

Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Rosella Ungu (*Hibiscus Sabdariffa* L.)

Gusti Ayu Dewi Lestari^{1*}, Kadek Duwi Cahyadi¹, Ni Ketut Esati¹, Iryanti Eka Suprihatin²

¹Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Farmasi Mahaganesha, Bali

²Program Studi Kimia Terapan, Universitas Udayana, Bali

ABSTRAK

Ekstrak etanol bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) mengandung senyawa fitokimia potensial sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa pada bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) serta potensinya sebagai antioksidan. Bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) diekstraksi menggunakan metode maserasi dan diperoleh persentase rendemen hasil sebesar 35,25%. Skrining fitokimia dilakukan dengan metode KLT dimana ekstrak etanol bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Hasil uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 38,2939 ppm dimana ekstrak etanol bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Nilai AAI (*antioxidant activity index*) diperoleh 1,04. Nilai presisi dan linearitas pada metode ini adalah 7,67% dan $r^2 = 0,9929$ sehingga metode ini dapat dikatakan memiliki presisi dan linearitas yang baik. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin yang dapat menangkal radikal bebas.

Kata kunci: antioksidan; DPPH; KLT; rosella ungu

ABSTRACT

The ethanolic extract of purple rosella flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) contains phytochemical compounds that have potential as antioxidants. The purpose of this study was to determine the content of compounds in purple rosella flowers (*Hibiscus sabdariffa* L.) and their potential as antioxidants. Purple rosella flowers (*Hibiscus sabdariffa* L.) were extracted using the maceration method and the yield percentage was 35.25%. Phytochemical screening was carried out using the TLC method where the ethanolic extract of purple rosella flowers (*Hibiscus sabdariffa* L.) was positive for alkaloids, flavonoids, tannins and saponins. The results of the antioxidant activity test using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) obtained an IC₅₀ value of 38.2939 ppm where the ethanolic extract of purple rosella flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) has very strong antioxidant activity. The AAI (*antioxidant activity index*) value was 1.04. The value of precision and linearity in this method is 7.67% and $r^2 = 0.9929$ so that this method can be said to have good precision and linearity. From the results of research that has been carried out, it can be concluded that purple rosella flowers (*Hibiscus sabdariffa* L.) have very strong antioxidant activity because they contain flavonoid compounds, alkaloids, tannins and saponins that can counteract free radicals.

Keywords: antioxidant; DPPH; purple rosella flower; TLC

Received: 01-09-2021, Accepted: 03-10-2021, Online: 10-03-2022

PENDAHULUAN

Pergeseran pola hidup masyarakat dari tradisional menjadi praktis dan instan, memiliki dampak negatif bagi kesehatan. Makanan cepat saji dengan suhu tinggi dan pembakaran merupakan pilihan dominan yang dapat memicu terbentuknya senyawa radikal bebas (Poumorad dkk., 2006). Radikal bebas merupakan molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Senyawa radikal bebas timbul akibat

*Corresponding author:
lestaridewi87@gmail.com

berbagai proses kimia kompleks dalam tubuh, berupa hasil samping dari proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernafas, metabolisme sel, olahraga berlebihan, peradangan atau ketika tubuh terpapar polusi lingkungan seperti asap kendaraan bermotor, asap rokok, bahan pencemar dan radiasi matahari. Radikal bebas dalam tubuh bersifat sangat reaktif dan berinteraksi secara destruktif melalui reaksi oksidasi dengan bagian tubuh maupun sel-sel tertentu yang tersusun atas lemak, protein, karbohidrat, DNA dan RNA sehingga memicu berbagai penyakit seperti jantung koroner, penuaan dini dan kanker. Oleh karena itu dibutuhkan antioksidan untuk mengatasi radikal bebas (Reynertson, 2007).

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Murray, 2009).

Bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan salah satu sumber antioksidan alami. Kandungan senyawa fitokimia alami terdapat pada seluruh bagian tanaman, yaitu bunga, daun, batang dan buah rosella. Komponen fitokimia potensial tersebut meliputi fenol, alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, asam organik, antosianin, dan polisakarida (Mungole & Chaturvedi, 2011; Da-Costa-Rocha dkk., 2014).

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) digunakan untuk menguji daya antioksidan bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat. Perubahan warna yang terjadi adalah perubahan warna dari ungu menjadi kuning, di mana intensitas perubahan warna DPPH berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan untuk meredam radikal bebas tersebut. (Hanani, 2005). Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Sedangkan untuk uji identifikasi senyawa yg terdapat dalam ekstrak bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) digunakan metode KLT. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis (*thermo scientific*), timbangan analitik (*ohaus*), corong pisah, gelas ukur (*pyrex*), kertas perkamen, spatel, corong, aluminium foil, wadah maserasi, *rotary evaporator* (IKA®RV8), erlenmeyer, labu ukur (*pyrex*), batang pengaduk, *beaker glass* (*pyrex*), pipet ukur (*herma*), cawan porselen, pipet tetes, oven (OV-30), kertas saring, silica gel 60 F₂₅₄ (*merck*), pipa kapiler (*cambg*), lampu UV 254 nm (*griyaLab*). Sedangkan bahan yang digunakan yaitu simplisia bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang diperoleh dari Apotek Sembung Farma, etanol 70% (*onemed*), etanol 95% (*onemed*), aquadest, pereaksi Meyer dan *Dragendorff*, kloroform (*merck*), FeCl₃ 1%, HCl pekat, DPPH (Nitro kimia), ammonia, H₂SO₄ pekat.

Preparasi

Ekstraksi pada bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Sebelumnya simplisia bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang telah dikeringkan dihaluskan dengan cara diblender. Sebanyak 100 gram serbuk bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) direndam menggunakan pelarut pelarut

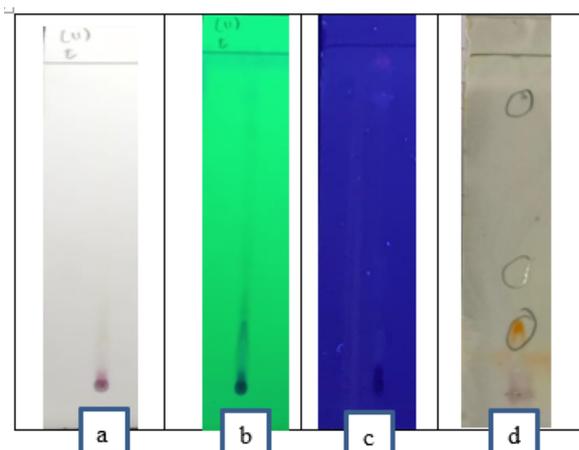
etanol 70% sebanyak 500 mL. Perbandingan bahan dengan pelarut adalah 1:5 b/v. Proses maserasi ini dilakukan selama 3 hari, dimana setiap 24 jam dilakukan penyaringan menggunakan kain flanel dan kertas saring untuk memisahkan ampas dengan maserat. Setelah dilakukan penyaringan dilakukan proses remaserasi. Pada remaserasi residu digunakan lagi untuk kedua kalinya dengan pelarut yang baru. Semua filtrat digabungkan pada tahap akhir (Ukieyana, 2012). Maserat yang telah didapat kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 330 rpm pada suhu 40°C Ekstrak pekat dimasukkan ke dalam gelas vial yang dilapisi aluminium foil dan disimpan pada suhu 4°C. Setelah mendapatkan ekstrak kental, dilakukan uji KLT dan uji aktivitas antioksidan terhadap sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 70%. Metode ini dipilih karena ekstraksi cara dingin dapat mencegah terurainya metabolit sekunder yang tidak tahan pemanasan. Pelarut etanol digunakan karena memiliki kepolaran yang baik untuk mengekstrak berbagai komponen yang bersifat polar seperti flavonoid, saponin, steroid, tanin dan alkaloid. Maserat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* tujuannya untuk menguapkan pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi sehingga didapatkan ekstrak kental dari rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L dan alat tersebut digunakan untuk efisiensi penguapan larutan dari sebuah campuran. Alat ini menggunakan prinsip vakum destilasi. *Rotary evaporator* lebih disukai karena mampu menguapkan pelarut di bawah titik didih sehingga zat yang terkandung di dalam pelarut tidak rusak oleh suhu yang tinggi. Dari hasil ekstraksi simplisia bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi dari 100 gram simplisia yang digunakan diperoleh ekstrak kental bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) sebanyak 35,25 g dimana persentase rendemen hasil adalah 35,25%.

Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis Alkaloid

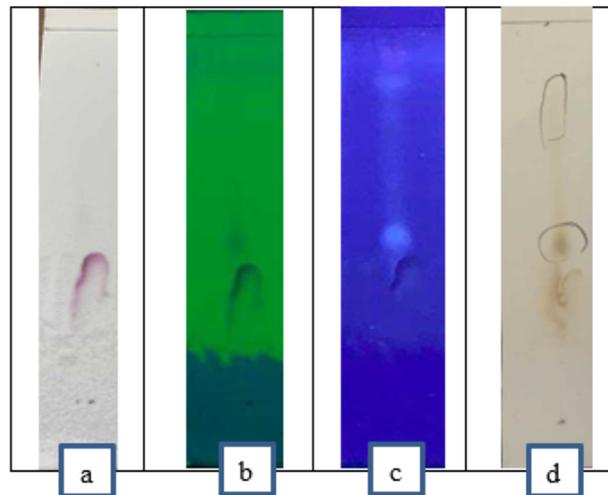


Gambar 1. Hasil KLT Senyawa Golongan Alkaloid (a) Pengamatan pada sinar tampak, (b) pengamatan pada sinar UV 254 nm, (c) pengamatan pada sinar UV 365 nm, (d) Pengamatan sinar tampak setelah disemprot pereaksi *Dragendorff*.

Pada hasil KLT untuk pengujian senyawa metabolit sekunder alkaloid, ekstrak etanol

bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) positif mengandung alkaloid. Hal ini dapat dilihat dari timbulnya warna oranye setelah disemprot pereaksi *Dragendorff* (Wagner & Bladt, 1996).

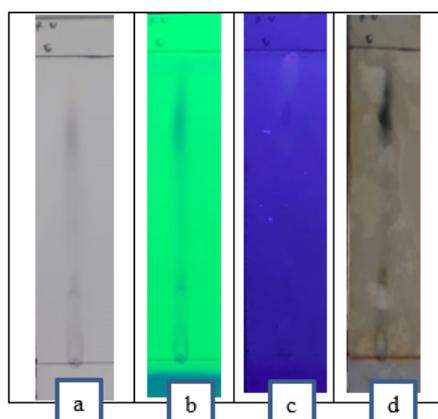
Flavonoid



Gambar 2. Hasil KLT Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid (a) Pengamatan pada sinar tampak, (b) pengamatan pada sinar UV 254 nm, (c) pengamatan pada sinar UV 365 nm, (d) Pengamatan sinar tampak setelah diuapi amonia.

Pada hasil KLT untuk pengujian senyawa metabolit sekunder flavonoid, ekstrak etanol bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) positif mengandung flavonoid. Hal ini dapat dilihat dari timbulnya warna biru berfluoresensi pada panjang gelombang 365 nm (Wagner & Bladt, 1996). Selain itu setelah diuapi amonia timbul warna kuning kecoklatan (Harborne, 1987). Senyawa flavonoid yang terdapat dalam bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) termasuk dalam golongan antosianin yaitu delphinidin-3-glucosyl-xyloside (hibiscin), delphinidin-3-glucoside-xyloside, cyanidin-3-glucoside (Wagner & Bladt, 1996).

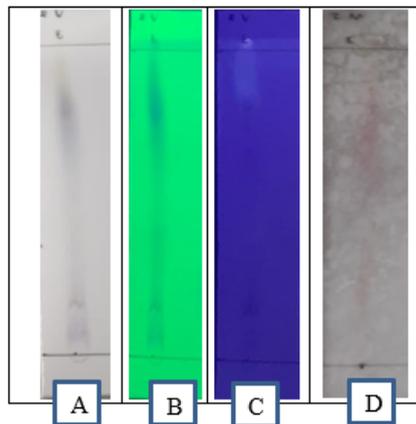
Tanin



Gambar 3. Hasil KLT Identifikasi Senyawa Golongan Tanin (a) Pengamatan pada sinar tampak, (b) pengamatan pada sinar UV 254 nm, (c) pengamatan pada sinar UV 365 nm, (d) Pengamatan sinar tampak setelah disemprot pereaksi FeCl_3 5%

Pada hasil KLT untuk pengujian senyawa metabolit sekunder tanin, ekstrak etanol bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) positif mengandung tanin. Hal ini dapat dilihat dari timbulnya warna hitam setelah disemprot FeCl_3 5%. Hal ini sesuai dengan beberapa literatur dimana senyawa tanin menunjukkan noda hitam setelah disemprot dengan FeCl_3 5% (Harborne, 1987)

Saponin

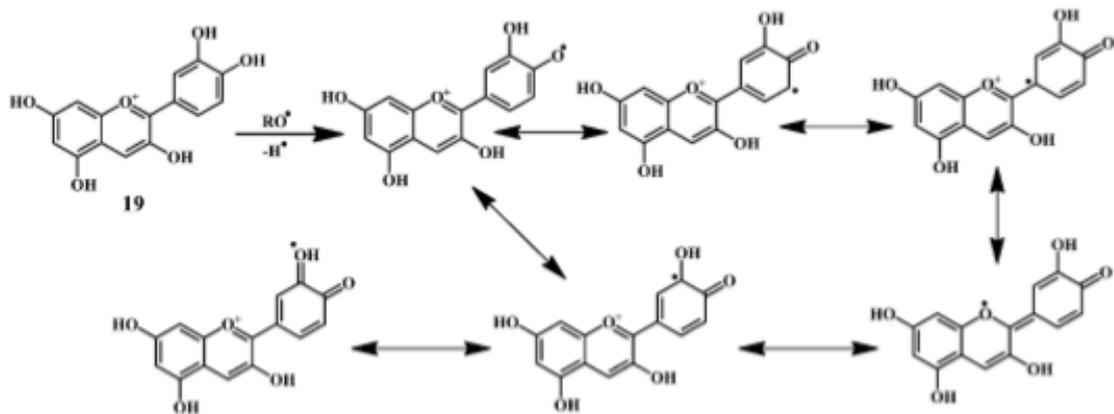


Gambar 4. Hasil KLT Identifikasi Senyawa Golongan Saponin (a) Pengamatan pada sinar tampak, (b) pengamatan pada sinar UV 254 nm, (c) pengamatan pada sinar UV 365 nm, (d) Pengamatan sinar tampak setelah disemprot pereaksi Liebermann-Burchard

Pada hasil KLT untuk pengujian senyawa metabolit sekunder saponin, ekstrak etanol bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) positif mengandung saponin. Hal ini dapat dilihat dari timbulnya warna merah muda atau violet setelah disemprot pereaksi *Liebermann-Burchard* (Harbone, 1987).

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) dilakukan pada panjang gelombang maksimum DPPH 518 nm. Hasil absorbansi dari sampel yang telah direaksikan dengan larutan DPPH 40 ppm, dibuatkan persen inhibisinya kemudian dibuat kurva garis linear sehingga didapat persamaan garis $y = 1,1805x + 4,794$. Dari persamaan garis tersebut, IC_{50} diperoleh 38,2939 ppm sedangkan nilai AAI diperoleh 1,04. Hal ini menandakan ekstrak etanol bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) tergolong dalam antioksidan sangat kuat dimana nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm. Selain itu nilai AAI dari ekstrak etanol bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) adalah 1,04 dimana nilai ini menandakan bahwa ekstrak tergolong memiliki aktivitas antioksidan kuat karena nilainya $1.0 < \text{AAI} < 2.0$. Senyawa flavonoid pada bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) adalah antosianin (sinidin dan delpidin). Antosianin merupakan kelas flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan. Tiga gugus fungsi penting sebagai penangkal radikal bebas pada antosianin adalah gugus orto-dihidroksi pada cincin B; 2,3 ikatan rangkap terkonjugasi; gugus 4-okso pada cincin C. Pada Gambar 5 menunjukkan bahwa antosianin mendonorkan elektron (ditemani dengan inti hidrogen) ke radikal bebas dari gugus -OH fenoliknya. Elektron ini menstabilkan dan menginaktivasi radikal bebas. Pada proses ini, agen pereduksi polifenol berubah menjadi radikal *aroxyl* dimana lebih stabil dikarenakan mampu beresonansi dibandingkan radikal bebas yang telah direduksi (Nimse & Pal, 2015).

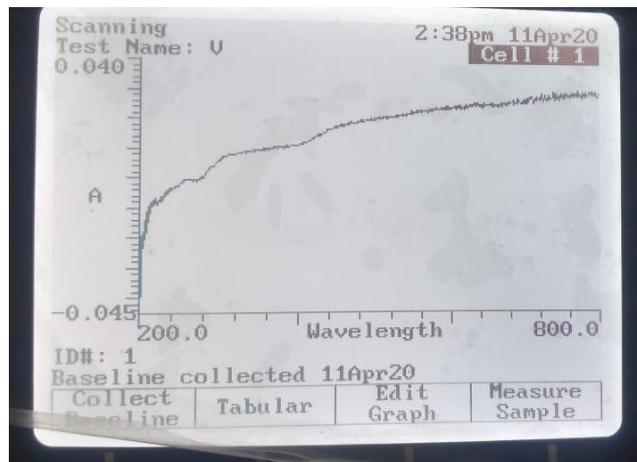


Gambar 5. Mekanisme penangkal radikal bebas dari sinidin

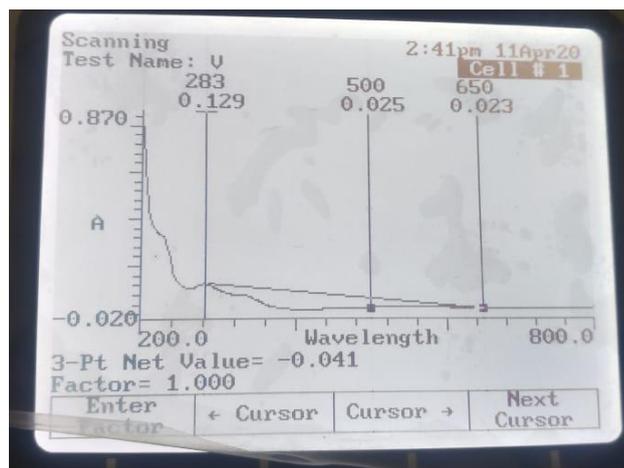
Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa metode tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Beberapa parameter yang digunakan dalam metode pada penelitian ini adalah:

1. Keseksamaan (*precision*) adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita, 2004). Keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Keseksamaan dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) atau ketertiruan (*reproducibility*). Nilai %RSD yang diperoleh dalam penelitian ini adalah 7,67%. Berdasarkan literatur keseksamaan (presisi) nilai %RSD ini masuk dalam rentang sehingga dapat dikatakan bahwa metode yang digunakan pada penelitian ini telah memenuhi persyaratan presisi.
2. Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Linearitas biasanya dinyatakan dalam istilah variansi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematik data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit. Perlakuan matematik dalam pengujian linearitas adalah melalui persamaan garis lurus dengan metode kuadrat terkecil antara hasil analisis terhadap konsentrasi analit. Dalam beberapa kasus, untuk memperoleh hubungan proporsional antara hasil pengukuran dengan konsentrasi analit, data yang diperoleh diolah melalui transformasi matematik dulu sebelum dibuat analisis regresinya (Harmita, 2004). Dalam penelitian ini diperoleh persamaan garis $y = 1,1805x + 4,794$ dimana $r^2 = 0,9929$. Dari hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa metode yang digunakan memiliki linearitas yang baik dimana syarat linearitas suatu metode $r^2 > 0,95$ (Harmita, 2004).
3. Selektivitas atau spesifisitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Selektivitas seringkali dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (*degree of bias*) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan (Harmita, 2004). Metode yang digunakan dalam penelitian ini dapat dikatakan selektif karena pada panjang gelombang 518 nm yang terukur hanya absorbansi dari DPPH tanpa adanya gangguan dari

absorbansi etanol maupun ekstrak didalamnya dimana absorbansi etanol dan ekstrak terlihat pada Gambar 6 dan 7.



Gambar 6. Spektrum pelarut etanol



Gambar 7. Spektrum ekstrak etanol bunga rosella ungu

SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa: ekstrak etanol bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin yang mana mampu berperan sebagai antioksidan. Ekstrak etanol bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dimana nilai IC_{50} 38,2939 ppm dan mempunyai nilai AAI 1,04 dimana nilai ini menandakan bahwa ekstrak tergolong memiliki antioksidan kuat.

DAFTAR RUJUKAN

Apsari, Pramudita Dwi., Susanti, H. (2011). *Penetapan kadar fenolik total ekstrak Metanol kelopak bunga rosella merah (Hibiscus sabdariffa Linn) dengan variasi tempat Tumbuh secara spektrofotometri*. 2(1): 73-80.

- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender B., Sievers H., Pischel I., & Heinrich M. (2014). *Hibiscus sabdariffa* L. A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry* 165: 424–443
- Hanani, E., Mun'im, A. & Sekarini, R. (2005). Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia sp* Dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2(3): 127 - 133.
- Harborne, J.B. (1987). *Phytochemical Methods*. Chapman and Hall Ltd., London, 49-188.
- Harmita. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 1(3).
- Mungole, A., Chaturvedi, A. (2011). *Hibiscus sabdariffa* L., A rich source of secondary metabolites. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 6(1):83-87.
- Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W. (2009). *Biokimia harper* (27 ed.). Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Nimse, S. B., Pal D. (2015). Review: free radical, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *The Royal Society of Chemistry CrossMark. overview. Natural product radiance*, Vol. 8(1), 2009, pp. 77-83.
- Poumorad, F., Hosseinimehr S. J., & Shahabimajd N. (2006). Antioxidant activity phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 11:1142-1145
- Reynertson, K. A. (2007). Phytochemical Analysis of Bioactive Constituents from Edible Myrtaceae Fruit. *Dissertation*. The City University of New York, New York
- Ukieyana, E. (2012). *Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik Dan Flavanoid total Tumbuhan Suruhan (Peperomia pellucid L. Kunth)*. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Wagner, H., & Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. 2nd Edition. Springer-Verlag. Berlin.