

EFEK ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUNGA ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis

Muhammad Iqbal¹, Aliyah², Gemini Alam²

¹) Program Studi Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Islam Makassar

²) Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin Makassar

Email: muhammadiqbal.dty@uim-makassar.ac.id

ABSTRAK

Tubuh manusia memerlukan antioksidan yang dapat meredam dampak negatif dari serangan radikal bebas. Antioksidan umumnya merupakan senyawa fenolik/flavonoid yang tersebar di seluruh bagian tanaman obat, salah satunya tumbuhan Rosela. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak bunga Rosela. Penelitian ini bersifat laboratorium eksperimental yang dilakukan di laboratorium Biofarmaka Universitas Hasanuddin. Tahapan penelitian ini: (1) bunga Rosela segar berasal dari Kecamatan Tombolo Pao Kabupaten Gowa sebanyak 500 gram diekstraksi dengan etanol 70% menggunakan metode maserasi dan (2) ekstrak bunga Rosela diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode uji *in vitro* dengan pereaksi DPPH pada spektrofotometer Uv-vis dengan panjang gelombang 515,5 nm. Hasil penelitian ini menunjukkan (1) bobot ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi sampel segar bunga Rosela sebanyak 60,62 gram (rendamen 12,12%) dan (2) ekstrak bunga Rosela memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah dengan nilai IC₅₀ 212,1 µg/ml (>200 µg/ml). Kesimpulan dan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bunga Rosela yang berasal dari Kecamatan Tombolo Pao memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah.

Kata kunci: bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.); Aktivitas antioksidan, DPPH, Antioksidan; Spektrofotometer UV-Vis

PENDAHULUAN

Tubuh manusia memerlukan suatu substansi penting yakni antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan meredam dampak negatif senyawa tersebut, namun hal itu tergantung terhadap pola hidup dan pola makan yang harus benar (Mega, 2010). Antioksidan dalam pengertian kimia adalah senyawa-senyawa pemberi elektron, sedangkan dalam pengertian biologis antioksidan merupakan molekul atau senyawa yang dapat meredam aktivitas radikal bebas dengan mencegah oksidasi sel. Sumber antioksidan alami umumnya merupakan senyawa fenolik yang tersebar di seluruh bagian tumbuhan. Senyawa fenolik antara lain dapat berupa golongan flavonoid. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan telah banyak diteliti, dimana flavonoid memiliki kemampuan untuk meredam atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Zuhra *et al*, 2008).

Rosela merupakan salah satu tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan. Di beberapa daerah, masyarakat memanfaatkan bunga Rosela sebagai teh, disebut dengan teh merah. Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) adalah tanaman dari keluarga kembang sepatu. Bunga dan bijinya dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku minuman kesehatan. Bunga Rosela mengandung senyawa kimia gossypetin,

antosianin, dan glukosida hibiscin. Flavonoid dalam bunga Rosela bermanfaat untuk mencegah kanker, terutama yang dikarenakan radikal bebas, seperti kanker lambung dan leukemia Formagio *et al* (2013). Antioksidan yang terkandung dalam bunga rosela dapat dimanfaatkan dengan cara mengolahnya menjadi suatu produk (Hartiati *et al*, 2009).

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan suatu zat, dapat dilakukan beberapa uji, baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Pengujian secara *in vitro* dapat dilakukan dengan salah satu metode uji yang menggunakan pereaksi DPPH (1,1-diphenil-2-pikrilhidrazil). Metode uji dengan pereaksi DPPH ini dipilih karena pelaksanaannya mudah, sederhana, cepat, peka, serta hanya membutuhkan sedikit pereaksi DPPH dan sampel (Moluneux, 2004).

Berdasarkan uraian di atas, maka tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak bunga Rosela yang berasal Kecamatan Tombolo Pao, Kabupaten Gowa melalui metode uji dengan pereaksi DPPH.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain; alat-alat gelas yang digunakan di laboratorium, *rotary evaporator* (IKA-RV 10), spektrofotometer UV-

Visible (Agilent 8453), timbangan analitik (Dragon 303), timbangan gram (O'hauss), dan vortex (Mixer-Hwashin).

Bahan-bahan yang digunakan adalah bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.), air suling, asam askorbat (vitamin C), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH), etanol 70%, dan metanol p.a.,

B. Populasi dan Sampel

Bunga Rosela diperoleh dari Kecamatan Tombolo Pao, Kabupaten Gowa, Provinsi Sulawesi Selatan. Bunga Rosela disortasi, dipisahkan kelopak bunga dari buah yang berisi biji, kemudian kelopak dibersihkan, dicuci dan ditiriskan lalu dipotong-potong kecil dengan ukuran 1–2 cm. Kelopak bunga Rosela segar yang telah dipotong-potong kecil ditimbang sebanyak 500 g dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 1500 ml selama lima hari sambil diaduk sekali-sekali. Setelah lima hari, kemudian disaring. Selanjutnya, ampasnya dimaserasi kembali dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1500 ml hingga pelarut tidak berwarna. Hasil saringan ditampung dan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, sehingga didapatkan ekstrak yang kental.

C. Prosedur Kerja

Kristal DPPH ditimbang sebanyak 0,394 mg, dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 ml, dilarutkan dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a. hingga tanda batas, divortex hingga homogen kemudian ditempatkan dalam botol gelap. Larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 ml lalu ditambahkan metanol p.a hingga batas, dihomogenkan dengan vortex dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit; selanjutnya dituang ke dalam tabung kuvet dan diukur pada panjang gelombang 515,5 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Molyneux, 2004 dan Musfiroh & Syarief, 2009).

Larutan stok asam askorbat 100 bpj dibuat dengan cara ditimbang 10 mg serbuk asam askorbat dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a dalam labu tentukur hingga 100 ml, kemudian larutan stok 100 bpj diencerkan dan dibuat seri konsentrasi 2 bpj, 4 bpj, 6 bpj, 8 bpj dan 10 bpj dalam labu tentukur 5 ml dengan penambahan 1 ml larutan DPPH 0,4 mM dan dicukupkan dengan metanol p.a hingga tanda batas. Pengukuran dilakukan dengan cara masing-masing seri konsentrasi larutan asam askorbat yang telah dibuat, dihomogenkan menggunakan vortex dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit; selanjutnya dituang ke dalam tabung kuvet dan diukur pada panjang gelombang 515,5 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Molyneux, 2004).

Larutan stok 1000 bpj ekstrak bunga Rosela dibuat dengan cara ditimbang ekstrak 10 mg, dilarutkan dan dicukupkan dengan metanol p.a. dalam labu tentukur hingga 10 ml. Selanjutnya larutan stok 1000 bpj dibuat seri konsentrasi 20 bpj, 40 bpj, 60 bpj, 80 bpj dan 100 bpj dengan penambahan 1 ml larutan DPPH 0,4 mM. Pengukuran dilakukan dengan cara yang sama seperti pada pengukuran larutan pembanding asam askorbat.

D. Analisis Data

Aktivitas antioksidan larutan uji dapat diketahui berdasarkan tingkat kapasitasnya menghambat radikal bebas DPPH melalui hasil serapan (Blois, 1958). Untuk menghitung persen aktivitas penghambatan DPPH digunakan persamaan:

$$\% \text{ aktivitas penghambatan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan : A_0 adalah serapan DPPH

A_1 adalah serapan sampel

Konsentrasi sampel dan persen aktivitas penghambatan yang diperoleh diplot masing-masing pada sumbu X dan sumbu Y pada persamaan regresi linear. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} dari masing-masing sampel yang dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC_{50} . Nilai AAI menentukan sifat kekuatan antioksidan, penentuannya dengan cara konsentrasi DPPH (bpj) yang digunakan dalam uji dibagi dengan nilai IC_{50} (bpj) yang diperoleh (Vasic *et al*, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan ekstrak bunga Rosela dari simplisia segar bunga rosela yang dimaserasi menggunakan etanol 70%. Metode maserasi dipilih karena mudah, murah dan tidak mengandung bahan yang mudah mengembang dalam cairan penyari serta sesuai dengan sampel yang digunakan yaitu bunga dan daun. Digunakan etanol 70% sebagai pelarut karena senyawa fenolik dan flavonoid dalam bunga Rosela mudah larut dalam pelarut organik yang bercampur dengan air (DepKes RI, 2000). Ekstraksi sampel segar bunga Rosela dengan metode maserasi diperoleh hasil bobot ekstrak bunga Rosela sebanyak 60,62 g atau rendamen sebesar 12,12%.

Terhadap ekstrak yang diperoleh dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometer dengan pereaksi DPPH. DPPH digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari beberapa senyawa alami. Kemampuan pengurangan radikal DPPH ditentukan oleh penurunan jumlah cahaya terserap pada panjang gelombang yang disebabkan oleh antioksidan. Perubahan warna

ungu DPPH menjadi warna kemerahan sampai kuning dapat diukur secara spektrofotometri sesuai dengan jumlah elektron yang ditangkap untuk mendapatkan pasangan elektron menjadi troloks, dan mengubahnya menjadi 1-difenil-2-pikrilhidrazin oleh molekul DPPH akibat adanya zat antioksidan (Gurav *et al*, 2007).

Parameter daya antioksidan yang digunakan dengan pereaksi DPPH adalah nilai IC_{50} . IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik, aktivitas antioksidan senyawa sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/ml}$, kuat jika bernilai 50–100 $\mu\text{g/ml}$, sedang jika bernilai 100–150 $\mu\text{g/ml}$, lemah jika bernilai 150–200 $\mu\text{g/ml}$ dan sangat lemah jika bernilai lebih dari 200 $\mu\text{g/ml}$ (Blois, 1958). Nilai AAI (*antioxidant activity index*) berfungsi menggolongkan sifat antioksidan ekstrak. Antioksidan bersifat lemah jika nilai kurang dari 0,5, sedang jika berada antara 0,5–1, kuat jika berada antara 1–2, dan sangat kuat jika lebih dari 2 (Vasic *et al*, 2012). Uji aktivitas antioksidan pada pembandingan asam askorbat dengan pereaksi DPPH menggunakan

spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 515,5 nm memberikan hasil nilai IC_{50} sebesar 5,528 bpj dan nilai AAI sebesar 7,151. Hasil ini dapat dilihat pada Tabel 1. Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak bunga Rosela dengan pereaksi DPPH memberikan hasil nilai IC_{50} sebesar 212,11 bpj dan nilai AAI sebesar 0,186. Hasil ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil yang didapatkan, terlihat bahwa aktivitas antioksidan ekstrak bunga Rosela (212,11 $\mu\text{g/ml}$) sangat lemah karena IC_{50} -nya lebih dari 200 $\mu\text{g/ml}$. Dan memiliki sifat antioksidan lemah karena nilai AAI-nya 0,186 kurang dari 0,5.

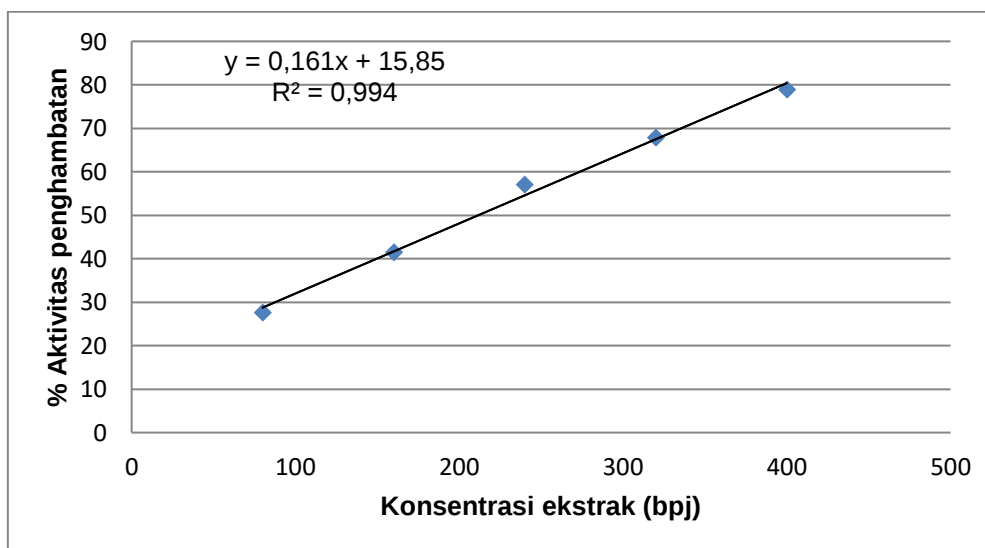
Pembandingan yang digunakan sebagai kontrol adalah vitamin C, karena vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas dimana berfungsi sebagai antioksidan sekunder yang mampu menangkap berbagai radikal bebas ekstraseluler dan mencegah terjadinya reaksi berantai serta mempunyai gugus polihidroksi yang meningkatkan aktivitas antioksidan (Praptiwi *et al*, 2006). Aktivitas antioksidan vitamin C sangat kuat karena nilai IC_{50} -nya 5,528 $\mu\text{g/ml}$ (kurang dari 50 $\mu\text{g/ml}$) dan nilai AAI-nya 7,151 (lebih dari 2).

Tabel 1. Penetapan Penghambatan DPPH terhadap asam askorbat (vitamin C) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 515,5 nm

No.	Kelompok	Replikasi	Konsentrasi	Serapan	% Inhibisi	% Rata-rata	Pers. Regresi linier	Nilai IC_{50}	Nilai AAI
1	DPPH		39,433 bpj	0,846	-	-			
2	Vitamin C 1	1	2 bpj	0,747	11,70	10,56	$y = 10,42x - 7,604$	5,528 bpj	7,151
		2		0,764	9,72	$\pm$ 1,03			
		3		0,759	10,28				
3	Vitamin C 2	1	4 bpj	0,533	37,01	34,16			
		2		0,575	32,03	$\pm$ 2,55			
		3		0,563	33,45				
4	Vitamin C 3	1	6 bpj	0,333	60,63	59,25			
		2		0,358	57,68	$\pm$ 1,48			
		3		0,343	59,45				
5	Vitamin C 4	1	8 bpj	0,185	78,13	77,58			
		2		0,197	76,71	$\pm$ 0,76			
		3		0,187	77,90				
6	Vitamin C 5	1	10 bpj	0,060	92,91	93,06			
		2		0,058	93,14	$\pm$ 0,13			
		3		0,066	93,14				

Tabel 2. Penetapan Penghambatan DPPH terhadap ekstrak bunga Rosela menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 515,5 nm

No.	Kelompok	Replikasi	Konsentrasi	Serapan	% Inhibisi	% Rata-rata	Pers. Regresi Linier	Nilai IC ₅₀	Nilai AAI
1	DPPH		39,433 bpj	0,763	-	-			
2	Ekstrak bunga rosela 1	1	80 bpj	0,558	26,87	27,61	$y = 0,161x + 15,85$	212,11 bpj	0,186
		2		0,549	28,05	± 0,65			
		3		0,550	27,91				
3	Ekstrak bunga rosela 2	1	160 bpj	0,446	41,54	41,46			
		2		0,448	41,28	± 0,15			
		3		0,446	41,54				
4	Ekstrak bunga rosela 3	1	240 bpj	0,314	58,84	57,01			
		2		0,339	55,57	± 1,67			
		3		0,331	56,62				
5	Ekstrak bunga rosela 4	1	320 bpj	0,223	70,77	67,84			
		2		0,255	66,58	± 2,54			
		3		0,258	66,18				
6	Ekstrak bunga rosela 5	1	400 bpj	0,165	78,37	78,94			
		2		0,160	79,03	± 0,53			
		3		0,157	79,42				



KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga Rosela yang berasal dari Kecamatan Tombolo Pao kabupaten Gowa memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah. Sehubungan dengan penelitian ini disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan mempertimbangkan efek yang lain selain efek antioksidan, sehingga tumbuhan ini dapat bermanfaat untuk manusia.

DAFTAR PUSTAKA

Amelia, P. 2011. *Isolasi, Elusidasi Struktur dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Kimia Dari Daun (Garcinia benthami Pierre)*. Tesis tidak diterbitkan. Depok: Program Megister Ilmu Kefarmasian Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Gurav, S., Nilambari D., Vijay G., Nandkishore D. and A. P. 2007. Free Radical Scavenging Activity Of *Polygala chinensis* Linn. *Pharmacologyonline*, 2: 245-253.
- Hartiati, A. Sri M, dan Pusparini D. N. M. 2009. Pengaruh Preparasi Bahan Baku Rosela Dan Waktu Pemasakan Terhadap Aktivitas Antioksidan Sirup Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Jurnal Agrotekno*: 20-24. 20, Vol 15, Nomor 1.
- Mega, I. M. dan Dewa A. S. 2010. Screening Fitokimia dan Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Metanol Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*). *Jurnal Kimia* 4 (2): 187-192.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal Science and Technology*. 26(2) : 211-219.
- Pham-Huy, L.A.P., He, H., Pham-Huy, C. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci* 4: 89-96.
- Praptiwi., Dewi, P., dan Harapini, M. 2006. Nilai Peroksida dan Aktivitas Anti-Radikal Bebas Diphenylpicridhidrazil (DPPH) Ekstrak Metanol (*Knema laurina*). *Majalah Farmasi Indonesia*. 17(1): 32-36.
- Sudarsono, Gunawan D., Wahyuono S., Donatus I.A., dan Purnomo. 2002. *Tumbuhan obat II (hasil penelitian, sifat-sifat, dan penggunaannya)*. Pusat Studi Obat Tradisional Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.
- Vasic, S. M., Stefanovic, O. D., Licina, B. Z., Radojevic, I. D., and Comic, L. R. 2012. Biological Activities of Extracts from Cultivated *Granadilla passifloraalata*. *EXCLI Journal*: 1611-2156.
- Zuhra, C. F., Juliati B.R., Tarigan, dan Herlince S. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*, Hlm. 7-10.

