
**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI ESTRAK BUNGA TELANG (*CLITORIA
TERNATEA L.*) DAN BUNGA ROSELLA (*HIBISCUS SABDARIFFA L.*)
MENGUNAKAN METODE DPPH (1,1-DIPHENYL-2-PYCRILHYDRAZYL)**

Andi Muhammad Farid¹, Sulastri², Muliana Hafid³

^{1,2,3}Universitas Panca Sakti

Email: andi.muhammad.farid777@gmail.com¹, nanonice17@gmail.com²,
muliana.hafid@unpacti.ac.id³

Abstrak: Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan nilai aktivitas antioksidan kombinasi Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dan Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Sampel Bunga Telang dan Bunga Rosella dikombinasi dengan variasi perbandingan (1:1) (2:1) dan (1:2) dengan konsentrasi 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm sedangkan vitamin C sebagai pembanding dibuat dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Tiap seri konsentrasi ditambahkan DPPH 40 ppm 3 mL dan diinkubasi selama 30 menit, lalu diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometri Visibel pada panjang gelombang 517 nm. Nilai IC₅₀ yang didapatkan untuk nilai kombinasi ekstrak Bunga Telang dan Bunga Rosella perbandingan 1:1 (25 mg : 25 mg), 2:1 (33,33 mg : 16,67 mg) dan 1:2 (16,67 mg : 33,33 mg) berturut-turut sebesar 26,26 ppm, 16,894 ppm dan 31, 445 ppm sedangkan nilai IC₅₀ vitamin C sebesar 7,079 ppm. Berdasarkan Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa nilai aktivitas antioksidan kombinasi Bunga Telang dan Bunga Rosella yang memiliki nilai IC₅₀ dengan kategori sangat kuat. Hasil Combination indeks (CI) dengan menggunakan perangkat lunak compuSyn dari kombinasi perbandingan 1:1 (25 mg : 25 mg), 2:1 (33,33 mg : 16,67 mg) dan 1:2 (16,67 mg : 33,33 mg) adalah (0,45), (0,41) dan (0,49) sehingga memiliki efek sinergis.

Kata Kunci: Antioksidan, Bunga Telang, Bunga Rosella, DPPH, Spektrofotometri UV-Vis.

Abstract: This study was conducted to obtain the antioxidant activity value of the combination of Butterfly Pea Flower (*Clitoria ternatea* L.) and Rosella Flower (*Hibiscus sabdariffa* L.). Butterfly Pea Flower and Rosella Flower samples were combined with various ratios (1:1) (2:1) and (1:2) with concentrations of 20, 30, 40, 50 and 60 ppm while vitamin C as a comparison was made with concentrations of 2, 4, 6, 8, and 10 ppm. Each series of concentrations was added with 3 mL of DPPH 40 ppm and incubated for 30 minutes, then the absorbance was measured using Visible Spectrophotometry at a wavelength of 517 nm. The IC₅₀ value obtained for the combination of Butterfly Pea Flower and Rosella Flower extracts in a ratio of 1:1 (25 mg: 25 mg), 2:1 (33.33 mg: 16.67 mg) and 1:2 (16.67 mg: 33.33 mg) were 26.26 ppm, 16.894 ppm and 31, 445 ppm respectively while the IC₅₀ value of vitamin C was 7.079 ppm. Based on the results of the study, it can be concluded that the antioxidant activity value of the combination of Butterfly Pea Flower and Rosella Flower has an IC₅₀ value in the very strong category. The Combination Index (CI) results using compuSyn software from the

1:1 (25 mg: 25 mg), 2:1 (33.33 mg: 16.67 mg), and 1:2 (16.67 mg: 33.33 mg) ratios were (0.45), (0.41), and (0.49), respectively, thus exhibiting a synergistic effect

Keywords: Antioxidants, Butterfly Pea Flowers, Rosella Flowers, DPPH, UV-Vis Spectrophotometry.

PENDAHULUAN

Senyawa radikal adalah produk metabolisme di dalam tubuh yang dapat menyebabkan oksidasi seperti kerusakan membran, perubahan protein, kerusakan DNA dan kematian sel. Antioksidan dapat meredam dan menangkap radikal bebas (Vitri Agustiarini, 2022).

Antioksidan atau senyawa penangkal radikal bebas adalah zat yang memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas atau bahan yang melindungi sistem biologi tubuh dari dampak negatif dari proses atau reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan. Resiko terkena kanker, penyakit jantung koroner dan penyakit lainnya dapat dikurangi dengan mengonsumsi antioksidan. Untuk menstabilkan radikal bebas, antioksidan melengkapi kekurangan elektron radikal bebas dan mencegah reaksi berantai yang berasal dari pembentukan radikal (Frelinsia V.M. Damanis, 2020).

Bunga Telang juga dikenal sebagai *Clitoria ternatea* L adalah salah satu dari banyak tanaman yang setiap bagian darinya bermanfaat bagi tubuh manusia. Dilaporkan bahwa bagian kelopak bunganya berfungsi sebagai antioksidan, antidiabetes, antiobesitas, antikanker, antiinflamasi, dan antibiotik, serta melindungi jaringan hati. Bunga Telang mengandung berbagai bahan bioaktif, termasuk yang bersifat lipofilik dan hidrofilik. Flavonol glikosida, antosianin, flavon, flavonol, asam fenolat, senyawa terpenoid dan alkaloid, serta senyawa peptida siklik atau siklotida adalah beberapa komponen bioaktif yang dapat ditemukan. Bunga Telang memiliki banyak manfaat, menjadikannya salah satu pilihan yang bagus untuk makanan fungsional dan nutrisi (Murpaung, 2020).

Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) memiliki Senyawa fitokimia potensial tersebut Kelompok fenol, alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, dan asam organik. Secara farmakologis dan fisiologis rosela herbal memiliki sifat antibakteri, antifungal, antiinflamasi, antidiabetes, antioksidan, dan antihipertensi. Selain itu, rosela herbal dapat digunakan dalam berbagai produk, seperti nanokapsul ekstrak rosela, pewarna alami, makanan fungsional, obat herbal, suplemen makanan, minyak goreng, cat dan bahan bakar nabati (Elda Nurnasari, 2021).

Berdasarkan penelitin sebelumnya dilakukan oleh (Disa Andriani, 2020) telah

melakukan penelitian terkait Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dari Daerah Sleman dengan Metode DPPH hasil penelitiannya adalah Bunga Telang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Potensi antioksidan ditetapkan dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2 picrylhydrazyl*) dengan pembanding vitamin C yang sudah terbukti memiliki potensi radikal bebas yang sangat poten. Hasil penelitian menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak etanol Bunga Telang adalah $41,36 \pm 1,191$ $\mu\text{g/mL}$, berdasarkan nilai tersebut ekstrak Bunga Telang dari daerah Sleman termasuk kategori sangat poten sehingga dapat dikembangkan sebagai salah satu sumber antioksidan dari bahan alam. Sedangkan pada penelitian Uji Aktivitas Antioksidan Etanol-Air (1:1) Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) dengan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) menunjukkan nilai IC_{50} Ekstrak Etanol-Air (1:1) Bunga Rosella sebesar 43 $\mu\text{g/mL}$ yang termasuk kedalam antioksidan sangat kuat (Vitri Agustiarini, 2022).

Berdasarkan uraian diatas Peneliti dapat menggunakan sebagai sumber rujukan untuk melakukan uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dan Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L) Menggunakan Metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Pycrilhydrazyl*) untuk mengetahui efek potensinya.

METODE PENELITIAN

A. Teknik Pengumpulan Data

1. Tahap Pengambilan dan Persiapan Bahan Uji

Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dan Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L) diperoleh dari Kota Makassar dilakukan dengan pengambilan bunga yang masih segar pada saat pagi hari. Sampel terlebih dahulu dicuci untuk menghilangkan kotoran yang dapat mengganggu, kemudian dilakukan sortasi basah untuk memisahkan bagian tanaman terhadap tanah, kerikil, atau bagian tanaman yang tidak digunakan maupun yang rusak, lalu sampel dikeringkan sampai kering, dilakukan Sortasi Kering. Selanjutnya sampel ditimbang dan diserbukkan hingga diperoleh sebuk kasar dengan menggunakan alat penghalus dan selanjutnya di ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi.

Perhitungan rendemen menggunakan rumus :

$$\text{Rendamen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100 \%$$

2. Maserasi

Masing-masing Simplisia Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dan Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L) ditimbang 200 gram lalu dimasukkan ke dalam wadah maserasi, ditambahkan pelarut etanol sampai seluruh sampel terendam 1 : 10 (1 bagian Simplisia : 10 bagian pelarut), kemudian ditutup dan dibiarkan selama 5 kali 24 jam, kemudian disaring untuk mendapatkan filtrate. Residu dimaserasi dan disaring hingga diperoleh filtrate, kemudian diuapkan dengan *Rotary vacuum evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental (Suhaenah, 2023).

3. Tahap pembuatan larutan dan pengukuran

a. Pembuatan larutan stok DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)

Larutan DPPH dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 4 mg serbuk DPPH, kemudian dilarutkan dengan pelarut etanol dalam labu tentukur 100 mL. Kemudian dicukupkan volumenya dengan etanol 96 % sampai garis tanda (Santi Sinala, 2019).

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengukur larutan DPPH 40 ppm yang telah diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang di tempat yang gelap dan diukur pada spektrofotometer UV-Vis pada range panjang gelombang 400- 800 nm.

c. Pembuatan Larutan Stok Vitamin C

Sebanyak 10 mg vitamin C ditimbang, kemudian dilarutkan dalam labu takar 100 ml dengan etanol 96%, kemudian volume diisi sampai tanda batas dengan etanol 96% (konsentrasi 100 ppm). Larutan stok vitamin C standar dibuat dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Masing-masing larutan sebanyak 2 ml dipipet ke dalam tabung reaksi yang dilapisi aluminium foil (Santi Sinala, 2019).

d. Penentuan Panjang Gelombang Vitamin C

Pada larutan pembanding vitamin C konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm masing-masing dipipet 2 ml kedalam vial dan ditambahkan larutan DPPH 40 ppm 3 ml. Kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu

kamar. Selanjutnya masing-masing larutan tersebut diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

e. Penentuan IC₅₀ Ekstrak Bunga Telang dan Estrak Bunga Rosella

Dibuat larutan uji kombinasi ekstrak Bunga Telang dan estrak Bunga Rosella perbandingan 1:1 ditimbang ekstrak Bunga Telang sebanyak 25 mg dan ekstrak Bunga Rosella 25 mg. Kemudian dilarutkan dalam labu tentukur 100 mL, lalu volumenya dicukupkan dengan etanol 96% sampai garis tanda. Pembuatan kombinasi larutan uji ekstrak Bunga Telang dan estrak Bunga Rosella masing-masing dibuat campuran 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm dan 60 ppm, kemudian dipipet 10 mL, 15 mL, 20 mL, 25 mL dan 30 mL kedalam tabung ditambahkan 3 mL larutan DPPH 40 ppm.

Dibuat larutan uji kombinasi ekstrak Bunga Telang dan estrak Bunga Rosella dengan perbandingan 2 : 1 ditimbang Bunga Telang sebanyak 33, 33 mg dan Bunga Rosella sebanyak 16, 67 mg, kemudian dilarutkan dalam labu tentukur 100 mL, lalu dicukupkan volumenya menggunakan etanol 96 % sampai garis tanda. Pembuatan kombinasi larutan uji ekstrak Bunga Telang dan estrak Bunga Rosella masing-masing dibuat campuran 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm dan 60 ppm, kemudian dipipet 10 mL, 15 mL, 20 mL, 25 mL dan 30 mL kedalam tabung ditambahkan 3 mL larutan DPPH 40 ppm.

Dibuat larutan uji kombinasi ekstrak Bunga Telang dan estrak Bunga Rosella dengan perbandingan 2 : 1 Bunga Telang sebanyak 16, 67 mg dan Bunga Rosella 33, 33 mg kemudian dilarutkan dalam labu tentukur 100 mL, lalu dicukupkan volumenya menggunakan etanol 96% sampai garis tanda. Pembuatan kombinasi larutan uji ekstrak Bunga Telang dan estrak Bunga Rosella dibuat campuran 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm dan 60 ppm, kemudian dipipet masing-masing 10 mL, 15 mL, 20 mL, 25 mL dan 30 mL kedalam tabung lalu ditambahkan 3 mL larutan DPPH 40 ppm.

Setelah itu larutan dihomogenkan dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Selanjutnya masing-masing larutan tersebut diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

B. Teknis Analisis Data

Penentuan aktivitas antiradikal dilakukan dengan perhitungan *inhibitory concentration* (IC₅₀). Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi ekstrak dan vitamin C yang memberikan % aktivitas antiradikal sebesar 50% dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis regresi linier antara kadar terhadap % penangkapan radikal

Besarnya aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Aktivitas DPPH} = \frac{\text{Absorbansi DPPH} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi DPPH}} 100 \%$$

Hasil perhitungan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam persamaan regresi $Y=bX+a$ dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan persentase kadar air (antioksidan) sebagai ordinat (sumbu Y). Data serapan yang diperoleh ditransformasikan ke dalam persamaan regresi linier yang membentuk hubungan antara konsentrasi bahan uji (x) dengan rata-rata aktivitas antioksidan (y) berdasarkan serangkaian pengukuran berulang sehingga diperoleh nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi bahan uji. Bahan uji diperlukan untuk mengais 50% radikal DPPH selama 30 menit.

Analisis efektivitas kombinasi ekstrak. Data hasil pengukuran spektrofotometer UV-VIS dianalisis menggunakan software CompuSyn untuk mengetahui indeks kombinasi (CI) yang digunakan sebagai parameter interaksi kombinasi antara dua ekstrak mulai dari sinergis hingga antagonis, dimana data referensi mewakili konsentrasi sebagai dosis dan penyerapan sebagai paparan perangkat lunak CompuSyn (Chou, 2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan melalui pengujian aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dan ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), maka didapat hasil sebagai berikut :

1. Hasil rendamen dan Karakteristik Ekstrak

Tabel 3. Hasil rendemen ekstrak Bunga Telang dan ekstrak Bunga Rosella

Sampel	Bobot sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendamen (%) (b/b)
--------	------------------	----------------------	-----------------------

Bunga Telang	200 g	21,18 g	10,59 %
Bunga Rosella	200 g	18,464 g	9,232 %

Tabel 4. Hasil karakteristik ekstrak Bunga Telang dan ekstrak Bunga Rosella

No.	Spesifikasi	Deskripsi Ekstrak Bunga Telang	Deskripsi Ekstrak Bunga Rosella
1	Rendamen %	10,59%	9,232 %
2	Bentuk	Ekstrak Pekat	Ekstrak Pekat
3	Warna	Biru Kehitaman	Merah Kehitaman
4	Bau	Khas	Khas
5	Rasa	Agak Pahit	Agak Pahit

2. Hasil pengukuran % inhibisi ekstrak Bunga Telang dan Bunga Rosella Serta Vitamin C.

Tabel 5. Perhitungan % Inhibisi kombinasi ekstrak Bunga Telang dan Bunga Rosella

Perban Dingan	Konse ntrasi	Replikasi		Abs. Rata-rata	DPPH	% Inhibisi
		1	2			
EBT: EBR 1:1 (25 mg : 25 mg)	20	0,447	0,445	0,446	0,829	46,200
	30	0,402	0,396	0,399	0,829	51,869
	40	0,347	0,340	0,343	0,829	58,564
	50	0,319	0,310	0,314	0,829	62,062
	60	0,275	0,267	0,271	0,829	67,310
EBT: EBR 2:1 (33,33 mg : 16,67 mg)	20	0,395	0,393	0,394	0,829	52,472
	30	0,358	0,355	0,356	0,829	56,996
	40	0,305	0,302	0,303	0,829	63,389
	50	0,274	0,270	0,272	0,829	67,189
	60	0,202	0,197	0,199	0,829	75,934
EBT: EBR	20	0,451	0,450	0,450	0,829	45,657

1:2 (16,67 mg : 33,33 mg)	30	0,425	0,423	0,424	0,829	48,854
	40	0,382	0,383	0,382	0,829	53,860
	50	0,352	0,346	0,349	0,829	57,901
	60	0,342	0,337	0,339	0,829	59,047

Keterangan:

EBT : Ekstrak Bunga Telang

EBR : Ekstrak Bunga Rosella

Tabel 6. Perhitungan % Inhibisi Vitamin C

Vitamin C	Konsentrasi	Abs. Vit C	DPPH	%Inhibisi
	2	0,611	0,829	26,296
	4	0,563	0,829	32,086
	6	0,466	0,829	43,787
	8	0,389	0,829	53,076
	10	0,273	0,829	67,068

3. Hasil persamaan regresi linier dan nilai IC₅₀ dari kombinasi Bunga Telang dan ekstrak Bunga Rosella.

Tabel 7. Hasil persamaan regresi linier dan nilai IC₅₀ dari kombinasi ekstrak Bunga Telang dan Bunga Rosella serta kombinasi (1:1, 2:2 dan 1:2) dan pembanding

Larutan Uji	IC ₅₀ (ppm)	Kategori
Kombinasi EBT dan EBR 1:1 (25 mg : 25 mg)	26,262	Sangat Kuat
Kombinasi EBT dan EBR 2:1 (33,33 mg : 16,67 mg)	16,894	Sangat Kuat
Kombinasi EBT dan EBR 1:2 (16,67 mg : 33,33 mg)	31,445	Sangat Kuat
Vitamin C	7,079	Sangat Kuat

4. Hasil Analisis menggunakan perangkat lunak CompuSyn

Tabel 8. Hasil Combination Index (CI) menggunakan perangkat lunak CompuSyn

EBT : EBR	Nilai CI	Deskripsi
1 : 1 (25 mg : 25 mg)	0,45	Sinergis
2 : 1 (33,33 mg : 16,67 mg)	0,41	Sinergis
1 : 2 (16,67 mg : 33,33 mg)	0,49	Sinergis

Pembahasan

Ekstraksi merupakan langkah awal yang dilakukan sebagai bagian dari persiapan sampel untuk digunakan sebagai uji berikutnya. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode ekstraksi maserasi. Tujuan penggunaan metode maserasi ini adalah untuk memisahkan senyawa aktif yang terkandung pada sampel bunga telang dan bunga Rosella menggunakan pelarut etanol. Ekstraksi maserasi terjadi melalui proses difusi dimana larutan dengan konsentrasi rendah dipaksa keluar. Pelarut etanol dengan konsentrasi lebih tinggi menembus inti sel bunga telang dan bunga rosella melalui dinding sel sehingga menyebabkan rusaknya dinding sel dan membran sel. Hal ini menyebabkan metabolit sekunder yang terdapat pada sitoplasma di dalam sel keluar dan larut dalam pelarut etanol, sehingga konsentrasi larutan di dalam sel lebih tinggi dibandingkan di luar sel dan terjadi proses difusi (Suriyawati, 2018).

Maserasi merupakan metode ekstraksi dingin yang banyak digunakan dan paling sederhana dibandingkan metode lainnya, cukup merendam sampel dalam pelarut yang sesuai. Sampel dibuat dalam bentuk serbuk kasar untuk meningkatkan luas kontak antara pelarut dengan bubuk simplisia sehingga filtrasi lebih efisien (Suriyawati, 2018).

Ekstraksi dilakukan sebanyak 5 kali selama 24 jam untuk memperoleh ekstrak yang lebih banyak. Proses filtrasi menghasilkan pembentukan residu dan filtrat. Filtrat yang disaring dipekatkan menggunakan penguap vakum putar. Prinsip kerja rotary vakum evaporator adalah proses pemisahan senyawa dan pelarut dengan cara memanaskan dan menurunkan tekanan dalam sistem sehingga pelarut dapat menguap pada titik didih yang lebih rendah.

Rendamen merupakan perbandingan jumlah (kualitas) ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi yaitu yang terdapat pada sampel Bunga Telang dan Bunga Rosella yang terekstrak dari pelarut yang digunakan. Kualitas rendamen dapat digunakan untuk mengetahui kemampuan pelarut dalam memisahkan senyawa aktif yang terdapat pada simplisia yang

digunakan. Hasil karakterisasi ekstrak pekat Bunga Telang dan Bunga Rosella ditunjukkan pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Penentuan aktivitas antioksidan berfungsi untuk mengetahui panjang gelombang (λ) yang memiliki serapan tertinggi. Pengukuran sampel harus dilakukan, pada panjang gelombang maksimum agar kepekaanya lebih maksimal dan meminimalkan kesalahan. Selain itu, Panjang gelombang maksimum untuk perubahan setiap satuan konsentrasi memiliki serapan yang paling besar, bentuk kurva absorbansi datar dan memenuhi hukum Lambert-beer. Radikal DPPH memiliki warna komplementer ungu dan memberikan absorbansi maksimum pada Hasil pengukuran serapan maksimum larutan DPPH 40 $\mu\text{g/mL}$ dalam etanol 96% menggunakan spektrofotometer UV-visibel. Hasil pengukuran menunjukkan serapan maksimum sebesar 0,829 pada panjang gelombang 517 nm.

Setelah ditambahkan larutan DPPH pada setiap kombinasi ekstrak dan diinkubasi selama 30 menit, tujuannya adalah untuk memberikan waktu reaksi donasi yang optimal terhadap radikal bebas dan akan terjadi perubahan warna yaitu dari ungu menjadi ungu muda menjadi kuning muda. Perubahan warna dari ungu tua menjadi ungu muda menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada senyawa uji. Semakin banyak senyawa DPPH yang distabilkan oleh metabolit sekunder dalam sampel, maka intensitas warna atau pemudarannya semakin rendah, sehingga nilai serapannya juga akan semakin rendah. Jika serapannya rendah maka nilai % aktivitasnya akan semakin tinggi.

Pengujian antioksidan sampel dilakukan pada panjang gelombang maksimum 517 nm selama waktu stabilitas dengan konsentrasi yang berbeda: 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm dan 60 ppm. Prinsip metode ini adalah senyawa DPPH yang tidak bereaksi dengan antioksidan (sis) akan terbaca nilai serapannya pada panjang gelombang cahaya tampak 517 nm dalam pelarut yaitu etanol 96 %, dan dapat dilihat secara fisik melalui perubahan warna. dari ungu ke ungu muda, merah muda atau kuning muda. Larutan kontrol DPPH digunakan untuk mengukur potensi antioksidan sebagai bahan pembanding dalam menentukan potensi antioksidan sampel. Selain itu, larutan kontrol menentukan penyerapan radikal DPPH yang tidak tereduksi oleh sampel. Semakin besar perbedaan serapan maka semakin tinggi aktivitas antioksidan sampel. Semakin tinggi konsentrasi sampel maka semakin besar pula kemampuan sampel dalam menangkap radikal bebas.

Hasil persentase aktivitas antioksidan tersebut dapat digunakan untuk mengetahui potensi

aktivitas antioksidan suatu sampel, yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} yang merupakan parameter yang digunakan untuk menunjukkan konsentrasi ekstrak yang diuji mampu memblokir 50% radikal bebas DPPH. . Semakin rendah nilai IC_{50} maka semakin tinggi nilai aktivitasnya.

Vitamin C yang lebih dikenal dengan asam askorbat merupakan salah satu zat gizi yang sangat penting bagi kehidupan, kesehatan dan berperan penting dalam mencegah berbagai penyakit, serta merupakan vitamin yang larut dalam air. Vitamin C juga merupakan antioksidan larut air yang paling terkenal, sangat efektif melawan radikal bebas dan aktif dalam pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS). Vitamin C berperan sebagai senyawa antioksidan alami dengan aktivitas larut air yang tinggi, namun karena bersifat hidrofilik, efektivitasnya dalam menstabilkan lemak dan minyak menjadi berkurang.

Pada penelitian ini digunakan vitamin C sebagai larutan untuk membandingkan aktivitas antioksidan dengan beberapa variasi konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Aktivitas antioksidan vitamin C. Hasil Tabel 6 menunjukkan bahwa semakin rendah konsentrasi vitamin C maka semakin rendah pula persentase aktivitas antioksidan yang diperoleh. Namun ketika nilai aktivitas antioksidan meningkat dengan semakin tinggi konsentrasi maka semakin banyak komponen partikel vitamin C yang dibutuhkan untuk mengoksidasi DPPH seiring dengan meningkatnya jumlah radikal bebas. Hasil pada Tabel 7 menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak Bunga Telang dan Bunga Rosella dan pembanding memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda satu dengan yang lain. Kombinasi Bunga Telang dan Bunga Rosella dengan perbandingan 1:1 (25 mg : 25 mg), 2:1 (33,33 mg : 16,67 mg) dan 1:2 (16,67 mg : 33,33 mg) berturut-turut menghasilkan 26,262 ppm, 16,894 ppm dan 31,445 ppm termasuk kategori sangat kuat dan juga pembanding Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan kategori sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 7,079 ppm. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (Disa Andriani, 2020) mengenai Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dari Daerah Sleman dengan Metode DPPH hasil penelitiannya adalah Bunga Telang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Potensi antioksidan ditetapkan dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dengan pembanding vitamin C yang sudah terbukti memiliki potensi radikal bebas yang sangat poten. Hasil penelitian menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak etanol Bunga Telang adalah $41,36 \text{ ppm} \pm 1,191 \text{ } \mu\text{g/mL}$, berdasarkan nilai tersebut ekstrak Bunga

Telang dari daerah Sleman termasuk kategori sangat poten sehingga dapat dikembangkan sebagai salah satu sumber antioksidan dari bahan alam. Kemudian pada penelitian Uji Aktivitas Antioksidan Etanol-Air (1:1) Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) dengan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) menunjukkan nilai IC_{50} Estrak Etanol-Air (1:1) Bunga Rosella sebesar 43 ppm yang termasuk kedalam antioksidan sangat kuat (Vitri Agustiarini, 2022). Perbedaan pada masing-masing kombinasi ekstrak dimana pada perbandingan yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi ditunjukkan pada perbandingan 2:1 (33,33 mg : 16,67 mg) yang memiliki ekstrak bunga telang lebih banyak dibandingkan Bunga Rosella dilanjutkan pada perbandingan 1:1 (25 mg : 25 mg) yang memiliki ekstrak Bunga Telang dan Bunga Rosella sama dan pada perbandingan 1:2 (16,67 mg : 33,33 mg) ekstrak Bunga Rosella lebih banyak dari bunga telang. Sehingga pada penelitian ini dapat diketahui bahwa bunga telang memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat dibandingkan ekstrak Bunga Rosella. Selain itu juga penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi kedua jenis antioksidan ini menghasilkan potensi aktivitas antioksidan yang lebih tinggi atau penggunaan kombinasi ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan mampu memberikan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya.

Nilai indeks kombinasi (CI) merupakan ukuran kuantitatif tingkat interaksi obat dalam rentang sinergis dan antagonis untuk menentukan titik akhir pengukuran efek spesifik, dimana nilai $CI < 1$, $= 1$, > 1 menunjukkan efek sinergis dan aditif. memengaruhi. dan efek antagonis (Chou, 2006). Data dari aplikasi CompuSyn diperoleh dengan mengganti data pengukuran DPPH dan menggabungkan ekstrak dengan instrumen spektrofotometri, artinya konsentrasi sebagai dosis dan serapan sebagai pengaruh untuk memperoleh nilai CI. Nilai Combination Index (CI) dari kombinasi ekstrak dengan perbandingan 1:1 (25 mg : 25 mg), 2:1 (33,33 mg : 16,67 mg) dan 1:2 (16,67 mg : 33,33). Penggunaan software CompuSyn dapat dilihat pada tabel 8 dimana nilai CI masing-masing sebesar 0.44, 0.41 dan 0.49. Berdasarkan hasil analisis menggunakan aplikasi CompuSyn diketahui bahwa kombinasi EBT dan EBR dengan semua perbandingan tersebut menghasilkan efek yang sinergis. Sinergisme merupakan gabungan kerja antioksidan atau antioksidan dengan senyawa lain sehingga menghasilkan peningkatan aktivitas antioksidan karena penjumlahan aktivitas masing-masing antioksidan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Kombinasi estrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dan Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) menggunakan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Pyrcilhydrazyl*) menghasilkan aktivitas antikaisdan perbandingan 1:1 (25 mg : 25 mg) sebesar 22,262 ppm, 2:1 (33,33 mg : 16,67 mg) sebesar 16,894 ppm dan 1:2 (16,67 mg : 33,33 mg) sebesar 31,445 ppm dengan kategori sangat kuat.
2. Perbandingan kombinasi ekstrak Bunga Telang dan Bunga Rosella yang memiliki nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) optimal adalah perbandinga 2:1 (33,33 mg : 16,67 mg) sebesar 16,894 ppm.
3. Hasil Combination Indeks (CI) kombinasi ekstrak Bunga Telang dan Bunga Rosella perbandingan 1:1 (25 mg : 25 mg), 2:1 (33,33 mg : 16,67 mg) dan 1:2 (16,67 mg : 33,33 mg) adalah (0,45), (0,41) dan (0,49) memberikan efek sinergis

Saran

Adapun saran pada penelitian selanjutnya adalah dilakukan pembuatan sediaan antioksidan kombinasi ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dan Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L).

DAFTAR PUSTAKA

- Anindita, R., Yolanda, H., & Inggraini, M. 2022. *Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Senyawa Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Lemon (Citrus limon (L.) Osbeck) Terhadap Staphylococcus aureus*. Jurnal Bioshell.
- Andriani, D., & Murtisiwi, L. 2020. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang(Clitoria ternatea L) dari Daerah Sleman dengan Metode DPPH*. In Jurnal Farmasi Indonesia.
- Adrianto, A., Laila Vifta, R., & Dyahariesti, N.2020. *Skrining Fitokimia Metabolit Sekunder Ekstrak Bunga Rosella Dengan Perbandingan Pelarut Etanol 96% dan 70% Sera Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH*.
- Angraini,N.,Yanti,F., Kunci, K., & Sains, J. P.2021. *Penggunaan spektrofotometer Uv-Vis untuk analisis nutrien fosfat pada sedimen dalam rangka pengembangan modul*

- praktikum oseanografi kimia*. Jurnal Penelitian Sains
- Apriani, S., Pratiwi, F. 2021. *Aktivitas Antioksidan Ekstrakbungatelang (Clitoria Ternatea L.) Menggunakanmetode DPPH (2,2 Diphenyl 1-1 Pickrylhydrazyl)*. Jurnal Ilmiah Kohesi.
- Budiasih, K.S. 2017. *Kajian Petonsi Farmakologis Bunga Telang(Clitoria ternatea L.) Di dalam: Sinergi Penelitian dan Pembelajaran untuk Mendukung Pengembangan Literasi Kimia pada Era Global*. Prosiding Seminar Nasional Kimia: UNY
- Cahyaningsih, E., K. Sandhi E.K, dan Santoso, P. 2019. *Skrining Fitokimia dan uji aktivitas Antioksidan ekstrak etanol bunga Telang (Clitoria ternatea L.) dengan metode Spektrofotometri UV-Vis*. Jurnal Ilmiah.
- Chou, T. C. (2006). *Theoretical Basis, Experimental Design and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studiens*. New York: Pharmacon.
- Depkes RI. Farmakope Indonesia edisi VI. 2020. *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Disa Andriani, L. M. 2020. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70 % Bunga Telang (Clitoria ternatea L) dari Daerah Sleman dengan Metode DPPH*. Jawa Tengah: Pharmacon.
- Djaeni, M., Ariani, N., Hidayat, R., & Utari, F. 2017. *Ekstraksi Antosianin Dari Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L.) Berbantu Ultrasonik: Tinjauan Aktivitas Antioksidan*. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan.
- Elda Nurnasari, A. D. 2021. *Potensi Diversifikasi Rosela Herbal (Hibiscus Sabdariffa L) untuk Pangan dan Kesehatan*. Malang: e Jurnal Libang Pertanian.
- Frelinsia V.M. Damanis, D. S. 2020. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ascidian (Herdmania Momus) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Antioxidant Activity Test Of Ethanol Extracts Of Ascidian Herdmania momus) Using DPPH Method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)*. Manado: Pharmacon.
- Gupta RK, Patel AK, Shah N, Choundhary AK, Jha UK, Yadav UC, Gupta PK, Pakuwal U, 2014. *Oxidative stress and antioksidant in disesease and cancer: A review*. Asian Pacific of cancer and prevention.
- Halliwell B, Gutteridge JMC, 2015. *Free radicals in biology and medicine*. Fifth edition, Oxford : Oxford University Press.
- Indah Trisnawati, Wikanastri H., Nurhidajah. 2019. *Tingkat Kekeruhan, Kadar Vitamin C dan*

- Aktivitas Antioksidan Infused dengan Variasi Suhu dan Lama Perendaman*. Pangan dan Gizi.
- Kusbandari, A., & Susanti, H. 2017. *Kandungan beta karoten dan aktivitas penangkapan radikal bebas terhadap DPPH (1, 1- difenil 2-pikrilhidrazil) ekstrak buah blewah (Cucumis melo var. Cantalupensis L) secara spektrofotometri UV-Visibel*. Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas.
- Lopez-Alarcon, Camilo & Ana Denicola. 2013. *Evaluating the Antioxidant Capacity of Natural Products: A review on chemical and cellular-based assays*. Analytica Chimica Acta.
- Makasana, J., & Dholakiya, B. Z. 2017. *Extractive determination of bioactive flavonoids from butterfly pea (Clitoria ternatea Linn.)*. Research on Chemical Intermediates.
- Mandroh, Catarina. 2018. *Pengaruh Penambahan Volume Ektrak Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L.) terhadap Total Bakteri Asam Laktat (BAL), pH, Keasaman dan Uji Organoleptik dalam Pembuatan Yoghurt Susu Sapi*. Yoyakarta: Sanata Dharma
- Martines MVU and Navarro, 2016. *Antioxidant Capacity of Food. Free radicals and antioksidants*.
- Murpaung, A. M. 2020. *Tinjauan Manfaat Bunga Telang (Clitoria ternatea L) bagi Kesehatan Manusia*. Swiss German University: Jurnal Of Functional Food and Nutraceutical.
- Raudhotul Jami, S., Ifaya, M., Pusmarani, J., Nurhikma, E. .2018. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Pisang Raja (Musa Paradisiaca sapientum) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1- Pikrilhidrazil)*. Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia.
- Rita Elvianis. 2022. *Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Rosella*. UIN: Riau
- Santi Sinala, S. T. 2019. *Penentuan Aktivitas Antioksidan Secara In Vitro dari Ekstrak Etanol Propolis dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil)*. Poltekes Kemenkes Makassar: Media Farmasi Poltekes Makassar.
- Satria, R., Hakim, A. R., & Darsono, P. V. 2022. *Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Fraksi n-Heksana Ekstrak Daun Gelinggang dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. Journal of Engineering, Technology, and Applied Science.
- Singh, N. K. et al., 2018. *Anti-allergy and anti-tussive activity of Clitoria ternatea L. in experimental animals*. Journal of Ethnopharmacology.
- Suhaenah, A. N. 2023. *Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat*

Daun Karet Keribo (Ficus elastica) dengan Menggunakan Metode Perendaman Radikal Bebas DPPH.

- Suryawati, N., 2018. *Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% kombinasi kunyit putih (Curcuma Zedoaria Rosc.) dan buah pare (Momordica Charantia L.) menggunakan metode DPPH (1,1- Difenil-2- Pikrilhidrazil).* Skripsi. Malang : Fakultas sains dan teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Susanty, F. B.2016. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Etanol Tongkol Jagung (Zea mays L.).* Universitas Muhammadiyah Jakarta: Jurnal Konversi..
- Syahza, A., Bakce, D., Irianti, M., Asmit, B., & Nasrul, B. 2021. *Development of superior plantation commodities based on sustainable development.*
- Tropis, J. P., Ukhty, N., Perikanan, J., Perikanan, F., Kelautan, I., Umar, T., & Barat, A. 2018. *Komponen Metabolit Sekunder Dan Aktivitas Antioksidan Spirulina Fusiformis Yang Dikultur Pada Media Campuran (Pupuk R1, Urea Dan Katalis) Secondary Metabolite Components And Antioxidant Activities Of Spirulina Fusiformis Cultured In Mixed Media (Fertilizer R1, Urea And Catalyst).*
- Udayani, N.N.W, & Sumantra, I.K. 2021. *Pemberdayaan Masyarakat Melalui Diversifikasi Produk Bunga Rosella Dalam Mewujudkan Sinergitas Sektor Pertanian Dan Pariwisata Di Desa Wisata Desa Baha, Mengwi.* Abditani : Jurnal Pengabdian Masyarakat.
- Vitri Agustiarini, D. P.2022. *Uji Antioksidan Ekstrak Etanol-air (1:1) Bunga Rosella (Hubiscus Sabdariffa L.) dengan Metod*