

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L.) DARI KABUPATEN LOMBOK UTARA DAN WONOSOBO MENGGUNAKAN METODE FRAP

Antioxidant Activity Of Ethanolic Extract From Clitoria Ternatea From Lombok Utara And Wonosobo Regencies Using Frap Assay

Supiani Rahayu⁽¹⁾, Rissa Laila Vifta⁽²⁾, Jatmiko Susilo⁽³⁾
Program Studi Farmasi, Universitas Ngudi Waluyo Semarang
Email : rissalailavifta@unw.ac.id

ABSTRAK

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) merupakan tanaman khas dari kabupaten Lombok Utara dan Wonosobo yang mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid. Senyawa flavonoid pada bunga telang memiliki aktivitas antioksidan. Kandungan flavonoid salah satunya dipengaruhi oleh kondisi geografis dan ketinggian tempat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan flavonoid serta aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga telang dari kabupaten Lombok Utara dan Wonosobo. Rendemen ekstrak etanol bunga telang dari kabupaten Lombok Utara sebesar 19,44% dan Wonosobo sebesar 27,7%. Kadar flavonoid total dari kabupaten Lombok Utara sebesar 59,37 mgQE/g dan Wonosobo sebesar 63,09 mgEQ/g. Aktivitas antioksidan dari kabupaten Lombok Utara dan Wonosobo masing-masing nilai IC₅₀ sebesar 4,19 ppm dan 3,08 ppm.

Kata Kunci : Antioksidan, Bunga Telang, FRAP, Lombok Utara, Wonosobo.

ABSTRACT

Telang flower (Clitoria ternatea L.) is a typical plant from North Lombok and Wonosobo that contains secondary metabolites of flavonoids which have antioxidant activity. The flavonoid content is influenced by geographical conditions and altitude. This study aims to determine the content of flavonoids and antioxidant activity of North Lombok regency and Wonosobo regency. The yield of Telang flower ethanol extract from North Lombok regency was 19.44% and from Wonosobo was 27.7%. Total flavonoid levels from North Lombok Regency were 59.37 mgQE / g and from Wonosobo was 63.09 mgQE / g. The antioxidant activity of North Lombok and from Wonosobo regency each IC₅₀ value of 4.19 ppm and 3.08 ppm.

Keywords: Antioxidants, Telang Flowers, FRAP, North Lombok, Wonosobo.

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah molekul yang pada orbit terluarnya mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sifatnya sangat labil dan sangat reaktif (Soeksmanto *et al.*, 2007). Antioksidan adalah senyawa yang

mampu menangkal dampak negatif radikal bebas dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa radikal bebas sehingga aktivitasnya dapat dihambat.

Sebagian besar masyarakat saat ini lebih memilih memanfaatkan tanaman

tradisional sebagai alternatif mengatasi berbagai masalah kesehatan. Pengobatan tradisional di berbagai daerah di Indonesia, salah satunya adalah Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dari suku Fabaceae (Rai, 2010). Menurut penelitian yang telah dilakukan, bunga telang mengandung senyawa kimia seperti tanin, karbohidrat, saponin, triterpenoid, fenol, flavonoid, glikosida flavonol, protein, alkaloid, antrakuinon, dan antosianin (Al Sanafi, 2016). Pertumbuhan dan perkembangan tanaman sangat dipengaruhi oleh lingkungan termasuk ketinggian. Proses pembuatan bahan jamu harus memenuhi beberapa kriteria parameter kualitas simplisia diantaranya flavonoid total.

Kandungan kimia simplisia flavonoid total dapat dipengaruhi oleh ketinggian tempat tumbuh suatu tanaman. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada perbandingan ketinggian daerah tumbuh suatu tanaman (Safrina dan Priyambodo, 2018). Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu dilakukan penelitian aktivitas antioksidan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan perbedaan tempat tumbuh menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak etanol bunga telang meliputi satu set alat maserasi, penyaring, rotary evaporator (RE 100-Pro), cawan penguap, *waterbath* (Memmert). Alat untuk uji in vitro meliputi labu takar 10 ml, 25 ml, 100 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mikropipet BioHit 1000 μ L, pipet ukur, spatula, vial, Inkubator, pH meter, kuvet, sentrifuge, tabung sentrifuge,

spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV Mini 1240, dan *beaker glass*.

Bahan yang digunakan yaitu simplisia ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.). Bahan kimia yang digunakan antara lain asam trikloroasetat (TCA), Besi Klorida (FeCl_3), buffer fosfat (0,2 M pH 6,6), Kalium Ferrisianida 1 % ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$), AlCl_3 , Vitamin C (Merck), Etanol p.a (Brataco), Akuades (CV. Bratachem).

PROSEDUR PENELITIAN

Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Lakukan pembacaan dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 350-450 nm (Das *et al.*, 2013)

Penentuan Operating Time

Larutan kuersetin ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang telah diperoleh dengan interval pada waktu 2 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil.

Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Larutan kuersetin sebagai baku standar dibuat kadar sebesar 50, 60, 70, 80 dan 90 ppm. Sebanyak 1 mL larutan kadar dari masing-masing konsentrasi dimasukkan, direaksikan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Didiamkan selama 2 menit pembacaan absorbansi kadar dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada Panjang gelombang maksimum.

Penentuan Flavonoid Total

Larutan ekstrak 1000 ppm diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5% didiamkan selama 2 menit. Dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang maksimum.

Uji Aktivitas Antioksidan

Penentuan Panjang Gelombang

Panjang gelombang maksimum diperoleh melalui pengukuran absorbansi dari larutan standar vitamin C pada konsentrasi 70 ppm. Sebanyak 1 mL larutan tersebut dicampurkan dengan 1 mL dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 ml kalium ferrisianida 1 %, campuran diinkubasi pada 50 °C selama 20 menit. Setelah selesai diinkubasi larutan ditambahkan 1 ml TCA, larutan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, Kemudian dimasukkan dalam labu takar 10 ml, tambahkan 1 ml aquades dan 0,5 ml FeCl_3 , cukupkan dengan asam oksalat hingga tanda batas, kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya dari 400-800 hingga diperoleh panjang gelombang maksimum (Magfira, 2018).

Penentuan Operating Time

Hasil dari panjang gelombang maksimal dilanjutkan dengan pengujian *operating time* untuk menentukan waktu dimana reaksi paling stabil dan dibaca absorbansinya pada menit ke 1 sampai menit ke 30.

Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga telang

Diambil 25 mg ekstrak bunga telang dan dilarutkan dalam 25 ml etanol p.a pada labu takar 25 ml hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dipipet masing-masing 20 μl , 40 μl , 60 μl , 80 μl , dan 100 μl dari larutan stok kedalam tabung reaksi hingga konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm selanjutnya ditambahkan masing-masing 1 ml dapar fosfat 0,2 N (pH 6,6) dan 1 ml $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1 %. Larutan diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 50 °C. Setelah diinkubasi, ditambahkan 1 ml larutan TCA 10% lalu disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifugasi, dipipet, dimasukkan kedalam labu takar 10 ml, dan ditambahkan 0,5 ml FeCl_3 0,1 % kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas. Lalu diukur serapan dengan panjang gelombang maksimumnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bunga telang masing-masing digunakan sebanyak 300 gram dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96 %. Maserasi dilakukan selama 2 hari karena bunga telang memiliki tekstur tipis sehingga diperlukan waktu lebih cepat untuk pelarut dalam menarik senyawa yang terkandung dalam bunga telang. Pengadukan dilakukan bertujuan untuk menghomogenkan larutan selama proses maserasi agar senyawa tertarik lebih optimal (Juniarti, 2016). Setelah dilakukan evaporasi, ekstrak dikentalkan melalui proses pemanasan dengan waterbath pada suhu 65 °C (Kumar,2019). Hasil ekstraksi bunga telang dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

Bobot Serbuk	Bobot Ekstrak	Rendemen	Karakteristik		
			Bentuk	Warna	Bau
300 gram	83,1 gram	27,7 %	Kental	Hitam	Khas

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Bunga Telang Dari Wonosobo

Bobot Serbuk	Bobot Ekstrak	Rendemen	Karakteristik		
			Bentuk	Warna	Bau
300 gram	58,3 gram	19,38 %	Kental	Hitam	Khas

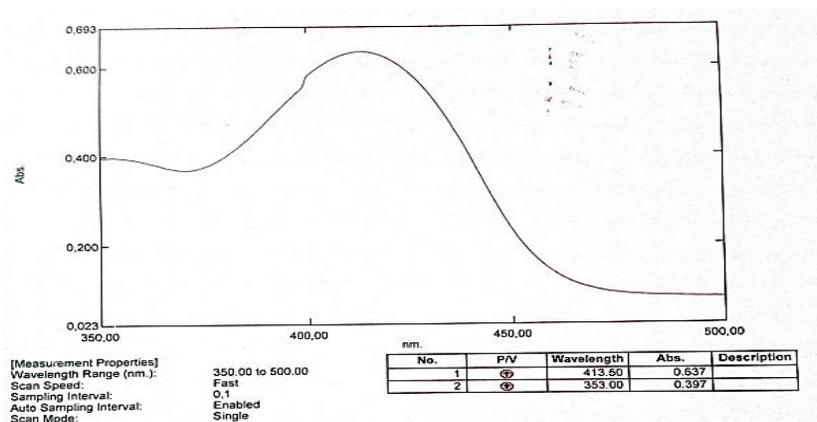
Tabel 2. Hasil Ekstraksi Bunga Telang Dari Lombok

Hasil ekstrak etanol bunga telang dari daerah Lombok diperoleh sebanyak 58,3 gram dengan perhitungan rendemen yaitu 19,44%. Hasil ekstrak etanol bunga telang dari daerah Wonosobo diperoleh sebanyak 83,1 gram dengan perhitungan rendemen yaitu 27,7 %. Berdasarkan hasil rendemen ekstrak dapat diketahui bahwa rendemen ekstrak Wonosobo lebih tinggi dari Lombok. Hal ini dapat disimpulkan ekstrak dari wonosobo lebih banyak menarik

Kandungan senyawa aktif ekstrak Lombok.

Penetapan Kadar Flavonoid Total

Sebelum penentuan kadar flavonoid total pada sampel, dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui λ yang memiliki serapan tertinggi. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum kuersetin dapat dilihat pada Gambar 1.

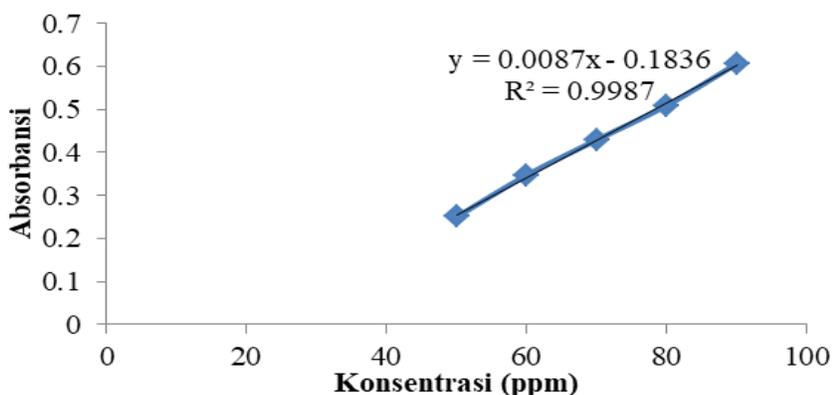


Gambar 1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ) Kuersetin

Pada pengukuran panjang gelombang dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis memberikan serapan tertinggi pada panjang gelombang 413,5 nm dengan absorbansi 0,637. Hasil yang didapatkan tidak jauh berbeda dari penelitian (Asmorowati, 2019) didapat λ maksimal sebesar 413,6 nm. Adanya perbedaan hasil panjang gelombang yang signifikan dapat disebabkan karena tingkat kemurnian reagen yang dipakai berbeda, jenis spektroskopi yang digunakan juga berbeda. Penentuan *operating time* dilakukan pada menit ke 0-30

lalu dihitung absorbansinya tiap 1 menit, dari hasil pengukuran *operating time* dapat diketahui bahwa mulai dari menit ke-2 hingga menit ke-9 absorbansi tetap stabil. Pembacaan absorbansi yang dipilih adalah 2 menit.

Pada hasil penentuan kurva baku kuersetin menunjukkan bahwa konsentrasi berbanding lurus dengan nilai absorbansi, semakin besar konsentrasi larutan baku standar kuersetin maka semakin tinggi pula nilai absorbansi yang dihasilkan. Kurva baku kuersetin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Baku Kuersetin

Pada pengukuran absorbansi diperoleh persamaan regresi kuersetin $y = 0,0087x + 0,1836$. Hasil nilai linearitas ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9993. Nilai (r) yang diperoleh mendekati angka 1 menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier, sehingga dapat dikatakan bahwa absorbansi dan konsentrasi memiliki korelasi yang sangat kuat

(Asmorowati, 2019). Pada pengukuran kadar flavonoid total dilakukan replikasi 3 kali, hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4. Hasil kadar rata-rata flavonoid total pada sampel Lombok 59,37mgQE/g dan pada sampel Wonosobo 63,09mgQE/g. Berdasarkan hasil uji kadar flavonoid total bunga telang dari kabupaten Lombok Utara dan wonosobo, kandungan senyawa flavonoid total bunga telang

No	Replikasi	Absorbansi	Flavonoid total (mg/g kuersetin)	\bar{x} flavonoid total(mg/g kuersetin) \pm SD
1	Replikasi I	0,331	59,14	59,37 \pm 0,23
2	Replikasi II	0,333	59,37	
3	Replikasi III	0,335	59,60	

Tabel 3. Hasil Uji Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Bunga Telang Dari Daerah Lombok

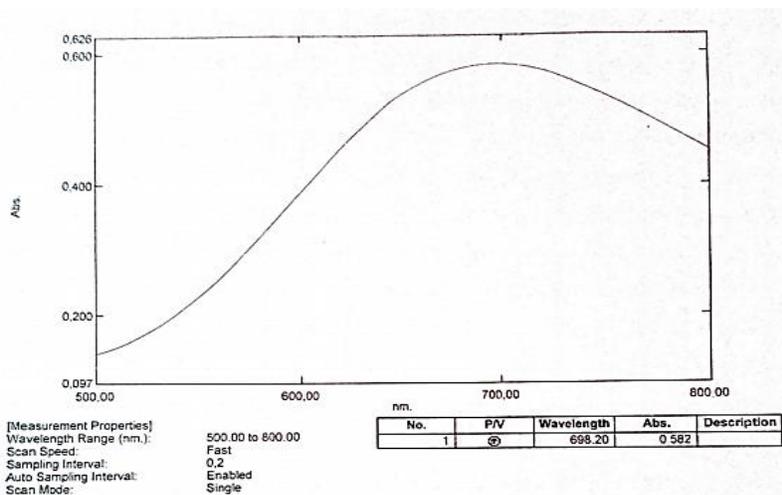
No	Replikasi	Absorbansi	Flavonoid total (mg/g kuersetin)	\bar{x} flavonoid total(mg/g kuersetin) \pm SD
1	Replikasi I	0,364	62,94	63,09 \pm 0,36
2	Replikasi II	0,363	62,82	
3	Replikasi III	0,369	63,51	

Tabel 4. Hasil Uji Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Bunga Telang Dari Daerah Wonosobo

dari Wonosobo lebih tinggi dari pada yang dari daerah Lombok utara. Adanya perbedaan hasil rata-rata dari kadar flavonoid total bunga telang dari Lombok Utara dan Wonosobo bisa disebabkan karena pengaruh geografis dan ketinggian dimana yang dari daerah Lombok utara diambil sampel dari dataran rendah dan daerah Wonosobo dari dataran tinggi (Safrina, 2018).

Uji Aktivitas Antioksidan

Proses pengujian pada metode FRAP, sebelum dilakukan pengujian aktivitas antioksidan, terlebih dahulu dilakukan pengujian penentuan panjang gelombang yang akan digunakan untuk mengukur absorbansi dari larutan baku dan larutan sampel. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Pada pengujian aktivitas antioksidan diperoleh panjang gelombang maksimum yaitu 698,2 nm dengan absorbansi 0,582. Hasil λ maks yang didapatkan tidak berbeda jauh dari penelitian (Linda, 2019) λ maks 700,2 nm dengan absorbansi 0,583. Adanya perbedaan hasil panjang gelombang yang signifikan dapat disebabkan karena tingkat kemurnian reagen yang dipakai berbeda, jenis spektroskopi yang digunakan juga berbeda. Penentuan *Operating Time* peredaman radikal bebas dengan

menggunakan spektrofotometri pada menit ke 0-30, dan dihitung absorbansinya tiap 1 menit, dari hasil pengukuran *operating time* dapat diketahui bahwa mulai dari menit ke-0 hingga menit ke-12 absorbansi tetap stabil. Pembacaan absorbansi yang dipilih adalah 0 menit karena dari menit ke-0 absorbansi sudah stabil dan reagen dapat bereaksi dengan FRAP sehingga terbentuk warna biru prusia. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak bunga telang dari Kabupaten Lombok Utara dan Wonosobo dapat dilihat pada Tabel 5 dan 6.

Konsentrasi (ppm)	$\bar{x} \pm SD$	% Mereduksi	IC ₅₀ (ppm)
2 ppm	0,237 ± 0,003	39,239	
4 ppm	0,293 ± 0,008	48,51	4,19 ppm
6 ppm	0,356 ± 0,006	58,941	Antioksidan
8 ppm	0,419 ± 0,005	69,371	Sangat Kuat
10 ppm	0,485 ± 0,006	80,299	

Tabel 5. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang Dari Daerah Lombok

Konsentrasi (ppm)	$\bar{x} \pm SD$	% Mereduksi	IC ₅₀ (ppm)
2ppm	0,255 ± 0,002	42,289	
4ppm	0,334 ± 0,003	55,39	3,08 ppm
6 ppm	0,412 ± 0,002	68,326	Antioksidan
8 ppm	0,492 ± 0,002	81,593	Sangat Kuat
10 ppm	0,527 ± 0,002	87,397	

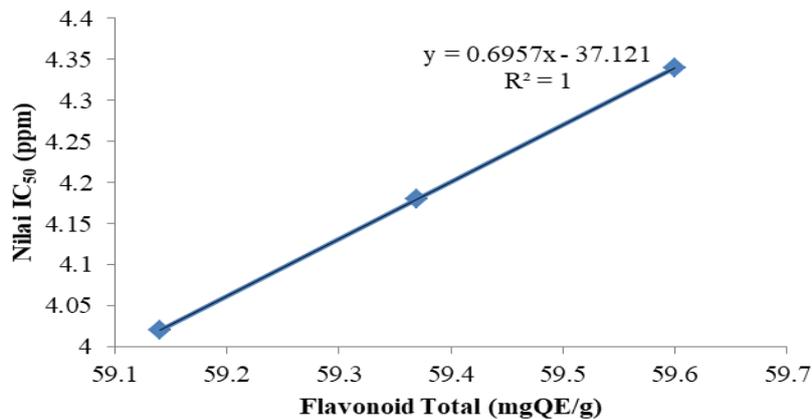
Tabel 6 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang Dari Daerah Wonosobo

Berdasarkan nilai aktivitas antioksidannya, dapat diketahui bahwa ekstrak bunga telang dari kabupaten Lombok Utara mempunyai rata-rata nilai IC₅₀ kategori sangat kuat yaitu 4,19 ppm. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin kuat

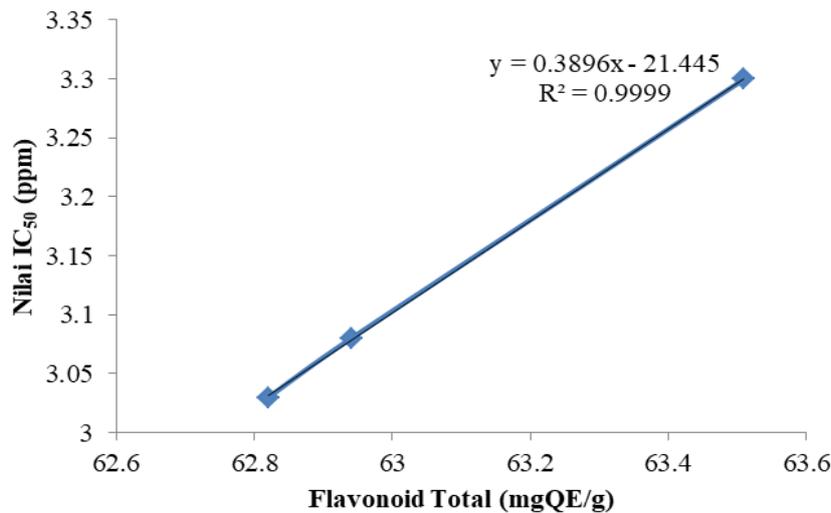
kandungan antioksidan yang terkandung dalam sampel. Berdasarkan nilai aktivitas antioksidannya dapat diketahui bahwa ekstrak bunga telang dari Wonosobo mempunyai rata-rata nilai IC₅₀ kategori sangat kuat yaitu 3,08 ppm. Semakin

kecil nilai IC₅₀ maka semakin kuat kandungan antioksidan yang terkandung dalam sampel. Berdasarkan penelitian sebelumnya uji aktivitas antioksidan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yang tumbuh di Denpasar Barat menggunakan metode

DPPH memiliki aktivitas antioksidan kategori kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 87,86 ppm. Hal ini dapat disimpulkan bahwa nilai IC₅₀ menggunakan metode FRAP lebih besar dari pada metode DPPH. (Cahyaningsih,E. ,*et al.*, 2019).



Gambar 4. Kurva Korelasi Flavonoid Total Dan Antioksidan Bunga Telang Lombok Utara



Gambar 5. Kurva Korelasi Flavonoid Total Dan Antioksidan Bunga Telang Wonosobo

Berdasarkan gambar 5. diperoleh hasil (r) mendekati 1. Hasil nilai linearitas ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9999 dan 1. Nilai (r) yang diperoleh mendekati angka 1 menunjukkan Berdasarkan gambar 5. diperoleh hasil (r) mendekati 1. Hasil nilai linearitas ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9999 dan 1.

Nilai (r) yang diperoleh mendekati angka 1 menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier, sehingga dapat dikatakan flavonoid total dan antioksidan memiliki korelasi yang sangat kuat. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan pada bunga telang (Asmorowati, 2019).

SIMPULAN

Ekstrak etanol bunga telang dari kabupaten Lombok Utara dan Wonosobo memiliki kandungan flavonoid total sebesar 59,37 mgQE/g dari kabupaten Lombok Utara dan 63,09 mgQE/g dari daerah Wonosobo. Ekstrak etanol bunga telang dari kabupaten Lombok Utara dan Wonosobo memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC50 masing-masing sebesar 4,19 ppm dari Lombok Utara dan 3,08 ppm dari Wonosobo.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Snafi, A. E. (2016) 'Pharmacological importance of *Clitoria ternatea* A review'. *IOSR Journal of Pharmacy*, 6(3), 68-83.
- Asmorowati, H., & Lindawati, N. Y. (2019) 'Penetapan kadar flavonoid total buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis'. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15(2), 51-63.
- Andarwati, S. A (2019) 'Perbandingan Pelarut Etanol 70% Dan Etanol 96% Terhadap Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak daun Tin (*Ficus carica* L.)" dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrihidrazil). *Skripsi*. Universitas Ngudi Waluyo.
- Cahyaningsih, E., Yuda, P. E. S. K., & Santoso, P. (2019) 'Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis'. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 5(1), 51-57.
- Das, N., Islam, M. E., Jahan, N., Islam, M. S., Khan, A., Islam, M. R., & Parvin, M. S. (2014) 'Antioxidant activities of ethanol extracts and fractions of *Crescentia cujete* leaves and stem bark and the involvement of phenolic compounds'. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 45.
- Juniarti, M. F. (2016). *Kajian Konsentrasi Pelarut Aseton Dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Karakteristik Pigmen Karotenoid Buah Campolay (Pouteria campechiana) Sebagai Zat Warna Alami* (Doctoral dissertation, Fakultas Teknik Unpas).
- Kumar, M., & More, D. R. (2019) 'Phytochemical analysis and bioactivity of selected medicinal plant of butterfly-pea (*Clitoria ternatea* L.) used by Kolam tribe Addjoing region of Telangana and Maharashtra states'.
- Magfira. (2018) 'Analisis Penghambatan Ekstrak Etanol Batang Kembang Bulan (*Tithonia ediversifolia*) Terhadap Reaksi Oksidasi dari Radikal Bebas Dengan Metode DPPH ABTS dan FRAP', *Universitas Hasanuddin Makasar*.
- Rahmawanty, D., Yulianti, N., & Fitriana, M. (2015) 'Formulasi dan evaluasi masker wajah peel-off mengandung kuersetin dengan variasi konsentrasi gelatin dan gliserin'. *Media Farmasi*, 12(1), 17-32.
- Safrina, D. (2018) 'Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh dan Pengeringan Terhadap Flavonoid Total Sembang Colok (*Iresine herbstii*)'. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, 15(3).
- Soeksmanto, A., Hapsari, Y. & Simanjuntak, P., (2007) 'Antioxidant content of parts of Mahkota dewa, *Phaleria macrocarpa*[Scheff] Boerl. (Thymelaeaceae)'. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 8(2).

