

Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Fenol Total Serta Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Sanezea Effendy¹*, Vina Neldi², Putri Ramadhani²

¹Departemen Teknologi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Padang, Padang, Indonesia

²Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinis, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Padang, Padang, Indonesia

*E-mail: sanezeaeffendy@email.com

Abstrak

Bunga dari tanaman Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk tujuan pengobatan. Bunga dari tanaman ini diketahui memiliki berbagai senyawa metabolit sekunder seperti golongan flavonoid, antosianin, asam organik, asam fenolik. Dari berbagai penelitian, diketahui bahwa senyawa golongan flavonoid pada tanaman diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Antioksidan sangat diperlukan dalam menangkal radikal bebas. Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh (endogen) maupun dari luar tubuh (eksogen) yang dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti penyakit kardiovaskular, *neurodegenerative*, penuaan dini, kanker, dll. Metode pengujian aktivitas antioksidan menggunakan DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) sering digunakan, berdasarkan prinsip donor elektron dari suatu zat antioksidan pada DPPH radikal. Dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut etanol pada bunga Rosela. Dari Hasil uji skrining fitokimia diperoleh ekstrak etanol Rosela mengandung alkaloid, flavonoid, tanin. Kadar fenolik total adalah 29,63 mg GAE/g ekstrak. Kadar flavonoid total adalah 3,46 mg QE/g ekstrak. Nilai IC₅₀ pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga Rosela didapat hasil 169,55 µg/mL.

Kata kunci: *Hibiscus sabdariffa*, antioksidan, total fenol, total flavonoid.

Abstract

The flowers of the Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) are widely used for medicinal purposes. The flowers of this plant are known to have various secondary metabolite compounds such as flavonoids, anthocyanins, organic acids, phenolic acids. From various studies, flavonoid compounds in plants are known to have antioxidant activity. Antioxidants are very necessary to prevent free radicals. Free radicals can come from inside of the body (endogenous) or from outside of the body (exogenous) which can cause various diseases such as cardiovascular disease, neurodegenerative disease, premature aging, cancer, etc. The antioxidant activity testing method using DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) is often used, based on the principle of electron donation from an antioxidant substance to DPPH radicals. Extraction was carried out using ethanol solvent on roselle flowers. From the results of the phytochemical screening test, it was found that the ethanol extract of roselle contained alkaloids, flavonoids and tannins. The total phenolic content was 29.63 mg GAE/g extract. The total flavonoid content was 3.46 mg QE/g extract. The IC₅₀ value in the antioxidant activity of the ethanol extract of roselle flowers was 169.55 µg/mL.

Keywords: *Hibiscus sabdariffa*, antioxidant, total phenolic, total flavonoid

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan suatu atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya sehingga bersifat sangat reaktif (tidak stabil). Untuk mencapai kestabilan, radikal bebas akan bereaksi dengan atom pada molekul di sekitarnya. Akibatnya molekul yang kehilangan atom tadi akan berubah juga

menjadi suatu radikal, menyebabkan reaksi berantai yang akhirnya akan merusak sel. *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS) merupakan radikal bebas yang dapat berasal dari sumber endogen (dari dalam tubuh) seperti mitokondria, peroksisom, retikulum endoplasma sel fagosit, inflamasi, stress mental, infeksi, dll maupun dari sumber eksogen (polusi, alkohol, rokok, pestisida,

logam berat, radiasi. Radikal bebas dapat berefek negatif pada molekul biologis seperti asam nukleat, lipid, protein tubuh (Phaniendra *et al.*, 2015; Yunita, 2021). Hal ini berkaitan dengan berbagai penyakit yang disebabkan radikal bebas seperti diabetes melitus, penyakit *neurodegenerative* (parkinson, alzheimer, *multiple sclerosis*), penyakit kardiovaskular, penyakit pada pernafasan, katarak, *rheumatoid arthritis*, penuaan dini, kanker (Phaniendra *et al.*, 2015).

Antioksidan dibutuhkan dalam menangkal radikal bebas. Normalnya, tubuh akan mampu membentuk antioksidan endogen (secara enzimatis dan non-enzimatis) untuk melindungi sel dari radikal bebas (Mironczuk-Chodakowska *et al.*, 2018). Namun, terkadang tubuh masih membutuhkan antioksidan yang berasal dari luar (eksogen) yang dapat bersumber dari alam maupun sintetik (Anggarani *et al.*, 2023).

Tanaman rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) sering dikonsumsi secara tradisional untuk tujuan pengobatan seperti antimikroba, antiparasit, laksatif, diuretik, antitusif, antipiretik, hipotensi, antiinflamasi, analgesik, serta sebagai antioksidan, kardioprotektif, dan neuroprotektif (Montalvo-González *et al.*, 2022). Bagian tanaman yang paling sering digunakan adalah bunganya. Berdasarkan berbagai penelitian, bunga *H. sabdariffa* mengandung berbagai komponen metabolit sekunder diantaranya flavonoid (*hibiscitrin*, *gossypitrin*, *gossytrin*, dan *sabdaritrin*), antosianin (*delphinidin-3-sambubioside*, *cyanidine-3-sambubioside*, *cyanidine-3-glucoside* dan *delphinidin-3-glucoside*), asam organik (*hydroxycitric acid*, *hibiscus acid*, *citric acid*, *malic acid*, dan *tartaric acids*), asam fenolik (*protocaticic acid* dan *caffeic acid*) (Mariod, 2021) Montalvo-González *et al.*, 2022). Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tanaman. Senyawa golongan flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang telah

banyak diteliti memiliki aktivitas antioksidan. Dilaporkan bahwa flavonoid juga bermanfaat sebagai anti-inflamasi, anti kanker, anti-aging, *kardio-protektif*, *neuro-protektif*, imunomodulator, antidiabetes, antiparasit, antivirus (Dias *et al.*, 2021).

Berbagai metode tersedia untuk mengukur kemampuan antioksidan, salah satunya dalam mentransfer elektron pada radikal bebas. Metode DPPH (*radical scavenging assay*) merupakan salah satu metode untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan, berdasarkan donor elektron dari suatu antioksidan terhadap DPPH radikal, dimana terjadi perubahan warna yang diukur pada panjang gelombang tertentu menggunakan Spektrofotometer UV-VIS, sebagai indikator dalam efikasi antioksidan (Shahidi & Zhong, 2015).

Peneliti ini dilakukan untuk penentuan kadar flavonoid total, fenolik total, serta aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol bunga *H. Sandariffa* menggunakan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl).

METODE

Alat dan Bahan

Alat : Rotary evaporator (Heidolph), timbangan analitik (Biobase), furnace (Calbolite Gero ELF 1100), blender (GM-800S1), oven (Mettler), water bath (Mettler), kertas saring Whatman no. 1, moisture balance (OHAUS MB 45), desikator, Spektrofotometer Shimadzu UV-1900i) alat gelas standar laboratorium.

Bahan : bunga *Hibiscus sabdariffa*, etanol 96% (PT. Sari Kimia Semesta Kencana), metanol (Merck), aquadest (PT. Novalindo Jaya Utama), HCl (Merck), amonia 25% (Merck), kloroform (Merck), pereaksi Dragendorff ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; asam nitrat; KI) (Nitra Kimia), Pereaksi meyer (HgCl_2 ; KI) (Nitra Kimia), serbuk magnesium (Merck), amil alkohol (Merck), gelatin (Merck), pereaksi Stiasny (formaldehid 30%; HCl), besi (III) klorida (Merck), asam galat (Merck), Folin-Ciocalteu (Merck), NaOH (Merck), kuersetin (Merck), AlCl_3 (Merck),

natrium asetat (Merck), asam askorbat (Merck), DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Merck).

Prosedur kerja

1. Pengambilan sampel dan identifikasi tanaman

Bunga *H. Sabdariffa* diperoleh dari Desa Tarok, Padang Pariaman, Sumatera Barat. Identifikasi tanaman dilakukan di Herbarium ANDA FMIPA Universitas Andalas.

2. Pembuatan simplisia bunga *H. Sabdariffa*

Dilakukan sortasi basah untuk memisahkan bunga dari biji dan tangkainya. Kemudian dilakukan pencucian. Bunga dikeringkan, kemudian dilakukan sortasi kering untuk memisahkan bagian yang tidak diinginkan. Bunga kering dihaluskan menggunakan blender.

3. Ekstraksi bunga *H. Sabdariffa*

Dilakukan maserasi pada simplisia bunga *H. Sabdariffa* menggunakan etanol 96%. Sampel direndam selama 18 jam, hasil maserat kemudian disaring menggunakan kertas saring *whatman*. Ulangi proses maserasi sebanyak tiga kali. Hasil maserat diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan karakterisasi dan skrining fitokimia.

4. Karakterisasi Ekstrak

Karakterisasi dilakukan dengan tujuan untuk menjamin keseragaman mutu agar memenuhi persyaratan standar ekstrak. Karakterisasi ekstrak meliputi rendemen, penetapan susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan kadar air berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia Edisi II 2017 dengan modifikasi.

a. Rendemen

Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan persentase bobot antara bobot ekstrak dengan bobot simplisia kering yang telah dihaluskan yang digunakan untuk maserasi.

b. Penetapan Susut Pengeringan

Timbang 2 gram ekstrak dalam botol bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu penetapan dan ditara. Ratakan bahan dalam botol timbang, kemudian masukkan kedalam oven, buka tutupnya dan keringkan pada suhu penetapan hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, biarkan botol dalam keadaan tertutup dalam desikator hingga suhu ruang.

c. Kadar Abu Total

Timbang 2 gram ekstrak dan masukkan ke dalam krus silikat yang sebelumnya telah dipijarkan menggunakan *furnace* dan ditara. Pijarkan perlahan-lahan, dinginkan dalam desikator dan timbang. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b.

d. Kadar Abu Tidak Larut Asam

Didihkan abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total dengan 25 mL asam klorida encer selama 5 menit. Kumpulkan bagian yang tidak larut asam, saring melalui kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas, pijarkan dalam krus hingga bobot tetap. Kadar abu tidak larut asam dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b.

e. Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan alat *moisture balance*. Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam alat *moisture balance*. Kemudian alat di *setting* selama 10 menit suhu 100°C. Hasil % *moisture* pada alat merupakan % kadar air ekstrak.

5. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak untuk mendapatkan profil golongan metabolit sekunder pada sampel secara kualitatif. Pengujian skrining fitokimia dilakukan berdasarkan (Farnsworth, 1966; Anggraeni & Anam, 2016) dengan modifikasi.

a. Alkaloid

Sebanyak 0,4 g ekstrak dicampurkan dengan 5 mL amonia 25%, selanjutnya ditambahkan 20 mL kloroform, kemudian digerus kuat dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditetaskan pada kertas saring lalu ditetesi pereaksi Dragendorff. Warna jingga yang diamati menunjukkan adanya alkaloid pada sampel. Sisa filtrat kemudian di ekstraksi cair-cair dengan penambahan HCL 2 N. Lapisan asam (atas) dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi. Pada tabung reaksi pertama ditambahkan pereaksi Meyer, terbentuknya endapan putih menunjukkan hasil positif. Selanjutnya dilakukan penentuan reaksi positif palsu dengan meneteskan sejumlah alkohol pada tabung reaksi tadi, apabila endapan putih larut, maka hal tersebut menunjukkan positif alkaloid dan negatif terhadap protein.

b. Flavonoid

Sejumlah 0,5 g ekstrak dicampurkan dengan 50 mL aquades, dididihkan selama 15 menit dan disaring, sehingga diperoleh filtrat (A). Filtrat A yang diperoleh digunakan untuk uji keberadaan senyawa golongan flavonoid, tanin, dan saponin.

Sebanyak 5 mL filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium, 1 mL HCL pekat, dan 2 mL amil alkohol, kemudian dikocok perlahan dan dibiarkan memisah.

Terbentuknya warna merah, merah bata, merah keunguan pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid.

c. Tanin

Filtrat A dimasukkan kedalam dua buah tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 mL. Pada Tabung I ditambahkan gelatin 1%, terdapatnya endapan putih menandakan keberadaan senyawa tanin. Tabung II ditambahkan pereaksi Stiasny kemudian dipanaskan diatas penangas air. Terdapatnya endapan merah muda menandakan positif tanin katekat. Hasil Tabung II disaring dan filtratnya ditambahkan natrium asetat dan besi (III) klorida. Terdapatnya endapan biru kehitaman menunjukkan keberadaan tanin galat.

d. Saponin

Sebanyak 10 mL filtrat A dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dilakukan pengocokan dengan kuat secara vertikal selama 10 detik hingga terbentuk busa yang stabil setinggi 1-10 cm. Kemudian ditetaskan larutan HCL 2 N ke dalam tabung reaksi. Apabila busa tidak hilang, menandakan bahwa sampel mengandung saponin.

6. Penetapan Kadar Fenolik Total

Pengujian fenolik total (Metode *Folin-Ciocalteu*) berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia Edisi II 2017 dan Sam *et al.*, 2006 dengan modifikasi.

a. Pembuatan Larutan Pembanding Asam Galat

Timbang 10 mg asam galat. Masukkan kedalam labu ukur 25 mL dan tambahkan metanol sampai tanda batas. Buat seri larutan dengan konsentrasi berturut-turut 50; 60; 70; 80; 90 µg/mL.

b. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Timbang 75 mg ekstrak dimasukkan dalam erlenmeyer ditambahkan 25 metanol, aduk selama 30 menit. Saring dan masukkan dalam labu ukur 25 mL dan tambahkan metanol sampai tanda batas.

c. Pengujian Larutan Pembanding dan Larutan Ekstrak

Larutan uji dan masing-masing seri larutan pembanding dimasukkan sebanyak 1,0 mL kedalam vial. Tambahkan 5,0 mL *Folin-Ciocalteu* (7,5% dalam air). Diamkan 8 menit, tambahkan 4,0 mL NaOH 1%, inkubasi selama 1 jam. Ukur serapan masing-masing larutan pada $\lambda_{\max}$ 730 nm. Lakukan pengukuran blanko dengan cara yang sama, tanpa penambahan larutan sampel (volume diganti dengan penambahan metanol). Buat kurva kalibrasi menggunakan data seri larutan konsentrasi pembanding, dan hitung kadar larutan uji ekstrak, nilai total fenol dihitung sebagai ekuivalen asam galat per gram ekstrak (mg GAE/g).

Perhitungan kandungan total fenolik sebagai berikut :

$$\text{Total fenolik} = \frac{C \times V \times fp}{m}$$

Keterangan :

C = konsentrasi fenolik (mg/mL)

V = volume ekstrak yang digunakan (mL)

Fp = faktor pengenceran

m = bobot ekstrak yang digunakan (gram)

7. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Uji flavonoid total berdasarkan (Farmakope Herbal Indonesia Edisi II 2017) dengan modifikasi)

a. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Timbang 10 mg kuersetin dan dimasukkan kedalam labu ukur 25

mL, ditambahkan etanol sampai tanda batas. Buat seri larutan dengan konsentrasi berturut-turut 50; 60; 70; 80; 90 $\mu\text{g/mL}$.

b. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Timbang 250 mg ekstrak kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer ditambahkan etanol 25 mL aduk selama 30 menit. Saring dan masukkan dalam labu ukur 25 mL dan tambahkan etanol sampai tanda batas.

c. Pengujian Larutan Pembanding dan Larutan Ekstrak

Larutan uji dan masing-masing seri larutan pembanding dimasukkan sebanyak 0,5 mL dalam vial. Tambahkan masing-masing 1,5 mL etanol, 0,1 mL aluminium klorida 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL aquadest. Kocok dan diamkan 30 menit pada suhu ruang. Ukur serapan pada $\lambda_{\max}$ 432,5. Lakukan pengukuran blanko dengan cara yang sama, tanpa penambahan aluminium klorida (volume diganti dengan penambahan aquadest). Buat kurva kalibrasi menggunakan data seri larutan konsentrasi pembanding, dan hitung kadar larutan uji ekstrak, nilai total flavonoid dihitung sebagai ekuivalen kuersetin per gram ekstrak (mg QE/g)

Perhitungan kandungan total flavonoid sebagai berikut :

$$\text{Total flavonoid} = \frac{C \times V \times fp}{m}$$

Keterangan :

C = konsentrasi fenolik (mg/mL)

V = volume ekstrak yang digunakan (mL)

Fp = faktor pengenceran

m = bobot ekstrak yang digunakan (gram)

8. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan DPPH mengikuti metode

yang telah dilakukan oleh (Pozos *et al.*, 2020) dengan modifikasi.

a. Larutan DPPH

Diambil sebanyak 2,0 mL larutan 0,1 mM DPPH kemudian ditambahkan kedalam 2,0 mL metanol, dan inkubasi dalam ruangan gelap selama 60 menit. Ukur panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada rentang panjang gelombang 400-800 nm sehingga didapatkan panjang gelombang maksimum DPPH.

Larutan kontrol dibuat dengan cara yang sama, sampel diganti dengan penambahan 2,0 mL metanol. Lakukan pengukuran absorban pada $\lambda_{\max}$ 514 nm.

Penentuan % inhibisi dan IC_{50} larutan asam askorbat dan larutan ekstrak menggunakan persamaan dibawah.

Hitung % inhibisi sampel dengan rumus :

$$\frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Selanjutnya hitung persamaan regresi

b. Larutan Sampel

Dibuat seri larutan konsentrasi asam askorbat (BM = 176,12 g/mol) sebagai pembanding dengan rentang konsentrasi 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3 μ M. Sedangkan untuk ekstrak dibuat dengan rentang konsentrasi 80; 100; 120; 140; 160; 180 μ g/mL. Diambil sebanyak 2,0 mL larutan 0,1 mM DPPH kemudian ditambahkan kedalam 2,0 mL masing-masing sampel asam askorbat dan ekstrak.

hubungan antara konsentrasi dengan % Inhibisi. Kemudian hitung nilai IC_{50} menggunakan data persamaan regresi : $50 = bx + a$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi didapatkan ekstrak kental *Hibiscus sabdariffa* berwarna merah tua. Hasil karakterisasi ekstrak didapatkan hasil sesuai pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji Karakterisasi Ekstrak

Jenis Parameter	Referensi	Hasil
Rendemen	> 19,1 %	23,05%
Kadar air	< 10%	4,14%
Kadar Abu	< 5,6%	2,54%
Abu tidak larut asam	< 1,4%	0,94%

Dari hasil pengujian, didapatkan bahwa ekstrak etanol *H. sabdariffa* memenuhi ketentuan parameter karakterisasi ekstrak berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia Edisi II 2017.

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak untuk mendapatkan profil golongan metabolit sekunder pada sampel secara kualitatif. Berdasarkan hasil pengujian, didapatkan hasil seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji Skrining Fitokimia

Pengujian	Hasil
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Tanin	+
Saponin	-

Keterangan: (+) terdeteksi; (-) tidak terdeteksi

Berdasarkan hasil pengujian skrining

fitokimia, ekstrak etanol bunga *H. sabdariffa*

mengandung alkaloid, flavonoid, tanin. Ekstrak positif mengandung alkaloid, pada skrining alkaloid, penambahan amonia 25% akan menciptakan suasana basa. Kemudian ditambahkan kloroform. Sampel kemudian di filtrat dan filtratnya ditetesi pereaksi Dragendorff pada kertas saring dan membentuk warna coklat orange/jingga. Hal ini terjadi karena senyawa alkaloid berikatan dengan tetraiodobismutat (III) pada pereaksi Dragendorff. Filtrat tadi kemudian ditambahkan HCl tujuannya karena penambahan asam seperti HCl pada alkaloid yang bersifat basa akan membentuk garam, sehingga alkaloid akan terpisah dari komponen lain pada ekstrak. Kemudian ditambahkan pereaksi Meyer dan terbentuk endapan putih. Endapan yang terbentuk diperkirakan karena nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks alkaloid-kalium yang mengendap pada Uji Meyer (Marliana *et al.*, 2005). Ekstrak dinyatakan mengandung senyawa flavonoid karena terdapat endapan berwarna merah tua atau hitam kemerahan karena HCl dan logam Mg mampu mereduksi inti benzopiron yang ada pada struktur flavonoid, sehingga terbentuk garam flavylum berwarna merah atau jingga. Hasil positif pada tanin ditentukan dengan terbentuknya warna biru tua akibat reaksi senyawa polar tanin dengan penambahan $FeCl_3$ (Oktapiya *et al.*, 2022). Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu terkait skrining fitokimia ekstrak etanol rosella (Lestari *et al.*, 2022).

Penentuan total fenol merupakan parameter penting dalam penentuan kapasitas antioksidan total dan digunakan untuk mengevaluasi antioksidan dari ekstrak. Penggunaan *Folin-Ciocalteu* sering digunakan untuk metode penentuan total fenol, berdasarkan reduksi reagen *Folin-Ciocalteu* oleh komponen fenolik dalam suasana basa. *Folin-Ciocalteu* mengandung kompleks asam fosfotungstat-fosfomolibdenum yang akan berkurang karena adanya molybdenum dimana ion

Mo^{6+} tereduksi menjadi Mo^{5+} karena menerima donasi elektron dari antioksidan fenolik (Shahidi & Zhong, 2015), dimana reaksi tersebut terjadi dalam suasana basa dan menghasilkan kromofor biru sehingga dapat diukur menggunakan spektrofotometer Uv-Vis, absorpsi kromofor tergantung pada kondisi basa (dengan penambahan NaOH) serta konsentrasi senyawa golongan fenol yang ada pada sampel uji (Hudz *et al.*, 2019). Berdasarkan hasil pengujian, kadar fenol total ekstrak etanol bunga *H. sabdariffa* sebesar 29,63 mg GAE/g ekstrak.

Sampel uji dalam pelarut etanol yang ditambahkan alumunium klorida akan membentuk kompleks stabil antara alumunium klorida dengan gugus keton pada atom C4 dan gugus hidroksil pada atom C3 atau C5 dari golongan flavon dan flavonol ekstrak. Penambahan natrium asetat dilakukan untuk mencegah putusanya kompleks yang telah terbentuk (Chang., 2002.) Berdasarkan hasil perhitungan, kadar flavonoid total ekstrak etanol kelopak bunga *H. sabdariffa* didapatkan sebesar 3,46 mg QE/g ekstrak.

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga *H. sabdariffa* ditentukan dengan menggunakan metode DPPH berdasarkan kemampuan sampel dalam mereduksi radikal bebas DPPH yang dapat dilihat dari berkurangnya intensitas warna dari larutan DPPH (ungu tua) yang sudah ditambahkan dalam sampel ekstrak dan pembanding asam askorbat. Perubahan warna ungu tua menjadi warna kuning pucat menunjukkan adanya aktivitas peredaman DPPH yang dapat dilihat dengan menurunnya nilai absorban pada λ_{max} 514 nm (Pozos *et al.*, 2020; Widyaningsih, 2010). Hal ini karena terjadinya reaksi antara atom hidrogen yang dilepaskan oleh sampel dengan molekul radikal DPPH.

Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam parameter IC_{50} , yaitu konsentrasi senyawa uji yang menyebabkan penghambatan radikal bebas sebesar 50%. Diketahui bahwa semakin kecil nilai IC_{50} , maka semakin besar aktivitas antioksidan.

Berdasarkan hasil pengujian, didapatkan nilai IC asam askorbat sebesar 2,45 μ M dan untuk ekstrak etanol bunga *H. sabdariffa* sebesar 169,55 μ g/mL.

Adanya aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol bunga *H. sabdariffa* salah satunya karena kandungan fenolik diantaranya golongan flavonoid (termasuk antosianin). Flavonoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan, yang akan menstabilkan komponen radikal melalui jalur langsung dan tidak langsung (Fitrotunnisa et al., 2019). Aktivitas antioksidan senyawa golongan flavonoid tergantung pada strukturnya. Flavonoid memiliki kerangka dasar 15-karbon flavon, C6-C3-C6, dengan dua cincin benzen (A dan B) dihubungkan oleh tiga atom karbon cincin piran (C). Posisi katekol cincin-B pada cincin-C piran serta jumlah dan posisi gugus hidroksil pada gugus katekol dari cincin-B akan mempengaruhi kapasitas antioksidan flavonoid. Gugus hidroksil pada flavonoid dapat mendonasikan elektron untuk menstabilkan radikal bebas (Dias et al., 2021). Berdasarkan literatur, bunga *H. sabdariffa* kaya akan kandungan senyawa golongan fenolik seperti flavonoid dan antosianin. Diketahui bahwa senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi (Mariod, 2021). Senyawa fenolik bertindak sebagai antioksidan dengan cara bereaksi dengan berbagai radikal bebas. Mekanisme aksi antioksidan diantaranya melibatkan transfer atom hidrogen (HAT), transfer elektron tunggal (SET), pelepasan proton yang diikuti transfer elektron Tunggal (SPLET) pengkhelat ion logam transisi (TMC) (Zeb, 2020).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol bunga *H. sabdariffa* yang dihasilkan telah memenuhi standar parameter mutu ekstrak. Skrining fitokimia menghasilkan data yang sesuai dengan penelitian terdahulu dimana terdapat metabolit sekunder golongan alkaloid,

flavonoid, tanin. Ekstrak etanol bunga *H. sabdariffa* mengandung 3,46 mg QE/g ekstrak pada uji flavonoid total dan 29,63 mg GAE/g ekstrak pada uji fenolik total. Hasil uji aktivitas antioksidan didapatkan IC₅₀ asam askorbat adalah 2,45 μ M, sedangkan pada ekstrak sebesar 169,55 μ g/mL. Kandungan senyawa golongan fenolik seperti flavonoid dan antosianin dapat bertindak sebagai antioksidan.

ACKNOWLEDGEMENT

Terima kasih kepada Kemdikbudristek DIKTI atas pendanaan yang telah dilakukan melalui skema Penelitian Dosen Pemula sesuai no. 0536/E5/PG.02.00/2023 dan Kontrak No. 010/P3M/KP/2023 pada 21 Juni 2023.

DAFTAR RUJUKAN

- Anggarani, M. A., Ilmiah, M., & Mahfudhah, D. N. (2023) *Literature Review of Antioxidant Activity of Several Types of Onions and Its Potensial as Health Supplements*. Indo. J. Chem. Sci. 12(1).
- Anggraeni, E. V., & Anam, K. (2016). Identifikasi Kandungan Kimia dan Uji Aktivitas Antimikroba Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi* 19 (3), pp. 87 – 93.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chernn J. C. (2002): Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), pp. 178-182.
- Dias, M.C., Pinto, D.C.G.A. & Silva, A.M.S. (2021) Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules*, 26 (17).
- Farnsworth, N.R. (1966) Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55(3), pp. 225-276.
- Fitrotunnisa, Q., Arsianti, A., Tejaputri, N.A. & Qorina, F. (2019) Antioxidative activity and phytochemistry profile of hibiscus sabdariffa herb extracts. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 11 (Special Issue 6),

- pp. 29–32.
- Hudz, N., Yezerska, O., Shanaida, M., Sedláčková, V.H. & Wieczorek, P.P. (2019) Application of the Folin-Ciocalteu method to the evaluation of *Salvia sclarea* extracts. *Pharmacia*, 66 (4), pp. 209–215.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2017): *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Lestari, G. A. D., Cahyadi, K.D., Esati, N. K., & Suprihatin, I.E. (2022) Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Rosella Ungu (*Hibiscus Sabdariffa* L.). *Jamb.J.Chem*, 4 (1), pp. 17–24.
- Mariot, A. A., Tahir, H. E., & Mahunu, G. K. (2021). *Roselle (Hibiscus sabdariffa) Chemistry, Production, Products, and Utilization*. Elsevier Inc.
- Marliana, S.D., Suryanti, V. & Suyono, S. (2005). The phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of chemical compounds in ethanol extract of labu siam fruit (*Sechium edule* Jacq. Swartz.). *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 3 (1), pp. 26–31.
- Mironczuk-Chodakowska, I., Witkowska, A.M. & Zujko, M.E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in Medical Sciences*, 63 (1), pp. 68–78.
- Montalvo-González, E., Villagrán, Z., González-Torres, S., Iñiguez-Muñoz, L.E., Isiordia-Espinoza, M.A., Ruvalcaba-Gómez, J.M., Arteaga-Garibay, R.I., Acosta, J.L., González-Silva, N. & Anaya-Esparza, L.M. (2022). Physiological Effects and Human Health Benefits of *Hibiscus sabdariffa*: A Review of Clinical Trials. *Pharmaceuticals*, 15 (4).
- Oktapiya, T.R., Pratama, N.P. & Purnamaningsih, N. (2022). Analisis fitokimia dan kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Sasambo Journal of Pharmacy*, 3 (2), pp. 105–110.
- Phaniendra, A., Jestadi, D.B. & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30 (1), pp. 11–26.
- Pozos, G.I.P., Ruiz-López, M.A., Nátera, J.F.Z., Moya, C.Á., Ramírez, L.B., Silva, M.R., Macías, R.R., García-López, P.M., Cruz, R.G., Pérez, E.S. & Radillo, J.J.V. (2020) Antioxidant capacity and antigenotoxic effect of *Hibiscus sabdariffa* L. extracts obtained with ultrasound-assisted extraction process. *Applied Sciences (Switzerland)*, 10 (2).
- Sam, S., Malik, A. & Handayani, S. *Penetapan Kadar Fenolik Total Dari Ekstrak Etanol Bunga Rosella Berwarna Merah (Hibiscus Sabdariffa L.) Dengan Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis*. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), pp. 182-187.
- Shahidi, F. & Zhong, Y. (2015) Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, pp.757–781.
- Widyaningsih, W. (2010) Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Dewa (*Gynura procumbens*) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Dalam Prosiding Seminar Nasional Kosmetika Alami, pp. 109-115.
- Yunita, E. (2021) *Mekanisme Kerja Andrografolida Dari Sambiloto Sebagai Senyawa Antioksidan*. *Herb-Medicine Journal*. 4 (1).
- Zeb, A. (2020). Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *Journal of Food Biochemistry*. pp. 1-22.