

Uji potensi antioksidan ekstrak lutein bunga kenikir (*Tagetes erecta*) berwarna kuning dan jingga dengan metode FRAP dan DPPH

Potency test of antioxidant lutein of marigold flower (*Tagetes erecta*) extract yellow and orange color with FRAF and DPPH methods

KUSMIATI^{1,*}, I GUSTI AGUNG KRISNA WIJAYA², YADI³

¹Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jl. Raya Bogor Km 46, Cibinong, Bogor 16911, Jawa Barat. Tel. +62-21-8754587 Fax.: +62-21-8754588, *email: kusmiati02@yahoo.com

²Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional. Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640, Jakarta

Manuskrip diterima: 16 August 2018. Revisi disetujui: 13 November 2018.

Abstrak. Kusmiati, Wijaya IGAK, Yadi. 2018. Uji potensi antioksidan ekstrak lutein bunga kenikir (*Tagetes erecta*) berwarna kuning dan jingga dengan metode FRAP dan DPPH. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 4*: 274-279. Penelitian ini menguji potensi antioksidan ekstrak lutein yang berasal dari bunga kenikir (*Tagetes erecta* L.) yang berbeda warna yaitu kuning dan jingga. Senyawa lutein merupakan pigmen karotenoid golongan xantofil, yang berfungsi sebagai antioksidan untuk melindungi retina mata. Bahan penelitian diperoleh dari Cipanas-Jawa Barat dan Bali. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) dengan menghitung nilai konsentrasi aktivitas lutein berdasarkan jumlah pembentukan ion Fe^{2+} dalam μM Fe (II)/g setiap sampel dan menguji aktivitas anti radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan menghitung nilai IC_{50} . Proses ekstraksi lutein dari bunga kenikir menggunakan metode Madhavi et al. dengan pelarut n-heksana dengan penambahan isopropanol dan NaOH 50%. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP setiap sampel bunga kenikir diperoleh, berturut-turut ekstrak lutein TC (Cipanas warna kuning), TK (Bali warna kuning), dan TJ (Bali warna jingga) pada konsentrasi 10 $\mu g/mL$ berturut-turut sebesar 33,0; 43,83; 23,83 μM Fe (II) /g bobot kering. Hasil pengujian aktivitas antioksidan anti radikal DPPH pada setiap sampel ekstrak lutein bunga kenikir diperoleh, IC_{50} sebesar 52,975 $\mu g/mL$ pada ekstrak lutein TC, IC_{50} sebesar 50,641 $\mu g/mL$ pada ekstrak lutein TK dan IC_{50} sebesar 57,574 $\mu g/mL$ pada ekstrak lutein TJ.

Kata kunci: Antioksidan, DPPH, FRAP, lutein, *Tagetes erecta*

Abstract. Authors. 2018. Potency test of antioxidant lutein of marigold flower (*Tagetes erecta*) extract yellow and orange color with FRAF and DPPH methods. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 4*: 274-279. This study examined the antioxidant potential of lutein extract derived from the marigold flowers (*Tagetes erecta* L.) of different colors i.e yellow and orange. Lutein compounds are carotenoid pigments of the xanthophil group, which act as antioxidants to protect the retina of the eye. The research material was obtained from Cipanas-West Java and Bali. Testing of antioxidant activity using FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) method by calculating lutein activity concentration value based on amount of Fe^{2+} ion formation in μM Fe (II)/g of each sample and testing anti-radical activity of DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) by calculating the IC_{50} value. The process of lutein extraction from the Marigold flowers using the method of Madhavi et al. with n-hexane solvent with the addition of isopropanol and NaOH 50%. The results of antioxidant activity test by FRAP method of each sample of marigold flower were obtained, successively TC lutein extract (Cipanas yellow color), TK (Balinese yellow color), and TJ (Balinese orange color) at concentration 10 $\mu g/mL$ respectively 33.0; 43.83; 23.83 μM Fe (II)/g dry mass. The results of anti-radical activity of DPPH on each lutein extract of marigold flower were obtained, IC_{50} of 52,975 $\mu g/mL$ on TC lutein extract, IC_{50} of 50,641 $\mu g/mL$ on TK lutein extract and IC_{50} of 57,574 $\mu g/mL$ on TJ lutein extract.

Keywords: Antioxidant, FRAP and DPPH, lutein, *Tagetes erecta*

PENDAHULUAN

Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa beberapa ekstrak tanaman memiliki senyawa antioksidan seperti fenolik, flavonoid yang lebih efektif dan lebih aman dibandingkan antioksidan sintesis contohnya butilen hidroksitoluena (Maria dan Herry 2014). Bunga kenikir (*Tagetes erecta* L.) merupakan tanaman hias termasuk keluarga Asteraceae ditemukan beragam spesies di seluruh dunia. Tanaman bunga kenikir mengandung dua kelompok

pigmen utama yaitu flavonoid dan karotenoid. Komponen pigmen terbesar dalam bunga kenikir yaitu karotenoid lutein ester tergolong xantofil merupakan pigmen berwarna kuning (Sivel et al. 2014; Pajaree et al. 2015).

Lutein terdapat dalam berbagai jenis buah-buahan dan sayuran, terutama dalam sayuran berdaun, dan pada retina mata (Sivel et al. 2014). Berdasarkan survei kebutaan tahun 1993, angka kebutaan Indonesia mencapai 1,5% dari seluruh populasi. Angka kebutaan di Indonesia merupakan tertinggi kedua didunia setelah Ethiopia, hal ini dilaporkan

pada pertemuan Asia Pacific Academy of Ophthalmology di Sydney, 2010. Angka kebutaan Indonesia di atas 1% menjadikan, kebutaan di Indonesia tidak hanya menjadi masalah kesehatan tetapi sudah menjadi masalah sosial. (Kemenkes RI 2014).

Lutein merupakan karotenoid non provitamin A yang dapat melindungi mata seperti degenerasi makula yang berkaitan dengan pertambahan usia (*Age-Related Macular Degeneration*, ARMD) dan penyakit katarak. Lutein bertindak sebagai antioksidan yang efektif untuk melindungi mata, karena menetralkan radikal bebas yang terbentuk oleh aksi radiasi ultraviolet pada retina mata. Manusia tidak dapat mensintesis lutein, sehingga harus disuplai dari makanan yang dikonsumsi seperti buah-buahan, sayuran dan makanan suplemen (Sivel et al. 2014). Sampai saat ini, mahkota bunga kenikir menjadi salah satu sumber utama untuk produksi lutein (Pajaree et al. 2015). Bunga kenikir kering mengandung 0,1-0,2% karotenoid, dan sebanyak 80% merupakan diesters lutein (Sivel et al. 2014). Lutein bersifat sebagai antioksidan yang dapat meredam radikal bebas dan molekul yang reaktif sehingga dapat menghambat terjadinya kerusakan sel (Winarsih 2007).

Potensi antioksidan suatu senyawa aktif berasal dari tumbuhan dapat diuji menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) (Prior et al. 2005). Pengujian FRAP tergantung pada reduksi besi tripyridyltriazine (Fe (III) -TPTZ) kompleks membentuk tripyridyltriazine besi (Fe (II) -TPTZ) oleh reduktor, pada pH rendah 3,6. Fe (II) -TPTZ membentuk warna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang 593 nm. Hal ini memungkinkan untuk mengukur semua komponen antioksidan dalam sampel secara individual (Szöllösi and Varga 2003).

Metode uji aktivitas antioksidan lainnya yaitu menggunakan senyawa DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Metode ini sederhana, mudah dan hanya membutuhkan sampel dalam jumlah yang sedikit. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkapan radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil.

Penelitian ini bertujuan untuk mengukur kadar senyawa lutein hasil ekstraksi dari tiga jenis bunga kenikir (*Tagetes erecta* L.) berwarna kuning dan jingga dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dan menguji aktivitas antioksidan ekstrak lutein yang mampu meredam radikal bebas dengan metode FRAP dan metode DPPH.

BAHAN DAN METODE

Penapisan fitokimia

Penapisan dilakukan terhadap simplisia tiga jenis bunga kenikir (*Tagetes erecta* L.) berwarna kuning dan jingga, yang meliputi penapisan steroid, triterpenoid, alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin.

Ekstraksi lutein

Sejumlah 20 g serbuk 3 jenis mahkota bunga kenikir ditimbang dan diberi 300 ml n-heksan untuk dimaserasi selama 24 jam. Cairan disaring untuk memisahkan filtrat dan residunya. Selanjutnya filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental dan dikeringkan pada suhu 40°C. Ekstrak didigesti dengan isopropanol diaduk selama 1 jam pada suhu 50°C dan ditambah dengan larutan NaOH 50% diaduk akan terbentuk 2 lapisan, selanjutnya didinginkan pada suhu ruang. Bagian semisolid dipisahkan dengan cairan. Bagian semisolid didigesti dengan akuades, di homogenkan dengan pengaduk magnet pada suhu ruang, didigesti kembali dengan akuades setelah didiamkan selama ± 4 jam, diulangi sampai karotenoid lainnya terpisah semua. Kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 5000 rpm, ditandai dengan adanya endapan berwarna kuning. Filtrat dibuang dan endapan disaring dan dikeringkan pada penangas air pada suhu 40°C sehingga diperoleh serbuk lutein kasar.

Karakterisasi lutein dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Larutan baku lutein dan larutan sampel lutein 1000 bpj ditotolkan pada lempeng silika gel GF254 sebagai fase diam yang berukuran 8x4 cm dengan menggunakan pipa kapiler sebanyak 20 µL dengan jarak pengembang 6,0 cm. Lempeng silika gel GF254 dimasukkan dalam bejana yang berisi eluen. Bejana kromatografi ditutup dan dibiarkan eluen merambat hingga tanda batas atas lempeng silika gel GF254. Bercak yang terbentuk diamati secara visual dengan sinar tampak. Diukur jarak tiap bercak dari titik penotolan.

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak rambat zat uji}}{\text{Jarak rambat fase gerak}}$$

Pengukuran serapan maksimum senyawa lutein dengan Spektrofotometer UV-Vis

Kandungan lutein dalam ekstrak mahkota bunga kenikir dapat diidentifikasi secara kualitatif melalui serapan maksimum pada panjang gelombang tertentu yang diukur dengan spektrofotometer. Ketiga sampel ekstrak bunga kenikir Cipanas, bunga kenikir Bali warna kuning dan jingga serta lutein standar dilarutkan, kemudian diamati spektrum serapan maksimumnya pada alat spektrofotometer UV-Vis.

Penentuan kadar senyawa lutein dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Penentuan kadar lutein pada bunga kenikir Cipanas, bunga kenikir Bali warna kuning dan jingga ditetapkan menggunakan KCKT. Sampel ekstrak lutein dan standar lutein dilarutkan dengan asetonitril. Selanjutnya diinjeksikan ke alat KCKT sebanyak 10 µL, untuk memperoleh nilai luas area setiap sampel dan luas area standar lutein. Sehingga dapat dihitung kadar senyawa lutein yang terkandung pada ketiga sampel ekstrak kenikir, kondisi alat sebagai berikut: Kolom Sunfire C18 5 µm (4,6 x 150 mm), Fase gerak yaitu metanol: asetonitril (70: 30), Laju alir 1,0 ml/menit, Detektor PDA@ 450nm.

Penentuan aktivitas antioksidan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)*

Sebanyak 0,075 mL larutan sampel lutein bunga kenikir Cipanas, bunga kenikir Bali warna kuning dan jingga ditambah pelarut FRAP sebanyak 1,425 ml dalam tabung reaksi. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm (Benzie and Strain 1996).

Penentuan aktivitas antioksidan metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrihidrazin)

Sampel lutein kenikir dilarutkan dengan metanol pa. hingga konsentrasi 1000 bpj sebagai larutan induk. Larutan induk diencerkan dengan metanol p.a sehingga diperoleh masing-masing konsentrasi 50; 75; 100; 150 bpj. Sejumlah 1 ml larutan ekstrak lutein masing masing konsentrasi ditambahkan 1,0 ml metanol p.a dan 0,5 ml larutan DPPH 40 mg per L. Campuran diaduk homogen dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Masing-masing larutan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm (Molyneux 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis serbuk mahkota bunga kenikir

Uji organoleptik

Pemeriksaan organoleptik yang dilakukan terhadap masing-masing serbuk mahkota bunga kenikir meliputi warna, rasa, dan bau. Hasil organoleptik dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil kadar air simplisia mahkota bunga kenikir., Berat ekstrak dan Rendemennya (%). Penetapan kadar air dilakukan secara Gravimetri, dengan penimbangan hingga bobot tetap.

Kadar air simplisia kenikir berkisar 4-5,6%, menurut *Materia Medika Indonesia* bahwa sampel bahan alam yang digunakan telah memenuhi syarat standar sebagai bahan obat alam, apabila kadar air simplisia tidak melebihi dari 10 %. Hasil berat ekstrak lutein dari bunga kenikir tercantum pada Tabel 2. Yaitu berkisar antara 2,2-3,1 gram, sedangkan rendemen ekstrak lutein mahkota bunga kenikir berkisar 3,68 -5,28%.

Berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak lutein bunga kenikir memiliki nilai rendemen sebesar 3,41%. Nilai rendemen dihitung untuk mengetahui jumlah ekstrak lutein yang diperoleh pada tiap gram serbuk bunga kenikir. Perbedaan nilai rendemen tersebut disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya ukuran partikel (derajat halus) simplisia, konsentrasi pelarut yang digunakan serta lamanya waktu ekstraksi. Perbedaan derajat halus simplisia mempengaruhi jumlah zat aktif yang tersari karena semakin kecil ukuran simplisia maka luas permukaan kontak antara simplisia dengan pelarut semakin besar. Semakin tinggi konsentrasi pelarut yang digunakan maka semakin banyak komponen zat aktif yang terlarut kedalam pelarut serta semakin lama waktu ekstraksi maka waktu kontak antara pelarut dan bahan uji akan semakin besar sehingga banyak zat aktif yang terlarut kedalam pelarut dan nilai rendemen semakin besar (Maulida dan Guntarti 2015).

Penapisan fitokimia serbuk mahkota bunga kenikir

Hasil penapisan fitokimia serbuk mahkota bunga kenikir tercantum pada Tabel 3. Berdasarkan hasil pengujian penapisan fitokimia serbuk bunga kenikir menunjukkan bahwa pada serbuk bunga kenikir mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid/triterpenoid. Hasil penapisan fitokimia pada serbuk bunga kenikir sesuai dengan penelitian terdahulu bahwa serbuk bunga kenikir mengandung metabolit sekunder flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid dan minyak atsiri (Kusmiati dan Agustini 2012).

Pada ekstrak bunga kenikir mengandung komponen metabolit yang lebih sedikit dari serbuk bunganya, karena pelarut n-heksana yang digunakan dalam proses ekstraksi bersifat non polar sehingga hanya zat-zat yang larut dalam minyak saja yang ditarik oleh n-heksana seperti steroid/triterpenoid. Terdapatnya senyawa metabolit sekunder steroid/triterpenoid menunjukkan positif terdapat kandungan lutein dalam serbuk bunga kenikir (Kusmiati et al. 2015). Steroid/triterpenoid merupakan senyawa yang dibiosintesis dari skuelene (C₃₀) yang banyak terdapat pada tumbuhan, steroid umumnya memiliki rasa yang pahit, dalam tumbuhan steroid/triterpenoid berfungsi sebagai protektif repelen terhadap serangan insektisida dan mikroba (Sirait 2007).

Tabel 1. Hasil uji organoleptik mahkota bunga kenikir

Bahan	Pengamatan		
	Warna	Bau	Rasa
<i>T. erecta</i> (TC) Cipanas	Merah kecoklatan	Bau khas	Tidak berasa
<i>T. erecta</i> (TK) Bali Kuning	Kuning kecoklatan	Bau khas	Tidak berasa
<i>T. erecta</i> (TJ) Bali Jingga	Orange kecoklatan	Bau khas	Tidak berasa

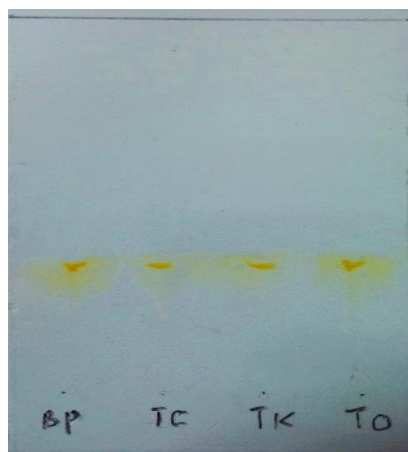
Tabel 2. Kadar Air Simplisia mahkota Bunga kenikir

Bahan	Kadar air (%)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
<i>T. erecta</i> (TC) Cipanas	5,61	3,17	5,28
<i>T. erecta</i> (TK) Bali Kuning	4,66	2,64	4,40
<i>T. erecta</i> (TJ) Bali Jingga	4,00	2,21	3,68

Tabel 3. Hasil penapisan fitokimia

Golongan senyawa metabolit	Nama sampel bunga kenikir <i>T. erecta</i>)		
	Serbuk TC	Serbuk TK	Serbuk TJ
	Steroid/triterpenoid	+	+
Alkaloid	-	-	-
Flavonoid	+	+	+
Tanin	+	+	+
Saponin	+	+	+

Dimana: TC: Serbuk mahkota bunga kenikir Cipanas, TK: Serbuk mahkota bunga kenikir Bali kuning, TJ: Serbuk mahkota bunga kenikir Bali jingga



Gambar 1. Kromatografi ekstrak lutein dari bunga kenikir pada lempeng Silica Gel GF254 Dengan Fase Gerak n-heksan: Kloroform: Metanol 6: 2: 2. Keterangan: BP : Titik penotolan baku pembeding lutein, TC: Titik penotolan ekstrak lutein bunga kenikir Cipanas, TK: Titik penotolan ekstrak lutein bunga kenikir Bali kuning, TJ: Titik penotolan ekstrak lutein bunga kenikir Bali jingga

Identifikasi ekstrak lutein bunga kenikir dengan Kromatografi Lapis Tipis

Hasil identifikasi ekstrak lutein bunga kenikir dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada Gambar 1. Identifikasi ekstrak bunga kenikir menggunakan kromatografi lapis tipis sebagai identifikasi awal secara kualitatif apakah ekstrak mengandung senyawa lutein dengan cara membandingkannya terhadap larutan baku lutein. Proses pemisahan KLT relatif cepat dan metodenya sangat sederhana. Pemilihan fase gerak dilakukan berdasarkan pertimbangan sifat kepolaran sampel yang digunakan, serta fase gerak yang digunakan juga harus memiliki kemurnian yang tinggi sehingga memaksimalkan pemisahan komponen senyawa dalam sampel dengan baik (Kusmiati et al. 2015).

Berdasarkan hasil KLT bercak yang terbentuk pada ekstrak lutein (TC), (TK), (TJ) dan lutein baku (BP) sejajar dan nilai Rf sama yaitu 0,333 berarti ekstrak lutein positif mengandung senyawa lutein. Identifikasi ekstrak lutein dapat langsung diamati bercaknya secara visual karena bercak lutein yang dihasilkan berwarna kuning pada plat KLT sehingga dapat langsung terdeteksi secara visual. Nilai Rf yang didapat tersebut berada dalam rentang nilai Rf yang menunjukkan pemisahan maksimal yaitu 0,2-0,8.

Uji kualitatif ekstrak lutein bunga kenikir menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis bertujuan untuk uji kualitatif. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang antara λ 300-600 nm (Tabel 4). Spektrum yang dihasilkan menunjukkan tiga puncak yang disebabkan terjadinya eksitasi elektron molekul. Pada senyawa lutein ada elektron tereksitasi yang memerlukan energi yang diserap. Panjang gelombang serapan maksimum yang dihasilkan antara lutein, ekstrak lutein bunga kenikir (*T. erecta* TC), ekstrak lutein bunga kenikir (*T. erecta* TJ) identik, pada λ 444 dan λ 443.

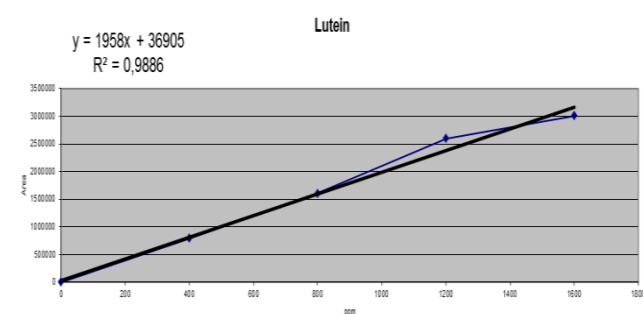
Hal ini menunjukkan bahwa lutein terkandung dalam ekstrak bunga kenikir (*T. erecta* TC), ekstrak lutein bunga kenikir (*T. erecta* TK), ekstrak lutein bunga kenikir (*T. erecta* TJ). Hasil pengamatan spektrum pada ekstrak lutein bunga kenikir (*T. erecta* TK) terdapat pergeseran panjang gelombang maksimum yaitu pada 443 nm. Davies melaporkan bahwa lutein dalam n-heksan mempunyai panjang gelombang serapan maksimum (λ_{maks}) pada 447 nm dan 476 nm dan terdapat puncak tambahan.

Analisis kuantitatif ekstrak lutein bunga kenikir menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Berdasarkan hasil uji kuantitatif penentuan kadar lutein dari ketiga ekstrak bunga kenikir diperoleh dari persamaan regresi kurva kalibrasi standar lutein, persamaan regresinya sebagai berikut: $y = 1958x + 36905$, dengan y adalah luas area dan x adalah konsentrasi (ppm). Nilai x setiap sampel sebagai nilai kadar terukur diperoleh dari perhitungan dengan memasukkan nilai luas area dari sampel terukur pada nilai y pada persamaan regresi. Nilai kadar lutein diperoleh dari nilai kadar terukur dikalikan dengan faktor pengenceran ($fp = 10$), diperoleh kadar lutein dari bunga kenikir Cipanas sebesar 8.196 ppm, bunga kenikir Bali kuning sebesar 6.764 ppm, bunga kenikir Bali jingga sebesar 7.784 ppm (Gambar 2; Tabel 5).

Tabel 4. Serapan larutan standar lutein dan ekstrak lutein dari tiga sampel bunga kenikir dalam metanol pa; diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada λ 300-600 nm.

Bahan	Serapan (Abs %)	Panjang gelombang maksimum (nm)
Lutein standar	1,864	444,0
Lutein <i>T. erecta</i> TC (Cipanas)	0,527	444,0
Lutein <i>T. erecta</i> TK Bali Kuning	0,344	443,0
Lutein <i>T. erecta</i> TJ Bali Jingga	0,178	444,0



Gambar 2. Kurva kalibrasi standar lutein dengan KCKT

Tabel 5. Hasil uji ekstrak lutein bunga kenikir dengan KCKT

Bahan uji lutein	Fp	Waktu retensi	Luas area	Tinggi
<i>T. erecta</i> (TC)	10	3,649	1641756	8196
<i>T. erecta</i> (TK)	10	3,663	1361206	6764
<i>T. erecta</i> (TJ)	10	3,668	1560934	7784

Uji aktivitas antioksidan ekstrak lutein bunga kenikir dengan Metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP)

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak lutein bunga kenikir dan vitamin E dapat dilihat pada Tabel 6. Gambar 3 merupakan kurva standar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa total antioksidan pada ketiga sampel uji, ekstrak lutein TC, ekstrak lutein TK, ekstrak lutein TJ dari bunga kenikir dan vitamin E ini memiliki perbedaan. Metode ini dapat menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut. Data yang diukur dalam menentukan total antioksidan berupa absorbansi. Absorbansi tersebut didapat pada saat pengukuran pada panjang gelombang maksimal larutan standar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 75 μL yang ditambahkan dengan reagen FRAP 1,425 mL. Dapat ditulis persamaan regresinya seperti $y = 0,0012x + 0,3654$, dengan y adalah absorbansi dan x adalah konsentrasi. Fungsi persamaan regresi yaitu sebagai acuan untuk menentukan konsentrasi total antioksidan pada ketiga ekstrak lutein bunga kenikir dan pembanding vitamin E. Hasil konsentrasi aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 6.

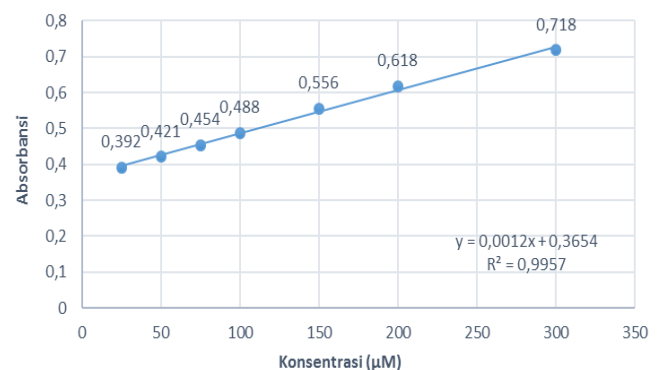
Uji aktivitas antioksidan ekstrak lutein bunga kenikir dengan menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak lutein tiga bunga kenikir dan vitamin E dapat dilihat pada Gambar 4 dan Tabel 6.

Hasil pengujian potensi tiga ekstrak lutein dari tiga jenis bunga kenikir sebagai antioksidan dengan metode perendaman DPPH menunjukkan bahwa, ekstrak lutein bunga kenikir TC memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai 52,975 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ekstrak lutein bunga kenikir TK memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai 50,641 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ekstrak lutein bunga kenikir TJ memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai 57,574 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH. Perubahan warna yang terjadi setelah 30 menit pemberian sampel ke dalam larutan DPPH dari warna ungu menjadi ungu kemerahan sampai kuning. Perubahan warna ini terjadi karena adanya reaksi antara difenil pikrihidrazil dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh satu molekul komponen ekstrak lutein sehingga terbentuk senyawa difenil pikrihidrazilin yang menyebabkan perubahan warna dari ungu ke kuning (Pratiwi 2013).

Berdasarkan hasil percobaan dapat dilihat bahwa ekstrak lutein kenikir TC memiliki aktivitas antioksidan yang artinya pada konsentrasi 52,975 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ekstrak lutein bunga kenikir dapat memberikan 50 % efek aktivitas antioksidan. Ekstrak lutein kenikir TK memiliki aktivitas antioksidan yang artinya pada konsentrasi 50,641 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ekstrak lutein tersebut dapat memberikan 50 % efek aktivitas antioksidan. Ekstrak lutein kenikir TJ memiliki

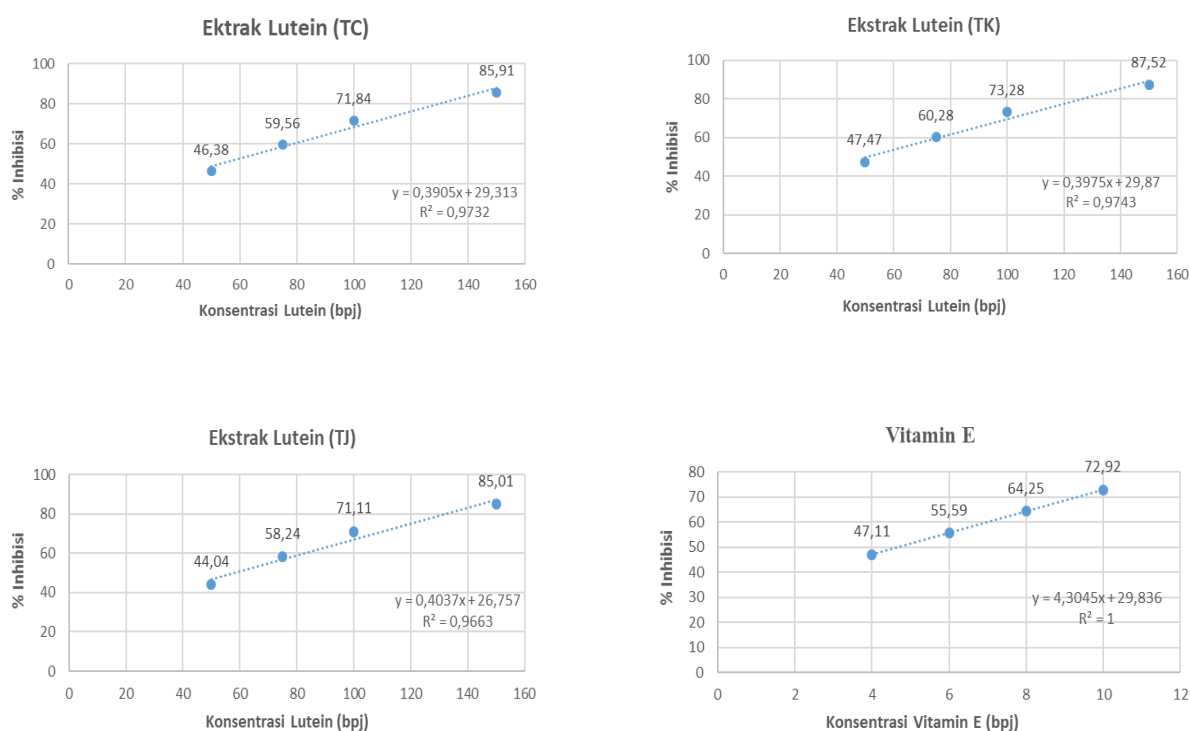
aktivitas antioksidan artinya pada konsentrasi 57,574 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang artinya ekstrak lutein bunga kenikir dapat memberikan 50 % efek aktivitas antioksidan. Pada vitamin E pada konsentrasi 4,684 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sudah dapat memberikan aktifitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 bpj, kuat untuk nilai IC_{50} 50-100 bpj, dan lemah jika nilai IC_{50} 151-200 bpj (Pratiwi 2013). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga ekstrak dari tiga bunga kenikir memiliki aktivitas antioksidan kuat. Pada Gambar 4, dapat dilihat bahwa ekstrak lutein bunga kenikir TC, TK, dan TJ memiliki nilai koefisien determinasi (r^2) berturut-turut 0,9732; 0,9743; 0,9663, nilai ketiganya mendekati 1, menunjukkan bahwa kurva linier sehingga ada korelasi antara konsentrasi lutein dengan (%) inhibisi, semakin besar konsentrasi ekstrak yang diberikan maka nilai aktivitas antioksidannya akan meningkat sehingga kemampuan antioksidannya pun semakin tinggi.



Gambar 3. Kurva Standar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Tabel 6. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Lutein *T. erecta* TC, TK dan TJ serta Vitamin E menggunakan Metode FRAP dan DPPH

Bahan uji lutein	Konsentrasi (Bpj)	Uji antioksidan metode FRAP	Uji antioksidan metode DPPH	
		Konsentrasi antioksidan ($\mu\text{m Fe (II)/g}$)	Rataan inhibisi (%)	IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
<i>T. erecta</i> (TC) Cipanas	10	33,00	46,38	52,975
	25	88,00	59,56	
	50	185,50	71,84	
	75	288,50	85,91	
<i>T. erecta</i> (TK) Bali Kuning	10	43,83	47,47	50,641
	25	104,66	60,28	
	50	197,16	73,28	
<i>T. erecta</i> (TJ) Bali Jingga	10	23,83	44,04	57,574
	25	80,50	58,24	
	50	183,00	71,11	
	75	278,00	85,01	
Vitamin E (kontrol)	4	12,16	47,11	4,684
	6	18,83	55,59	
	8	25,50	64,25	
	10	33,83	72,92	



Gambar 4. Hubungan konsentrasi ekstrak lutein bunga kenikir (TC, TK, TJ) dan vitamin E (antioksidan komersil) dengan % inhibisi

Dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa: (i) Ketiga ekstrak lutein bunga kenikir (*Tagetes erecta* L.) berwarna jingga kemerahan, kuning, jingga mengandung senyawa lutein, berdasarkan KLT, Spektrofotometri UV-Vis, dan hasil uji KCKT, kadar lutein bunga kenikir TC sebesar 8.196 ppm, TK sebesar 6.764 ppm, dan TJ sebesar 7.784 ppm. (ii) Hasil uji potensi antioksidan berdasarkan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) menunjukkan bahwa semakin besar kemampuan antioksidan mereduksi berkorelasi positif dengan meningkatnya konsentrasi. (iii) Ekstrak lutein bunga kenikir TC, TK dan TJ memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 52,975 $\mu\text{g/mL}$, 50,641 $\mu\text{g/mL}$, dan 57,574 $\mu\text{g/mL}$, berdasarkan metode perendaman DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil).

DAFTAR PUSTAKA

- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as Measure of Antioxidant Power. The FRAP Assay. *Anal Biochem* 239: 70-76
- Kemenkes RI. 2014. Situasi Gangguan Penglihatan dan Kebutaan. Pusat Data dan Informasi. Kementerian Kesehatan, Jakarta
- Kusmiati, Agustini NWS. 2012. Ekstraksi dan Karakteristik Senyawa Lutein Dari Dua Jenis Bunga Kenikir (*Tagetes erecta*) Lokal. *Prosiding Seminar Nasional IX Biologi*. Volume 9 (1): 698-706. FKIP UNS, Surakarta.
- Kusmiati, Swasono R, Tamat, Ilmiarti TA. 2015. Isolasi lutein dari bunga kenikir (*Tagetes erecta* L.) dan identifikasi menggunakan *Fourier Transformed Infra Red* dan Kromatografi Cair Spektrometri Massa. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 13: 123-130.
- Maria IH, Herry S. 2014. Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*). Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Katolik Parahyangan, Bandung.
- Maulida R, Guntarti A. 2015 Pengaruh Ukuran Partikel Beras Hitam (*Oryza sativa* L) Terhadap Rendemen Ekstrak dan Kandungan Total Antosianin. *Pharmaciana* 5 (1): 9-16.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin, J. Sci Technol.* 26 (2): 211-219.
- Pajaree B, Song WT, Hong JH. 2015. Antioxidant activities and lutein content of 11 marigold cultivars (*T. erecta*.) grown in Thailand. *Food Sci. Technol* 35 (2): 380-385.
- Pratiwi D. 2013. The test of antioxidant activity from bawang mekah leaves (*Eleutherine ameicana* Merr.) Using DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) Method. *Trad Med J* 18 (1): 9-16.
- Prior RL, Wu X, Schaich K. 2005. Standardized methods of the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 53: 4290-4302.
- Sirait M. 2007. Penuntun Fitokimia Dalam Farmasi. Penerbit ITB, Bandung.
- Sivel M, Kracmar S, Fisera M, Klejduš B, Kuban V. 2014. Lutein Content in Marigold Flower (*T. erecta*) concentrates used for production of food supplements. *Czech J Food Sci* 32 (6): 521-525.
- Szöllösi RI, Varga S. 2003. Total antioxidant power in some species of Labiatae (Adaptation of FRAP method). *Acta Biol Szeged* 46 (3-4): 125-127.
- Winarsih. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Cetakan pertama. Kanisius, Yogyakarta.