

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Bunga Telang

1. Sistematika Tanaman

Klasifikasi bunga telang menurut Meutia Zahara (2022).

Kingdom : Plantae
Divisi : Tracheophyta
Infrodivisi : Angiospermae
Kelas : Mangnoliopsida
Ordo : Fabales
Familia : fabaceae
Genus : Clitoria
Spesies : *Clitoria ternatea* L.



Gambar 1. Bunga Telang (Meutia Zahara, 2022)

2. Morfologi Tanaman

Bunga telang berasal dari keluarga Fabaceae dan diyakini berasal dari Asia Tropis, Meskipun terdapat pendapat bahwa bunga ini kemungkinan berasal dari wilayah tengah Amerika Selatan, penyebarannya ke daerah tropis, termasuk Indonesia, diperkirakan terjadi sejak abad ke-19. Secara morfologis, batang telang memiliki panjang berkisar antara 0,5 hingga 3 meter, bersifat herbaceous, berbentuk bulat, dan dilapisi rambut pada permukaannya, dengan perputaran ke arah berlawanan jarum jam (*sinistrorsum volubilis*). Akar telang adalah jenis tunggang yang diperkuat oleh banyak akar lateral. Daunnya berwarna hijau, berbentuk lonjong, dan merupakan daun majemuk menyirip yang tumbuh berpasangan. Bagian bawah daunnya berbulu, dan tangkainya dapat memanjang hingga 2,5 cm. Bunga telang, yang sering ditemukan dalam warna biru, ungu, atau putih,

memiliki benang sari dan putik yang tersembunyi di dalam mahkotanya. Bunga tunggal ini simetris, ditandai oleh lima kelopak dan tiga mahkota yang bersatu. Buah polongnya bisa mencapai panjang 14 cm dan mengandung sekitar 8 hingga 10 biji. (Zahara, 2022).

3. Kandungan Kimia Tanaman

Bunga telang memiliki berbagai senyawa aktif, antara lain alkaloid, triterpenoid, tanin, karbohidrat, protein, saponin, phlobatannin, senyawa fenolik, flavanol glikosida, flavonoid, *stigmast-4-ena-3,6-dion*, antrakuinon, antosianin, steroid, serta minyak atsiri. Selain itu, kandungan asam lemak dalam bunga ini mencakup asam palmitat, linoleat, oleat, stearat, dan beberapa jenis lainnya. Senyawa-senyawa tersebut telah terbukti memiliki banyak efek farmakologis, termasuk sebagai antioksidan, hypolipidemic, antikanker, antiinflamasi, analgesik, antipiretik, antidiabetes, antimikroba, antiparasit gastrointestinal, insektisida, dan efek farmakologis lainnya. Di samping protein dan asam lemak, biji *Clitoria ternatea* juga diketahui memiliki beragam senyawa bioaktif lainnya, seperti asam *p-hidroksisinamat*, β -sitosterol, γ -sitosterol, adenosin, flavanol-3-glikosida, etil- α -D-galaktopiranosida, 3,5,7,4'-tetrahidroksiflavon, 3-ramnoglukosida, heksakosanol, serta glikosida antoxantin. (Pratiwi *et al.*, 2020).

4. Khasiat Tanaman

Tanaman telang (*Clitoria ternatea*) dalam pengobatan tradisional dan secara empiris dipercaya mampu mengatasi berbagai gangguan kesehatan, seperti bronkitis, infeksi saluran kemih, rematik, maag, TBC, disentri, keputihan, insomnia, epilepsi, sakit telinga, asma, demam, gangguan kulit seperti gatal-gatal, eksim, dan impetigo, serta gangguan saluran pencernaan dan kandung kemih seperti kolik, sembelit, asites, mencegah menstruasi, melawan sengatan kalajengking dan ular, serta memiliki efek pencahar, obat cacing, dan zat pendingin. Bunga telang juga berguna dalam mencegah penyakit diabetes, peradangan tubuh, infeksi mikroba, obesitas, kanker, dan untuk melindungi hati. Akar telang mengandung beberapa senyawa aktif seperti turunan zat steroid, saponin, flavonoid, dan glikosida. Bunga telang mengandung berbagai zat fitokimia yang memiliki potensi sebagai obat, termasuk sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, analgesik, anti-parasit, antidiabetes, antikanker, imunomodulator, dan antihistamin (Nabila *et al.*, 2020).

B. Daun Manggis

1. Sistematika Tanaman

Klasifikasi daun manggis menurut Rita Elfianis S. P M.Sc (2022).

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Viridiplantae
Infra Kingdom	: Streptophyta
Super Divisi	: Embryophyta
Division	: Tracheophyta
Sub Divisi	: Spermatophytina
Class	: Magnoliopsida
Super Ordo	: Rosanae
Ordo	: Malpighiales
Famili	: Clusiaceae
Genus	: <i>Garcinia</i> L.
Spesies	: <i>Garcinia mangostana</i> L



Gambar 2. Daun Manggis (Rita Elfianis S. P M.Sc, 2022)

2. Morfologi Tanaman

Manggis merupakan tanaman tropis yang tumbuh di daerah basah dan termasuk dalam suku *Guttiferae* (*Clusiaceae*). Salah satu jenis tanaman *Garcinia* yang terkenal adalah *Garcinia mangostana*, yang sering disebut sebagai tanaman manggis (Madani *et al.*, 2021). Tanaman manggis sangat berguna bagi manusia dan dimanfaatkan secara luas. Pada bagian tanaman manggis terutama daun manggis umumnya padat dan banyak dijumpai pada varietas hutan, terutama pada pohon yang sudah tua. Seiring bertambahnya usia pohon, massa jenis cabangnya meningkat, yang pada gilirannya memengaruhi kerapatan daun. Bentuk dan ukuran daun bervariasi bahkan di dalam satu tanaman. Secara umum, daun memiliki bentuk eliptik, baik pada varietas lokal maupun varietas hutan. Biasanya, daun kultivar lokal memiliki warna permukaan atas hijau kekuningan, sedangkan daun kultivar hutan memiliki warna hijau tua. Daunnya memiliki permukaan

bawah yang mengkilap, berwarna hijau muda, dan tumbuh berhadapan. Ujungnya runcing (acuminate) dengan tepi yang rata dan struktur pertulangan menyirip. Ukuran daun bervariasi; panjangnya bisa dari 14,93 hingga 25 cm dan lebarnya 7,26 hingga 23,4 cm. Demikian pula, petiola memiliki panjang 1,16 hingga 2,83 cm dan lebar 0,33 hingga 2,3 cm. Ketebalan daun juga berbeda, di mana kultivar lokal memiliki daun yang tipis, sementara kultivar hutan memiliki daun yang tebal (Napsiyah *et al.*, 2017)

3. Kandungan Kimia Tanaman

Manggis memiliki beberapa senyawa kimia aktif yang tersebar di seluruh tanamannya. Kulit batang mengandung alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan glikosida, sedangkan daunnya memiliki kandungan flavonoid dan tanin. (F. Sari *et al.*, 2019)

4. Khasiat Tanaman

Tanaman manggis secara tradisional, manggis dimanfaatkan untuk kesehatan di berbagai wilayah, terutama di Asia Tenggara. Masyarakat lokal menggunakannya untuk mengobati penyakit pencernaan seperti sakit perut, diare, dan disentri, serta untuk penyembuhan luka dan infeksi ulkus. Manggis juga dikenal sebagai bahan pengobatan tradisional untuk penyakit kronis seperti kanker, diabetes mellitus, dan penyakit jantung. Selain memiliki aktivitas anti-kanker, tanaman ini juga merupakan sumber antioksidan yang melimpah. (Silalahi, 2021).

C. Simplisia

Simplisia adalah bahan dasar utama dalam pembuatan obat herbal. Secara sederhana, simplisia adalah bahan-bahan alami yang langsung diambil dari sumbernya, tanpa melalui proses kimia yang rumit agar dapat mempertahankan kandungan senyawa aktif alami di dalamnya (Indonesia, 2017). Pengeringan tidak lebih dari 60°C. Tujuan pengujian kualitas simplisia adalah untuk mencapai standarisasi, sehingga ketika digunakan dalam pembuatan obat, kandungannya terjamin konsistensinya. Standarisasi ini penting dilakukan agar bahan baku obat terjamin keseragaman kandungannya dan menjamin efek farmakologis dari tanaman tersebut (Jayani *et al.*, 2018).

D. Ekstraksi

Ekstrak merupakan sediaan kental hasil ekstraksi dari simplisia nabati maupun hewani yang mengandung zat aktif terlarut yang

diperoleh menggunakan pelarut tertentu yang sesuai dengan karakteristik bahan dan senyawa yang diinginkan. Proses ini melibatkan penggunaan pelarut yang dapat melarutkan senyawa aktif, diikuti dengan penguapan hingga hampir semua pelarut menguap, dan hasilnya diberi sikap dengan cara spesifik untuk memenuhi standar yang telah ditetapkan. Ekstraksi adalah metode yang melarutkan komponen kimia dari suatu bahan menggunakan pelarut cair, memisahkan zat yang larut seperti alkaloid, flavonoid, dan minyak atsiri dari komponen yang tidak larut seperti serat, karbohidrat, dan protein.

Kelarutan dan stabilitas senyawa aktif dalam simplisia dipengaruhi oleh struktur kimianya yang beragam. Stabilitas ini rentan terhadap panas, udara, cahaya, logam berat, dan tingkat keasaman. Oleh karena itu, identifikasi senyawa aktif sangat penting untuk menentukan pelarut dan metode ekstraksi yang paling efektif. Ekstraksi merupakan proses penting dalam penelitian bahan alam yang bertujuan untuk mengambil zat aktif dari tanaman atau hewan. Proses ini dilakukan dengan cara merendam bahan dalam pelarut tertentu agar senyawa aktif yang terkandung di dalamnya dapat larut dan dipisahkan dari bahan aslinya. (Kate, 2014).

Ekstraksi langkah awal dalam pemisahan produk alami dari bahan mentahnya, dan beberapa metode yang umum digunakan mencakup ekstraksi pelarut, distilasi, pengepresan, dan sublimasi. Metode yang paling umum adalah ekstraksi pelarut, melibatkan beberapa tahapan, seperti penetrasi pelarut ke dalam matriks padat, larutnya zat terlarut, difusi zat terlarut keluar dari matriks, dan pengumpulan zat terlarut yang diekstraksi. Faktor-faktor yang mempercepat difusivitas dan kelarutan selama langkah-langkah ini akan meningkatkan efisiensi ekstraksi. Hasil ekstraksi dapat dipengaruhi oleh sifat pelarut, ukuran partikel bahan baku, rasio pelarut terhadap padat, suhu, dan durasi ekstraksi (Zhang *et al.*, 2018).

Pada proses ekstraksi menggunakan pelarut yang tepat adalah aspek paling krusial yang harus diperhatikan. Pemilihan pelarut didasarkan pada kemampuannya untuk mengekstrak sebagian besar metabolit sekunder yang diinginkan dari bahan tanaman mentah. Prinsip dasar ekstraksi dengan pelarut terkait dengan sifat kepolaran zat dalam pelarut selama proses ekstraksi. Senyawa polar cenderung larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dan air.

Sebaliknya, senyawa nonpolar lebih cocok larut dalam pelarut nonpolar seperti kloroform, n-heksana, dan eter. Faktor keberhasilan pada proses ekstraksi ditentukan dari jenis dan kualitas pelarut yang dipakai keberhasilan proses ekstraksi. Pelarut dapat dikatakan efektif apabila memiliki kemampuan melarutkan zat yang diinginkan, memiliki titik didih rendah, ekonomis, non-toksik, dan tidak mudah terbakar.

Sifat polaritas pelarut memainkan peran penting dalam mengekstrak berbagai senyawa. Jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi sangat mempengaruhi jenis senyawa yang dapat diambil dari bahan alami. Pelarut polar, seperti air dan etanol, lebih efektif dalam melarutkan senyawa-senyawa seperti fenol, tanin, gula, dan alkaloid kuartener. Sementara itu, pelarut semipolar dapat digunakan mengekstrak senyawa seperti terpenoid dan glikosida dan pelarut nonpolar seperti heksana lebih cocok karena dapat melarutkan zat seperti lipid, lilin, dan minyak atsiri seperti senyawa yang bersifat lemak atau minyak (Dewitasari, 2020).

E. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan kehadiran satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluar membuat molekul ini memiliki sifat yang sangat tidak stabil dan reaktif. Molekul-molekul ini dapat berperan dalam kerusakan jaringan dan berbagai proses patologi dalam organisme hidup. Ketika kadar radikal bebas mengalami ketidaknormalan pada tubuh, mereka bias berbalik menyerang senyawa-senyawa yang rentan seperti lipid dan protein, yang dapat menyebabkan berbagai penyakit. Oksidan yang masuk ke dalam tubuh tidak dapat diimbangi oleh jumlah antioksidan yang ada dalam tubuh (Pratama & Busman, 2020). Radikal bebas adalah molekul yang tidak stabil secara kimiawi karena memiliki elektron tunggal yang tidak berpasangan. Ketidakstabilan ini mendorongnya untuk bereaksi kuat dengan molekul lain di sekitarnya. Jika radikal bebas mengambil elektron secara ionik (dengan ikatan satu arah), dampaknya masih bisa dikelola. Namun, jika mereka membentuk ikatan kovalen (dengan berbagi elektron), kerusakan yang terjadi pada molekul target bisa jauh lebih parah dan sulit diperbaiki. Radikal bebas akan terbentuk ketika ikatan kovalen terpisah (Anggarani *et al.*, 2023).

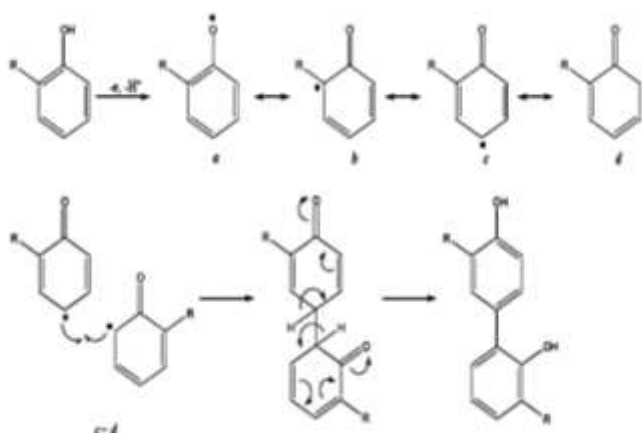
Sifat radikal bebas yang aktif dan bergerak secara acak dalam tubuh makhluk hidup dapat menyebabkan penyakit degeneratif. Tubuh manusia radikal bebas dapat dinetralkan melalui mekanisme pertahanan

yang dikenal sebagai antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menyumbangkan elektron untuk menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul reaktif lainnya tanpa berubah menjadi radikal bebas itu sendiri. Antioksidan memiliki dua jenis, yaitu endogen dan eksogen. Antioksidan endogen diproduksi oleh tubuh, tetapi kadang tidak cukup untuk menetralkan kelebihan radikal bebas, sehingga diperlukan tambahan dari luar, yaitu antioksidan eksogen. Antioksidan eksogen dibagi menjadi dua kategori yaitu alami dan sintetis. Antioksidan sintetis meliputi *Butil Hidroksil Anisol* (BHA), *Butil Hidroksil Toluena* (BHT), dan *Tetra Butil Hidroksil Quinon* (TBHQ). Antioksidan alami dianggap lebih aman dibandingkan dengan yang sintetis karena tidak terkontaminasi bahan kimia dan lebih mudah ditemukan di lingkungan sekitar. Contoh antioksidan alami antara lain flavonoid, senyawa fenol, dan asam folat. (Anggarani *et al.*, 2023).

F. Flavonoid dan Fenolik

Senyawa fenolik adalah sekelompok senyawa yang memiliki setidaknya satu gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik. Pembentukan senyawa fenolik umumnya melibatkan proses metabolisme fenil propanoid dan asam sikimat. Senyawa fenolik yang berasal dari tanaman memiliki berbagai efek, termasuk sifat anti proliferasi, antioksidan, antimutagenic, antimikroba, anti karsinogenik, antiinflamasi, serta kemampuan pencegahan terhadap penyakit jantung (Kate, 2014).

Sebagai antioksidan, senyawa fenolik bekerja dengan memanfaatkan gugus fenolnya untuk menetralkan radikal bebas. Mekanisme ini terjadi ketika gugus tersebut mendonasikan atom hidrogen melalui proses transfer elektron. Hal ini menyebabkan fenol berubah menjadi radikal fenoksi (lihat Gambar 3). Efek resonansi memungkinkan radikal fenoksi, yang terbentuk saat fenol bereaksi dengan radikal bebas, untuk mencapai kondisi yang stabil. Oleh karena itu, derivat dari fenol dianggap sebagai donor hidrogen yang efektif, mampu menghambat reaksi yang dilakukan oleh senyawa radikal. Secara umum, senyawa fenol juga dikenal sebagai inhibitor radikal (Kate, 2014).



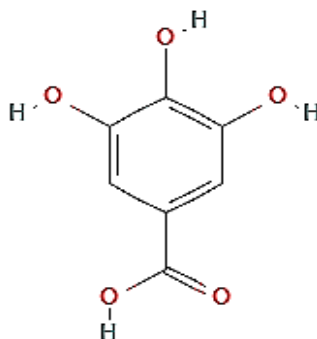
Gambar 3. Reaksi pembentukan dan penggabungan radikal fenoksil (Kate, 2014).

Senyawa fenolik melibatkan asam fenolik, flavonoid, tanin terkondensasi, kumarin, dan alkil resorsinol sebagai contoh-contohnya. Senyawa fenolik dalam tanaman umumnya hadir dalam bentuk glikosida atau ester. Flavonoid merupakan golongan yang paling banyak di antara senyawa fenolik dalam tanaman (Kate, 2014).

Metode *Folin-Ciocalteu* mengukur total konsentrasi senyawa fenolik. Pengukuran ini didasarkan pada kemampuan cincin aromatik senyawa fenolik untuk mereduksi fosfomolibdat-fosfotungstat. Reaksi ini menghasilkan kompleks molibdenum tungsten yang berwarna biru. Agar interaksi antara reagen *Folin-Ciocalteu* dan senyawa fenolik dapat berlangsung, natrium karbonat ditambahkan untuk menciptakan lingkungan basa yang diperlukan. Suasana basa memungkinkan senyawa fenolik melepaskan proton dan berubah menjadi ion fenolat, memungkinkan reaksi dengan reagen *Folin-Ciocalteu* (Dewanta *et al.*, 2021).

Asam galat merupakan antioksidan alami yang sering dimanfaatkan sebagai pengawet makanan. Penggunaannya sebagai standar dalam penentuan total fenol pada bahan tanaman memungkinkan peneliti untuk membandingkan dan mengevaluasi kadar senyawa fenolik dalam sampel berdasarkan konsentrasi asam galat yang telah diketahui. Kandungan asam galat berfungsi sebagai petunjuk yang akurat untuk menentukan jumlah senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan. Penilaian ini krusial dalam menganalisis aktivitas biologis dan manfaat kesehatan dari senyawa tersebut. Penggunaan asam galat sebagai standar memberikan landasan

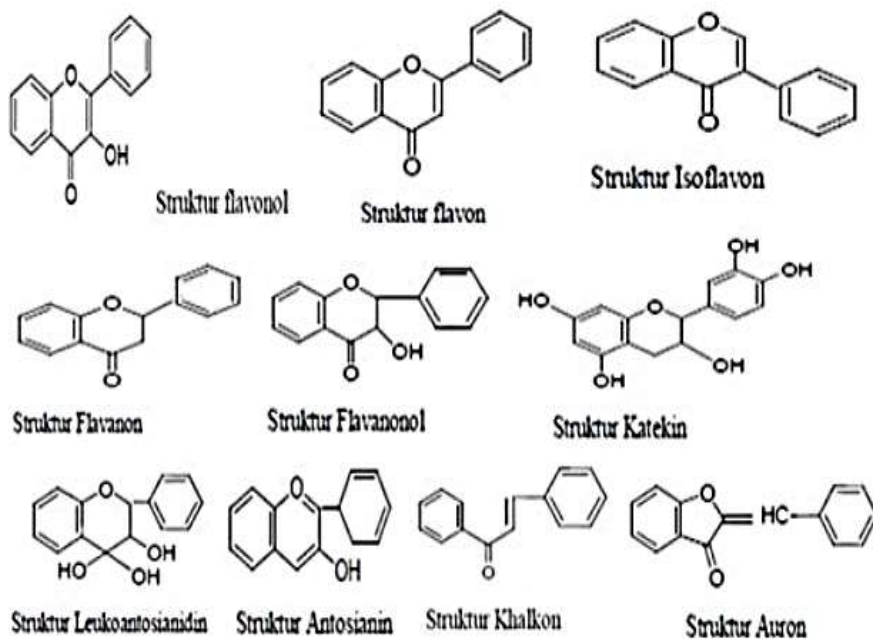
yang kuat dalam penelitian terkait kandungan total fenol pada berbagai bahan tanaman (Lo'pez *et al.*, 2003)



Gambar 4. Asam Galat (Pubchem)

Asam galat (Gambar 4) sering menjadi pilihan dalam penelitian terkait dengan penetapan kandungan fenolik total sebagai standar untuk mengevaluasi kandungan fenolik total pada bahan tanaman. Pemilihan asam galat sebagai standar dalam penetapan kandungan fenolik total didasarkan pada alasan bahwa asam galat terbentuk dari *3-dehydro shikimic acid* melalui serangkaian tahapan reaksi kimia. Sebagai produk dari tahapan ini, asam amino aromatik L-phenylalanine dan L-tyrosine terbentuk. Keduanya berfungsi sebagai unit struktural dasar yang ditemukan pada senyawa seperti *coumarins*, *cinnamic acid*, *flavonoid*, dan *lignans*. (Dewick, 2001).

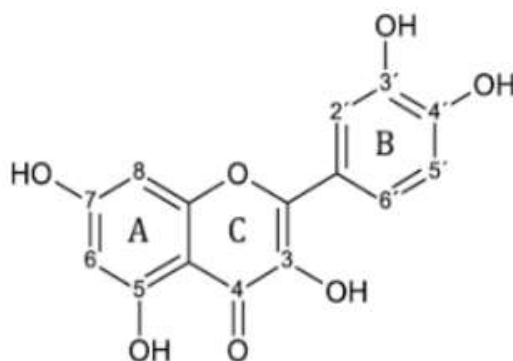
Berdasarkan substituen yang ada pada cincin heterosiklik yang mengandung oksigen dan cara penyebaran gugus hidroksil pada atom C3, flavonoid dapat diklasifikasikan menjadi beberapa jenis (lihat Gambar 5). Perbedaan pada atom C3 sangat menentukan sifat, khasiat, dan pengelompokan flavonoid. Dengan kata lain, keragaman pada rantai C3 ini digunakan untuk mengidentifikasi berbagai jenis flavonoid, termasuk isoflavon, flavon, flavonol, flavanon, flavanonol, khalkon, katekin, *leucoanthocyanidin*, auron, dan antosianin (Kate, 2014).



Gambar 5. Struktur kimia dari berbagai flavonoid (Kate, 2014).

Karena kandungan gugus hidroksi yang melimpah baik yang tidak tersubstitusi maupun yang berikatan dengan gula, flavonoid dikategorikan sebagai senyawa polar. Sifat ini membuatnya dapat larut dalam berbagai pelarut polar, termasuk etanol, metanol, butanol, aseton, etil asetat, dimetil sulfoksida, dimetilformamida, dan air. Penggunaan campuran air dengan metanol, etanol, atau aseton sangat dianjurkan. Selain itu, gugus hidroksi fenolik dalam molekul flavonoid menjadi alasan utama mengapa sebagian besar senyawa ini memiliki aktivitas antioksidan (Kate, 2014).

Kuersetin adalah senyawa flavonol yang termasuk dalam kelompok flavonoid, dengan struktur dasar 3-hidroksiflavan. Keberadaan gugus hidroksil (-OH) pada strukturnya memungkinkan kuersetin memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Proses kerja antioksidan kuersetin terjadi melalui mekanisme *radical scavenging* (penangkapan radikal), proses ini melibatkan atom hidrogen dari gugus hidroksil yang disumbangkan untuk menetralkan radikal bebas. Dengan demikian, senyawa ini berfungsi untuk melindungi tubuh dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. (Cahyono *et al.*, 2021)



Gambar 6. Oksidasi Rutin (Kate, 2014).

Penentuan konsentrasi flavonoid menggunakan metode aluminium klorida didasarkan pada pembentukan kompleks. Kompleks ini terbentuk antara aluminium klorida dan gugus keton di atom C-4 serta gugus hidroksil yang berdekatan di atom C-3 atau C-5. Proses ini berlaku untuk flavonoid jenis flavon dan flavonol. Kuersetin sebagai senyawa patokan dalam analisis konsentrasi flavonoid ini, karena merupakan anggota golongan flavonol dengan gugus keton pada atom C-4, serta gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang berdekatan (Widyasari & Sari, 2021).

G. Antioksidan

Antioksidan berperan untuk mencegah terjadinya kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dengan cara memberikan elektron pada molekul yang tidak stabil. Proses oksidasi sendiri adalah reaksi kimia di mana elektron bergerak dari suatu zat ke zat lain dengan sifat sebagai oksidator. Terbentuknya radikal bebas dari reaksi oksidasi dapat memulai reaksi berantai yang merusak sel-sel dalam tubuh. Mengatasi hal ini, tubuh memiliki sistem pertahanan alami berupa antioksidan internal seperti *Superoksida Dismutase* (SOD), *glutathion peroksidase* (GPx), *katalase* (CAT), dan *glutathion-S-transferase* (GST) yang berfungsi menangkal dampak negatif radikal bebas. Peningkatan produksi radikal bebas akibat faktor eksternal dapat membebani sistem pertahanan alami tubuh. Untuk mengatasinya, diperlukan asupan antioksidan dari luar. Senyawa non-esensial seperti alfa-tokoferol, beta-karoten, vitamin C, dan flavonoid, yang banyak terdapat dalam buah dan sayuran, berfungsi sebagai antioksidan eksternal (Pangestuty, 2016).

Tabel 1. Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC₅₀ (Ardila, 2020)

Nilai IC ₅₀	Keterangan
>200	Sangat lemah
150 ppm - 200 ppm	Lemah
100 ppm - 150 ppm	Sedang
50 ppm - 100 ppm	Kuat
<50 ppm	Sangat kuat

Dalam konteks kimia, istilah "antioksidan" merujuk kepada senyawa-senyawa yang berfungsi sebagai donor elektron. Sementara itu, dalam ilmu biologi, konsep antioksidan dapat diartikan sebagai molekul atau senyawa yang memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas radikal bebas dengan cara mencegah proses oksidasi pada tingkat seluler. Dalam mendeskripsikan antioksidan, antioksidan digolongkan beberapa bagian (Ramadhan, 2019).

1. Berdasarkan Fungsi

1.1 Antioksidan primer. Antioksidan primer didefinisikan sebagai senyawa-senyawa yang dapat berguna untuk memperlambat pembentukan radikal bebas baru dan dapat membuat radikal bebas pada diri menjadi molekul yang tidak berdampak merugikan. Beberapa contoh antioksidan primer melibatkan senyawa-senyawa seperti *Butil Hidroksi Toluena* (BHT), tokoferol baik dalam bentuk alami maupun sintetis, tersier *Butil Hidro Quinon* (TBHQ), alkil galat, dan propil galat (Ramadhan, 2019).

1.2 Antioksidan sekunder. Antioksidan sekunder merujuk pada zat atau senyawa yang memiliki kemampuan untuk menghambat aksi prooksidasi. Prooksidasi sendiri merupakan senyawa yang mampu mempercepat proses oksidasi. Senyawa-senyawa yang termasuk dalam kategori antioksidan sekunder bersifat sinergis, yang berarti terdapat interaksi positif antara dua antioksidan sehingga meningkatkan efektivitasnya. Mekanisme reaksi sebagai antioksidan dapat bervariasi, seperti penyerapan terhadap sinar UV (UV absorber), contohnya adalah senyawa flavonoid. Selain itu, mekanisme lainnya melibatkan deaktivator ion logam (*metal deactivator*) yang terjadi melalui pembentukan senyawa kompleks. Contoh senyawa yang sering digunakan dalam bidang farmasi sebagai metal deactivator termasuk *etilendiamintetraasetat* (EDTA), asam sitrat, asam tartrat, dan beberapa asam amino (Triyem, 2010).

1.3 Antioksidan tersier. Antioksidan tersier adalah senyawa antioksidan yang berperan dalam memperbaiki sel dan jaringan yang mengalami kerusakan akibat serangan radikal bebas. Sebagai contoh, enzim metionin sulfoksidan reduktase termasuk dalam kategori antioksidan tersier, yang memiliki kemampuan untuk memperbaiki kerusakan pada DNA dalam inti sel (Ramadhan, 2019).

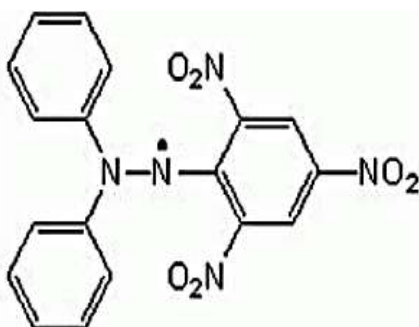
2. Berdasarkan Sumber

2.1 Antioksidan sintetik. Antioksidan sintetik yang diizinkan untuk digunakan dalam makanan meliputi *Butil Hidroksi Anisol* (BHA), *Butil Hidroksi Toluen* (BHT), propil galat, *Tert-Butil Hidroksi Quinon* (TBHQ), dan tokoferol. Jenis-jenis antioksidan ini awalnya berasal dari sumber alami, namun telah diproduksi secara sintetis untuk keperluan komersial (Mitayani, 2010).

2.2 Antioksidan alami. Antioksidan alami dalam makanan dapat berasal dari beberapa sumber, yaitu senyawa alami yang terkandung dalam satu atau lebih komponen makanan, senyawa hasil dari reaksi kimia selama proses pengolahan, serta senyawa antioksidan yang diekstraksi dari bahan alami kemudian digunakan sebagai zat aditif dalam produk pangan (Mitayani, 2010).

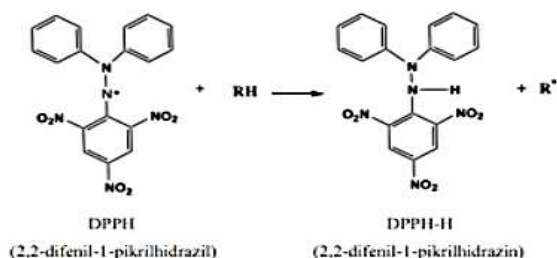
3. Metode Antioksidan

3.1 Metode DPPH. DPPH (*1,1-diphenyl-2-Picrylhydrazyl*) adalah suatu radikal bebas dengan massa polar relatif sebesar 394,33, yang bersifat stabil dalam suhu kamar dan memiliki panjang gelombang maksimum pada rentang 515-517 nm. Dalam konteks analisis antioksidan, DPPH digunakan sebagai indikator karena mampu mempertahankan stabilitasnya. Antioksidan berperan dengan memberikan sebagian atom hidrogen pada radikal bebas DPPH, mengubahnya menjadi bentuk yang stabil yang disebut DPPH-H. Senyawa bioaktif yang memiliki sifat antioksidan, seperti flavonoid, dapat diisolasi dan digunakan dalam metode ini. Flavonoid memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas DPPH, dimana radikal DPPH akan mengoksidasi flavonoid, menghasilkan radikal flavonoid yang memiliki reaktivitas rendah dan bersifat tidak toksik (Wulandari, 2021).



Gambar 7. Rumus Bangun DPPH (Aritonang, 2019)

Metode DPPH berprinsip pada observasi perubahan warna larutan DPPH dari ungu pekat menjadi kuning pucat akibat aktivitas antioksidan yang mampu menangkap dan meredam aktivitas radikal bebas. Seiring dengan penangkapan DPPH, warna larutan akan semakin memudar. Eksperimen penangkapan radikal DPPH (*1,1-difenil-2-picrilhidrazil*), penambahan senyawa yang memiliki sifat antioksidan akan menyebabkan elektron bebas pada DPPH mengikat hidrogen yang berasal dari senyawa antioksidan. Hal ini mengakibatkan kehilangan sifat radikal bebas pada DPPH. Proses ini juga menyebabkan tidak terjadinya delokalisasi elektron dalam molekul DPPH, yang mengakibatkan penurunan intensitas warna violet dari waktu ke waktu. Penurunan intensitas warna ini sejalan dengan jumlah radikal bebas DPPH yang diatasi oleh senyawa antioksidan. Persentase penurunan intensitas warna DPPH adalah indikator dari aktivitas antioksidan senyawa tersebut. Persentase ini dapat berkorelasi dengan konsentrasi senyawa antioksidan. Pengamatan kualitatif perubahan warna juga dapat dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dimana perubahan absorbansi (serapan warna) dinilai. Absorbansi yang baik untuk larutan DPPH biasanya kurang dari satu. Aktivitas antioksidan pada sampel diukur melalui nilai *Inhibition Concentration* (IC), yaitu konsentrasi sampel di mana 50% DPPH kehilangan sifat radikal bebas. Semakin kecil nilai IC, semakin tinggi aktivitas antioksidan pada sampel tersebut. Meskipun terdapat metode lain yang melibatkan cahaya dan oksigen untuk mengukur aktivitas antioksidan, metode DPPH dianggap lebih sederhana, akurat, cepat, dan memungkinkan penggunaan sampel dalam jumlah yang lebih sedikit (Wulandari, 2021).



Gambar 8. Reaksi DPPH dengan Antioksidan (Aritonang, 2019)

DPPH secara umum dipakai untuk mengevaluasi efek antioksidan pada produk makanan. Perubahan warna ke kuning terjadi ketika radikal DPPH berinteraksi dengan atom hidrogen dari antioksidan, membentuk DPPH-H. Tingkat aktivitas antioksidan dapat diukur menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Inhibisi atau Penangkapan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Berdasarkan rumus tersebut, semakin rendah nilai absorbansi menunjukkan tingkat aktivitas penangkapan radikal yang lebih tinggi. Aktivitas antioksidan secara kuantitatif diukur menggunakan nilai IC_{50} , yang merupakan konsentrasi larutan uji yang menghasilkan peredaman DPPH sebesar 50% (Apriyandi, 2022).

3.2 ABTS (2,2-azinobis-3-Ethylbenzothiazoline-6- Sulfonic Acid). ABTS adalah salah satu senyawa radikal kation organik yang digunakan sebagai alat ukur aktivitas antioksidan yang bereaksi pada pH 7,4. Aktivitas dari ABTS ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari biru atau hijau menjadi tidak berwarna. Metode ABTS menggunakan senyawa 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) sebagai sumber radikal bebas. Metode ini dapat mengevaluasi kemampuan senyawa antioksidan dalam menetralkan radikal ABTS dalam fase larutan air, dan hasilnya dibandingkan dengan senyawa pembanding trolox (turunan vitamin E yang larut dalam air). ABTS merupakan metode yang cukup sensitif dan dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi senyawa antioksidan yang mampu menghambat 50% radikal bebas (IC_{50}). Keunggulan dari metode ini terletak pada proses pengujian yang cepat, sederhana, efisien, dan mudah direplikasi.

Prinsip dasar dari uji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS adalah mengukur kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi radikal kation $ABTS^+$, yang ditandai dengan perubahan warna. Ketika senyawa antioksidan bereaksi dengan $ABTS^+$, warna

biru kehijauan yang dihasilkan oleh kation radikal tersebut akan berkurang intensitasnya. Penurunan warna ini kemudian diukur menggunakan spektrofotometer sebagai indikator kapasitas antioksidan sampel (Aderiyanti, 2022).

3.3 FRAP. Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) merupakan teknik analisis yang digunakan untuk menilai kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi ion besi (Fe^3) menjadi bentuk feri (Fe^2) dalam kompleks Fe(III)-TPTZ . Reaksi ini dapat dilihat dari perubahan warna larutan yang semula kuning menjadi biru tua, yang kemudian diukur menggunakan spektrofotometer. TPTZ berperan sebagai indikator warna, sedangkan Fe(III) berlaku menjadi akseptor elektron. Kelebihan metode ini antara lain biayanya yang relatif murah, reagen yang mudah disiapkan, serta prosedur yang sederhana dan cepat untuk dilakukan. Metode ini mampu mengukur total kandungan antioksidan suatu bahan dengan menilai kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Dengan demikian, kekuatan antioksidan suatu senyawa dihubungkan dengan kemampuannya untuk mereduksi ion tersebut (Aderiyanti, 2022).

3.4 CUPRAC. CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*) merupakan metode untuk mengukur aktivitas dan kapasitas antioksidan daun yodium terhadap radikal bebas, di mana absorbansinya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450 nm. Dalam pengujian CUPRAC, reagen Cu(II)-neocuproin (Cu(II)-(Nc)_2) digunakan sebagai agen oksidasi. Kelebihan metode ini dibandingkan metode pengukuran antioksidan lainnya adalah reagen CUPRAC mampu mengoksidasi berbagai jenis antioksidan dengan cepat. Selain itu, reagen CUPRAC bersifat selektif karena memiliki potensi redoks yang lebih rendah, serta lebih stabil sebagai pengoksidasi kromogenik, sehingga reduksi ion Cu(II) dapat diukur secara akurat. CUPRAC merupakan reagen yang selektif karena nilai potensial reduksinya yang rendah, sehingga metode ini sangat efektif untuk mengukur kapasitas antioksidan (Aderiyanti, 2022).

H. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri adalah teknik analisis kuantitatif yang berdasarkan pada pengukuran penyerapan cahaya pada panjang gelombang maksimum untuk menentukan konsentrasi sampel. Alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi sampel sebagai fungsi panjang gelombang disebut spektrofotometer (Rahmah, 2022). Untuk

dapat dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis, suatu senyawa harus memenuhi persyaratan memiliki gugus kromofor dan gugus auksokrom (Arsyandi, 2023).

Spektrofotometer UV-Vis terdiri dari sumber cahaya yang menghasilkan cahaya polikromatik dari lampu wolfram/tungsten untuk rentang tampak (400-800 nm) dan lampu deuterium untuk rentang ultraviolet (200-400 nm). Alat ini dilengkapi dengan tombak untuk memilih panjang gelombang, kuvet sampel yang berbentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm, permukaan yang lurus dan paralel optik, transparan, tidak bereaksi terhadap bahan kimia, tahan terhadap kerapuhan, serta memiliki bentuk yang sederhana namun kokoh. Terdapat juga detektor yang berfungsi untuk mendeteksi cahaya yang melewati sampel. Bacaan dihasilkan melalui sistem yang mengambil sinyal listrik dari detektor dan menampilkan nilai transmitansi atau absorbansi pada layar instrumen (Rahmah, 2022).

Tabel 2. Panjang Gelombang Beserta Warna Serapan Spektrofotometri Ultraviolet-Visible (Arsyandi, 2023)

Panjang Gelombang	Warna yang Terserap	Warna yang Teramati
400-435	Ungu (lembayung)	Kuning
450-480	Biru	Oren
480-490	Biru-kehijauan	Merah
490-500	Hijau - kebiruan	Merah - keunguan
500-560	Hijau	ungu (lembayung)
560-580	Hijau - kekuningan	Biru
580-595	Kuning	Biru-kehijauan
595-610	Oren	Hijau - kebiruan
610-750	Merah	Hijau - kekuningan

Hal yang harus diperhatikan dalam analisis spektrofotometri UV-Vis adalah:

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Prosedur untuk menentukan panjang gelombang yang optimal dalam analisis kuantitatif melibatkan pembuatan kurva hubungan antara absorbansi dan panjang gelombang untuk sampel standar. Panjang gelombang maksimum dipilih karena pada titik ini terjadi penyerapan maksimum. Proses mendapatkan panjang gelombang maksimum melibatkan pencarian hubungan antara absorbansi dan konsentrasi standar pada berbagai panjang gelombang. Pemilihan panjang gelombang maksimum didasarkan pada fakta bahwa sensitivitas

perubahan absorbansi terhadap perubahan konsentrasi paling tinggi di sekitar panjang gelombang maksimum. Selain itu, dalam daerah sekitar panjang gelombang maksimum, kurva penyerapan menjadi datar, dan sesuai dengan hukum Lambert-Beer, jika pengukuran dilakukan secara berulang, kesalahan yang diakibatkan oleh variasi panjang gelombang maksimum sangat kecil (Rahmah, 2022).

2. Operating Time (OT)

Proses *Operating time* (OT) ini memiliki tujuan untuk mengidentifikasi waktu inkubasi optimal antara sampel dan larutan DPPH agar reaksi berlangsung dengan sempurna. Materi uji berupa ekstrak direaksikan dengan kontrol positif asam askorbat menggunakan larutan DPPH, dan absorbansinya diamati pada panjang gelombang 516 nm dari menit ke-0 hingga menit ke-60, dengan interval waktu 5 menit. Waktu operasional yang optimal dipilih ketika penurunan absorbansi mencapai kestabilan relative (Puspitasari *et al.*, 2016).

3. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Proses pembuatan kurva kalibrasi melibatkan persiapan sejumlah larutan standar dengan konsentrasi yang bervariasi. Selanjutnya, dilakukan pengukuran absorbansi pada setiap konsentrasi yang telah disiapkan untuk kemudian dibuat kurva yang mencerminkan hubungan antara absorbansi dan konsentrasi. Pentingnya kurva kalibrasi adalah adanya persyaratan agar garis yang terbentuk bersifat lurus, menunjukkan bahwa kriteria regresi linier terpenuhi. Hal ini menandakan bahwa hubungan antara absorbansi dan konsentrasi bersifat proporsional dan dapat digunakan sebagai dasar untuk mengukur konsentrasi sampel yang tidak diketahui berdasarkan absorbansi yang diukur (Rahmah, 2022).

4. Penetapan Kadar Sampel

Spektrofotometri UV-Vis dilakukan dalam rentang serapan antara 0,2 hingga 0,8. Rekomendasi ini berasal dari pertimbangan asumsi kesalahan pembacaan *transmittance* (T) sekitar 0,005 atau setara dengan 0,5%. Keputusan ini diambil karena rentang nilai absorbansi yang sangat kecil memungkinkan kesalahan yang minim pada pembacaan, menjadikannya suatu rentang yang dianggap optimal untuk memastikan akurasi pengukuran (Rahmah, 2022).

I. Efek Kombinasi

Kombinasi sediaan herbal bertujuan untuk meningkatkan efek terapeutik zat aktif, karena zat aktif dalam obat herbal tunggal biasanya

hanya memberikan efek individual. Menggabungkan senyawa obat dengan herbal lain diharapkan dapat menghasilkan efek tambahan. Terdapat tiga jenis interaksi kimia dalam obat herbal: efek komplementer, sinergis, dan kontraindikatif. Efek komplementer muncul ketika beberapa senyawa bekerja sama untuk pencegahan atau pengobatan penyakit melalui mekanisme yang berbeda. Efek sinergis terjadi saat dua atau lebih senyawa dengan khasiat serupa saling memperkuat satu sama lain. Efek kontraindikatif terjadi ketika kandungan kimia memiliki sifat yang saling bertentangan (Ningsih, 2016).

J. Landasan Teori

Efek negatif radikal bebas adalah menyebabkan kerusakan sel dan menjadi penyebab utama perubahan patologis dalam penyakit-penyakit degeneratif, termasuk kanker, penyakit jantung, arthritis, katarak, penyakit hati, dan penuaan dini. Radikal bebas telah menjadi faktor kunci dalam masalah kesehatan. Oleh karena itu, keberadaan antioksidan sangat diperlukan dalam tubuh untuk melawan dampak yang ditimbulkan oleh radikal bebas (Kusuma *et al.*, 2023). Antioksidan adalah senyawa yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas serta mencegah kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas terhadap sel-sel. Dalam upaya menghambat jalannya reaksi oksidasi, antioksidan bekerja melalui beberapa mekanisme, seperti inhibisi dengan enzim, mekanisme donor proton, dan peran sebagai radical scavenger. Pada tanaman, senyawa antioksidan berperan sebagai radical scavenger, senyawa ini dapat mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang tidak reaktif. Jenis-jenis antioksidan yang terkandung pada tanaman meliputi karotenoid, vitamin, senyawa flavonoid, dan senyawa fenol (Hamdillah, 2022).

Fenolik dan flavonoid merupakan jenis metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan dan banyak terdapat dalam tanaman. Tingkat aktivitas antioksidannya cenderung meningkat seiring dengan peningkatan jumlah senyawa fenol yang terkandung. Senyawa fenolik memiliki berbagai efek biologis, termasuk kemampuan untuk mengurangi pembentukan oksigen singlet dan menyediakan elektron, berperan sebagai chelator logam, dan berfungsi sebagai penangkap radikal bebas. Mekanisme ini mencakup peran sebagai reduktor dan aktivitas antioksidan yang bersifat melindungi (Hidayah & Anggarani, 2022).

Bunga telang (*Clitoria ternatea*) merupakan tanaman sering digunakan oleh penduduk Indonesia untuk solusi berbagai masalah kesehatan. Bunga telang mengandung senyawa bioaktif yang bermanfaat dalam pengobatan, termasuk sebagai antidiabetes, antibakteri, pengencer dahak pada penderita asma bronkitis, alergi, rematik, perlindungan saraf, perlindungan hati, antiinflamasi, antikanker, dan antioksidan. Bagian bunga berperan untuk penangkal radikal, menghambat peroksidasi lipid, dan menekan proses radikal bebas yang lain, hal itu diamati dari warna mahkota karena mengandung antosianin, yang merupakan jenis pigmen flavonoid yang memiliki sifat antioksidan (Pratiwi *et al.*, 2020). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% pada bunga telang yang di uji dengan metode DPPH memiliki nilai IC₅₀ sebesar 41,36 ppm dan vitamin C sebesar 6, 25 ppm (Andriani *et al.*, 2020).

Daun manggis memiliki banyak manfaat seperti antimikroba, antikanker, antiinflamasi, antidiabetes melitus dan antioksidan (Erikania *et al.*, 2020). Daun manggis sendiri memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, triterpenoid, dan saponin, yang memiliki banyak aktivitas farmakologis. Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 95% daun manggis dapat dilihat dari perubahan warna DPPH dari violet menjadi kuning. Nilai IC₅₀ ekstrak tersebut adalah 17,64 µg/mL (Rejeki & Sari, 2023). Sebelumnya, penelitian tentang antioksidan dari daun manggis juga telah dilakukan menggunakan metode perasan dengan nilai IC₅₀ sebesar 19,37 µg/mL dan kontrol positif vitamin E memiliki IC₅₀ sebesar 2,146 ppm (Izzati *et al.*, 2012).

Dalam penelitian ini, bunga telang dan daun manggis diuji untuk kemampuannya dalam melawan radikal menggunakan DPPH. Aktivitas tersebut dibandingkan dengan standar kuersetin yang digunakan sebagai referensi antioksidan. DPPH (*1,1-diphenyl-2-Picrylhydrazyl*) adalah suatu radikal bebas dengan massa polar relatif sebesar 394,33, yang bersifat stabil pada suhu kamar dan memiliki panjang gelombang maksimum pada rentang 515-517 nm. Aktivitas antioksidan pada sampel diukur melalui nilai *Inhibition Concentration* (IC), yaitu konsentrasi sampel di mana 50% DPPH kehilangan sifat radikal bebas. Semakin kecil nilai IC, semakin tinggi aktivitas antioksidan pada sampel tersebut. Meskipun terdapat metode lain yang

melibatkan cahaya dan oksigen untuk mengukur aktivitas antioksidan, metode DPPH dianggap lebih sederhana, akurat, cepat, dan memungkinkan penggunaan sampel dalam jumlah yang lebih sedikit (N. Y. R. Wulandari, 2021).

K. Hipotesis

1. Ekstrak etanol tunggal dan kombinasi bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan daun manggis (*Garcinia mangostana* L) memiliki aktivitas antioksidan sebagai penangkal radikal bebas terhadap DPPH yang dilihat dari nilai % inhibisi pada konsentrasi yang sama.
2. Dapat ditentukan aktivitas antioksidan paling efektif sebagai penangkal radikal bebas terhadap DPPH dari nilai % inhibisi pada konsentrasi yang sama antara ekstrak etanol tunggal daun manggis dan ekstrak etanol tunggal bunga telang.
3. Dapat di tentukan perbandingan yang paling efektif yang memiliki aktivitas antioksidan sebagai penangkap radikal bebas terhadap DPPH dari nilai % inhibisi pada konsentrasi yang sama pada kombinasi ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan daun manggis (*Garcinia mangostana* L).