



Differences in Antioxidant Activity of Butterfly Pea Flower Infusion (*Clitoria ternatea* L.) With The Addition of Lemon and Lime

Perbedaan Aktivitas Antioksidan Infusa Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) dengan Penambahan Jeruk Lemon dan Jeruk Nipis

Milda Lailatul Mukarromah^{1*}, Nurul Yulia², Mardhiyah³

¹Program Studi Farmasi, Politeknik Kesehatan Putra Indonesia Malang, Kota Malang, Indonesia.

*E-mail: milda@poltekkespim.ac.id

Article Info:

Received: 24 Oktober 2024
in revised form: 12 desember 2024

Accepted: 30 Desember 2024
Available Online: 31 Desember 2024

Keywords:

Antioxidants;
Butterfly Pea Flower;
DPPH;
Infusion;
Lemon;
Lime

Corresponding Author:

Milda Lailatul Mukarromah
Program Studi Farmasi
Politeknik Kesehatan Putra
Indonesia Malang
Kota Malang
Indonesia
E-mail:
milda@poltekkespim.ac.id

ABSTRACT

Antioxidants are needed to counteract free radicals in the body. Telang flower (*Clitoria ternatea* L.), which is rich in polyphenols, has antioxidant activity that can act as an antidote to free radicals. Innovation of telang flower infusa drinks can be done by adding lemon juice and lime juice rich in vitamin C to increase antioxidant activity and provide a distinctive taste and aroma to the drinks made, because basically telang flower infusa does not have a distinctive aroma or taste. This study aims to determine the difference in antioxidant activity of telang flower infusa with the addition of lemon juice and lime juice using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) method with sample concentrations of 10,000; 20,000; 30,000; 40,000 and 50,000 ppm respectively. This research is included in research with experimental methods. Telang flowers were extracted using the infusa method using water solvent at 90°C for 15 minutes, then tested for antioxidant activity to obtain IC₅₀ results using Vitamin C as a standard comparison. The test was conducted using statistics to see the difference using the Mann Whitney test. The results showed that telang flower infusa with lemon has an IC₅₀ value of 1,363,000 ppm, while with lime it is 12,939,000 ppm. The conclusion in this study is that infusa of telang flowers with the addition of lemon and lime has very weak antioxidant activity, and there is a significant difference between the two.



This open access article is distributed under a Creative Commons Attribution (CC-BY-NC-SA) 4.0 International license.

How to cite (APA 6th Style):

Mukarromah, M.L., Yulia, N., Mardhiyah. (2024). Differences in Antioxidant Activity of Butterfly Pea Flower Infusion (*Clitoria ternatea* L.) With The Addition of Lemon and Lime. Indonesian Journal of Pharmaceutical (e-Journal), 4(3), 473-486.

ABSTRAK

Antioksidan dibutuhkan untuk menangkal radikal bebas di dalam tubuh. Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yang kaya akan polifenol, memiliki aktivitas antioksidan yang bisa berperan sebagai penangkal radikal bebas. Inovasi minuman infusa bunga telang dapat dilakukan dengan menambahkan sari jeruk lemon dan sari jeruk nipis yang kaya vitamin C untuk meningkatkan aktivitas antioksidan dan memberikan rasa serta aroma yang khas pada minuman yang dibuat, karena pada dasarnya infusa bunga telang tidak memiliki aroma maupun rasa yang khas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan infusa bunga telang dengan penambahan sari jeruk lemon dan sari jeruk nipis menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) dengan konsentrasi sampel masing - masing 10.000; 20.000; 30.000 40.000 dan 50.000 ppm. Penelitian ini termasuk kedalam penelitian dengan metode eksperimental. Bunga telang diekstrak menggunakan metode infusa dengan menggunakan pelarut air pada suhu 90°C selama 15 menit, kemudian diuji aktivitas antioksidan untuk mendapatkan hasil IC₅₀ dengan menggunakan Vitamin C sebagai baku perbandingan. Uji beda dilakukan menggunakan statistika untuk melihat perbedaan menggunakan uji *Mann Whitney*. Hasil penelitian menunjukkan infusa bunga telang dengan jeruk lemon memiliki nilai IC₅₀ sebesar 1.363,000 ppm, sedangkan dengan jeruk nipis sebesar 12.939,000 ppm. Kesimpulan pada penelitian ini infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon dan jeruk nipis memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah, dan terdapat perbedaan yang signifikan diantara keduanya.

Kata Kunci: Antioksidan, Bunga Telang, DPPH, Infusa, Jeruk Lemon, Jeruk Nipis.

1. Pendahuluan

Peningkatan polusi udara yang terjadi setiap hari menyebabkan banyak dampak kerugian bagi tubuh yang terpapar polusi secara terus menerus. Pada dasarnya tubuh memiliki antioksidan atau senyawa penangkal radikal bebasnya sendiri, namun akibat dari pola hidup tidak sehat yang semakin sering dilakukan setiap hari menyebabkan semakin berkurangnya antioksidan alami yang dimiliki oleh tubuh, hingga memerlukan tambahan antioksidan dari luar. Antioksidan dibutuhkan untuk menghambat proses oksidasi di dalam tubuh dengan cara menyerap oksidator berupa radikal bebas sehingga mencegah terjadinya penyakit kanker, kardiovaskular, penuaan dini, katarak, dan penyakit lainnya [1]. Antioksidan alami banyak ditemukan pada beberapa tanaman, salah satunya pada bunga yang memiliki nama latin *Clitoria ternatea* L. atau yang biasa dikenal dengan sebutan bunga telang, tumbuhan ini sering dijumpai tumbuh liar menjalar di daerah persawahan, pekarangan, dan bahkan pada semak semak, termasuk kedalam family *Fabaceae* dengan bentuk bunga sedang seperti kupu - kupu berwarna ungu [2].

Infusa merupakan metode ekstraksi sederhana dengan pemanasan, metode ini digunakan karena sebagian besar masyarakat menggunakan proses atau metode ini pada pengolahan bunga tersebut. Bunga telang memiliki banyak kandungan senyawa polifenol seperti antosianin dan golongan fenolik lainnya yang berperan pada aktivitas antioksidan [3]. Bunga telang ketika diolah menjadi suatu minuman infusa memiliki nilai aktivitas antioksidan IC₅₀ sebesar 267,61 ppm yang termasuk dalam kategori antioksidan lemah (rentang 250 - 500 ppm) [4].

Nilai antioksidan pada infusa bunga telang dapat ditingkatkan dengan dikombinasikan dengan bahan yang memiliki kandungan antioksidan yang lebih tinggi seperti jeruk lemon dan jeruk nipis. Kedua jenis jeruk tersebut memiliki kandungan vitamin C yang tinggi. Vitamin C pada jeruk memiliki peranan sebagai antioksidan alami dan membantu dalam menjaga kesehatan maupun imunitas tubuh serta mencegah radikal bebas, yang pada mekanisme kerjanya menjadi suatu enzim yang pada saat tertentu dapat berperan sebagai reduktor dan antioksidan [5]. Tidak hanya kandungan vitamin C saja, terdapat senyawa lain dalam buah jeruk yang memiliki peran sebagai antioksidan yaitu senyawa flavonoid dan fenolik. *Infused water* jeruk nipis memiliki nilai IC_{50} sebesar 24,39 ppm dan *infused water* jeruk lemon sebesar 30,90 ppm, keduanya berada pada kategori antioksidan sangat kuat ($IC_{50} < 50$ ppm) [6]. Hasil IC_{50} tersebut menunjukkan jika kedua jenis jeruk tersebut memiliki nilai aktivitas antioksidan yang cukup tinggi, serta dapat menunjang aktivitas antioksidan dari bunga telang.

Tidak hanya bertindak untuk meningkatkan aktivitas antioksidan, penambahan sari jeruk pada infusa bunga telang juga dimaksudkan untuk menunjang rasa, dan aroma pada infusa. Pada dasarnya bunga telang pada infusa tersebut tidak memberikan rasa maupun aroma yang khas kecuali warna ungu kebiruan yang dihasilkan. Oleh sebab itu dilakukan inovasi pada formula infusa bunga telang dengan menambahkan jeruk. Minuman ini menjadi perpaduan dari infusa bunga telang dan dua varietas jeruk yang berbeda yaitu jeruk lemon dan jeruk nipis. Dengan dilakukannya inovasi pada formula infusa bunga telang diharapkan minuman ini dapat diterima masyarakat karena penambahan sari jeruk lemon dan sari jeruk nipis pada formula infusa bunga telang dimaksudkan untuk menambahkan rasa asam dan aroma yang khas pada infusa bunga telang dengan masing masing jeruk yang digunakan, tidak hanya itu minuman tersebut juga dapat memberikan manfaat yang lebih maksimal.

Aktivitas antioksidan merupakan uji yang akan dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa antioksidan pada suatu sampel. Metode yang dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan adalah metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*). Metode ini sering kali digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan karena cepat, sederhana, dan hanya membutuhkan sedikit sampel ketika pengujian [7]. Mekanisme perubahan warna pada DPPH akibat reaksi donasi atom hidrogen dari senyawa antioksidan [8]. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai antioksidan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon dan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis serta perbedaan di antara keduanya.

2. Metode

Pembuatan Infusa Bunga Telang

Simplisia bunga telang diekstraksi dengan metode infusa menggunakan pelarut air pada suhu $90^{\circ}C$ selama 10 menit. Hasil rebusan bunga telang kemudian disaring untuk memisahkan sari bunga telang dengan ampasnya [9].

Buah jeruk lemon dibelah menjadi dua bagian lalu diperas dengan alat press hingga sari lemon keluar. Sari lemon yang sudah diperas kemudian disaring untuk memisahkan biji maupun bulir bulir lemon dan didapatkan sari lemon yang murni. Dilakukan hal yang sama dengan menggunakan jeruk nipis.

Dibuat 2 formulasi yaitu 30 mL infusa bunga telang dicampur dengan 25 mL sari jeruk lemon (formula 1) dan 30 mL infusa bunga telang dicampur dengan 25 mL sari jeruk nipis (formula 2). Kemudian masing-masing formulasi ditambahkan air hingga 100 mL.

Skrining Fitokimia

Pengujian skrining senyawa fenolik. Sebanyak 1 mL sampel infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon dan 1 mL infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis masing - masing dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 tetes FeCl_3 . Hasil dikatakan positif jika menghasilkan perubahan warna larutan menjadi warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat [10].

Pengujian skrining senyawa flavonoid. Sebanyak 1 mL sampel infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon dan 1 mL infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis masing - masing dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian sebanyak 0,05 g serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat ditambahkan pada masing - masing tabung reaksi dan dikocok kuat. Hasil dikatakan positif flavonoid jika menghasilkan perubahan warna larutan menjadi merah, kuning atau jingga [11].

Pengujian skrining senyawa antosianin. Sebanyak 1 mL sampel infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon dan 1 mL infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis masing - masing dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian sebanyak 2 tetes NaOH 10% ditambahkan pada tabung reaksi hingga terjadi perubahan warna menjadi coklat. Selanjutnya sebanyak 2 tetes HCl pekat ditambahkan hingga sampel berubah warna menjadi merah [12].

Evaluasi Aktivitas Antioksidan Infusa

Pembuatan larutan baku induk asam askorbat

Larutan baku induk I asam askorbat dibuat dalam 1000 ppm. 50 mg asam askorbat dilarutkan dengan metanol p.a. dalam labu ukur 50 mL hingga tanda batas. Selanjutnya dibuat larutan baku induk II asam askorbat dengan konsentrasi 100 ppm. 5 mL larutan baku induk asam askorbat diencerkan dengan metanol p.a. dalam labu takar 50 mL hingga tanda batas.

Pembuatan larutan baku kerja asam askorbat (Vitamin C)

Larutan baku asam askorbat dibuat dalam konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm dalam metanol p.a.

Pembuatan larutan baku induk DPPH 100 ppm

Sebanyak 10 mg serbuk DPPH dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas.

Pembuatan larutan baku kerja DPPH 40 ppm

Sebanyak 4 mL larutan induk DPPH 100 ppm dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas.

Penentuan panjang gelombang maksimum

Pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH dilakukan menggunakan larutan baku kerja DPPH 40 ppm, selanjutnya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 - 800 nm. Digunakan etanol 96% sebagai larutan blanko.

Pengukuran absorbansi DPPH

Sebanyak 2 mL larutan DPPH dilarutkan dengan 2 mL etanol 96% dalam tabung reaksi dan dikocok. Campuran didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Penentuan aktivitas antioksidan asam askorbat

Tahap yang selanjutnya yaitu penentuan aktivitas antioksidan asam askorbat sebagai baku pembanding atau kontrol positif. 2 mL larutan baku kerja DPPH 40 ppm ditambahkan dengan 2 mL larutan baku kerja asam askorbat dalam tabung reaksi, kocok hingga homogen lalu didiamkan selama 30 menit. Pengukuran aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 517 nm.

Pembuatan larutan baku induk sampel infusa

Larutan baku induk sampel dibuat dalam konsentrasi 1.000.000 ppm. 100 mL larutan masing - masing sampel dimasukkan pada labu ukur 100 mL, ditambahkan aquades hingga tanda batas.

Pembuatan baku kerja sampel infusa

Larutan baku kerja sampel dibuat dalam konsentrasi 50.000 ppm; 40.000 ppm; 30.000 ppm; 20.000 ppm dan 10.000 ppm dengan pelarut aquades.

Penentuan aktivitas antioksidan sampel

2 mL sampel ditambahkan dengan 2 mL larutan baku kerja DPPH 40 ppm dalam tabung reaksi, dikocok hingga homogen lalu didiamkan selama 30 menit. Pengukuran aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Penentuan nilai IC_{50} dan pembuatan kurva regresi

Berdasarkan data nilai absorbansi yang didapatkan dari berbagai konsentrasi, langkah selanjutnya adalah membuat kurva regresi untuk memperoleh persamaan $y = bx + a$, dimana konsentrasi sampel (ppm) menjadi nilai absis (sumbu x), dan persentase inhibisi menjadi nilai ordinat (sumbu y). Melalui persamaan regresi linier dapat menghitung nilai IC_{50} (*inhibitory concentration*), yang merupakan konsentrasi sampel dengan penghambatan absorbansi DPPH sebesar 50% [10].

Analisis data

Analisis data pada uji perbedaan aktivitas antioksidan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon dan jeruk nipis dilakukan menggunakan uji beda yaitu *Mann Whitney* atau uji beda non parametrik untuk mengetahui perbedaan dari nilai aktivitas antioksidan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon dan jeruk nipis.

3. Hasil dan Pembahasan

Metode ekstraksi bunga telang dilakukan dengan cara infusa. Metode infusa merupakan teknik ekstraksi yang terjangkau, mudah untuk dilakukan, pelarut yang digunakan tidak mudah menguap, dan waktu ekstraksi yang singkat [13]. selain itu metode ini umum digunakan oleh kebanyakan masyarakat saat mengkonsumsi bunga telang. Pada proses ini simplisia bunga telang dilarutkan menggunakan air dengan perbandingan 1 : 10 yaitu sebanyak 10 g simplisia bunga telang dilarutkan dengan 100 mL air kemudian dipanaskan pada suhu 90°C selama 10 menit. Air merupakan pelarut universal karena kemampuannya untuk melarutkan berbagai zat kimia seperti garam, gula, asam, beberapa jenis gas, dan senyawa organik [14]. Selain itu air digunakan sebagai pelarut karena memiliki sifat yang polar sehingga dapat menarik senyawa aktif yang ada pada bunga telang yaitu flavonoid, antosianin dan golongan fenolik yang

memiliki sifat polar [15] disisi lain karena sediaan ini ditujukan untuk dikonsumsi maka lebih aman untuk menggunakan pelarut air. Proses selanjutnya merupakan tahapan pencampuran antara infusa bunga telang dengan penambahan dua varietas jeruk yang berbeda. Setelah masing - masing jeruk lemon dan jeruk nipis dibelah dan diperas kemudian disaring untuk memastikan tidak ada bulir maupun biji dari jeruk yang tertinggal. Infusa bunga telang yang sudah dibuat di awal diambil sebanyak 30 mL dan masing - masing sari jeruk sebanyak 25 mL kemudian dicampur dan ditambahkan air hingga 100 mL. Sediaan yang sudah dicampur kemudian diaduk dan disaring agar sediaan yang dihasilkan benar benar jernih.

Tabel 1. Hasil Pengujian Skrining Fitokimia

Sampel	Senyawa Metabolit Sekunder	Pereaksi	Standar	Hasil
Infusa Bunga Telang	Fenolik	FeCl ₃	Warna ungu, biru atau hitam yang kuat	Warna ungu kehitaman (+)
	Flavonoid	serbuk Mg dan HCl	Warna merah, atau jingga	Warna merah (+)
	Antosianin	NaOH 10% dan HCl Pekat	warna merah, atau coklat	Warna merah (+)
Infusa Bunga Telang Dengan Penambahan Jeruk Lemon	Fenolik	FeCl ₃	Warna ungu, biru atau hitam yang kuat	Warna ungu kehitaman (+)
	Flavonoid	serbuk Mg dan HCl Pekat	Warna merah, atau jingga	Warna merah (+)
	Antosianin	NaOH 10% dan HCl Pekat	warna merah, atau coklat	Warna merah (+)
Infusa Bunga Telang Dengan Penambahan Jeruk Nipis	Fenolik	FeCl ₃	Warna ungu, biru atau hitam yang kuat	Warna ungu kehitaman (+)
	Flavonoid	serbuk Mg dan HCl Pekat	Warna merah, atau jingga	Warna merah (+)
	Antosianin	NaOH 10% dan HCl Pekat	warna merah, atau coklat	Warna merah (+)

Keterangan :

(-) : Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder.

(+) : Mengandung senyawa metabolit sekunder.

Skrining fitokimia merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa kimia pada infusa bunga telang serta infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon dan jeruk nipis. Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan reagen yang mendeteksi golongan senyawa fenolik, flavonoid, dan antosianin. Ekstrak tanaman yang akan diuji dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan reagen pendeteksi. Perubahan yang terjadi pada ekstrak tersebut akan mengindikasikan jenis senyawa yang terkandung dalam ekstrak tanaman tersebut. Bunga telang diketahui memiliki aktivitas antioksidan karena

memiliki senyawa golongan fenolik, saponin, antrakuinon, antosianin, fenol, flavonoid dan alkaloid [7]. Tidak hanya itu pada penelitian lain bunga telang juga memiliki senyawa alkaloid, flavonoid, dan antrakuinon [11]. Hasil pengujian skrining fitokimia pada sampel infusa bunga telang dan infusa bunga telang dengan penambahan masing masing jeruk lemon dan jeruk nipis dapat dilihat pada tabel 1.

Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan uji reaksi warna, dan didapatkan jika sampel yang digunakan positif mengandung senyawa fenolik, flavonoid dan antosianin. Ditandai dengan munculnya perubahan warna pada masing masing larutan sampel yang direaksikan dengan masing - masing pereaksi sesuai dengan hasil literatur yang digunakan.

Hasil uji skrining fitokimia senyawa fenolik pada sampel infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis dan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon menunjukkan perubahan warna menjadi ungu kehitaman. Warna ungu kehitaman yang terbentuk pada masing - masing sampel yang digunakan disebabkan oleh senyawa fenolik yang bereaksi dengan ion Fe^{3+} membentuk senyawa kompleks. Senyawa fenolik melepaskan ion H^+ dan membentuk ion fenoksi, yang kemudian bereaksi dengan $FeCl_3$ untuk membentuk senyawa kompleks besi (III) heksafolat [16]. Senyawa fenolik memiliki berbagai manfaat, antara lain menangkal radikal bebas, menstabilkan tekanan darah, menurunkan kadar gula, dan mencegah penyakit kanker.

Hasil uji skrining fitokimia senyawa flavonoid pada sampel infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis dan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon menunjukkan perubahan warna menjadi merah. Warna merah yang dihasilkan terjadi karena serbuk magnesium dan HCl berperan dalam mereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid, sehingga menghasilkan perubahan warna menjadi kuning, jingga, atau merah [17]. Flavonoid memiliki manfaat penting sebagai antioksidan, antimikroba, dan antikanker. Sebagai antioksidan, flavonoid mampu menangkap radikal bebas yang dapat merusak sel-sel tubuh. Hasil uji skrining fitokimia senyawa antosianin pada sampel infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis dan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon menunjukkan perubahan warna menjadi merah.

Tabel 2. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Sampel dan Vitamin C

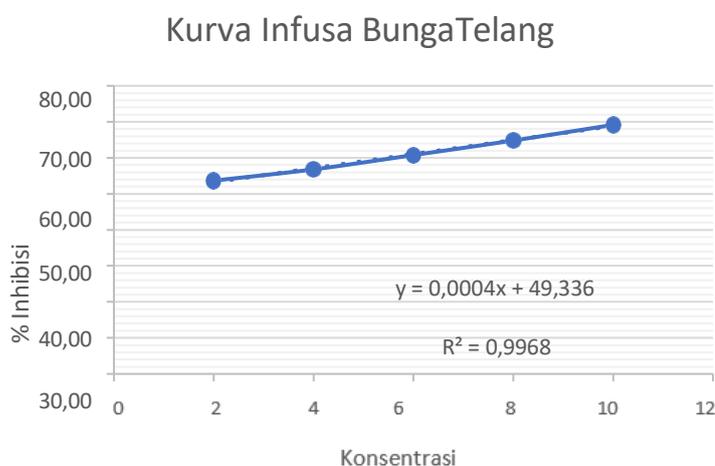
Sampel	Replikasi	IC 50 (ppm)	Rata - Rata (ppm) ± SD
Vitamin C	1	11,409	11,138 ± 0,270
	2	10,868	
Infusa Bunga Telang	1	1.565	1. 660 ± 95
	2	1.755	
Infusa Bunga Telang Dengan Penambahan Jeruk Nipis	1	12.290	12.939 ± 649
	2	13.588	
Infusa Bunga Telang Dengan Penambahan Jeruk Lemon	1	1.222	1.363 ± 141
	2	1.504	

Hasil pengukuran absorbansi DPPH yang direaksikan dengan sampel yaitu infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon dan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis dapat dilihat pada tabel 2. Aktivitas antioksidan dari infusa bunga telang dengan penambahan masing - masing dua varietas jeruk yang berbeda diukur secara kuantitatif menggunakan metode DPPH. Metode ini didasarkan pada

kemampuan sampel infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon dan sampel infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis untuk mereduksi atau menangkap radikal bebas DPPH. Dalam metode ini, larutan DPPH berfungsi sebagai radikal bebas yang bereaksi dengan senyawa antioksidan. Reaksi ini mengubah *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) yang memiliki sifat radikal menjadi *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin*, yang bersifat non-radikal [18].

Sampel yang sudah direaksikan dengan DPPH kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan dinyatakan dengan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ merupakan ukuran konsentrasi infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis maupun jeruk lemon dalam satuan ppm yang dapat menghambat proses oksidasi hingga 50% [19]. Metode DPPH dipilih pada pengujian aktivitas antioksidan karena memiliki beberapa keunggulan, seperti metode analisisnya yang bersifat sederhana, mudah, sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil, kemampuan menghasilkan data yang akurat dan konsisten, proses pengerjaannya yang relatif cepat, serta DPPH dapat menggambarkan sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas [20].

Dalam penelitian ini, uji antioksidan dilakukan dengan mereaksikan larutan sampel uji dengan konsentrasi 10000, 20000, 30000, 40000 dan 50000 ppm sebanyak 2 ml dengan 2 ml larutan DPPH 40 ppm dalam tabung reaksi. Setelah itu, campuran larutan tersebut diinkubasi selama 30 menit dan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 525 nm. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui pada panjang gelombang berapa absorbansi maksimal yang diberikan DPPH berdasarkan faktor eksternal, lingkungan dan perlakuan yang berbeda [21]. Proses inkubasi yang dilakukan bertujuan agar infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon maupun jeruk nipis dapat bereaksi sempurna dengan DPPH yang ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Penurunan warna ungu menunjukkan reaksi antara atom hidrogen dari bahan uji dan molekul radikal DPPH, membentuk senyawa kuning *1,1-difenil-2-pikrilhidrazin* [3].

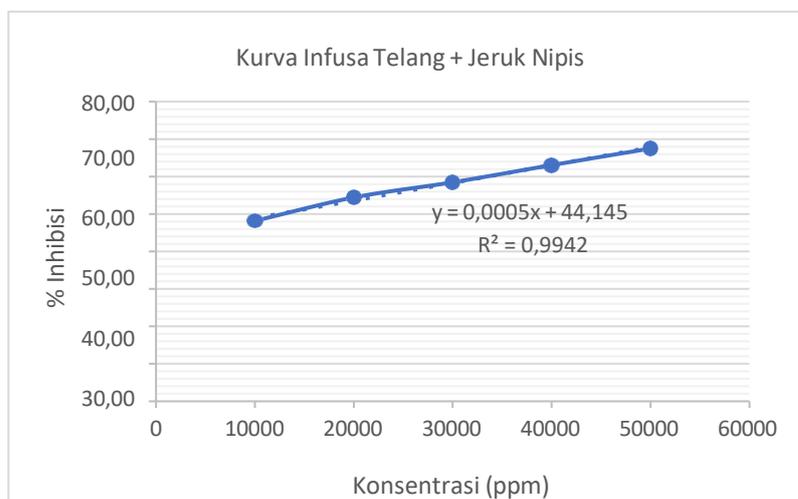


Gambar 1. Kurva Regresi Linear Infusa Bunga Telang

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon maupun jeruk nipis dapat dilihat bahwa absorbansi sampel menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi sampel, hal ini dapat diartikan jika nilai absorbansi yang rendah menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan yang tinggi, ini terjadi karena semakin tinggi konsentrasi bahan uji maka semakin banyak substrat yang

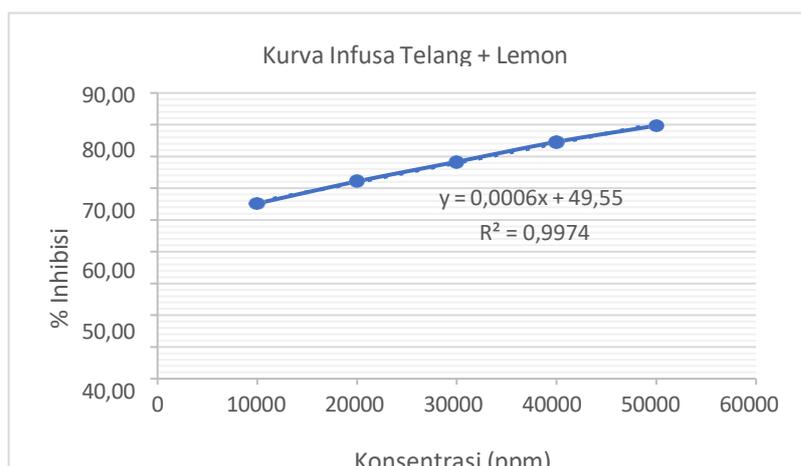
dapat berinteraksi dengan elektron-elektron dari DPPH sehingga absorbansi DPPH menurun. Hal ini menunjukkan bahwa bahan uji mampu mengalihkan elektron dari DPPH dengan efisien [21]. Setelah diperoleh data absorbansi masing – masing sampel kemudian didapatkan nilai hasil perhitungan persentase inhibisi pada setiap konsentrasi sampel uji yang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan uji, semakin besar kemampuan masing – masing sampel untuk menghambat radikal bebas.

Berdasarkan pada kurva regresi linier infusa bunga telang saja yang ditunjukkan pada gambar 1 didapatkan hasil $y = 0,0004x + 49,336$, dengan nilai $R^2 = 0,9968$. Sedangkan pada kurva regresi linier infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon, yang ditunjukkan pada gambar 2 diperoleh hasil persamaan regresi yaitu $y = 0,0006x + 49,55$, dengan nilai $R^2 = 0,9974$. Hasil dari persamaan regresi untuk infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis yang ditunjukkan pada gambar 3 didapatkan hasil yaitu $y = 0,0005x + 44,145$, dengan nilai $R^2 = 0,9942$. Berdasarkan nilai R^2 , dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang erat dan signifikan antara konsentrasi sampel dengan persentase peredaman yang diamati [22]. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0,99 dimana mendekati 1 yang menunjukkan bahwa data dari hasil penelitian yang dilakukan sangat baik [11]. Setelah mendapatkan persamaan regresi dari ke dua sampel dilanjutkan dengan penentuan nilai IC_{50} dengan cara mengganti nilai koefisien $y = 50$, dan didapatkan hasil akhir yaitu nilai IC_{50} infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon sebesar 1.363,000 ppm dan nilai IC_{50} infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis sebesar 12.939,000 ppm.



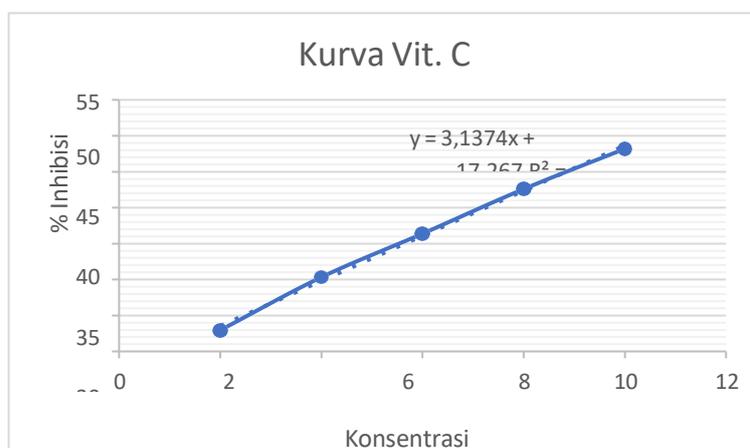
Gambar 2. Kurva Regresi Linier Infusa Bunga Telang Dengan Penambahan Jeruk Lemon

Pembanding yang digunakan dalam penelitian ini adalah vitamin C (gambar 4). Vitamin C merupakan senyawa antioksidan alami yang mudah larut dalam air dan paling mudah untuk ditemukan. Vitamin C dipilih sebagai pembanding dalam pengujian aktivitas antioksidan untuk mengukur seberapa kuat potensi antioksidan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis maupun dengan penambahan jeruk lemon dibanding dengan vitamin C. Berdasarkan pada tabel 2 hasil aktivitas antioksidan sampel dan vitamin C diperoleh hasil nilai IC_{50} infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon sebesar 1.363,000 ppm dan nilai IC_{50} infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis sebesar 12.939,000 ppm, sedangkan hasil nilai IC_{50} vitamin C sebesar 11,138 ppm.



Gambar 3. Kurva Regresi Linier Infusa Bunga Telang Dengan Penambahan Jeruk Nipis

Berdasarkan pada 2 tabel hasil pengujian aktivitas antioksidan dapat dilihat terjadi perubahan nilai aktivitas antioksidan pada infusa bunga telang ketika dilakukan penambahan jeruk lemon maupun jeruk nipis, dimana dengan penambahan jeruk lemon terlihat adanya sedikit kenaikan nilai aktivitas antioksidan sedangkan dengan penambahan jeruk nipis terjadi penurunan aktivitas antioksidan dari infusa bunga telang tersebut.



Gambar 4. Kurva Regresi Linier Vitamin C

Berdasarkan tabel 3 yang menunjukkan tingkat kekuatan dari aktivitas antioksidan, dapat ditunjukkan bahwa infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon maupun jeruk nipis termasuk memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah, karena nilai IC_{50} -nya yang lebih tinggi dibandingkan dengan nilai IC_{50} vitamin C sebagai baku pembandingan. Semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu ekstrak, maka nilai IC_{50} akan semakin kecil [8].

Tabel 3. Tingkat Kekuatan Antioksidan (Pratiwi dkk., (2023))

Intensitas	IC50
Sangat Kuat	< 50 ppm
Kuat	50 - 100 ppm
Sedang	100 - 250 ppm
Lemah	250 - 500 ppm
Sangat Lemah / Kurang Aktiv	> 500 ppm

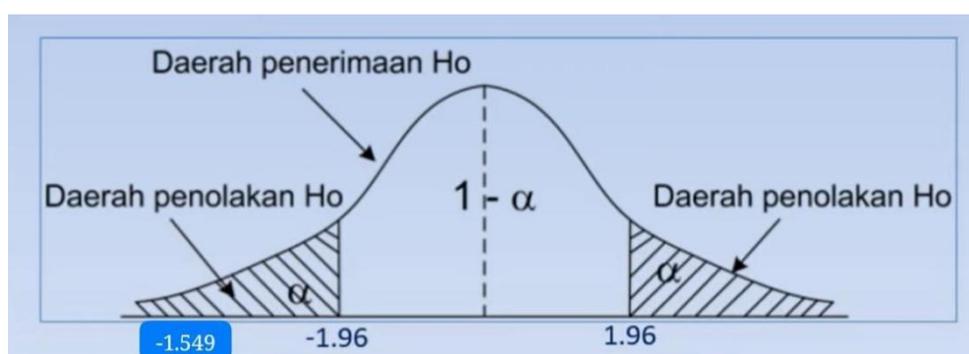
Hasil aktivitas infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon maupun ekstrak bunga telang dengan penambahan jeruk nipis memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sangat lemah namun masih memiliki potensi sebagai agen antioksidan. Lemahnya aktivitas antioksidan dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti suhu yang digunakan pada saat pengeringan ketika proses pembuatan simplisia maupun pada saat proses pembuatan infusa, karena pada penelitian ini tidak dilakukan pembuatan simplisia sendiri sehingga tidak diketahui bagaimana proses maupun suhu yang digunakan ketika melakukan proses pengeringan simplisia. Adanya proses oksidasi pada simplisia bunga telang dapat dipengaruhi karena pemanasan pada bahan maupun kontak langsung antara bahan dengan udara [23]. Pada penelitian Lakhsan menunjukkan hasil aktivitas antioksidan infusa bunga telang pada kategori lemah yaitu sebesar 267,61 ppm dengan proses ekstraksi sama - sama menggunakan metode infundasi, hanya saja ekstraksi dilakukan pada suhu 80° C [4], sedangkan pada penelitian ini digunakan suhu 90° C pada proses ekstraksi. Tidak hanya itu, faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil aktivitas antioksidan pada sampel yang dibuat yaitu senyawa flavonoid yang berperan sebagai antioksidan tidak dalam keadaan murni atau masih berikatan dengan gugus glikosida. Flavonoid pada tumbuhan umumnya ditemukan dalam bentuk glikosida (flavonoid glikosida) dan sangat jarang ditemukan dalam bentuk bebas atau aglikon flavonoid, gugus glikosida yang berikatan dengan flavonoid dapat menurunkan kadar aktivitas antioksidan [23]. Oleh sebab itu, perlu dilakukan fraksinasi dengan harapan memperoleh nilai IC₅₀ dari senyawa spesifik yang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak yang tidak murni. Aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi-fraksi bunga telang yang dikategorikan sangat kuat, dengan aktivitas IC₅₀ sebesar 17,8659 ± 0,0010 pada fraksi etil asetat, diikuti oleh ekstrak etanol, fraksi air, dan fraksi n-heksan [22]. Disisi lain rendahnya nilai aktivitas antioksidan juga dapat disebabkan karena metode ekstraksi yang kurang sesuai. Metode yang paling umum digunakan adalah maserasi, terutama karena metode ini sangat cocok untuk sampel dengan karakteristik lunak seperti bunga telang [24]. Selain itu, maserasi efektif dalam mengekstrak senyawa yang tidak tahan panas. karena pada proses ekstraksi atau pembuatan infusa pada penelitian ini menggunakan metode infundasi dan termasuk ke dalam ekstraksi metode panas yang dilakukan pemanasan pada prosesnya dengan suhu 90°C, yang dapat merusak beberapa jenis senyawa yang memiliki peran sebagai antioksidan karena tidak tahan pemanasan, salah satunya yaitu senyawa antosianin yang relatif tahan pemanasan pada suhu 80°C namun semakin tinggi pemanasan dapat menyebabkan senyawa tersebut mengalami degradasi [25]. Namun pemilihan metode tersebut didasarkan pada cara pengolahan bunga telang yang umum di masyarakat yaitu dengan cara merebus atau dengan menggunakan pemanasan pada prosesnya.

Pengujian lanjutan untuk menentukan perbedaan antara hasil aktivitas antioksidan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon dengan hasil aktivitas antioksidan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis dilakukan dengan

analisis statistika uji *Mann Whitney* menggunakan aplikasi SPSS. Berdasarkan data yang dimiliki dilakukan uji normalitas terhadap masing-masing sampel dan didapatkan hasil data yang tidak terdistribusi dengan normal. Untuk pengambilan keputusan pada uji *Mann Whitney* dapat dilihat dari nilai nilai Z menggunakan Z tabel, dimana pengambilan keputusan berdasarkan penggunaan hipotesis dua arah (*Two-tail*) yang biasa digunakan pada uji beda dengan α sebesar 0,05 atau 5%. Nilai Z tabel jika menggunakan dua arah yaitu

$$Z_{\text{tabel}} = 1 - 0,05 / 2 = 1 - 0,025 = 0,975. \text{ Nilai } 0,975 \text{ pada tabel adalah } = 1,96.$$

Dilihat dari hasil Z hitung sebesar -1,549 sedangkan Z tabel sebesar 1,96 dapat disimpulkan jika H_0 ditolak dan H_a diterima karena nilai Z hitung < Z tabel dan dapat dilihat juga pada gambar 5 yang menunjukkan nilai Z hitung masuk pada daerah penolakan H_0 .



Gambar 5. Grafik Pengambilan Keputusan

Berdasarkan penjabaran di atas dapat disimpulkan jika H_0 yang menyatakan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon dan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis ditolak, dan H_a yang menyatakan terdapat perbedaan yang signifikan antara infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon dan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis diterima. Dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara nilai aktivitas antioksidan infusa Bunga telang dengan penambahan jeruk lemon dan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis.

4. Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah aktivitas antioksidan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon yang ditunjukkan dengan nilai nilai IC_{50} adalah sebesar 2824,762 ppm, tergolong pada antioksidan yang sangat lemah namun masih memiliki potensi sebagai agen antioksidan. Sedangkan aktivitas antioksidan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} adalah sebesar 14843,037 ppm, tergolong pada antioksidan yang sangat lemah namun masih memiliki potensi sebagai agen antioksidan. Perbedaan antara aktivitas antioksidan kedua sampel didapati hasil yaitu terdapat perbedaan yang signifikan antara nilai aktivitas antioksidan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk nipis dan infusa bunga telang dengan penambahan jeruk lemon. Saran yang dapat dilakukan berdasarkan penelitian yaitu perlu dilakukan uji antioksidan dengan metode ekstraksi yang berbeda, misalkan sonikasi. Perlu juga dilakukan perbandingan hasil aktivitas antioksidan antara

penggunaan bunga telang segar dan bunga telang kering (simplicia) ketika digunakan sebagai minuman.

Referensi

- [1] Kushargina, R., Kusumaningati, W., Yunianto, A.E. Pengaruh bentuk, suhu, dan lama penyeduhan terhadap sifat organoleptik dan aktivitas antioksidan teh herbal bunga telang (*Clitoria Ternatea* L.). *Gizi Indonesia*. 2022;45(1): 11-22. <https://doi.org/10.36457/gizindo.v45i1.633>
- [2] Purwaniati, P., Arif, A.R., Yuliantini, A. Analisis kadar antosianin total pada sediaan bunga telang (*clitoria ternatea*) dengan metode pH diferensial menggunakan spektrofotometri visible. *J. Farmazine*. 2020;7(1): 18. <https://doi.org/10.47653/farm.v7i1.157>
- [3] Andriani, D., Murtisiwi, L. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dari Daerah Sleman dengan Metode DPPH. *Pharmacon J. Farm. Indones*. 2020;17(1): 70-76. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v17i1.9321>
- [4] Lakshan, S.A.T., Jayanath, N.Y., Mendis Abeysekera, W.P.K., Abeysekera, W.K.S.M. A Commercial Potential Blue Pea (*Clitoria ternatea* L.) Flower Extract Incorporated Beverage Having Functional Properties. *Evid. Based Complement. Alternat. Med*. 2019;1-13. <https://doi.org/10.1155/2019/2916914>
- [5] Fitriyana, R. A. Perbandingan Kadar Vitamin C Pada Jeruk Nipis (*Citrus X Aurantiifolia*) Dan Jeruk Lemon (*Citrus X Limon*) Yang Dijual Di Pasar Linggapura Kabupaten Brebes. 2017;2(2).
- [6] Wulandari, T. Uji Aktivitas Antioksidan Minuman Infused Water Dari Berbagai Jenis Jeruk. [Karya Tulis Ilmiah]. *Akademi Farmasi Al-Fatah Yayasan Al-Fatah Bengkulu*; 2020b
- [7] Fernando, jianshy. Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Sirup Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Dengan Metode DPPH. [Karya Tulis Ilmiah]. *Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu*; 2021
- [8] Ikhlas, N., n.d. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum* Linn) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). [skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah; 2013
- [9] Puriyastuti. Karakteristik Sensori Dan Kimia Minuman Fungsional Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L) Dengan Penambahan Lemon Dan Jahe Gajah. [Skripsi]. Universitas Jember; 2022
- [10] Cahyaningsih, E., Yuda, P. E. S. K., & Santoso, P. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Medicamento*. 2019;5(1). <https://doi.org/10.36733/medicamento.v5i1.851>
- [11] Agustin, D., Ismiyati, I. Pengaruh konsentrasi pelarut pada proses ekstraksi antosianin dari bunga kembang sepatu. *J. konversi*. 2015;4: 9. <https://doi.org/10.24853/konversi.4.2.9-16>
- [12] Risfianty, D.K., n.d. Perbedaan kadar tanin pada infusa daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dengan metoda spektrofotometer UV-Vis. *Lombok Journal of Sciences (LJS)*. 2020;2(3):1-7.
- [13] Ainia. Uji Fitokimia Infusa Pekat Buah Pare (*Momordi cacharantia* L.) Dan Pengaruh Lama Terapi Dengan Variasi Dosis Terhadap Penurunan Kadar Glukosa

- Darah Tikus (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinduksi Aloksan. [Skripsi]. Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang;2017.
- [14] Alfaridz, F., Amalia, R., n.d. Review jurnal : klasifikasi dan aktivitas farmakologi dari senyawa aktif flavonoid. *Farmaka*. 2018;16(3).
- [15] B, Muthmainnah. Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol buah delima (*Punica Granatum* L.) dengan metode uji warna. *Media Farmasi*. 2017;8(2). <https://doi.org/10.32382/mf.v13i2.880>
- [16] Kusumo, D. W., Ningrum, E. K., & Makayasa, C. H. A. Phytochemical Screening of Secondary Metabolites in Papaya Flowers (*Carica papaya* L.). 2022;5(2).
- [17] Ariviani, S., Parnanto, N.H.R. Kapasitas antioksidan buah salak (*salacca edulis* reinw) kultivar pondoh, nglumut dan bali serta korelasinya dengan kadar fenolik total dan vitamin C. *AGRITECH*. 2013;33(3):324-333.
- [18] Yuliani, N,N., Dienina, D, P. Uji aktivitas antioksidan INFUSA DAUN KELOR (*Moringa oleifera*, Lamk) dengan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). *Jurnal Info Kesehatan*. 2015;14(2):1060-1082.
- [19] Wulansari, A. N. Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami. 2018;16(2).
- [20] Wenas, D.M., Meilani, P.A., Herdini, H. Uji Antioksidan Infusa Daun berwarna Merah dan Hijau dari Pucuk Merah (*Syzygium Myrtifolium* Walp.) dengan Metode DPPH. *JUSTE J. Sci. Technol.* 2022;3: 11-23. <https://doi.org/10.51135/justevol3issue1page11-23>
- [21] Khairunnisa, N. Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Daun Zaitun (*Olea europaea* L.) Menggunakan Pelarut Air Dengan Metode DPPH. [Skripsi]. Program Studi Kedokteran Dan Profesi Dokter Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Uin Syarif Hidayatullah Jakarta;2017
- [22] Wicaksono, B. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semi Polar Dan Non Polar Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Dengan Metode ABTS. *J. Kesehatan Kartika*. 2021;16(1). <https://doi.org/10.26874/jkkes.v16i3.187>
- [23] Ingka, M, P., Taufik, M, Fakih., Farendina, Suarantika. Studi Literatur Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan Berbagai Metode Pengujian. *Bandung Conference Series: Pharmacy*. 2024. 4(1), 40-49. <https://doi.org/10.29313/bcsp.v4i1.11687>
- [24] Hidayah, T. (2014). Uji Stabilitas Pigmen Dan Antioksidan Ekstrak Zat Warna Alami Kulit Buah Naga.
- [25] Nofita, D., Sari, S.N., Mardiah, H. Penentuan Fenolik Total dan Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata* J.R& G.Forst) secara Spektrofotometri. *Chim. Nat. Acta*. 2020; 8: 36. <https://doi.org/10.24198/cna.v8.n1.26600>