

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1

Perhitungan Berat Sampel dan Rendemen

1. Rendemen Ekstrak

$$\begin{aligned}
 \text{Berat ekstrak sampel} &= 250 \text{ gram (x)} \\
 \text{Berat cawan uap kosong} &= 84,80 \text{ gram (a)} \\
 \text{Berat cawan + isi} &= 94,48 \text{ gram (b)} \\
 \text{Berat ekstrak} &= b - a \\
 &= 94,48 \text{ gram} - 84,80 \text{ gram} \\
 &= 9,68 \text{ gram (y)} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{y}{x} \times 100\% \\
 &= \frac{9,68 \text{ gram}}{250 \text{ gram}} \times 100\% = 3,9\% \text{ b/b}
 \end{aligned}$$

2. Rendemen Fraksi

a. Rendemen Fraksi N-heksana

$$\begin{aligned}
 \text{Berat ekstrak sampel} &= 5 \text{ gram (x)} \\
 \text{Berat cawan uap kosong} &= 53,11 \text{ gram (a)} \\
 \text{Berat cawan + isi} &= 53,53 \text{ gram (b)} \\
 \text{Berat ekstrak} &= b - a \\
 &= 53,53 \text{ gram} - 53,11 \text{ gram} \\
 &= 0,42 \text{ gram (y)} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{y}{x} \times 100\% \\
 &= \frac{0,42 \text{ gram}}{5 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 8,4\% \text{ b/b}
 \end{aligned}$$

b. Rendemen Fraksi Etil Asetat

$$\begin{aligned}
 \text{Berat ekstrak sampel} &= 5 \text{ gram (x)} \\
 \text{Berat cawan uap kosong} &= 54,35 \text{ gram (a)} \\
 \text{Berat cawan + isi} &= 54,45 \text{ gram (b)} \\
 \text{Berat ekstrak} &= b - a \\
 &= 54,45 \text{ gram} - 54,35 \text{ gram} \\
 &= 0,1 \text{ gram (y)} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{y}{x} \times 100\% \\
 &= \frac{0,1 \text{ gram}}{5 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 2\% \text{ b/b}
 \end{aligned}$$

c. Rendemen Etanol 96%

$$\begin{aligned}
 \text{Berat ekstrak sampel} &= 5 \text{ gram (x)} \\
 \text{Berat cawan uap kosong} &= 39,43 \text{ gram (a)} \\
 \text{Berat cawan + isi} &= 42,17 \text{ gram (b)} \\
 \text{Berat ekstrak} &= b - a \\
 &= 42,17 \text{ gram} - 39,43 \text{ gram} \\
 &= 2,74 \text{ gram (y)} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{y}{x} \times 100\% \\
 &= \frac{2,74 \text{ gram}}{5 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 54,8\% \text{ b/b}
 \end{aligned}$$

LAMPIRAN 2

Perhitungan Pembuatan Larutan

1. Pembuatan larutan untuk uji flavonoid

a. Pembuatan larutan quersetin 1000 ppm (mg/L)

$$= \frac{10 \text{ mg kuarsetin}}{10 \text{ ml etanol}}$$

$$= \frac{10 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = 1000 \text{ ppm}$$

b. Perhitungan AlCl_3 2% \longrightarrow 10 mL

$$\text{AlCl}_3 = \frac{2}{100} \times 10 \text{ mL}$$

$$= 0,2 \text{ gram}$$

c. Perhitungan asam asetat 5% \longrightarrow 50 mL

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 98\% = 50 \text{ mL} \cdot 5\%$$

$$V_1 = \frac{250}{98}$$

$$= 2,5 \text{ mL}$$

d. Perhitungan pengenceran kuarsetin tiap konsentrasi

1) 20 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 20 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{200}{1000}$$

$$= 0,2 \text{ mL}$$

2) 40 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 40 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{400}{1000}$$

$$= 0,4 \text{ mL}$$

3) 60 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 60 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{600}{1000}$$

$$= 0,6 \text{ mL}$$

4) 80 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 80 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{800}{1000}$$

$$= 0,8 \text{ mL}$$

5) 100 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 100 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{1000}{1000}$$

$$= 1 \text{ mL}$$

2. Pembuatan larutan untuk uji Antioksidan

1) Pembuatan larutan DPPH 0,4 Mm

15,7 mg DPPH ad 100 mL metanol

2) Perhitungan pembuatan larutan induk 1000 ppm (mg/L)

$$= \frac{10 \text{ mg sampel}}{10 \text{ mg metanol}}$$

$$= \frac{10 \text{ mg}}{0,01 \text{ L}}$$

$$= 1000 \text{ ppm}$$

3) Perhitungan pengenceran larutan induk

1) 10 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{100}{1000}$$

$$= 0,1 \text{ mL}$$

2) 15 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 15 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{150}{1000}$$

$$= 0,15 \text{ mL}$$

3) 20 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 20 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{200}{1000}$$

$$= 0,2 \text{ mL}$$

4) 25 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 25 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{250}{1000}$$

$$= 0,25 \text{ mL}$$

5) 30 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 30 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{300}{1000}$$

$$= 0,3 \text{ mL}$$

LAMPIRAN 3

Perhitungan Flavonoid Total dan Nilai IC₅₀

1. Perhitungan % Total Flavonoid

$$\text{Konsentrasi awal} = 1000 \text{ ppm}$$

$$\text{Volume sampel yang dipipe} = 1 \text{ mL}$$

$$\text{Volume akhir} = 10 \text{ mL}$$

$$\text{Konsentrasi akhir} =$$

$$\frac{\text{Konsentrasi awal} \times \text{Volume sampel yang dipipet}}{\text{Volume akhir}}$$

$$= \frac{1000 \times 1}{100}$$

$$= 100$$

$$\text{Faktor Pengenceran} = \frac{\text{Konsentrasi awal}}{\text{Konsentrasi akhir}}$$

$$= \frac{1000}{100}$$

$$= 10$$

Rumus % Kadar Total Flavonoid :

$$\left(\frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Intersep}}{\text{Slope}} \right) \div \text{Konsentrasi awal} \times FP \times 100\%$$

➤ Regresi Linear quarsetin

$$y = 0,0048x + 0,0707$$

$$R^2 = 0,9997$$

- a. Perhitungan % Kadar Total Flavonoid Fraksi N-heksana

$$\begin{aligned} \text{Kadar Flavonoid} &= \left(\frac{0,311 - 0,0707}{0,0048} \right) \div 1000 \text{ ppm} \times 10 \times 100\% \\ &= \frac{50,06}{1000} \times 10 \times 100\% \\ &= 50,06 \% \end{aligned}$$

- b. Perhitungan % Kadar Total Flavonoid Fraksi Etil Asetat

$$\begin{aligned} \text{Kadar Flavonoid} &= \left(\frac{0,355 - 0,0707}{0,0048} \right) \div 1000 \text{ ppm} \times 10 \times 100\% \\ &= \frac{59,23}{1000} \times 10 \times 100\% \\ &= 59,23 \% \end{aligned}$$

- c. Perhitungan % Kadar Total Flavonoid Fraksi Etanol 96%

$$\begin{aligned} \text{Kadar Flavonoid} &= \left(\frac{0,079 - 0,0707}{0,0048} \right) \div 1000 \text{ ppm} \times 10 \times 100\% \\ &= \frac{1,73}{1000} \times 10 \times 100\% \\ &= 1,73 \% \end{aligned}$$

2. Perhitungan Nilai IC₅₀ Antara Konsentrasi dengan % Inhibisi

- a. Fraksi N-heksana Bunga Telang

$y = 50$

Persamaan regresi linear $\longrightarrow y = 1,9602x - 16,67 ; R^2 = 0,8472$

$$y = 1,9602x - 16,67$$

$$50 = 1,9602x - 16,67$$

$$50 + 16,67 = 1,9602x$$

$$\frac{66,67}{1,9602} = x$$

$$34,01 = x$$

b. Fraksi Etil Asetat Bunga Telang

Persamaan regresi linear $\longrightarrow y = 2,0094x - 9,306$; $R^2 = 0,8952$

$$y = 2,0094x - 9,306$$

$$50 = 2,0094x - 9,306$$

$$50 + 9,306 = 2,0094x$$

$$\frac{59,306}{2,0094} = x$$

$$29,51 = x$$

c. Fraksi Etanol 96% Bunga Telang

Persamaan regresi linear $\longrightarrow y = 2,2642x - 8,518$; $R^2 = 0,8073$

$$y = 2,2642x - 8,518$$

$$50 = 2,2642x - 8,518$$

$$50 + 8,518 = 2,2642x$$

$$\frac{58,518}{2,2642} = x$$

$$25,84 = x$$

LAMPIRAN 4

Data Perhitungan Flavonoid Total dan Nilai IC₅₀

1. Data Standar Quarsetin

Konsentrasi (ppm)	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Rata-rata Absorbansi
20	0,168	0,169	0,169	0,169
40	0,265	0,267	0,268	0,264
60	0,357	0,357	0,357	0,357
80	0,453	0,455	0,457	0,455
100	0,557	0,556	0,556	0,556

2. Data Kurva Standar Fraksi N-Heksana

➤ Absorbansi Larutan Blanko

Replikasi	Absorbansi (A)
I	0,843
II	0,844
III	0,845
Rata-rata	0,844

Konsentrasi (ppm)	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Rata-rata Absorbansi
10	0,780	0,777	0,772	0,776
15	0,753	0,752	0,749	0,751
20	0,686	0,685	0,685	0,685
25	0,635	0,638	0,639	0,638
30	0,418	0,420	0,420	0,419

3. Data Kurva Standar Fraksi Etil Asetat

➤ Absorbansi Larutan Blanko

Replikasi	Absorbansi (A)
I	0,204
II	0,204
III	0,204
Rata-rata	0,204

Konsentrasi (ppm)	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Rata-rata Absorbansi
10	0,172	0,172	0,172	0,172
15	0,165	0,164	0,164	0,164
20	0,154	0,153	0,153	0,153
25	0,129	0,129	0,128	0,129
30	0,088	0,087	0,087	0,087

4. Data Kurva Standar Fraksi Etanol 96%

➤ Absorbansi Larutan Blanko

Replikasi	Absorbansi (A)
I	0,477
II	0,468
III	0,465
Rata-rata	0,47

Konsentrasi (ppm)	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Rata-rata Absorbansi
20	0,458	0,452	0,448	0,453
40	0,316	0,315	0,315	0,315
60	0,255	0,255	0,251	0,254
80	0,242	0,240	0,234	0,239
100	0,225	0,224	0,225	0,225

LAMPIRAN 5**Proses Maserasi**

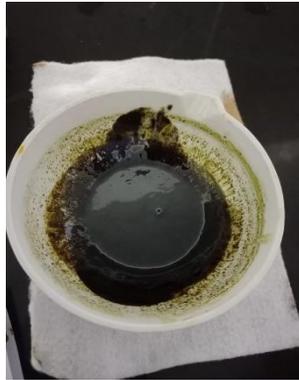
No	Gambar	Keterangan
1		Menimbang serbuk bunga telang
2		Merendam serbuk bunga telang
3		Pengadukan ± 5 menit

4



Penyaringan ekstrak

5



Hasil penguapan

LAMPIRAN 6
Proses Fraksinasi

No	Gambar	Keterangan
1		Proses fraksinasi n- heksana
2		Proses pemisahan antara etanol 96% (atas) dan air (bawah)
3		Hasil penguapan

LAMPIRAN 7**Proses Uji Flavonoid Total Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis**

No	Gambar	Keterangan
1		Menimbang quarsetin
2		Menimbang AlCl_3
3		Pembuatan larutan seri

4



Inkubasi larutan seri

5



Sampel ad etanol

6



Pembuatan larutan sampel

7



Inkubasi larutan sampel

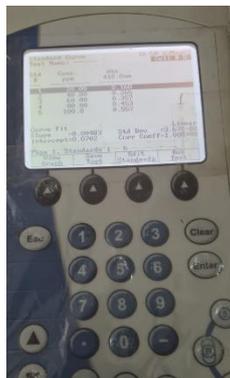
8



Memasukkan dan
menyusun kuvet ke
dalam spektrofotometer

UV-Vis

9



Membaca nilai
absorbansi

LAMPIRAN 8**Proses Uji Antioksidan Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis**

No	Gambar	Keterangan
1		Menimbang larutan DPPH
2		Pembuatan larutan DPPH
3		Inkubasi larutan DPPH

4



Menimbang sampel

5



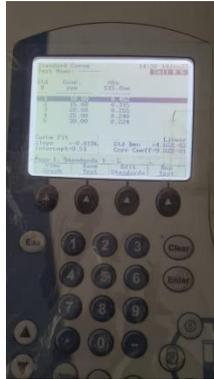
Sampel ad metanol

6



Pembuatan larutan seri

7



Membaca nilai
absorbansi

LAMPIRAN 9

Jurnal Publikasi JUSTEK : Jurnal Sains Dan Teknologi Vol. 7 Tahun 2024

(Link : <https://journal.ummat.ac.id/index.php/justek/article/view/21615>)

JUSTEK : JURNAL SAINS DAN TEKNOLOGI
<http://journal.ummat.ac.id/index.php/justek>
 ISSN 2620-5475
 Vol. 7, No. 1, Maret 2024, Hal. 82-91

Penentuan Flavonoid Total Dan Nilai IC₅₀ Fraksi Dari Ekstrak Bunga Telang

¹Faizatun Nadzifah, ²Aldi Budi Riyanta, ³Purdiyanti
¹Diploma III Farmasi, Politeknik Harapan Bersama Tegal
 Jalan Mataram No. 09, Margadana, Tegal, 50272, Indonesia
^{*}faizatunadzifah@gmail.com

<p>ARTICLE INFO</p> <p>Article History: Diterima : 20-01-2024 Disetujui : 03-03-2024</p> <p>Keywords: Telang flowers Fractination Flavonoids Antioxiidants</p>	<p style="text-align: center;">ABSTRACT</p> <p><i>Abstract: Telang flowers or blue flowers have many health benefits, one of which is as an antioxidant. This study aims to determine the highest flavonoid content and the most active antioxidant activity based on IC₅₀ values in n-hexane, ethyl acetate, and 96% ethanol fractions with telang flower samples from Tegal City, Central Java. The extraction method was carried out by maceration using 96% ethanol solvent, which was then fractionated in stages with n-hexane, ethyl acetate, and 96% ethanol solvents. Quantitative flavonoid and antioxidant tests were carried out by UV-Vis spectrophotometry. The results showed that the ethyl acetate, n-hexane and 96% ethanol fractions were 59,23% ; 50,06% ; 1,73%, respectively. Meanwhile, the IC₅₀ values of 96% ethanol, ethyl acetate and n-hexane fractions were 25,84 µg/mL ; 29,51 µg/mL ; 34,01 µg/mL. So this result shows that the largest flavonoids are in the ethyl acetate fraction and the most active antioxidants in the 96% ethanol fraction.</i></p> <p>Abstrak: Bunga telang atau bunga biru mempunyai banyak manfaat untuk kesehatan, salah satunya sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar flavonoid tertinggi dan aktivitas antioksidan paling aktif berdasarkan nilai IC₅₀ pada fraksi n-heksana, etil asetat, dan etanol 96% dengan sampel bunga telang yang berasal dari Kota Tegal, Jawa Tengah. Metode ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, yang kemudian di fraksinasi bertingkat dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol 96%. Uji kuantitatif flavonoid dan antioksidan dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat, n-heksana dan etanol 96% secara berurutan yaitu 59,23% ; 50,06% ; 1,73%. Sementara pada nilai IC₅₀ secara berurutan fraksi etanol 96%, etil asetat dan n-heksana sebesar 25,84 µg/mL ; 29,51 µg/mL ; 34,01 µg/mL. Sehingga pada penelitian ini menunjukkan bahwa flavonoid terbesar berada pada fraksi etil asetat dan antioksidan paling aktif pada fraksi etanol 96%.</p>
---	---







<https://doi.org/10.31764/justek.v7i1.777>
This is an open access article under the CC-BY-SA license

A. LATAR BELAKANG

Bunga telang yang juga dikenal sebagai "Bunga Biru" atau "Kupu-Kupu Kacang", memiliki khasiat obat yang potensial dan dapat digunakan dalam pengobatan tradisional (Denta Kusuma, 2019). Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, namun banyak masyarakat umum yang memanfaatkan bunga telang sebagai pewarna makanan atau minuman saja tanpa mengetahui manfaatnya lainnya. Bunga telang mengandung senyawa kimia seperti tanin, karbohidrat, saponin, triterpenoid,

82

flavonoid, protein, alkaloid, antrakuinon, antosianin, minyak atsiri, dan steroid (Al-Snafi, 2016). Bunga telang mengandung berbagai macam senyawa bioaktif yang berperan sebagai antioksidan, salah satunya jenis flavonoid (Yumni et al., 2022).

Flavonoid adalah senyawa polifenol yang ditemukan dalam tanaman yang memiliki berbagai manfaat kesehatan. Penentuan total flavonoid merupakan langkah penting dalam mengenali kandungan kimiawi bunga salam dan potensinya dalam kesehatan manusia. Flavonoid memiliki sifat antioksidan serta berpotensi sebagai agen antiinflamasi (Hidayah et al., 2023). Kandungan flavonoid total (TFC) sering dikaitkan dengan aktivitas antioksidan tanaman (Baba S.A. & Malik S.A, 2014).

Antioksidan dibutuhkan oleh tubuh untuk menetralkan radikal bebas, yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan menyerap efek negatifnya. Antioksidan merupakan zat yang sangat bermanfaat bagi kesehatan manusia. IC₅₀ (Inhibition Concentration) ialah konsentrasi larutan sampel yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH (Maryam, 2015). Semakin rendah nilai IC₅₀, semakin efektif antioksidan dalam menangkal radikal bebas atau memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Maryam, 2015). Pada penelitian, nilai IC₅₀ dihitung menggunakan persamaan regresi linear antara konsentrasi (ppm) dengan % inhibisi.

Pada penelitian ini, senyawa aktif dari bunga telang akan dipisahkan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Maserat yang didapatkan akan dilakukan ekstraksi lagi dengan metode fraksinasi bertingkat. Tujuan fraksinasi adalah untuk menghasilkan senyawa dengan berbagai tingkat kepolaran (Wulandari, 2017). Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan tiga pelarut dengan berbagai tingkat kepolaran yaitu n-heksana bersifat non-polar, etil asetat semi-polar, dan etanol 96% polar.

Spektrofotometri UV-Vis adalah teknik analisis yang menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dalam hubungannya dengan tabung foton vakum untuk mengukur penyerapan cahaya monokromatik oleh kolom larutan berwarna pada panjang gelombang tertentu (Khasanah et al., 2021). Metode ini digunakan dalam penelitian untuk melakukan uji flavonoid dan antioksidan secara kuantitatif. Dengan menggunakan metode ini, peneliti dapat menentukan fraksi mana yang mengandung flavonoid total paling banyak dan memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi.

B. METODE PENELITIAN

Penentuan flavonoid total dan nilai ic₅₀ fraksi pada bunga telang (*Clitroia ternatea* L.) dilakukan di Laboratorium Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal. Waktu penelitian dilaksanakan dari bulan Maret – Juni 2023.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan timbangan analitik ohaus, blender, maserator, batang pengaduk, gelas ukur, kain flanel, corong pisah, labu ukur, tabung reaksi, beaker glass, corong kaca, waterbath, cawan uap, pipet tetes, mikropipet, spektrofotometer. Bahan-bahan yang digunakan antara lain bunga telang, n-heksana, etil asetat, etanol 96%, metanol, aquadest, asam asetat 5%, H₂SO₄, AlCl₃ 2%, Magnesium (Mg), HCl Peekat, quarsetin, DPPH 0,4 mM.

Pembuatan Serbuk Simplisia

Bunga telang dikeringkan dalam oven pada suhu 40-50°C, kemudian diblender menjadi serbuk simplisia dan diayak dengan mesh 60.

Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga Telang

Ekstrak simplisia bunga telang dibuat dengan metode maserasi menggunakan 250 gram simplisia yang direndam dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:3, diaduk selama 5 menit setiap harinya kemudian filtrat disaring dan diuapkan di atas waterbath hingga mengental.

Uji kualitatif flavonoid

Ekstrak dicampur dengan 10 ml air panas, didihkan selama 5 menit selanjutnya filtrat diambil 5 ml dan tambahkan 0,05 serbuk Mg serta 1 ml HCl pekat kemudian kocok. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan larutan menjadi warna merah, kuning atau jingga (Sulistiyoningdyah F., Ramayani, 2017).

Uji Bebas Pelarut

Ekstrak kental 0,5 g dicampur H₂SO₄ pekat dan CH₃COOH lalu dipanaskan. Tidak adanya bau ester menunjukkan hasil bebas pelarut yang baik .

Fraksinasi

Larutkan 5 gram ekstrak dalam 10 ml aquadest, lalu fraksinasi menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol 96% secara bertingkat. Masing-masing pelarut difraksinasi dengan pengulangan 3 kali, selanjutnya hasil dari tiap fraksi diuapkan hingga kental.

Penentuan Kadar Flavonoid Total dengan Menggunakan Spektrometri UV-Vis

Kadar flavonoid total ditentukan dalam ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol 96% bunga telang menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan metode kolorimetri (AlCl₃) pada λ 410 nm (Rebaya et al., 2015).

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Quarsetin

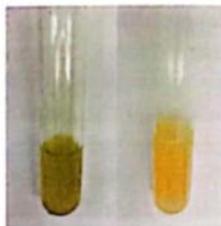
Dalam 10 ml etanol (1000 ppm), 10 mg quersetin dilarutkan. Larutan tersebut diencerkan hingga konsentrasi 60 ppm, pipet 1 ml dan tambahkan 1 ml AlCl₃ 2% serta 8 ml asam asetat 5%, diinkubasi selama 30 menit (Ipandi et al., 2016). Absorbansi diukur antara 360 - 460 nm.

b. Pembuatkn Kurva Standar Quarsetin

Quersetin sebanyak 10 mg dilarutkan dalam etanol 10 ml (1000 ppm) dibuat variasi konsentrasi 20 , 40 , 60 , 80 dan 100 ppm. Masing-masing diambil 1 ml kemudian tambahkan dengan 1 ml AlCl₃ 2% dan 8 ml asam asetat 5%, inkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada λ_{maks} quersetin 410 nm, dibuat kurva kalibrasi dengan menghubungkan nilai serapan sebagai koordinat (Y) dan konsentrasi larutan standar absis (X) (Ipandi et al., 2016).

c. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak N-heksana Etil Asetat dan Etanol 96% Bunga Telang

Ekstrak 25 mg dilarutkan pada 10 ml etanol, diaduk hingga homogen. Sampel 1 ml ditambahkan dengan 1 ml AlCl₃ 2% dan 8 ml asam asetat 5%, diukur absorbansinya (410 nm) dengan spektrofotometer UV-Vis. Kadar flavonoid total



Gambar 1. Hasil Uji Kualitatif Flavonoid

Berdasarkan gambar 1, menunjukkan bahwa adanya flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna ekstrak dari hijau menjadi jingga. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Sulistyoningdyah F., Ramayani, 2017), bahwa dalam uji flavonoid, magnesium digunakan sebagai agen pereduksi. Proses ini dilakukan dalam suasana asam dengan penambahan HCl. Ketika flavonoid bereaksi dengan magnesium dan HCl dalam suasana asam, terjadi pembentukan senyawa yang disebut flavillium (Prayoga et al., 2019). Senyawa ini memiliki warna jingga-merah. Sehingga, perubahan warna ekstrak dari hijau menjadi jingga menunjukkan positif adanya flavonoid.

Tabel 1. Hasil Uji Bebas Pelarut

Simplisia	Perlakuan	Keterangan
Bunga Telang (<i>Clitoria ternatea</i> L.)	0,5 g ekstrak kental + H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ COOH kemudian dipanaskan	(+) Tidak berbau ester

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sekar Wulandari, penentuan jumlah sisa pelarut dalam ekstrak akan berdampak pada sifat antibakteri (Wulandari, 2021). Oleh karena itu, dilakukan uji bebas etanol untuk mengidentifikasi apakah ekstrak yang digunakan bebas dari pelarut tersebut. Dalam tabel 1, hasil menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang diketahui bebas dari etanol. Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya bau ester saat dihirup. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut bebas dari etanol. Dengan demikian ekstrak bunga telang yang digunakan dalam penelitian bebas dari etanol.

Fraksinasi pada ekstrak bunga telang menggunakan pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya, yang meliputi n-heksan sebagai non-polar, etil asetat pelarut semi polar, dan etanol 96% yang merupakan pelarut polar. Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi fraksi dengan kandungan flavonoid terbesar dan aktivitas IC₅₀ yang paling aktif pada bunga telang berdasarkan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan.

Penentuan kadar flavonoid total pada ekstrak bunga telang dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Reagen AlCl₃ digunakan untuk menentukan gugus keto dan hidroksi yang berdekatan pada kelompok hidroksi-keto. Flavonoid menunjukkan pergeseran spektrum UV karena bereaksi dengan AlCl₃. Prinsip penentuan flavonoid ini melibatkan pembentukan kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-4, yang dikenal sebagai metode aluminium klorida (Azizah et al., 2014). Gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang berdekatan dengan gugus flavon dan flavonol, serta gugus keto pada atom C-4, terlibat dalam

pembentukan kompleks ini (Azizah et al., 2014). Quersetin termasuk dalam kelompok flavonol dengan gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang berdekatan, serta gugus keto pada atom C-4, sehingga quersetin merupakan standar yang digunakan sebagai standar dalam penentuan flavonoid (Azizah et al., 2014). Dalam penentuan jumlah flavonoid, asam asetat ditambahkan untuk mendeteksi keberadaan gugus 7-hidroksil. Untuk mendapatkan hasil yang optimal, reaksi tersebut diinkubasi selama 30 menit sebelum dilakukan pengukuran, sehingga intensitas warna mencapai titik maksimal (Azizah et al., 2014).

Pada pengamatan panjang gelombang maksimum, dilakukan pada rentang panjang gelombang 360-460 nm. Panjang gelombang maksimum yang terdeteksi untuk quersetin adalah 410 nm yang akan digunakan untuk membaca larutan seri dan sampel uji. Penetapan kurva baku quersetin dibuat dengan seri konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Ketertelusuran pengukuran dan keakuratan nilai yang diberikan oleh instrumen dan sampel dicapai melalui penggunaan kurva kalibrasi.

Dalam pembuatan kurva kalibrasi untuk quersetin, diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,0048x + 0,0707$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9997. Dengan nilai R^2 mendekati 1, dapat disimpulkan bahwa absorbansi merupakan fungsi yang berbanding lurus dengan konsentrasi quersetin, dan data absorbansi mengikuti pola regresi linier dengan sangat baik. Selanjutnya, dilakukan pengujian pada masing-masing fraksi secara triplo. Hal ini dilakukan untuk memastikan akurasi hasil analisis spektrofotometri dan dapat mengurangi kesalahan acak dan meningkatkan kepercayaan terhadap hasil yang diperoleh. Dengan demikian, dapat memastikan bahwa hasil analisis spektrofotometri yang diperoleh pada masing-masing fraksi memiliki tingkat akurasi yang tinggi.

Tabel 2. Hasil Kadar Flavonoid Total

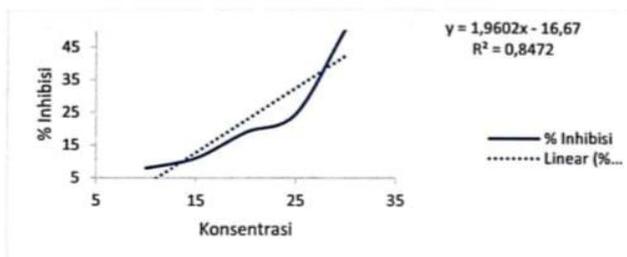
Sampel	Flavonoid (%)
Fraksi N-heksana	50,06
Fraksi Etil Asetat	59,23
Fraksi Etanol 96%	1,73

Berdasarkan Tabel 2. dapat dilihat bahwa yang memiliki kandungan flavonoid terbesar pada fraksi etil asetat.

Tabel 3. Data Regresi Linear Fraksi N-heksana Bunga Telang

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi
10	8,05 %
15	11,02 %
20	18,83 %
25	24,41 %
30	50,36 %

Berikut kurva persamaan konsentrasi (ppm) dengan % inhibisi fraksi n-heksana :

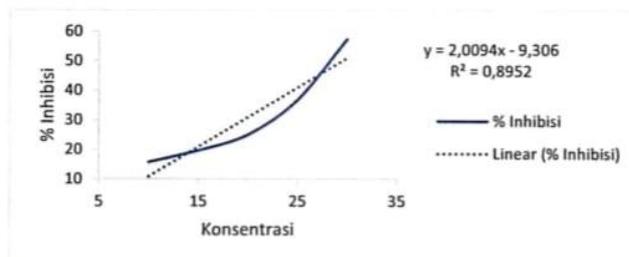


Gambar 2. Persamaan Konsentrasi dengan %Inhibisi Fraksi N-heksana

Tabel 4. Data Regresi Linear Fraksi Etil Asetat

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi
10	15,69 %
15	19,61 %
20	25 %
25	36,76 %
30	57,35 %

Berikut kurva persamaan konsentrasi (ppm) dengan % inhibisi fraksi etil asetat :

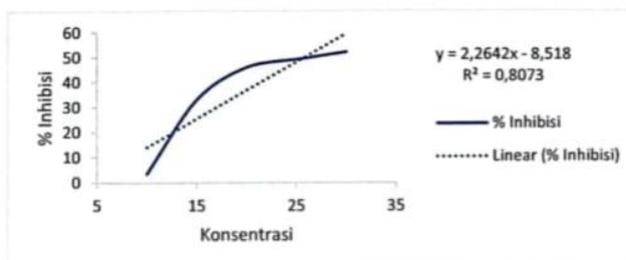


Gambar 3. Persamaan Konsentrasi dengan %Inhibisi Fraksi Etil Asetat

Tabel 5. Data Regresi Linear Fraksi Etanol 96% Bunga Telang

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi
10	3,61 %
15	32,98 %
20	45,96 %
25	49,15 %
30	52,13 %

Berikut kurva persamaan konsentrasi (ppm) dengan % inhibisi fraksi etanol 96% :



Gambar 4. Persamaan Konsentrasi dengan %Inhibisi Fraksi Etanol 96%

Dalam uji kuantitatif IC_{50} menggunakan larutan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) yang merupakan metode yang paling umum untuk menguji aktivitas antioksidannya. IC_{50} (Inhibition concentration) ialah konsentrasi larutan sampel yang diperlukan untuk menangkap 50% radikal bebas dari DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin kuat antioksidan dalam menangkal radikal bebas atau dapat dikatakan aktivitas antioksidannya yang paling aktif (Maryam, 2015). Penggolongan tingkat kekuatan antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} dengan $<50 \mu\text{g/mL}$ memiliki intensitas sangat kuat, $50-100 \mu\text{g/mL}$ kuat, $101-150 \mu\text{g/mL}$ sedang dan $>150 \mu\text{g/mL}$ merupakan lemah (Maulidha et al., 2015).

Dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum pada DPPH dengan rentang 400-800 nm. Panjang gelombang maksimum pada DPPH terletak pada panjang gelombang 515 nm dengan absorbansi sebesar 0,513. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan ekstrak dari fraksi n-heksana, etil asetat, dan etanol 96% dari bunga telang yang dilakukan dengan menggunakan beberapa konsentrasi ekstrak, yaitu 10 , 15 , 20 , 25 , dan 30 ppm. Setelah pengukuran sampel, absorbansi untuk setiap konsentrasi ditentukan, dan kemudian dilakukan perhitungan persen inhibisi pada masing-masing konsentrasi tersebut. Persen inhibisi merupakan ukuran seberapa efektif ekstrak dalam menghambat reaksi oksidasi. Selanjutnya, data konsentrasi dan nilai persen inhibisi diplot pada grafik, dan dilakukan analisis regresi linear untuk mendapatkan persamaan garis lurus yang menggambarkan hubungan antara konsentrasi ekstrak dan persen inhibisi.

Hasil analisis menunjukkan bahwa pada fraksi n-heksana, persamaan regresi linear adalah $y = 1,9602x - 16,67$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,8472, untuk fraksi etil asetat, persamaan regresi linearnya adalah $y = 2,0094x - 9,306$ dengan nilai R^2 sebesar 0,8952, dan fraksi etanol 96% didapat persamaan regresi linear $y = 2,2642x - 8,518$ dengan R^2 sebesar 0,8073. Hasil ini menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi ekstrak dan persen inhibisi. Persamaan regresi linear digunakan untuk memprediksi tingkat inhibisi berdasarkan konsentrasi ekstrak pada fraksi yang bersangkutan. Nilai R^2 digunakan untuk mengevaluasi seberapa baik persamaan regresi linear tersebut cocok dengan data yang diamati. Semakin tinggi nilai R^2 , semakin baik

persamaan regresi linear dapat menjelaskan hubungan antara konsentrasi dan persen inhibisi.

Tabel 6. Hasil Perhitungan Nilai IC₅₀

Sampel	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)
Fraksi N-heksana	34,01
Fraksi Etil Asetat	29,51
Fraksi Etanol 96%	25,84

Berdasarkan tabel 6. dari ketiga fraksi tersebut memiliki intensitas yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ <50 µg/mL. Pada fraksi etanol 96% memiliki nilai IC₅₀ terkecil yaitu 25,84 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etanol 96% memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi di antara ketiga sampel tersebut yang artinya memiliki kemampuan lebih baik dalam menangkal radikal bebas.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini berbanding lurus dengan penelitian yang dilakukan oleh Dewi & Avif (2023) mengenai Total Fenolik, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms). Dalam penelitian tersebut, fraksi etil asetat dari ekstrak Eceng Gondok memiliki kandungan flavonoid tertinggi, yakni sebesar 0,028 ± 0,0015 EQ/g. Selain itu juga menunjukkan bahwa fraksi etanol dari ekstrak Eceng Gondok memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat, dengan nilai IC₅₀ sebesar 48,64 mg/L (Dewi & Avif, 2023).

Dalam penelitian ini, Bunga Telang juga ditemukan bahwa pada fraksi etil asetat lah yang memiliki kandungan flavonoid tertinggi yaitu 59,23%, diikuti oleh fraksi n-heksana dengan kandungan sebesar 50,06%, dan fraksi etanol 96% dengan kandungan sebesar 1,73%. Selain itu, aktivitas antioksidan yang paling aktif dilihat dari nilai IC₅₀ yaitu pada fraksi etanol 96% sebesar 25,84 µg/mL, diikuti oleh fraksi etil asetat sebesar 29,51 µg/mL, dan fraksi n-heksana sebesar 34,01 µg/mL.

D. SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) didapatkan hasil uji kualitatif positif mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna menjadi jingga. Hasil dari analisis kuantitatif flavonoid dan IC₅₀ dengan metode spektrofotometri UV-Vis flavonoid terbanyak pada fraksi etil asetat sebesar 59,23%, dan aktivitas antioksidan yang paling aktif terdapat pada fraksi etanol 96% sebesar 25,84 µg/mL. Saran dalam penelitian ini yaitu untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa antioksidan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) pada sediaan farmasi.

REFERENSI

- Al-Snafi, A. E. (2016). Pharmacological importance of *Clitoria ternatea*-A review. *IOSR Journal Of Pharmacy Wwww.Iosrphr.Org*, 6(3), 68–83.
- Azizah, D. N., Kumolowati, E., & Faramayuda, F. (2014). PENETAPAN KADAR FLAVONOID METODE AlCl₃ PADA EKSTRAK METANOL KULIT BUAH KAKAO (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 45–49.
- Baba S.A. & Malik S.A. (2014). No Title. *Journal of Taibah University for Science*, 1(Determination

- of total phenolic and flavonoid content, antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of *Arisaema jacquemontii* Blume), 6.
- Denta Kusuma, A. (2019). Potensi Teh Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) sebagai Obat Pengencer Dahak Herbal Melalui Uji Mukositas. *Risenologi*, 4(2).
- Dewi, A. O. T., & Avif, A. N. (2023). Total Fenolik, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 5(2), 132–139.
- Hidayah, H., Mentari, M., Warsito, A. M. P., & Dinanti, D. (2023). Review Article : Potensi Aktivitas Antioksidan Dari Berbagai Tanaman Untuk Tabir Surya. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(2), 409–415.
- Ipandi, I., Triyasmono, L., & Prayitno, B. (2016). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi (*Leucosyke capitellata* Wedd.). *Jurnal Pharmascience*, 5(1), 93–100.
- Khasanah, S. N., Sutaryono, & Addin, Q. (2021). Analisis Kadar Tanin Ekstrak Metanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 12(2), 31–35.
- Maryam, S. (2015). KADAR ANTIOKSIDAN DAN IC 50 TEMPE KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris* L.) YANG DIFERMENTASI DENGAN LAMA FERMENTASI BERBEDA. *Proceedings Seminar Nasional FMIPA UNDIKSHA V*, 347–352.
- Maulidha, N., Fridayanti, A., & Masruhim, M. A. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Hitam (*Piper sp.*) terhadap DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(1), 16–20.
- Prayoga, D. G. E., Nociantri, K. A., & Puspawati, N. N. (2019). Identifikasi Senyawa Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(2), 111.
- Pujiastuti, E., & Islamiyati, R. (2021). AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT DAN AIR RANTING BUAH PARIJOTO (*Medinilla speciosa* Blume) DENGAN PEREDAMAN RADIKAL BEBAS DPPH. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 5(2), 135–144.
- Rebaya, A., Belghith, S. I., Baghdikian, B., Leddet, V. M., Mabrouki, F., Olivier, E., Cherif, J. K., & Ayadi, M. T. (2015). Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(1), 052–057.
- Sulistyoningdyah F., Ramayani, L. S. (2017). Skrining Fitokimia Ekstrak Infusa Kulit Petai (*Parkia speciosa* Hassk.). *Jurnal Jawara*, 4(1), 1–3.
- Wahid, A., Diah, M., & Rama, M. (2017). 224183-Uji-Aktivitas-Antioksidan-Ekstrak-Air-Da. *Jurnal Akademika Kimia*, 6(May), 125–131.
- Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S., & Abdullah, S. S. (2021). UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA DARI EKSTRAK DAN FRAKSI ASCIDIAN *Herdmania momus* DARI PERAIRAN PULAU BANGKA LIKUPANG TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROBA *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* DAN *Candida albicans*. *Pharmacon*, 10(1), 706.
- WULANDARI, E. (2017). Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Etanol dan Fraksi n-Heksana Tanaman Rumpun Bambu (*Lophaterum gracile* B.) sebagai Anti Malaria Pada Parasit Plasmodium falcifarum Strain 3D7. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Wulandari, S. (2021). *Sekar Wulandari et al., penentuan jumlah sisa pelarut dalam ekstrak akan berdampak pada sifat antibakteri.*
- Yumni, G. G., Sumantri, S., Nuraini, I., & Nafis, I. J. (2022). PROFIL ANTIOKSIDAN DAN KADAR FLAVONOID TOTAL FRAKSI AIR DAN ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L.). *Cendekia Eksakta*, 7(1), 12–17.



No : 005.06/FAR.PHB/IV/2024
Hal : Keterangan Praktek Laboratorium

SURAT KETERANGAN

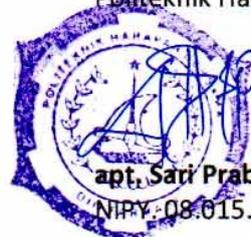
Dengan ini menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

Nama : Faizatun Nadzifah
NIM : 21080073
Judul Tugas Akhir : Penentuan Flavonoid Total Dan Nilai IC50 Fraksi Dari Ekstrak Bunga Telang
(*Clitoria ternatea* L.)

Benar – benar telah melakukan penelitian di Laboratorium Diploma III Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal.

Demikian surat keterangan ini untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Tegal, 24 April 2024
Ka. Program Studi Diploma III Farmasi
Politeknik Harapan Bersama



apt. Sari Prabandari, S.Farm., MM
NIP. 08.015.223



SURAT KETERANGAN HASIL UJI PLAGIASI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : *Mizzatur Rofatin Nisa, S.Hum, M.A.*
NIPY : *07.013.190*
Jabatan : *Pustakawan*

Menerangkan bahwa Laporan Tugas Akhir :

Judul : Penentuan Flavonoid Total Dan Nilai IC₅₀ Fraksi Dari Ekstrak Bunga Telang
(*Clitoria ternatea* L.)

yang ditulis oleh:

Nama Mahasiswa : Faizatun Nadzifah
NIM : 21080073
Email : faizatunadzifah@gmail.com

Telah dilakukan uji kesamaan (uji similarity) / uji plagiasi dengan hasil indikasi similaritas 40 %
Demikian keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Tegal, 05 Maret 2024
Petugas Perpustakaan
Politeknik Harapan Bersama,


Mizzatur Rofatin N., S.Hum, M.A.

CURRICULUM VITAE



Nama : Faizatun Nadzifah
NIM : 21080073
Jenis Kelamin : Perempuan
TTL : Brebes, 20 Juli 2002
Alamat : Jalan Sunan Gunung Jati 2 No.23
RT.04/RW.05 Limbangan Wetan, Kec.
Brebes, Kab. Brebes
No. Tlp/HP : 085326261950
Email : faizatunadzifah@gmail.com

RIWAYAT PENDIDIKAN

SD : SD Negeri 01 Limbangan Wetan Brebes
SMP : MTs Negeri 02 Brebes
SMA : SMA Negeri 01 Brebes
D-III : Politeknik Harapan Bersama

NAMA ORANG TUA

Ayah : Zaenuri
Ibu : Daiyatun Khasanah

PEKERJAAN ORANG TUA

Ayah : Pedagang
Ibu : Ibu Rumah Tangga
Alamat : Jalan Sunan Gunung Jati 2 No.23
RT.04/RW.05 Limbangan Wetan, Kec.
Brebes, Kab. Brebes
Judul Penelitian : Penentuan Flavonoid Total Dan Nilai IC₅₀ Fraksi
Dari Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)