %.

Berdasarkan berbagai uraian yang telah disampaikan sebelumnya maka akan dilakukan penelitian pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak bunga telang dengan menggunakan

metode yang berbeda yaitu dengan menggunakan metode cuprac. Metode ini digunakan karena reagen cuprac adalah pereaksi selektif yang memiliki nilai potensi reduksi yang rendah, lebih stabil dan dapat dilakukan dilaboratorium konvensional sehingga tidak memerlukan peralatan yang canggih (Apak *et al.*, 2007) dan dilakukan pengujian lain yaitu penetapan kadar flavonoid total dan fenol total.

I.2. Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah disampaikan, maka permasalahan yang dapat dirumuskan adalah sebagai berikut:

1. Berapakah nilai aktivitas antioksidan (EC₅₀) ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.)?
2. Berapakah kadar flavonoid total dari ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.)?
3. Berapakah kadar fenol total dari ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.)?

I.3. Tujuan dan manfaat penelitian

I.3.1. Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam nilai EC₅₀ dari ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan menggunakan metode CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*)
2. Menetapkan kadar flavonoid total ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.)
3. Menetapkan kadar fenol total ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.)

I.3.2. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang didapatkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi aktivitas antioksidan pada ekstrak bunga telang dengan metode cuprac.
2. Sebagai penelitian lanjutan pada pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak bunga telang
3. Penerapan ilmu biologi farmasi yang telah dipelajari serta dapat memberikan informasi dan pengetahuan tentang aktivitas antioksidan dengan metode cupric

I.4. Hipotesis penelitian

Berdasarkan uraian diatas penulis menarik hipotesis bahwa Ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, terpenoid, dan tanin. Sehingga diduga memiliki aktivitas antioksidan.

I.5. Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2021 hingga April 2021 di Laboratorium Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

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

II.1.1 Nama Daerah

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) merupakan tanaman yang berasal dari daerah Ternate, Maluku. Tanaman ini dapat tumbuh di daerah tropis seperti Asia sehingga penyebarannya telah sampai pada daerah Amerika selatan, Afrika, Brazil, Pasifik utara, dan Amerika utara. Bunga telang memiliki banyak nama seperti butterfly pea (Inggris), bunga telang (Jawa), dan Mazerion Hidi (Arab) (Kun Sri Budiasih, 2017). Gambar bunga telang ditunjukkan pada gambar 2.1 (a) bunga (b) akar.



(a)



(b)

Gambar 2.1. Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.), (a) bunga (b) akar bunga telang

(sumber: Dokumentasi pribadi)

II.1.2 Klasifikasi Bunga Telang

Kingdom : Plantae
 Divisi : Tracheophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Orde : Fabales
 Family : Fabaceae
 Genus : *Clitoria* L.
 Spesies : *Clitoria ternatea* L.

(www.gbif.org, 2019)

II.1.3 Morfologi

Bunga telang memiliki ciri khas yaitu kelopak bunga yang berwarna ungu, merupakan jenis bunga majemuk, dan termasuk kedalam tanaman merambat yang mudah didapati seperti di halaman rumah, ataupun di perkebunan. Bunga telang dapat tumbuh sebagai tanaman hias yang dapat digunakan sebagai pewarna makanan dan obat mata secara tradisional. Selain itu bunga telang menghasilkan kacang berwarna hijau, hal ini yang membuat bunga telang tergolong sebagai polong polongan. Bunga telang memiliki daun bunga tidak lengkap, mempunyai helai daun dan tangkai, memiliki akar tunggang yang terdiri 4 bagian, yaitu batang/utama, serabut akar, leher, dan ujung. Berwarna hijau saat masih muda dan berwarna hitam saat tua (Kun Sri Budiasih, 2017).

Bunga telang selain berwarna ungu dapat ditemukan juga berwarna merah dan biru yang disebabkan oleh adanya senyawa antosianin dengan stabilitas yang baik sehingga bunga telang ini dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami pada industri pangan. Selain itu bunga telang memiliki kandungan fitokimia lain seperti senyawa flavonoid. Senyawa yang dapat berperan sebagai antioksidan dalam bunga telang ini salah satunya adalah senyawa flavonoid. Sehingga bunga telang dapat memberikan efek terhadap kesehatan dan meningkatkan mutu terhadap warna (Makasana *et al.*, 2017).

II.1.4 Kandungan Kimia

Bunga telang memiliki kandungan diantaranya flavonoid, saponin, terpenoid, dan tanin Kun Sri Budiasih (2017)

II.1.5 Tinjauan Farmakologi

Ditinjau dari skrining fitokimia bunga telang memiliki sejumlah senyawa aktif yang berpotensi terapeutik diantaranya adalah sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, analgetik, antiparasit, antifungi, antidiabetes, antikanker, antihistamin, dan immunomodulator.

II. 2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa aktif dari bahan dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Salah satu metode dari ekstraksi yaitu maserasi. Maserasi merupakan proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut yang sesuai dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar. Proses maserasi mempunyai kelebihan yaitu harga yang relatif murah dan mudah dilakukan (Koirewoa *et al.*, 2012).

Pada saat proses ekstraksi sampel uji tanaman, terjadi proses pemecahan membran sel dan dinding sel yang diakibatkan dari perbedaan tekanan diluar dan didalam sel, sehingga metabolit sekunder yang terdapat didalam tanaman akan terlarut dalam pelarut tersebut. Lamanya waktu ekstraksi mengakibatkan terjadinya kontak antara pelarut dan sampel uji yang lebih maksimal sehingga menyebabkan titik jenuh larutan menjadi meningkat. Kontak antara sampel dan pelarut dapat ditingkatkan dengan pengadukan sehingga proses ekstraksi menjadi lebih maksimal (Koirewoa *et al.*, 2012).

II. 3 Radikal bebas

Radikal bebas merupakan sebuah molekul tidak stabil dan sangat reaktif karena pada orbital terluarnya mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sehingga atom atau molekul radikal bebas akan bereaksi dengan molekul di sekelilingnya untuk mendapatkan pasangan elektron supaya dapat mencapai kestabilan. Senyawa radikal bebas bersifat merusak dan sangat berbahaya. Akan tetapi dalam jumlah tertentu radikal bebas dibutuhkan untuk kesehatan yang berfungsi pada saat adanya inflamasi, membunuh bakteri, dan mengatur tonus otot polos dalam organ maupun pembuluh darah (Irianti *et al.*, 2017).

Namun apabila berlangsung tanpa henti didalam tubuh manusia, maka bisa mengakibatkan penyakit seperti jantung, kanker, penuaan dini, dan menurunnya sistem kekebalan tubuh .

Menurut Kasiviswanath *et al* (2005) radikal bebas menyebabkan kerusakan sel dengan cara:

1. Oksidasi lipid dari membran sitosol
2. Kerusakan DNA
3. Modifikasi protein teroksidasi karena cross linking protein, melalui mediator sulfidril atas beberapa asam amino labil, seperti sistein, metionin, lisin, dan histidin.

Sumber radikal bebas dapat berasal dari luar tubuh (eksogen) dan dapat berasal dari proses metabolisme didalam tubuh (endogen) yang merupakan respon normal dari peristiwa biokimia didalam tubuh, berbentuk sisa proses metabolisme protein, lemak pada mitokondria, karbohidrat, reaksi antara besi logam, proses peradangan atau inflamasi, fagosit, transisi dalam tubuh, dan xantin oksidase (Irianti *et al.*, 2017).

II. 4 Antioksidan

II.2.1 Pengertian antioksidan

Antioksidan secara kimiawi adalah senyawa pendonor elektron. Secara biologis antioksidan adalah senyawa yang mampu menghilangkan dampak negatif oksidan, seperti enzim dan protein pengikat logam (Irianti *et al.*, 2017).

Antioksidan adalah senyawa yang signifikan dapat mencegah atau menghambat oksidasi dalam reaksi rantai pada konsentrasi rendah (Halliwell and Whiteman, 2004). Antioksidan dapat melindungi sel-sel dari kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas atau molekul tidak stabil lainnya dengan mendonorkan elektron pada molekul radikal bebas (Irianti *et al.*, 2017).

II.2.2 Jenis antioksidan

Antioksidan terbagi kedalam dua bagian yaitu:

1. Antioksidan alami

Antioksidan alami bisa didapatkan dari tanaman, seperti pada sayuran, buah-buahan segar, dan rempah-rempah. Contohnya seperti tomat, acai berry, kiwi, pisang dll.

Fungsi dari antioksidan alami diantaranya sebagai reduktor, penangkap radikal bebas, pengkkelat logam, dan peredam pembentukan oksigen singlet. Antioksidan alami diklasifikasikan menjadi vitamin dan enzim. Antioksidan berupa vitamin diantaranya adalah betakaroten (vitamin A), alfa tokoferol (vitamin E), dan asam askorbat (vitamin C). Sedangkan antioksidan berupa enzim yang dihasilkan oleh tubuh dapat berupa superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase, dan katalase. Sedangkan antioksidan dari tanaman yaitu senyawa polifenol atau fenolik, turunan asam sinamat, flavonoid, kumarin, asam organik dan tokoferol (Irianti *et al.*, 2017).

2. Antioksidan sintetik

Senyawa antioksidan buatan atau sintetik berfungsi menghentikan reaksi berantai dan menangkap radikal bebas. Antioksidan buatan atau sintetik diantaranya seperti Butylated hydroxyl anisole (BHA), Butylated hydroxytoluene (BHT), Propyl gallate (PG), metal chelating agent (EDTA), Tertiary butyl hydroquinone (TBHQ), Nordihydro guaretic acid (NDGA).

Jika menggunakan antioksidan BHA dan BTH dalam jangka panjang, maka akan memberikan efek toksik terhadap tubuh, yaitu penurunan berat badan dan pembengkakan berat pada organ hati dan otak (Irianti *et al.*, 2017).

II. 5 Uji aktivitas antioksidan

Metode pengujian aktivitas antioksidan terbagi menjadi 3 golongan yaitu:

II.5.1 Uji aktivitas antioksidan secara invitro

Uji aktivitas antioksidan secara invitro dibagi menjadi 2 yaitu:

1. Menggunakan bahan kimia seperti Uji DPPH, pengukuran diena terkonjugasi, pengukuran bilangan para-anisidin, penentuan bilangan peroksida, pengukuran aktivitas penghambatan radikal hidroksil, metode kekuatan pereduksi, aktivitas peredaman radikal superoksida, metode fosfomolibdenum, metode ABTS, kapasitas serapan radikal oksigen (ORAC), aktivitas linoleat-tiosianat, metode CUPRAC, metode FRAP, efek pembentukan heksanal, metode penghambatan aktivitas radikal NO, dan hidrolisis (Irianti *et al.*, 2017).
2. Menggunakan materi biologis, Metode ini dilakukan dengan mengukur viabilitaas sel (teknik kultur sel) mengukur pembentukan diena terkonjugasi dan mengukur kadar TBARS (Thiobarbituric Acids Reactive Substances) dari isolate LDL (Irianti *et al.*, 2017).

II.5.2 Uji aktivitas antioksidan secara in vivo

Dalam pengujian secara invivo efektivitas suatu senyawa yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan dapat diketahui melalui aktivitas atau kemampuan penghambatan proses oksidasi oleh senyawa antioksidan tersebut.

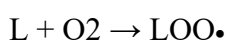
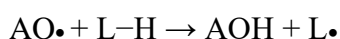
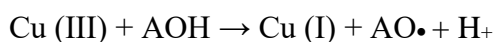
1. Glutation peroksidase (Gpx)
2. Uji enzim katalase
3. Uji superoksida dismutase
4. Penentuan kadar malonaldehid (MDA) plasma

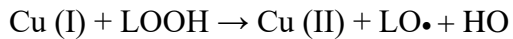
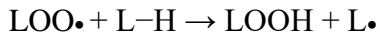
(Irianti *et al.*, 2017)

II. 6 Metode uji aktivitas antioksidan CUPRAC

CUPRAC (*Cupric Ion Reducing antioxidant Capacity*) dikembangkan pada pertama kali sebagai spektrofotometri uji TAC (*Total Antioxidant Capacity*) dengan ruang lingkup yang telah diperluas dengan beberapa modifikasi. Disebabkan kemampuan pengurangan ion cuprum pada pengukuran antioksidan polifenol dan plasma, maka disebut sebagai metode *Cupric Ion Reducing antioxidant Capacity* (CUPRAC) (Apak *et al.*, 2007).

Prinsip dari uji CUPRAC adalah pembentukan khelat oleh bis-neokuproin - tembaga (II), (Cu(Nc)₂₂₊) sebagai pereaksi kromogenik yang bereaksi dengan antioksidan (AOX) reduktan n-elektron.





Standar antioksidan digunakan dalam metode ini dicampur dengan CuSO_4 dan neocuproine. Setelah didiamkan selama 30 menit, absorbansi diukur pada panjang gelombang 450 nm. Secara visual dapat terlihat dari perubahan warna larutan biru tosca menjadi kuning.

Kelebihan pengujian dengan menggunakan metode CUPRAC adalah pereaksi yang digunakan cukup cepat untuk mengoksidasi tiol jenis antioksidan, reagen CUPRAC lebih stabil dan dapat didapatkan dari kromogenik lainnya seperti DPPH dan ABTS. Reagen CUPRAC adalah tembaga klorida yang dikombinasi dengan neocuproin pada dapar amonium asetat pada pH 7. Kompleks Cu (I)-neocuproin yang memberikan warna kuning. Intensitas kuning akan tergantung pada jumlah Cu (II) yang tereduksi menjadi Cu (I). Jika sampel mereduksi Cu (II) menjadi Cu (I) maka dalam waktu yang bersamaan sampel akan teroksidasi sehingga sampel dapat bertindak sebagai antioksidan. Potensial redoks dari sampel merupakan faktor penting pada pengujian CUPRAC.

IC_{50} dari kapasitas CUPRAC adalah konsentrasi yang dapat menunjukkan efektivitas 50% kapasitas CUPRAC. Semakin rendah nilai IC_{50} maka akan melebihi kapasitas antioksidan paling tinggi. $\text{IC}_{50} < 50$ ppm termasuk kedalam antioksidan yang sangat kuat, 50-100 ppm termasuk antioksidan kuat, 101-150 ppm termasuk antioksidan sedang, > 150 ppm termasuk antioksidan yang lemah (Fidrianny *et al.*, 2015 dalam Irianti *et al.*, 2017).

II. 7 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang termasuk kedalam golongan fenol yang banyak ditemukan pada sebagian besar tanaman hijau, berfungsi sebagai antioksidan. Beberapa kegunaan flavonoid yang terkandung didalam tanaman ialah pengaturan tumbuh, fotosintesis, antivirus dan antimikroba. Efek flavonoid sangat banyak sehingga banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional. Flavonoid dapat berfungsi sebagai inhibitor kuat pernapasan, senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non-enzim. Flavonoid berfungsi sebagai peredam yang baik radikal hidroksi dan superoksida dan melindungi membran lipid terhadap reaksi yang merusak (Robinson, 1995 dalam Irianti *et al.*, 2017).

Senyawa flavonoid paling sering ditemukan di alam adalah golongan senyawa flavonol, flavon, flavon-3-ol, isoflavon, flavanon, antosianidin dan proantosianidin (Bravo, 1998 dalam Irianti *et al.*, 2017). Beragam kombinasi gugus hidroksil, gula dan metil pada strukturnya

menjadi dasar pembagian golongan senyawa flavonoid menjadi flavon, flavon-3-ol (katekin), flavonol, flavanon, antosianidin, bioflavonoid dan isoflavone (Markham, 1998 dalam Irianti *et al.*, 2017).

II. 8 Fenol

Senyawa fenolik merupakan zat organik yang tersusun dari senyawa aromatik yang terikat pada satu atau lebih substituen hidroksil (OH). Senyawa induknya adalah fenol tetapi sebagian besar senyawa fenolik adalah polifenol. Sumber senyawa fenolik jarang terdapat pada sumber hewani tetapi sangat melimpah dalam tanaman. Sebanyak 8000 senyawa polifenol yang diketahui pada tanaman, kelompok terbanyak yaitu senyawa flavonoid (Mann *et al.*, 1994 dalam Irianti *et al.*, 2017).

Senyawa fenolik merupakan sumber antioksidan yang aman untuk digunakan sebagai senyawa bioaktif tanaman. Oleh karena itu, pada penelitian dan pengembangan belakangan ini, peneliti memfokuskan perhatiannya untuk mengidentifikasi tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan dan dapat dikonsumsi rutin oleh manusia (Ebrahimzadeh *et al.*, 2007 dalam Irianti *et al.*, 2017). Aktivitas antioksidan senyawa fenolik yaitu membentuk ikatan dengan cara mendonorkan atom hidrogen dalam transfer elektron tunggal dari senyawa fenolik kepada elektron tunggal dari radikal untuk menghindari efek samping yang berbahaya. (Marxen *et al.*, 2007 dalam Irianti *et al.*, 2017).

Untuk memeriksa kandungan fenol total dari sampel uji dapat diukur dengan metode kolorimetri menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Prinsip metode ini adalah mengoksidasi gugus fenol (garam alkali), mereduksi asam heteropoli membentuk kompleks molibdenum-tungsten. Gugus fenolik bereaksi dengan reagen folin-ciocalteu membentuk kompleks fosfomolibdat-fosfotungstat dengan adanya senyawa fenolik, sehingga membentuk kompleks berwarna biru yang menyerap kuat pada panjang gelombang 750 nm. Semakin besar konsentrasi senyawa fenol maka semakin pekat warna biru yang dihasilkan (Waterhouse, 2002 dalam Irianti *et al.*, 2017).

Senyawa fenolik yang beraktivitas sebagai antioksidan adalah senyawa fenolik dengan gugus hidroksi yang tersubstitusi pada posisi para dan orto terhadap gugus -OR dan -OH (Riza Marjoni and Devi Novita, 2015).

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian dilakukan bulan Februari 2021 - April 2021 di Laboratorium Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung. Bahan uji yang digunakan yaitu Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.). Tahapan penelitian dimulai penyiapan bahan diantaranya yaitu proses pengumpulan bahan, determinasi tanaman uji, dan pengolahan bahan. Kemudian dilakukan penetapan karakterisasi simplisia diantaranya pemeriksaan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut etanol, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar air dan susut pengeringan.

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi merupakan metode yang tepat digunakan pada ekstraksi bunga telang, dengan pertimbangan metode ini lebih sederhana dan dapat mencegah kerusakan senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan (Angriani, 2019).

Skrining fitokimia meliputi pengujian golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin, dan senyawa steroid/triterpenoid. Ekstrak dipantau dengan KLT menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak yang sesuai, kemudian disemprot dengan berbagai macam penampak bercak.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode CUPRAC. Penetapan kadar total fenol dan penetapan kadar total flavonoid dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.