

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gansella Herbal Tea

GanSella Herbal Tea merupakan produk AKAFARMA Putra Indonesia Malang berupa minuman teh herbal yang dibuat dari ekstrak pegagan dan rosella dengan penambahan pemanis stevia. “GanSella Herbal Tea” ini memiliki khasiat untuk memperlancar peredaran darah, meningkatkan sistem imun serta memiliki kandungan kalori yang rendah sehingga dapat dikonsumsi oleh penderita penyakit degeneratif.



Gambar 2.1 *Gansella Herbal Tea* (Dokumentasi AKAFARMA PIM, 2016)

Tabel 2.1 Formula dari GanSella Herbal Tea (Selviana, 2014)

Bahan	Jumlah
Pegagan	2%
Bunga Rosella	1%
Na-Benzot	0,05%
Stevia	0,5%
Air	1000 mL

2.2 Pegagan (*Centella asiatica*)

2.2.1 Determinasi

Determinasi tumbuhan merupakan proses dalam menentukan nama / jenis tumbuhan secara spesifik. determinasi bertujuan untuk mendapatkan suatu spesies se spesifik mungkin dan tepat sasaran, karena dalam proses pemanfaatannya, tumbuhan memiliki berbagai jenis varietas yang kadang membingungkan, digunakan untuk penelitian, jamu-jamu, obat dan sebagainya.

Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan tanaman herbal family Mackinlayaceae dengan nama lokal pegaga (Aceh), ampagaga (Batak), antanan (Sunda), gagan-gagan, rendeng (Jawa) dan taidah (Bali). Di beberapa negara, tanaman ini disebut dengan nama Gotu Kola, Asiatic Pennywort, Luei Gong Gen dan Takip-kohol. Pegagan dapat ditemukan di negara seperti Indonesia, Sri Lanka, Malaysia, Australia, Iran, Melaysia, New Guinea dan negara Asia lainnya (Selviana, 2014).



Gambar 2.2 Tumbuhan Pegagan (*Centella asiatica*) (Dokumentasi Pribadi, 2019)

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
 Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
 Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan Biji)
 Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
 Kelas : Dicotyledonae
 Marga : Centella
 Jenis : *Centella asiatica* (Linn). Urban
 Nama daerah : Pegagan, Gagan-agan, Rendeng, Kerok batok, daun kaki kuda.
 Kunci Determinasi : 1b -2b -3b -4b- 7b- 9b- 10b- 12b- 13b -14b -16a -239b -243b
 244b -248b -249b -250b -266b- 267b -268b -269b -2b- 1b- 3
 1b : Tumbuh-tumbuhan dengan bunga sejati, sedikit-dikitnya dengan benang sari atau putik. Tumbuh-tumbuhan berbunga
 2b : Tidak ada pembelit, tumbuh-tumbuhan dapat juga memanjat atau membelit (dengan batang poros daun atau tangkai daun)
 3b : Daun tidak berbentuk jarum ataupun tidak terdapat dalam berkas tersebut di atas.
 4b : Tumbuh-tumbuhan tidak menyerupai bangsa rumput. Daun dan (atau) bunga berlainan dengan yang diterangkan di atas.
 7b : Bukan tumbuh-tumbuhan bangsa palem atau yang menyerupainya.
 9b : Tumbuh-tumbuhan tidak memanjat dan tidak membelit.

- 10b : Daun tidak tersusun demikian rapat menjadi rozet
- 12b : Tidak semua daun duduk dalam karangan atau tidak ada daun sama sekali
- 13b : Tumbuh-tumbuhan berbentuk lain
- 14b : Semua daun duduk berhadapan
- 16a : Daun tunggal, berlekuk atau tidak, tetapi tidak berbagi menyiriprangkap sampai bercangap menyirip rangkap.
- 239b : Tumbuh-tumbuhan tanpa getah
- 243b : Tidak hidup dari tumbuh-tumbuhan lain
- 244b : Susunan tulang daun tidak demikian, seluruhnya atau sebagaian besar tulang daun tersusun menyirip, menjari atau sejajar.
- 248b : Daun bertulang menyirip tau menjari susunan urat daun seperti jala
- 249b : Daun tidak mempunyai serabut demikian bunga berbentuk lain
- 250b : Rumput-rumputan setidak-tidaknya cabangnya tidak berkayu
- 266b : Bunga tidak tersusun dalam bongkol dengan pembalut yang demikian
- 267b : Bunga berjejal dalam karangan bunga yang menyerupai bongkol, pendek, terletak dukung tau diketiak daun, duduk dan bertangkai
- 268a : Karangan bunga jelas bertangkai
- 269a : Daun berbentuk ginjal dengan tepi yang beringgit. Karangan bunga kebanyakan berkumpul 2-5 ruas dari batang yang merayap.
- 1b : Daun tidak berduri tempel kurang lebih bulat tumbuh-tumbuhan berbaring
- 2b : Helaian daun bergigi beringgit, bentuk genjal. Daun penumpu tidak ada
- 3 : *Centella asiatica* Urb

Pegagan merupakan tanaman herba yang tumbuh menjalar dan berbunga sepanjang tahun. Tanaman ini tumbuh subur bila tanah dan lingkungannya sesuai (Anonymous, 2009). Pegagan memiliki batang, daun dan bunga. Daun berwarna hijau kemerahan, berbentuk seperti kipas dan tepinya bergerigi. Bentuk bunga seperti payung, kecil dan berwarna merah (Selviana, 2014)

Pegagan merupakan tanaman herba tahunan yang tumbuh di daerah tropis dan berbunga sepanjang tahun. Bentuk daunnya bulat seperti ginjal manusia, batangnya lunak dan beruas, serta menjalar hingga mencapai satu meter. Pada tiap ruas tumbuh akar dan daun dengan tangkai daun panjang sekitar 5–15 cm dan akar berwarna putih, dengan rimpang pendek dan stolon yang merayap dengan panjang 10–80 cm (van Steenis, 1997). Tinggi tanaman berkisar antara 5,39–13,3 cm, dengan jumlah daun berkisar antara 5– 8,7 untuk tanaman induk dan 2–5 daun pada anaknya (Kristina, Kusumah, & Lailani, 2009)

2.2.2 Kandungan Pegagan

Pegagan mengandung triterpenoid, senyawa yang paling penting dari komponen tanaman ini. Triterpen merupakan kandungan utama yang terdiri dari asam triterpenic pentasiklik dan glikosid, antara lain asam asiatic, asiaticoside, asam mandecassic, madecassoside, brahmoside, asam brahmic, brahminoside, thankuniside, isothankuniside, centalloside, asam madasiatic, asam centic dan senyawa asam lainnya (Zheng & Qin, 2007).

Herba pegagan mengandung alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, dan glikosida (Kristina et al., 2009). Flavonoid dalam herba pegagan adalah flavon dan flavonon yang tidak mengandung 5OH bebas, serta flavonol tanpa 5-OH bebas tetapi tersubstitusi pada 3-OH (Fatmawati, 2005). Karena flavonoid di dalam herba pegagan merupakan terdapat flavon dan flavonon yang tidak mengandung 5-OH bebas, serta flavonol tanpa 5-OH bebas tetapi tersubstitusi pada 3-OH maka sifatnya menjadi kurang polar (Salamah & Farahana, 2014).

2.3 Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)

2.3.1 Determinasi



Gambar 2.3 Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) (Dokumentasi Pribadi, 2019)

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan Biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Malvales
Suku	: Malvaceae

- Marga : Hibiscus
- Jenis : *Hibiscus sabdariffa* L
- Nama daerah : rosela, perambos, gamet balada, kasturi roriha.
- Kunci Determinasi : 1b -2b -3b -4b -6b 7b -8b -9b -10b -11b -12b -13b -14a -15a -109b -119b -120b -128b -129b -135b -136b -139b -140b -142b -143b -146b -154b -155b -156b -162b -163b -167b -169b 171a -172b -174b -176a – 1a -2b -3b – 5 –1b -2b -4a
- 1b : Tumbuh-tumbuhan dengan bunga sejati, sedikit-dikitnya dengan benang sari atau putik. Tumbuh-tumbuhan berbunga
- 2b : Tidak ada pembelit, tumbuh-tumbuhan dapat juga memanjat atau membelit (dengan batang poros daun atau tangkai daun)
- 3b : Daun tidak berbentuk jarum ataupun tidak terdapat dalam berkas tersebut di atas.
- 4b : Tumbuh-tumbuhan tidak menyerupai bangsa rumput. Daun dan (atau) bunga berlainan dengan yang diterangkan di atas.
- 7b : Bukan tumbuh-tumbuhan bangsa palem atau yang menyerupainya.
- 9b : Tumbuh-tumbuhan tidak memanjat dan tidak membelit.
- 10b : Daun tidak tersusun demikian rapat menjadi rozet
- 12b : Tidak semua daun duduk dalam karangan atau tidak ada daun sama sekali
- 13b : Tumbuh-tumbuhan berbentuk lain
- 14a : Daun tersebar, kadang-kadang sebagian berhadapan
- 15a : Daun tunggal, tetapi tidak berbagi menyirip rangkap sampai bercangap menyirip rangkap
- 109b : Tanaman daratan (atau tumbuh) di antara tanaman bakau
- 119b : Tanaman lain
- 120b : Tanam tanpa getah
- 128b : Daun lain. Bukan rumput-rumputan yang merayap dan mudah berakar
- 129b : Tidak ada upah daun yang jelas paling-paling pangkal daun sedikit atau banyak mengelilingi batang
- 135b : Daun tidak berbentuk kup-kupu berlekuk 2
- 136b : Susunan tulang daun menjari tau menyirip
- 139b : Tidak ada berkas berbentuk cincin yang melingkar pada cabang
- 140b : Kelopak tanpa kelenjar demikian
- 142b : Cabang tidak demikian
- 143b : Sisik demikian tidak ada

- 1446b : Tanaman tidak berduri atau tidak berduri tempel (Buah diabaikan)
- 154b : Bunga tidak dalam bongkol dengan daun pembalut sedemikian
- 155b : Bunga tidak tertanam pada tangkai daun
- 156b : Bakal buah menumpang
- 162b : ujung tangkai daun tanpa kelenjar
- 163b : Rumput-rumputan, atau setidaknya-tidaknya bukan bunga berbilangan 3
- 167b : Bunga tidak demikian
- 169b : Bunga tidak bertaji
- 171a : Tangkai sari saling berlekatan seluruhnya atau sendirian pada pangkalnya hingga membentuk tiang atau tabung (berbekas 1) kadang-kadang salah satu dari benang sarinya lepas (berbekas 2) atau hanya yang paling dalam yang lepas
- 172b : Tidak demikian
- 174b : Benang sari banyak
- 176a : Benang sari bersatu dalam tabung yang panjang. Kepala sari beruang 1. Tanaman sering dengan kulit liat sekitar batang biasanya berambut
- 1a : Bunga dengan kelopak tambahan
- 2b : tangkai putik sebanyak daun buah, atau tumbuh menjadi 1
- 3b : Tangkai putik pada ujungnya membelah menjadi 5 cabang yang cukup dalam atau dengan 5 kepala putik yang menjauh satu terhadap yang lain
- 5 : Hibiscus
- 1b : Perdu atau semak
- 2b : Tabung benang sari juga dibawah tengah dengan kepala sari
- 4a : rambut kelopak tidak terdiri dari rambut sikat yang kaku. Kelopak setelah mekar berdaging (*Hibiscus Sabdariffa* L)

Rosela merupakan anggota famili malvaceae yang tumbuh pada iklim tropis dan subtropis. Tanaman ini dikenal dengan nama asam susur di Malaysia, di Thailand disebut dengan kachieb priew, zuring merupakan sebutan Belanda, di Senegal dikenal dengan nama bisap, dan utara carcade sebutan rosela di Afrika Selatan. Rosela adalah tumbuhan yang berasal dari India yang memiliki nama latin *Hibiscus sabdariffa* L. Pada awalnya tumbuhan ini dikenal sebagai penghasil serat yang dimanfaatkan untuk membuat karung goni. Rosela merupakan tumbuhan semak yang tingginya dapat mencapai 3 m. Tumbuhan rosela memiliki batang yang bulat, tegak, memiliki kambium, dan berwarna merah.

Daunnya tunggal berbentuk bulat seperti telur. Tipe tulang daun menjari, ujung daun tumpul, tepinya beringgit, dan memiliki pangkal yang berlekuk. Panjang daun rosela sekitar 6-15 cm dan lebarnya 5-8 cm. Panjang tangkai daun 4-7 cm dengan penampang bulat dan warna hijau (Dharmawan, 2009)

Budidaya rosela dapat dilakukan di segala macam tanah tetapi paling cocok pada tanah yang subur dan gembur. Tumbuhan ini dapat tumbuh di daerah pantai sampai daerah dengan ketinggian 900 m di atas permukaan laut. Curah hujan yang dibutuhkan adalah 180 mm/bulan. Jika curah hujan mencukupi dan irigasi yang memadai akan memberikan hasil yang baik (Dharmawan, 2009).

2.3.2 Kandungan Bunga Rosella

Kelopak kering rosela mengandung vitamin C, vitamin A, dan 18 jenis asam amino. Kandungan asam lemak yang banyak terdapat pada kelopak rosela diantaranya asam lemak miristat, palmitat, stearat, oleat, dan linoleat (Dharmawan, 2009)

Berbagai kandungan yang terdapat di dalam tanaman rosella membuat tanaman ini populer sebagai tanaman obat tradisional. Bunga rosella diketahui mengandung vitamin C, vitamin D, vitamin B1 dan B2, niacin, riboflavin, betakaroten, zat besi, asam amino, polisakarida, omega 3, serat, dan kalsium. Rasa asam bunga rosella disebabkan karena kandungan vitamin C, asam sitrat, dan asam glikolik di dalamnya (Lawren, 2014).

Tabel 2.2 Komposisi Kimia Bunga Rosella per 100 g Bahan

Komposisi Kimia	Jumlah
Kalori	44 kal
Air	86,2 g
Protein	1,6 g
Lemak	0,1 g
Karbohidrat	11,1 g
Serat	2,5 g
Abu	1,0 g
Kalsium	160 mg
Fosfor	60 mg
Besi	3,8 mg
Betakaroten	285 g
Vitamin C	214,68 mg
Thiamin	0,004 mg
Riboflavin	0,6 mg
Niasin	0,5 mg

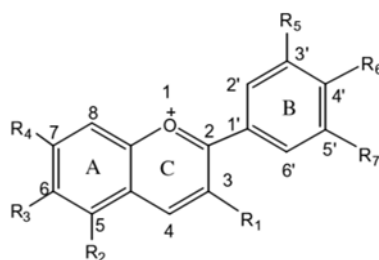
Bunga rosella memiliki beberapa kandungan zat seperti gossypetin, glukosida, hibiscin, flavonoid, theflavin, katekin dan antosianin (Djaeni, Ariani, Hidayat, & Utari, 2017). Mahkota dan kelopak bunga rosella diketahui mengandung senyawa antioksidan yang dapat menghambat terakumulasinya radikal bebas penyebab berbagai penyakit kronis dan penuaan dini. Zat aktif yang berperan dalam bunga rosella diantaranya adalah gossypetin, gluside, hibiscin, flavonoid, dan antosianin. Jenis antosianin yang terdapat pada bunga rosella adalah delphinidin-3-sambusioide dan cyaniding-3-sambusioside dengan kadar 96 mg tiap 100 g bunga rosella (Lawren, 2014).

Konsentrasi total antosianin dari serbuk rosella adalah 2.520 ± 50 mg / 100 g (dinyatakan sebagai delphinidin-3- glucoside). Mereka juga menyebutkan bahwa, menurut analisis High Performance Liquid Chromatography (HPLC), antosianin utama di kelopak bunga rosella adalah delphinidin-3-sambubioside (71,4%) dan cyanidin-3- sambubioside (26,6%). Konsentrasi total antosianin antara 364,98 dan 606,67 mg / 100 g sampel kering dalam ekstrak yang diperoleh dengan menggunakan metanol yang 10 diasamkan dengan 1% asam trifluoroasetat dan antara 172,58 dan 296,99 mg / 100 g kelopak bunga kering menggunakan air suling sebagai pengekstrak (Hikmawati, 2017)

2.4 Antosianin

Antosianin merupakan zat pewarna yang paling penting dan tersebar luas pada berbagai jaringan tumbuhan. Antosianin adalah senyawa fenolik yang termasuk dalam kelompok flavonoid dan berfungsi sebagai antioksidan. Pigmen warna yang kuat dan larut dalam air ini merupakan dasar bagi sebagian besar warna merah jambu, merah senduduk, merah marak, ungu, dan biru yang mewarnai bunga, daun, dan buah tanaman tingkat tinggi (Lawren, 2014).

Antosianin adalah senyawa satu kelas dari senyawa flavonoid yang secara luas terbagi dalam polifenol tumbuhan. Flavonoid-3-ol, flavon, flavanon, dan flavanonol adalah kelas tambahan flavonoid ang berbeda dalam oksidasi dari antosianin.



Gambar 2.4 Struktur kimia antosianidin (Castañeda-Ovando, Pacheco-Hernández, Páez-Hernández, Rodríguez, & Galán-Vidal, 2009)

Tabel 2.3 Perbedaan Letak Gugus Tersubstitusi dari Enam Antosianidin (Castañeda-Ovando et al., 2009).

Antoianin	Gugus yang tersubstitusi						Warna
	3	5	6	7	3'	5'	
Pelargonidin	OH	OH	H	OH	H	H	Orange
Cyanidin	OH	OH	H	OH	OH	H	Merah – Orange
Delphinidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	Merah – biru
Peonidin	OH	OH	H	OH	Ome	H	Merah – Orange
Petunidin	OH	OH	H	OH	Ome	OH	Merah – biru
Malvidin	OH	OH	H	OH	Ome	OMe	Merah – biru

Jumlah antosianin di alam yang berhasil diisolasi sebanyak 539 jenis tetapi hanya 6 yang ada di bahan pangan seperti pelargonidin, cyanidin, peonidin, delphinidin, petunidin, dan malvidin. Pigmen antosianin adalah pigmen yang bersifat larut air, terdapat dalam bentuk aglikon sebagai antosianidin dan glikon sebagai gula yang diikat secara glikosidik. Bersifat stabil pada pH asam, yaitu sekitar 1-4, dan menampilkan warna oranye, merah muda, merah, ungu hingga biru (Khoridah, 2015). Antosianin adalah zat warna yang bersifat polar dan akan larut pada pelarut polar (Samsudin & Khoiruddin, 2011). Antosianin lebih larut dalam air daripada dalam pelarut non polar dan karakteristik ini membantu proses ekstraksi dan pemisahan (Khoridah, 2015).

Antosianin merupakan molekul yang tidak stabil jika terjadi perubahan pada suhu, pH, oksigen, cahaya, dan kopigmentasi.

- Pengaruh pH Stabilitas dan aktivitas antioksidan senyawa antosianin dipengaruhi pH lingkungan. Antosianin lebih stabil dalam larutan asam dibandingkan dalam larutan basa (Kartika, 2017).
- Suhu mempengaruhi kestabilan dan aktivitas antioksidan ekstrak antosianin. Suhu yang panas dapat menyebabkan kerusakan struktur antosianin. Stabilitas dan aktivitas antioksidan antosianin yang disimpan pada suhu dingin lebih baik daripada penyimpanan pada suhu ruang (Kartika, 2017).
- Pengaruh oksigen tampaknya mempercepat kerusakan antosianin. Stabilitas warna antosianin selama pembuatan jus buah menjadi rusak akibat adanya oksigen (Kartika, 2017).
- Pengaruh Cahaya Antosianin tidak stabil dalam larutan asam warnanya dapat memudar perlahan-lahan akibat terkena cahaya, sehingga larutan sebaiknya disimpan di tempat gelap dan dingin. Cahaya mempercepat degradasi antosianin (Kartika, 2017).
- Kopigmentasi didefinisikan sebagai interaksi antara antosianin yang berwarna dengan senyawa kopigmen antara lain senyawa polifenol, logam, dan asam organik sehingga terbentuk ikatan antara molekul antosianin dengan kopigmen (Kartika, 2017).

Degradasi antosianin dapat terjadi selama proses ekstraksi, pengolahan makanan, dan penyimpanan. Faktor-faktor yang mempengaruhi stabilitas antosianin tersebut yaitu adanya modifikasi pada struktur spesifik antosianin (glikosilasi, asilasi dengan asam alifatik atau aromatik) pH, temperatur, cahaya, keberadaan ion logam, oksigen, kadar gula, enzim dan pengaruh sulfur oksida (Khoridah, 2015). Antosianin umumnya lebih stabil pada larutan asam apabila dibandingkan dengan larutan netral atau alkali. Antosianin memiliki struktur kimia yang berbeda tergantung dari pH larutan. Pada pH 1 antosianin berbentuk kation flavinium yang memberikan warna merah. Pada pH 2-4 antosianin berbentuk campuran kation flavinium dan quinoidal. Pada pH yang lebih tinggi yaitu 5-6 terdapat dua senyawa yang tidak berwarna yaitu karbinol pseudobasa dan kalkon (Castañeda-Ovando et al., 2009).

Kestabilan antosianin juga dipengaruhi oleh suhu. Laju kerusakan (degradasi) antosianin cenderung meningkat selama proses penyimpanan yang diiringi dengan kenaikan suhu. Degradasi termal menyebabkan hilangnya warna pada antosianin yang akhirnya terjadi pencoklatan. Kenaikan suhu bersamaan dengan pH menyebabkan degradasi antosianin pada buah cherri (Khoridah, 2015). Proses pemanasan terbaik untuk mencegah kerusakan antosianin adalah pemanasan pada suhu tinggi dalam jangka waktu pendek (High Temperature Short Time). Paparan cahaya juga dapat memperbesar degradasi pada molekul antosianin. Penyebab utama kehilangan pigmen warna berhubungan dengan hidrolisis antosianin (Rahmawati, 2011).

2.5 Ekstraksi Gansella Herbal Tea

2.5.1 Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis akan termasuk biota laut. Zat-zat aktif tersebut terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tersebut dalam mengekstraksi (Rusmiati, 2010).

Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara panas dan dingin. Ekstraksi secara panas dilakukan dengan cara refluks, infudasi, dan destilasi uap air sedangkan ekstraksi secara dingin dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi dan soxhletasi.

2.5.1.1 Ekstraksi cara dingin

1. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana, yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dan diluar sel, maka larutan yang terletak didalam akan terdesak keluar. Peristiwa tersebut terulang terus hingga menjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar sel dan didalam sel. Simplisia yang akan diekstraksi diserbukkan dengan derajat tertentu lalu dimasukkan ke dalam bejana maserasi. Simplisia tersebut direndam dengan cairan penyari, setelah itu dalam waktu tertentu sesekali diaduk. Perlakuan tersebut dilakukan selama 5 hari (Rusmiati, 2010)

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah di usahakan. Maserasi dapat dilakukan dengan modifikasi yaitu digesti adalah cara maserasi yang mengandung pemanasan lemah, yaitu pada suhu 40 – 50°C. Cara maserasi ini hanya digunakan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan. Maserasi dengan menggunakan mesin pengaduk penggunaan mesin pengaduk yang berputar terus menerus, waktu proses maserasi dapat dipersingkat menjadi 6 sampai 24 jam. Remaserasi cairan penyari dibagi 2 Seluruh serbuk simplisia dimaserasi dengan cairan penyari pertama, sesudah diendapkan dan diperas, ampas dimaserasi lagi dengan cairan penyari yang kedua. Maserasi melingkar penyarian yang dilakukan dengan cairan penyari yang selalu bergerak dan menyebar sehingga kejenuhan cairan penyari dapat merata.

Maserasi umumnya dilakukan dengan cara memasukkan simplisia yang sudah diserbukkan dengan derajat halus 4/8 sebanyak 10 bagian kedalam bejana maserasi yang dilengkapi pengaduk mekanik, kemudian ditambahkan 75 bagian cairan penyari, ditutup, dan dibiarkan selama 5 hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari, disaring kedalam wadah penampungan kemudian ampasnya diperas dan ditambah cairan penyari secukupnya dan diaduk kemudian disaring lagi hingga diperoleh sari sebanyak 100 bagian. Sari yang diperoleh ditutup dan disimpan pada tempat yang terlindung dari cahaya selama 2 hari, endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan (Rusmiati, 2010)

2. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Pada metode ini simplisia yang akan diekstraksi ditempatkan dalam suatu bejana silinder yang pada bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut. Cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai keadaan jenuh. Gerakan kebawah disebabkan oleh kekuatan beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dukurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan gerakan ke bawah (Rusmiati, 2010)

2.5.1.2 Ekstraksi cara panas

1. Infudasi

Infudasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat aktif yang larut dalam air dari bahan nabati, yang dilakukan dengan cara membasahi dengan air. Biasanya dua kali bobot bahan, kemudian ditambah dengan air secukupnya dan dipanaskan dalam tangas air selama 15 menit dengan suhu 90 – 980 C, sambil sekali-kali diaduk. Untuk mencukupi kekurangan air, ditambahkan melalui ampasnya. Umumnya 100 bagian sari diperlukan 10 bagian bahan (Rusmiati, 2010).

2. Refluks

Ekstraksi dengan metode refluks digunakan untuk simplisia dengan kandungan zat aktif yang tahan terhadap pemanasan. Alat refluks ini terbuat dari bahan gelas dimana bagian tengahnya dilengkapi dengan lingkaran gelas yang berbentuk spiral atau bola. Untuk mengekstraksibahan dimasukkan kedalam labu alas bulat bersama cairan penyari kemudian dipanaskan. Cairan penyari ini akan mendidih, menguap dan berkondensasi pada pendingin tegak, lalu turun kembali pada labu dan sekaligus mengekstraksi kembali. Proses ini berlangsung secara berkesinambungan sampai bahan tersari sempurna. Pengerjaan ini dilakukan sebanyak 3-4 kali selama 3-4 jam (Rusmiati, 2010).

3. Destilasi Uap

Ekstraksi secara destilasi uap dapat dipertimbangkan untuk menyari serbuk simplisia yang mengandung komponen yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan normal. Pada pemanasan biasa memungkinkan akan terjadi kerusakan zat aktif. Untuk mencegah hal tersebut maka penyarian dilakukan dengan destilasi uap air air (Rusmiati, 2010).

2.5.2 Ekstraksi Teh Gansella

Terdapat beberapa cara untuk mengekstraksi senyawa flavonoid khususnya antosianin di dalam Gansella herbal tea yaitu antara lain:

Menurut (Djaeni, Ariani, Hidayat, & Utari, 2017) ekstraksi zat antosianin yang terkandung dalam bunga rosella menggunakan metode ekstraksi berbantu ultrasonik. Sampel sebanyak 50g di ekstrak menggunakan alat ultrasonik pada suhu 30°C dengan bantuan pengaduk. Pelarut yang digunakan adalah aquades.

Menurut (Isnaini, 2010) ekstraksi bunga rosella dengan metode maserasi dengan getaran *waterbath shaker*. Kelopak bunga rosella kering ditambah air dengan rasio 1:3; 1:5; dan 1:7 (b/v). Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi selama 15 menit pada suhu 40°C, 50°C, dan 60°C menggunakan *waterbath shaker*. Air seduhan disaring dengan kertas saring agar terpisah antara ampas dan filtratnya. Filtrat yang diperoleh ditambah dengan gelatin sebanyak 15% (b/v) yang berfungsi sebagai pengental menggunakan *hot plate* agar tidak menggumpal. Ekstrak bunga rosella cair yang dihasilkan kemudian dianalisis. Perlakuan terbaik dari ekstrak antosianin tersebut diaplikasikan pada produk pangan .

Menurut (Ali, Ferawati, & Arqomah, 2013) proses ekstraksi bunga rosella dilakukan dengan menggunakan sokhelet. Sampel sebanyak 70 gr dimasukkan ke dalam sokhelet yang telah dirangkai dengan kondensor yang berisi air dingin dan labu didih. Solven asam dengan konsentrasi 50%, 70%, dan 90% dim masukkan kedalam labu didih sebanyak 350 ml. Kemudian rangkaian sokhelet tersebut diletakkan diatas pemanas lalu dipanaskan selama 1 jam, 2 jam, dan 3 jam sehingga didapat hasil ekstraksi berupa campuran ekstrak antosianin dengan pelarut.

Menurut (Choiriyah, 2017a) ekstraksi rosella bertujuan mendapatkan senyawa antosianin dan fenolik dari rosella melalui metode ekstraksi secara maserasi. Pelarut yang digunakan pada ekstraksi rosella ini yaitu etanol 70%:asam sitrat (88:2 b/b), air:etanol 70%:asam sitrat (50:44:2 b/b/b), air:etanol (100:2 b/b).

Menurut (Juniarka et al., 2011) kelopak bunga rosella diekstraksi secara maserasi bertingkat selama 24 jam. Hasil optimasi pelarut yang diperoleh untuk mengekstraksi kandungan senyawa flavonoid yang berefek antioksidan pada kelopak bunga rosella dilakukan dengan enam larutan pengekstrak, yaitu : etanol (100%) (v/v); metanol (100%) (v/v) ; metanol (50%):etanol (50%) (v/v); metanol (75%): etanol (25%) (v/v); metanol (25%):etanol (75%) (v/v); akuades. Pembuatan ekstrak kental rosella dilakukan dengan metode maserasi bertingkat dengan penambahan asam format 3%. Sebanyak lebih kurang 25 gram kelopak bunga rosella yang sudah dikeringkan dipersiapkan, emudian dimaserasi dengan 250,0 mL penyari dalam Erlenmeyer yang tertutup aluminium foil seluruhnya minimal selama 24 jam, disimpan dalam lemari pendingin. Filtrat ang didapatkan kemudian dikumpulkan dan diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 40°C.

Ekstraksi antosianin menurut (Kartika, 2017) pada sampel kulit jantung pisang Ambon yaitu, ditimbang 250 gram sampel kulit jantung pisang ambon yang telah halus diekstraksi dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol p.a dan HCl 1% dengan perbandingan volume 9:1 sebanyak 300 mL. Maserasi dilakukan selama 24 jam kemudian disaring dan filtratnya ditampung dalam botol gelap. Residu diekstrak kembali dengan pelarut yang sama dengan pengaduk magnetik sampai jantung pisang berwarna pucat (terekstrak sempurna). Filtrat tersebut disatukan dan dipekatkan dengan menggunakan rotary vacuum evaporator sehingga didapatkan ekstrak pekat etanol kemudian ditimbang beratnya, dihitung rendemen.

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{bobot total ekstrak}}{\text{bobot total serbuk sampel}} \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

2.6 Uji Antosianin

Pengujian antosianin dimaksudkan untuk memastikan bahwa di dalam bunga rosella memang benar mengandung senyawa antosianin dengan menggunakan uji fotokimia atau uji warna dengan penambahan reagen dan terjadi perubahan warna yang positif. Skrining golongan senyawa flavonoid dengan cara 0,5 mg sampel ditambahkan dengan serbuk Mg 2 mg, kemudian ditambahkan 3 tetes HCl pekat. Hasil positif akan menunjukkan warna orange jika terdapat kandungan flavonoid. Skrining golongan senyawa antosianin dengan cara 0,5 mg sampel ditambahkan HCl sebanyak 5 ml, kemudian dipanaskan pada suhu 100° C selama 5 menit. Hasil positif jika terdapat kandungan antosianin akan menunjukkan warna merah (Sari & Aryantini, 2018).

Penentuan total antosianin dapat dilakukan dengan menggunakan metode pH deversial spektrofotometri. Menurut penelitian (Octaviani, Nugroho, & Dahliaty, 2015) antosianin yang didapat dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pengukuran absorbansi di mulai pada daerah serapan 400 nm – 700 nm. Panjang gelombang maksimum antosianin ditentukan dari nilai absorbansi optimumnya. Pada penelitian ini di dapat bahwa panjang gelombang maksimumnya 530 nm. Ekstrak antosianin diambil sebanyak 1 mL kemudian dilarutkan dengan 9 mL larutan pH 1. Hal yang sama juga dilakukan untuk pH 4,5. Setelah pelarutan antosianin dengan pH 1 dan pH 4,5 selesai, pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan panjang gelombang maksimum antosianin yang didapat sebelumnya, yaitu 530 nm dan pada panjang gelombang 700 nm.

Total antosianin pada ekstrak bunga rosella dapat ditentukan berdasarkan persamaan berikut (Octaviani et al., 2015):

$$A = (A_{530} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{530} - A_{700})_{\text{pH } 4,5} \dots\dots\dots (2)$$

Total antosianin (% b/b) =

$$\frac{A}{\epsilon \times L} \times MV \times DF \times \frac{V}{Wt} \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

Keterangan :

- A = Absorbansi
- ϵ = Absorptivitas molar delphinidin-3-sambusiode
- L = Lebar kuvet = 1 cm
- MV = Berat molekul antosianin
- DF = Faktor pengenceran
- V = Volume ekstrak pigmen (L)
- Wt = Berat bahan awal (g)

Mengubah %b/b ke ppm : $\frac{\text{gram}}{100 \text{ gram}} = \text{ppm atau } \frac{\text{mg}}{\text{L}}$

$$\frac{\text{gram}}{100 \text{ gram}} = \frac{1000 \text{ mg}}{100 \text{ g}} = \frac{10000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}}$$

Untuk mengubah %b/b ke ppm adalah dikali 10.000

2.7 Kompleks Fe Antosianin

2.7.1 Kopigmentasi

Kopigmentasi adalah reaksi langsung antara molekul antosianin dengan senyawa lain (disebut kopigmen) atau melalui suatu interaksi lemah (hidrofobik atau ikatan hidrogen) membentuk kompleks intermolekuler antara kopigmen dengan antosianin menghasilkan warna yang lebih kuat, lebih terang dan lebih stabil. Beberapa penelitian menemukan bahwa efektivitas kopigmentasi dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi kopigmen yang ditambahkan pada ekstrak antosianin. Jenis kopigmen yang sesuai dengan struktur kimia antosianin akan mampu membentuk ikatan antara inti kation flavilium yang kekurangan elektron dengan elektron bebas dari kopigmen, sehingga terjadi kesetimbangan elektron yang menghambat laju degradasi antosianin (Satyatama, 2008).

Stabilitas warna antosianin dapat dipertahankan atau ditingkatkan dengan reaksi kopigmentasi. Phenomena kopigmentasi telah diamati pertama kali pada tahun 1916 oleh Willstatter dan Zollinger, pada pigmen dari anggur, oenin (malvidin 3-glukosida) dengan penambahan tanin dan asam galat. Kopigmentasi adalah interaksi antara struktur antosianin dengan molekul lain seperti logam (Al, Fe, Sn, Cu) dan molekul organik lain seperti senyawa flavonoid lain (flavon, flavonon dan juga flavonol), senyawa alkaloid (kafein),

dan sebagainya. Adanya kopigmentasi dengan logam dan molekul organik lain cenderung meningkatkan stabilitas warna antosianin (Satyatama, 2008)

Senyawa kopigmen antara lain berasal dari golongan flavonoid, yaitu monomer flavanol (katekin dan epikatekin), oligomer, polimer (tanin), fenolik (katekol dan metil katekol), golongan asam organik (kafeat, ferulat, khlorogenat, tannat, dan asam galat), logam dan molekul antosianin itu sendiri (Wahyuni, Hanum, & Murhadi, 2017).

2.7.2 Logam Besi (Fe)

Zat besi merupakan mikroelemen yang esensial bagi tubuh. Zat ini terutama diperlukan dalam hemopoiesis (pembentukan darah) yaitu sintesis hemoglobin (Hb). Hemoglobin (Hb) yaitu suatu oksigen yang mengantarkan eritrosit berfungsi penting bagi tubuh. Hemoglobin terdiri dari Fe (zat besi), protoporfirin, dan globin (1/3 berat Hb terdiri dari Fe). Besi bebas terdapat dalam dua bentuk yaitu ferro (Fe) dan ferri (Fe^{3+}). (Susiloningtyas, 2012).

Konversi kedua bentuk tersebut relatif mudah. Pada konsentrasi oksigen tinggi, umumnya besi dalam bentuk ferri karena terikat hemoglobin sedangkan pada proses transport transmembran, deposisi dalam bentuk feritin dan sintesis heme, besi dalam bentuk ferro. Dalam tubuh, besi diperlukan untuk pembentuk kompleks besi sulfur dan heme. Kompleks besi sulfur diperlukan dalam kompleks enzim yang berperan dalam metabolisme energi. Heme tersusun atas cincin porfirin dengan atom besi di sentral cincin yang berperan mengangkut oksigen pada hemoglobin dalam eritrosit dan mioglobin dalam otot (Susiloningtyas, 2012).

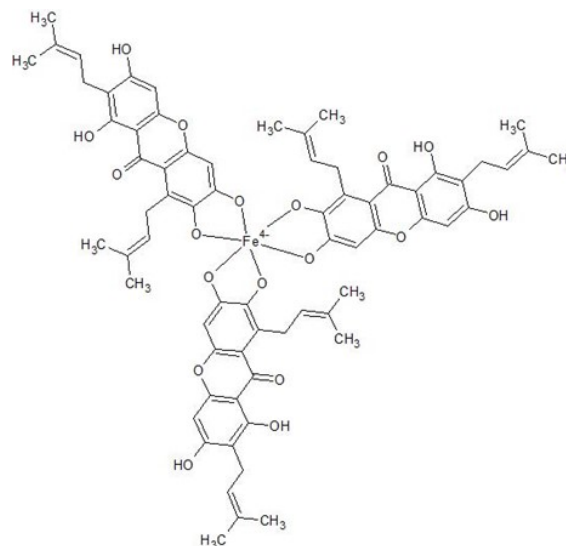
Besi mempunyai beberapa fungsi esensial di dalam tubuh : sebagai alat angkut oksigen dari paru-paru ke jaringan tubuh, sebagai alat angkut elektron di dalam sel, dan sebagai bagian terpadu berbagai reaksi enzim di dalam jaringan tubuh. Rata-rata kadar besi dalam tubuh sebesar 3-4 gram. Sebagian besar (± 2 gram) terdapat dalam bentuk hemoglobin dan sebagian kecil (± 130 mg) dalam bentuk mioglobin. Simpanan besi dalam tubuh terutama terdapat dalam hati dalam bentuk feritin dan hemosiderin. Dalam plasma, transferin mengangkut 3 mg besi untuk dibawa ke sumsum tulang untuk eritropoesis dan mencapai 24 mg per hari. Sistem retikuloendoplasma akan mendegradasi besi dari eritrosit untuk dibawa kembali ke sumsum tulang untuk eritropoesis. Zat besi adalah mineral yang dibutuhkan untuk membentuk sel darah merah (hemoglobin). Selain itu, mineral ini juga berperan sebagai komponen untuk membentuk mioglobin (protein yang membawa oksigen

ke otot), kolagen (protein yang terdapat di tulang, tulang rawan, dan jaringan penyambung), serta enzim. Zat besi juga berfungsi dalam sistim pertahanan tubuh (Susiloningtyas, 2012).

2.7.3 Kompleks Fe Antosianin

Antosianin adalah senyawa polifenol yang mengandung 15 atom karbon dalam struktur utama flavan (C6-C3-C6). Setiap senyawa terdiri dari dua cincin aromatik yang dinotasikan sebagai A dan B yang dihubungkan oleh cincin heterosiklik pyrane (C-ring). Fenolik hidroksil, gula, oksigen, atau gugus metil melekat pada cincin. Telah diketahui bahwa flavonoid dan antosianin mempunyai aktivitas antiradikal bebas karena elektron terdelokalisasi dari cincin B dan gugus hidroksil fenolik dari struktur ini. Fenolik hidroksil dapat bertindak sebagai sumber elektron untuk radikal bebas melalui mekanisme sumbangan atom hidrogen, atau melalui transfer elektron tunggal. Cyanidin dapat bertindak sebagai chelator berbagai ion logam seperti Fe, Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺.

Antosianin dengan mudah mengubah logam yang membentuk kristal bioinorganik. Kristal logam transisi seperti Fe sebagai atom sentral dan antosianin sebagai kompleks ligan memiliki sifat transfer elektron dinamis yang dapat dikaitkan dengan fungsinya sebagai antiradikal bebas (Sukmaningsih et al., 2018)



Gambar 2.5 Struktur kompleks Fe²⁺ dan antosianin cyanidin pada Pulp java
(Fe²⁺ + 3 (cyanidin)⁻² → 2Fe(Cyanidin)₃⁻⁴)

2.7.4 Pengompleks Fe Antosianin

2.7.4.1 Sonikasi

Sonikasi merupakan aplikasi penggunaan energi suara untuk proses pengadukan partikel padasatu sampel dengan tujuan bermacam-macam. Sonikasi menggunakan energi

suara untuk menggerakkan partikel yang berada dalam suatu sampel untuk berbagai keperluan seperti ekstraksi beberapa senyawa dari tanaman, mikroalga dan rumput laut. Sonikasi dapat digunakan untuk mempercepat proses pelarutan suatu materi dengan prinsip pemecahan reaksi intermolekuler, sehingga terbentuk suatu partikel yang berukuran nano. Sonikasi berarti pemberian perlakuan ultrasonik suatu bahan pada kondisi tertentu, sehingga menyebabkan bahan tersebut mengalami reaksi kimia sebagai akibat perlakuan yang diberikan. Prosesnya dengan menggunakan gelombang ultrasonik pada rentang frekuensi 20 KHz-10 MHz atau yang dikenal dengan istilah ultrasonikasi. Gelombang ultrasonik merupakan gelombang mekanik longitudinal yang tidak dapat didengar oleh telinga manusia karena memiliki frekuensi tinggi, dapat merambat dalam medium padat, cair, dan gas. Karakteristik gelombang ultrasonik yang melewati medium mengakibatkan getaran partikel medium amplitudo sejajar dengan arah rambat secara longitudinal, sehingga menyebabkan partikel medium membentuk rapatan (strain) dan regangan (stress) (Candani, Ulfah, Noviana, & Zainul, 2018).

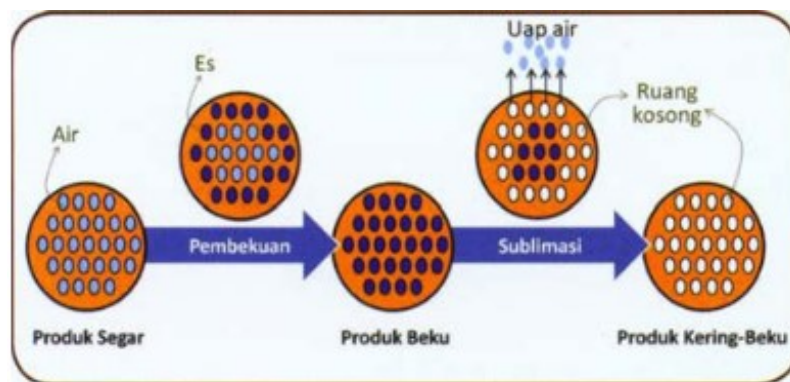
Sonikasi memiliki banyak manfaat salah satunya untuk mensintesis nanosfer berbasis ferrofluid dan poly lactic acid (PLA) dengan variasi waktu sonikasi. Bahan dasar yang digunakan adalah ferrofluid (Fe dalam bentuk liquid) yang akan ditambahkan PLA sebagai polimer atau surfaktan. Hasil SEM menunjukkan bahwa semakin lama waktu sonikasi ukuran partikel cenderung lebih homogen dan mengecil yang akhirnya menuju ukuran nanopartikel yang stabil serta penggumpalan pun semakin berkurang. Hal ini disebabkan karena gelombang kejut pada metode sonikasi dapat memisahkan penggumpalan partikel (agglomeration) dan terjadi dispersi sempurna dengan penambahan surfaktan sebagai penstabil. Selain itu, metode ini menggunakan ultrasonic bath dengan frekuensi tinggi seperti 20 kHz atau 56 kHz untuk memecah ion-ion metal dalam molekul sehingga diharapkan proses pertumbuhan kristal dapat berlangsung dengan cepat dan dapat menghindarkan terjadinya oksidasi pada ion-ion metal yang mengakibatkan terbentuknya partikel amorf (Candani et al., 2018). Dalam sintesis MCM-41 menggunakan metode sonokimia, kristalinitas MCM-41 meningkat seiring bertambahnya waktu sonikasi dan hasil sintesis dengan kondisi optimum diperoleh pada waktu sonikasi selama 90 menit (Candani et al., 2018).

Pada penelitian ini diharapkan pemanfaatan sonikasi ini mampu mengomplekskan senyawa Fe dengan antosianin, sehingga akan terbentuk senyawa kompleks Fe antosianin dengan bantuan sinar ultrasonik dengan adanya energi kapitasi dari sinar tersebut. Perlu adanya proses sonikasi untuk memastikan bahwa kompleks yang terbentuk sangatlah kuat,

dikhawatirkan jika tidak menggunakan energi kapitasi maka kompleks yang terbentuk akan lepas sehingga senyawa Fe akan mengendap dalam tubuh.

2.7.4.2 *Freeze Drying*

Pengeringan beku (*freeze drying*) merupakan salah satu teknik pengeringan pangan. Sebagaimana tersirat dari namanya; prinsip teknologi pengeringan beku ini dimulai dengan proses pembekuan pangan, dan dilanjutkan dengan pengeringan; yaitu mengeluarkan/memisahkan hampir sebagian besar air dalam bahan yang terjadi melalui mekanisme sublimasi. Secara ilustratif, proses pengeringan beku ini dijelaskan seperti pada Gambar 2.6 Proses pengeringan beku (Hariyadi, 2013)



Gambar 2.6 Proses pengeringan beku (*Freeze Drying*) (Hariyadi, 2013)

Pada penelitian (Edityaningrum & Rachmawati, 2015) pembuatan kompleks inklusif kurkumin β -siklodekstrin dengan menggunakan metode *freeze drying* dan sonikasi. Pembuatan kompleks inklusi dilakukan dengan metode *freeze drying*. Sejumlah 200 mg serbuk β -siklodekstrin dilarutkan dalam aqua deion hingga terlarut. Sejumlah 20% kurkumin dilarutkan dalam 2 mL aseton pro analisis hingga terlarut. Kedua larutan tersebut dicampur, disonikasi selama 5 menit, dan diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 5 jam dengan kecepatan 200 rpm tanpa tutup untuk menguapkan aseton. Campuran bahan kemudian disentrifugasi selama 15 menit dan kecepatan 3000 rpm. Supernatan yang mengandung kompleks inklusi nanopartikel diambil, dan disaring. Kemudian dilakukan *freeze drying* (-35°C , 0,01 Torr), dan disimpan pada suhu 4°C hingga penggunaan berikutnya

2.7.4.3 Penambahan Asam

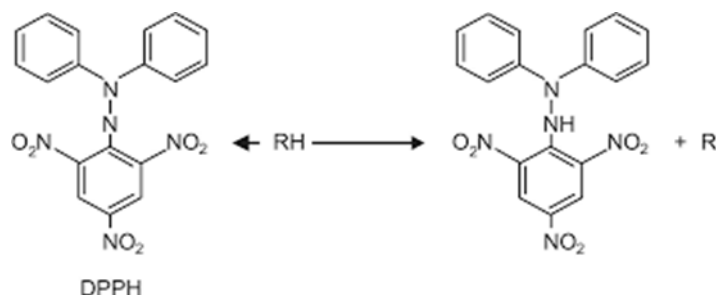
Pada penelitian yang dilakukan (Kartika, 2017) pembentukan kompleks dengan logam dengan menggunakan penambahan asam yang di magnetik stirer. Penelitian ini membuat kompleks logam Co(II)-Antosianin. Pembuatan ekstrak ion logam Co(II)-antosianin dilakukan dengan mengambil 30 mL ekstrak kulit jantung pisang ambon ke dalam gelas kimia 50 mL, kemudian ditambahkan HCl 1 N sampai pH menjadi 3 sambil diaduk dengan menggunakan magnetic stirrer. Larutan dipipet sebanyak 10 mL ke dalam erlenmeyer

berbeda yang mengandung $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ masing-masing 0 ppm, 50 ppm, dan 150 ppm. Pengerjaan dilakukan ditempat yang terlindung dari cahaya

2.8 Pengujian IC_{50} Metode DPPH

Metode DPPH merupakan metode yang cepat, sederhana, dan tidak membutuhkan biaya tinggi dalam menentukan kemampuan antioksidan menggunakan radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Metode ini sering digunakan untuk menguji senyawa yang berperan sebagai free radical scavengers atau donor hidrogen dan mengevaluasi aktivitas antioksidannya, serta mengkuantifikasi jumlah kompleks radikal-antioksidan yang terbentuk. Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel yang berupa padatan maupun cairan (Sadeli, 2016).

Gugus kromofor dan auksokrom pada radikal bebas DPPH memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm sehingga menimbulkan warna ungu. Warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning seiring penambahan antioksidan yaitu saat elektron tunggal pada DPPH berpasangan dengan hidrogen dari antioksidan. Hasil dekolerasi oleh antioksidan setara dengan jumlah elektron yang tertangkap. Mekanisme penangkapan radikal bebas ditunjukkan pada reaksi yang disajikan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.7 Reaksi radikal bebas DPPH (Sadeli, 2016)

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus (Andayani & Lisawati, 2008) :

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{Abs.kontrol} - \text{Abs.sampel}}{\text{Abs.Kontrol}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (4)$$

Keterangan :

Abs kontrol : Serapan radikal DPPH 50 μM pada panjang gelombang 515 nm.

Abs Sampel: Serapan sampel dalam radikal DPPH 50 μM pada panjang gelombang 515 nm

Nilai IC₅₀ masing-masing konsentrasi sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier. Sedangkan kadar likopen dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$C = \frac{A}{E \frac{1\%}{1cm} \times b} \dots\dots\dots (5)$$

Keterangan:

C = konsentrasi (g/100 ml),

A= absorban,

b = tebal kuvet (cm),

$$E \frac{1\%}{1cm} = 3450$$

2.9 Kerangka Teori

Penelitian ini dilakukan pada gansella herbal tea yang merupakan produk unggulan dari Akademi Analis Farmasi dan makanan Putra Indonesia Malang. *Gansella herbal tea* terbuat dari dua perpaduan bahan yaitu rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) dan pegagan (*Centella asiatica*) didalam umbuhan rosella dan pegagan banyak mengandung senyawa antiradikal bebas menurut (Hikmawati, 2017) konsentrasi total antosianin pada bunga rosella antara 364,98 dan 606,67 mg / 100 g sampel kering dalam ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi dengan menggunakan metanol yang diasamkan dengan 1% asam trifluoroasetat dan antara 172,58 dan 296,99 mg / 100 g kelopak bunga kering menggunakan air suling sebagai pengekstrak. Dan pada pegagan terdapat kandungan flavonoid yaitu flavon dan flavonon yang tidak mengandung 5OH bebas, serta flavonol tanpa 5-OH bebas tetapi tersubstitusi pada 3-OH (Fatmawati, 2005).

Proses determinasi pegagan dan rosella dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa varietas tumbuhan yang digunakan adalah sama atau satu jenis yang dikehendaki. Rosella dan tumbuh di berbagai daerah di Indonesia, sehingga kandungan bahan kimia alam yang ada didalamnya juga akan berbeda. Perlu adanya determinasi agar bahan yang digunakan memiliki keseragaman. Setelah proses determinasi dilakukan tahap selanjutnya adalah pembuatan simplisisa kering dari pegagan dan bunga rosella untuk diformulasi menjadi *gansella herbal tea* dalam. Pembuatan gansella herbal tea dalam bentuk *tea bag* dengan perbandingan 2:1 bunga rosella dan pegagan (Selviana, 2014).

Ekstraksi kandungan antosianin yang ada didalam gansella, terdapat berbagai teori tentang cara ekstraksi antosianin pada bina rosella menurut (Ali et al., 2013) proses

ekstraksi bunga rosella dilakukan dengan menggunakan sokhelet. Menurut (Isnaini, 2010) ekstraksi bunga rosella dengan metode maserasi dengan getaran *waterbath shaker*. Menurut (Djaeni, Ariani, Hidayat, & Utari, 2017) ekstraksi zat antosianin yang terkandung dalam bunga rosella menggunakan metode ekstraksi berbantu ultrasonik. Menurut (Choiriyah, 2017b) yaitu dengan maserasi menggunakan pelarut air:etanol 70%:asam sitrat (50:44:2 b/b/b) selama 24 jam. Dari berbagai cara yang digunakan, untuk ekstraksi antosianin menggunakan metode dingin, karena antosianin akan rusak atau terdegradasi pada suhu yang tinggi (Khoridah, 2015).

Beberapa penelitian metode ekstraksi paling optimal adalah menurut (Kartika, 2017) 250 gram sampel yang telah halus diekstraksi dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol p.a dan HCl 1% dengan perbandingan volume 9:1 sebanyak 300 ml, kemudian diremaserasi. Penambahan asam klorida dengan tujuan untuk menstabilkan senyawa antosianin yang ada di dalam ekstrak. Antosianin stabil pada pH asam asam (Castañeda-Ovando et al., 2009). Proses maserasi ini bertujuan untuk mengambil senyawa antosianin yang ada pada *gansella herbal tea*.

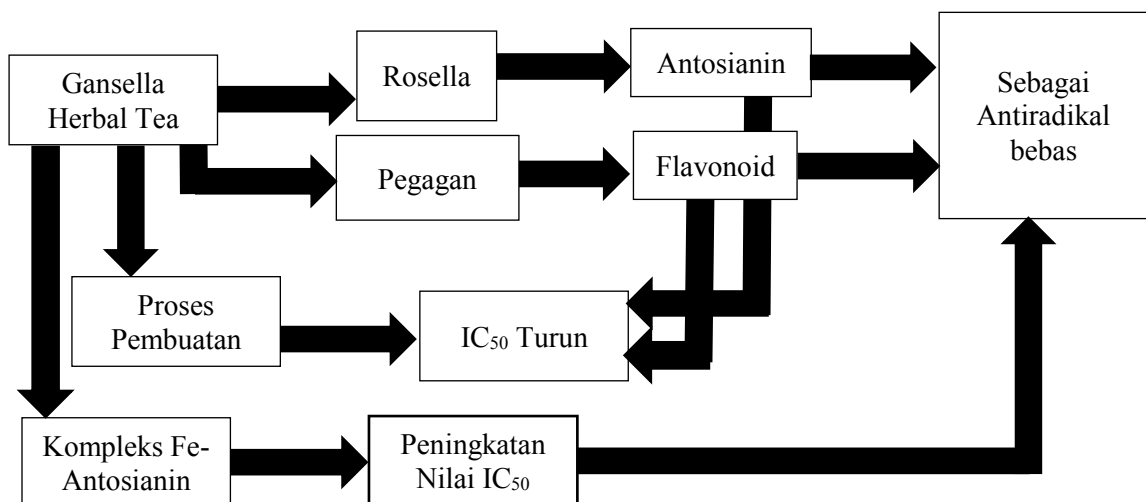
Pemekatan ekstrak *gansella herbal tea* menggunakan *rotary evaporator* dan *freeze drying*. Ekstrak Antosianin *gansella herbal tea* ditentukan kadarnya menggunakan metode diferensial pH yaitu dengan pH optimal 1 dan 4,5 dikarenakan antosianin stabil pada pH asam. Yang kemudian ditentukan kadarnya dengan spektrofotometri UV-Vis. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan panjang gelombang maksimum antosianin yang didapat sebelumnya, yaitu 530 nm dan pada panjang gelombang 700 nm (Octaviani et al., 2015). Kadar antosianin yang didapatkan dari *gansella herbal tea* digunakan sebagai acuan formulasi kompleks Fe antosianin.

Formulasi kompleks Fe antosianin mengacu pada penelitian (Sukmaningsih et al., 2018) yang menyebutkan bahwa diduga antosianin dapat membentuk kompleks dengan Fe sehingga akan meningkatkan aktivitas antiradikal bebas pada antosianin. Untuk membentuk kompleks Fe antosianin (Sukmaningsih et al., 2018) melakukan sonikasi, sehingga akan terbentuk kompleks Fe antosianin. Proses sonikasi ini terdapat energi kapitasi sehingga akan mempercepat dan mempermudah Fe membentuk kompleks dengan antosianin. Pengerjaan dilakukan ditempat yang terlindung dari cahaya. Formulasi penambahan Fe menggunakan empat variasi yaitu 0 ppm, a ppm, b ppm dan c ppm. Keempat konsentrasi tersebut dilakukan pengujian untuk mendapatkan absorbansi maksimal dengan menggunakan spektrofotometri Uv-vis dengan panjang gelombang yang telah ditetapkan pada pengujian kadar antosianin. Formulasi ini bertujuan untuk mengetahui penambahan Fe yang optimal terhadap peningkatan IC_{50} .

Formulasi yang optimal ditentukan nilai IC_{50} menggunakan reagen DPPH yang redam selama 30 menit. Dilakukan proses peredaman bertujuan untuk mendapatkan hasil anti radikal bebas yang maksimal. Hal ini dikarenakan pada menit ke 30 sampel yang mengandung senyawa anti radikal bebas telah bereaksi dengan radikal DPPH dan reaksi cenderung stabil (Anggraini, 2014). Pengujian aktivitas antiradikal bebas menggunakan metode DPPH secara spektrofotometri visibel.

Pengujian anti radikal bebas menggunakan metode DPPH diperoleh data yang selanjutnya diolah menggunakan rumus % peredaman (IC_{50}). IC_{50} merupakan konsentrasi suatu zat anti radikal bebas yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal bebas. Hasil dari nilai IC_{50} yang akan dibandingkan yaitu 0 ppm Fe (v,w,x,y,z), a ppm Fe (v,w,x,y,z), b ppm Fe (v,w,x,y,z), c ppm Fe (v,w,x,y,z). Setelah itu melihat peningkatan IC_{50} pada masing- masing perlakuan. Kemudian diuji beda dengan menggunakan Uji ANOVA (*Analysis Of Variance*).

2.10 Kerangka Konsep



Gambar 2.8 Kerangka Konsep.

2.11 Hipotesis Penelitian

Adanya kompleks Fe antosianin pada Gansella herbal tea yang dapat meningkatkan nilai IC_{50} menggunakan metode DPPH.