

**EKSTRAKSI ANTOSIANIN KELOPAK BUNGA ROSELA (*Hibiscus  
sabdarriffa* L.) MENGGUNAKAN EKSTRAKSI BERBANTU  
GELOMBANG MIKRO DENGAN PELARUT AIR-ETANOL**

*ANTOSIANIN EXTRACTION FROM ROSELLE CALYX USING MICROWAVE-  
ASSISTED EXTRACTION METHOD WITH WATER-ETHANOL SOLVENT*

**Yessy Charolina, Sentot Joko Raharjo**  
Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

**ABSTRAK**

Antosianin bunga rosella stabil dalam larutan asam (pH 1-4), larut air, etanol, metanol, aseton dan kloroform serta termolabil, sehingga pemanasan terbaik untuk mencegah kerusakan antosianin adalah pada suhu tinggi dengan waktu yang pendek. Dalam ekstraksi menggunakan *Microwave Assisted Extraction (MAE)*, pemanasan terjadi secara terarah dan selektif. Kemampuan pelarut dalam menyerap energi gelombang mikro dapat mempengaruhi interaksinya dengan matriks tanaman sehingga senyawa target dapat ter-ekstraksi secara optimal. Tujuan dari penelitian ini adalah optimasi rendemen dan kadar antosianin kelopak bunga rosella melalui ekstraksi menggunakan metode *MAE* dengan pelarut kombinasi air – etanol. Metode penelitian ini meliputi ekstraksi simplisia bunga rosella menggunakan pelarut kombinasi air-etanol 0%, 30%, 50%, 70%, dan 96%; penentuan rendemen; dan pengukuran kadar antosianin, menggunakan metode spektrofotometri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstraksi variasi kombinasi air-etanol yang dilakukan selama 5 menit, rendemen ekstraksi berturut-turut  $37,60 \pm 0,60\%$ ;  $38,84 \pm 0,43\%$ ;  $40,35 \pm 0,26\%$ ;  $33,22 \pm 0,34\%$ ; dan  $23,76 \pm 0,32\%$  dan kadar antosianin  $34,28 \pm 0,14$ ;  $68,02 \pm 0,75$ ;  $106,80 \pm 1,55$ ;  $93,96 \pm 0,64$ ; dan  $81,68 \pm 0,79$  mg/100 gram ekstrak. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstraksi antosianin kelopak bunga rosella optimal pada kombinasi pelarut air-etanol 50% dan terdapat perbedaan yang signifikan dalam variasi kombinasi pelarut air-etanol pada ekstraksinya

Kata kunci : antosianin, ekstraksi gelombang mikro, kombinasi air-etanol, rendemen, rosella

**ABSTRACT**

*Anthocyanins of rosella flowers are stable in acidic solutions (pH 1-4), water soluble, ethanol, methanol, acetone and chloroform and thermolabile, so that the best heating to prevent anthocyanin damage is at high temperatures with a short time. In extraction using Microwave Assisted Extraction (MAE), heating occurs in a directed and selective manner. The ability of the solvent to absorb microwave energy can affect its interaction with the plant matrix so that the target compound can be extracted optimally. The purpose of this study is to optimize the yield and anthocyanin content of rosella calyx through extraction using the MAE method with a water-ethanol combination solvent. This research method includes the extraction of rosella flower simplisia using a water-ethanol combination solvent of 0%, 30%, 50%, 70%, and 96%; determination of yield; and measurement of anthocyanin levels, using spectrophotometric methods. The results showed that the extraction of air-ethanol combination variations was carried out for 5 minutes, the extraction yield was  $37.60 \pm 0.60\%$ ;  $38.84 \pm 0.43\%$ ;  $40.35 \pm 0.26\%$ ;  $33.22 \pm 0.34\%$ ; and  $23.76 \pm 0.32\%$  and anthocyanin levels  $34.28 \pm 0.14$ ;  $68.02 \pm 0.75$ ;  $106.80 \pm 1.55$ ;  $93.96 \pm 0.64$ ; and  $81.68 \pm 0.79$  mg / 100 gram extract. The conclusion of this study is the anthocyanin extraction of optimal rosella calyx on a 50% water-ethanol combination and there is a significant difference in the variation of the water-ethanol solvent combination in its extraction.*

Keyword : anthocyanin, microwave-assisted extraction, roselle, water-ethanol solvent, yield

## PENDAHULUAN

Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan tanaman subtropis jenis tanaman sepetu yang banyak tumbuh di beberapa negara termasuk di Indonesia. Rosella memiliki manfaat untuk kesehatan karena kandungan zat aktifnya. Pengujian aktivitas antiradikal bebas dari bunga rosella didapatkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 0,25 mg/mL karena terdapat senyawa fenolik yaitu flavonoid (antosianin) pada kelopak bunganya. Purbowati (2014) menyatakan bahwa kelopak bunga rosella mengandung total phenol, antosianin, dan vitamin C berturut-turut  $19,45 \pm 0,32$ ;  $13,51 \pm 0,03$ ;  $20,47 \pm 0,34$  mg/g menggunakan pelarut etanol 70% saat ekstraksi.

Antosianin adalah senyawa flavonoid yang bertanggung jawab memberikan warna merah pada tanaman. Antosianin stabil dalam larutan asam (pH 1-4) (Priska et al., 2018), larut air (El Husna et al., 2013), etanol, metanol, aseton, dan kloroform (Kristiana et al., 2012) dan thermolabil (Hayati et al., 2012), sehingga pemanasan terbaik untuk mencegah kerusakan antosianin adalah pada suhu tinggi dengan waktu

pendek (*high temperature short time*) (Rahmawati, 2011).

Teknik ekstraksi konvensional seperti perebusan, reflux atau maserasi sudah sering digunakan. Namun metode konvensional memiliki beberapa kelemahan antara lain waktu pengoperasian yang lama, penanganan dan biaya yang tinggi serta penggunaan pelarut yang besar. Salah satu metode non-konvensional yang sederhana dan ekonomis untuk mengekstraksi senyawa bioaktif adalah *Microwave Assisted Extraction (MAE)*.

*MAE* merupakan teknik ekstraksi menggunakan bantuan gelombang mikro dengan frekuensi 300 MHz – 300 GHz dalam spektrum elektromagnetik (Kusumaningrum and Harianingsih, 2018). *MAE* bekerja dengan melewatkan radiasi gelombang mikro pada bahan, sehingga molekul dari bahan akan menyerap energi elektromagnetik tersebut. Pada ekstraksi konvensional, pemanasan terjadi tidak seperti dalam *MAE*. Pemanasan yang terjadi lebih terarah dan selektif yaitu dengan membangkitkan panas dari dalam bahan tersebut bukan mentransfernya dari luar. Mekanisme pemanasan

seperti ini dapat mengurangi waktu ekstraksi hingga kurang dari 30 menit (Mandal et al., 2007).

Pemilihan pelarut merupakan hal penting untuk memperoleh ekstraksi yang optimal. Pelarut dan senyawa target sebaiknya memiliki polaritas yang sesuai (Maksum and Purbowati, 2017). Dasar pemilihan pelarut dalam *MAE* antara lain kelarutan senyawa target dalam pelarut ekstraksi, interaksi antara pelarut dengan matriks serta kemampuan pelarut dalam menyerap energi gelombang mikro (Mandal et al., 2007). Pelarut air dan etanol sudah lama digunakan sebagai pelarut ekstraksi karena memiliki stabilitas yang lebih baik. Selain itu diketahui bahwa air dan etanol memiliki sifat dielektrik yang baik sehingga dapat menyerap energi gelombang mikro dan dapat menghasilkan panas (Mandal et al., 2007). Berdasarkan latar belakang di atas, ekstraksi kelopak bunga rosella menggunakan kombinasi pelarut air dan etanol perlu dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui optimasi rendemen dan kadar antosianin pada ekstraksi antosianin kelopak bunga

rosella menggunakan metode *MAE* dengan kombinasi pelarut air-etanol.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Peralatan yang digunakan meliputi oven, ayakan no 40, blender, sendok, wadah gelap, gelas ukur, *rotary vaccum evaporator*, corong gelas, beaker glass, labu takar, pipet volume, timbangan analitik (Ohaus), pH meter (OAKTAN), *microwave oven* merk LG MH6343BAK /00 800 W 2450MHz, spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S UV-Vis ), tabung reaksi, rak tabung reaksi, dan peralatan gelas lain untuk menunjang proses penelitian. Bahan yang digunakan adalah serbuk simplisia kelopak bunga rosella, aquades, etanol 96% , serbuk Kalium clorida (KCl), HCl pekat (PA), HCl 1%, serbuk natrium asetat ( $CH_3COONa$ ).

### **Jalannya Penelitian**

#### **Preparasi sampel**

Serbuk simplisia kelopak bunga rosella diperoleh dari Balai Materia Medica Batu dihaluskan kembali dan diayak dengan pengayak 40 mesh.

### **Uji Non-Parametrik Simplisia**

#### **Penetapan Susut Pengeringan**

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 1 g dalam botol timbang yang telah dipanaskan dan ditara. Dikeringkan pada suhu 105°C dalam oven hingga bobot tetap. Jika tidak dinyatakan lain, nilai susut pengeringan adalah < 10% (Depkes RI, 1995).

#### **Penetapan Kadar Abu**

Sebanyak 2-3 g sampel dimasukkan ke dalam krus silikat yg telah ditimbang, dipijarkan dalam tanur dengan temperatur 600±25°C hingga arang habis dan tersisa abu putih. Dinginkan dan timbang (Depkes RI, 1995)

#### **Penetapan Kadar Sari Larut Air**

Serbuk simplisia sebanyak 5 g dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL pelarut air kloroform P. Kocok berkali-kali selama 6 jam pertama, diamkan selama 18 jam. Uapkan 20 mL filtrat hingga kering, panaskan sisa pada suhu 105°C hingga bobot tetap (Depkes RI, 1995).

#### **Penetapan Kadar Sari Larut Air**

Serbuk simplisia sebanyak 5 g dimaserasi selama 24 jam dengan pelarut etanol 95% sebanyak 100 mL.

Kocok berkali-kali selama 6 jam pertama, diamkan selama 18 jam. Uapkan 20 mL filtrat hingga kering, panaskan sisa pada suhu 105°C hingga bobot tetap (Depkes RI, 1995).

#### **Ekstraksi kelopak Bunga Rosella (modifikasi (Maksum and Purbowati, 2017) dan (Pratama, 2019)**

Sebanyak 25 gram serbuk simplisia kelopak bunga rosella dimasukkan dalam labu alat bulat, diekstraksi menggunakan 125 mL pelarut air, air-etanol (30%; 50%; 70%), etanol 96% dan HCl 1% dengan perbandingan volume 9:1. Ekstraksi menggunakan metode MAE selama 5 menit. Hasilnya ditampung di beaker glass, disaring, diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan dipekatkan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental kelopak bunga rosella.

#### **Penentuan Rendemen Ekstrak (Depkes RI, 1995)**

Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan dihitung prosen rendemennya

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot bahan}} \times 100\%$$

### Penentuan Kadar Antosianin (modifikasi dari (Octaviani et al., 2015))

Membuat buffer pH 1 dengan menimbang 0,186 g KCl, ditambah HCl sampai pH 1. Membuat buffer pH 4,5 dengan menimbang 5,443 g ( $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ ) dan itambahkan HCl 2 N sampai pH pH 4,5. Penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan ekstrak antosianin yang diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis panjang gelombang 500-700 nm untuk (panjang gelombang 522 nm). Membuat konsentrasi pengenceran 1, 2, 4, 6, dan 8% dari ekstrak  $\pm$  5 gram. Pengujian menggunakan perbandingan 4:6 untuk ekstrak hasil pengenceran dengan buffer pH 1 dan 4,5 dibaca dengan panjang gelombang 522 nm dan 700 nm.

Kadar antosianin ditentukan berdasarkan persamaan berikut :

$$\%Antosianin = \frac{A}{\epsilon \times L} \times MV \times DF \times \frac{V}{Wt} \times 100\%$$

Absorbansi dari sampel ditentukan dengan persamaan :

$$A = (A_{522} - A_{700})_{pH1} - (A_{522} - A_{700})_{pH4,5}$$

Dimana :

A = absorbansi

$\epsilon$  = Absorptivitas molar delphinidin-3-sambubioside (29000 L/(mol.cm))

L = lebar cuvet = 1 cm

MV = berat molekul delphinidin-3-sambubioside (597,502 g/mol)

DF = Faktor pengenceran

V = volume ekstrak pigmen (L)

Wt = bobot bahan awal (g)

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Uji Non Parametrik Serbuk Simplisia

Hasil penelitian secara organoleptis menunjukkan bahwa serbuk bunga rosella berwarna merah, berasa asam dan berbau aromatis. Hasil standarisasi non-spesifik serbuk simplisia kelopak bunga rosella disajikan pada Tabel 1. Fungsi dari penetapan susut pengeringan ini untuk memperoleh bobot konstan dan menentukan kadar air selama pengeringan bahan yang mengandung air tinggi. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk simplisia kelopak bunga rosella adalah 12,96%, lebih besar dari nilai yang diperbolehkan yaitu <10%. Hal ini dapat disebabkan karena proses pemanasan saat pengeringan kurang optimal, merata atau sempurna, sehingga mengakibatkan nilai penyusutannya masih besar atau melebihi standart. Nilai susut pengeringan ini berarti bahwa bahan tersebut masih mengandung sejumlah air yang melebihi batas nilai yang diperbolehkan sehingga harus segera digunakan (Komala et al., 2013), karena akan berisiko rusak akibat

tumbuhnya jamur atau kapang maupun bakteri. Meskipun berbeda secara metode, uji susut pengeringan memiliki tujuan yang hampir sama dengan uji kadar air, yaitu untuk mengetahui apakah suatu simplisia masih memiliki kadar air yang berada pada batasnya atau tidak. Berbeda dengan uji kadar air, uji susut pengeringan tidak dapat digunakan untuk semua jenis simplisia, terutama untuk simplisia yang mengandung minyak atsiri. Hasil penetapan kadar abu simplisia rosella adalah 7,01%. Hasil tersebut masih memenuhi ketentuan kadar abu (Departemen Kesehatan RI, 1997). Nilai kadar abu simplisia memberikan gambaran

kandungan senyawa anorganik (mineral internal dan eksternal) yang terkandung dalam simplisia, baik yang berasal dari tanaman secara alami maupun kontaminan selama proses pembuatan simplisia (Komala et al., 2013). Penetapan kadar sari larut air dan etanol bertujuan untuk memberikan gambaran awal jumlah kandungan senyawa yang dapat larut dalam air dan etanol (Departemen Kesehatan RI, 1997). Hasil tersebut menunjukkan bahwa sari yang larut air lebih besar daripada sari yang larut etanol. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa dalam kelopak bunga rosella dapat larut dalam kedua pelarut tersebut.

Tabel 1 Hasil Uji Non Parametrik Serbuk Simplisia Kelopak Bunga Rosella

Pemeriksaan	Serbuk simplisia kelopak bunga rosella	Standar
Susut pengeringan	12,96%	< 10%
Kadar abu	7,01%	< 16,6%
Kadar sari larut air	46,11%	≥15,5%
Kadar sari larut asam	24,78%	≥16,3%

### **Rendemen Ekstrak Kelopak Bunga Rosella**

Pada penelitian ini digunakan gelombang mikro untuk mengekstrak antosianin dari kelopak bunga rosella dengan kombinasi pelarut etanol-air untuk memperoleh rendemen dan menghitung kadar antosianinnya.

Persiapan ekstraksi yang dilakukan meliputi serbuk simplisia kelopak bunga rosella diekstraksi menggunakan metode MAE dengan kombinasi pelarut air-etanol : HCl 1% dengan perbandingan 9:1 sebanyak 125 mL. Fungsi penambahan HCl 1% adalah untuk menyetabilkan senyawa antosianin yang ada dalam serbuk

simplisia rosela (Pratama, 2019). Selain itu HCl berfungsi mendenaturasi membran sel tanaman kemudian melarutkan pigmen antosianin sehingga dapat keluar dari sel serta mencegah oksidasi flavonoid (Mardiah, 2010).

Ekstraksi dilakukan selama 5 menit sesuai percobaan pemanasan etanol 96% di bawah *microwave* sebelumnya. Fase awal dari proses ekstraksi adalah fase pembilasan dimana pada fase ini sel-sel yang rusak atau tidak utuh lagi akibat operasi penghalusan langsung bersentuhan dengan bahan pelarut. Dengan demikian komponen sel yang terdapat di dalamnya lebih mudah diambil atau dibilas. Oleh karena itu dalam fase pertama ekstraksi ini, sebagian bahan aktif telah berpindah ke dalam bahan pelarut. Semakin halus serbuk simplisia, akan semakin optimal proses pembilasannya (Voigt, 1995). Untuk itulah serbuk simplisia kelopak bunga rosella yang diperoleh dari *Materia Medica Batu* dihaluskan kembali dan diayak untuk mendapatkan ukuran partikel yang sesuai menggunakan ayakan dengan ukuran 40 mesh. Luas permukaan yang semakin luas akan memberikan

kontak yang lebih baik antara matriks tanaman dengan pelarut sehingga dapat meningkatkan hasil ekstraksi pula (Mandal et al., 2007).

*MAE* adalah metode ekstraksi menggunakan bantuan gelombang mikro. Gelombang mikro berasal dari pembangkitan ultrason secara lokal dari kavitas yang mengelilingi senyawa yang akan diekstraksi. Mekanisme proses ekstraksi pada metode MAE yaitu panas radiasi gelombang mikro memanaskan dan menguapkan air sel bahan kemudian tekanan pada dinding sel meningkat. Akibatnya, sel membengkak (*swelling*) dan tekanannya mendorong dinding sel dari dalam, meregangkan, dan memecahkan sel tersebut. Hal tersebut didukung oleh Mandal dkk (2007) yang menyatakan bahwa gelombang mikro yang diradiasikan akan menghasilkan energi panas yang akan memecah dinding sel dengan menghidrolisis ikatan eter pada konstituen dinding sel tanaman, yaitu selulosa. Dalam waktu yang singkat, selulosa berubah menjadi fraksi terlarut. Energi panas pada dinding sel bahan juga meningkatkan dehidrasi selulosa dan menurunkan kekuatan mekanisnya sehingga

mengganggu permeabilitas dinding selnya. Rusaknya matriks bahan mempermudah senyawa target keluar dan berdifusi dalam pelarut. Selain itu, suhu yang meningkat akan meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam matriks bahan dan senyawa

aktif akan terekstrak oleh pelarut panas di luar sel, sehingga larutan terpekat berdifusi keluar sel. Proses demikian terjadi berulang-ulang hingga terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel (Maksum, 2019)

Tabel 2 Rendemen Ekstrak Kelopak Bunga Rosella

Pelarut	Rata-rata Rendemen Ekstrak $\pm$ Standar Deviasi (%)
Etanol 0%	37,60 $\pm$ 0,60 <i>bcd</i>
Etanol 30%	38,84 $\pm$ 0,43 <i>acde</i>
Etanol 50%	40,35 $\pm$ 0,26 <i>abde</i>
Etanol 70%	33,22 $\pm$ 0,34 <i>abce</i>
Etanol 96%	23,76 $\pm$ 0,32 <i>abcd</i>

Keterangan :

- a = beda signifikan dengan pelarut etanol 0%
- b = beda signifikan dengan pelarut etanol 30%
- c = beda signifikan dengan pelarut etanol 50%
- d = beda signifikan dengan pelarut etanol 70%
- e = beda signifikan dengan pelarut etanol 96%

Tabel 2 menunjukkan hasil rendemen ekstrak kelopak bunga rosella, dan ekstraksi dengan pelarut air-etanol 50% menghasilkan rendemen tertinggi yaitu 40,35 $\pm$ 0,26% dan menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan rendemen dari ekstraksi dengan masing-masing variasi kombinasi pelarut air-etanol. Hasil ini masih lebih rendah dibandingkan penelitian Djaeni et al (2017) yaitu 44,856% menggunakan metode UAE selama 60 menit dengan rasio bahan:pelarut 1:13, namun masih lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil penelitian Maksum dan

Purbowati (2017) yaitu 22,09 $\pm$ 3,3% menggunakan metode MAE dengan pelarut air dan lama ekstraksi 5 menit.

Hasil percobaan menunjukkan perbedaan pelarut memberikan pengaruh terhadap hasil ekstraksi. Pemilihan pelarut yang tepat merupakan faktor yang penting dalam metode MAE. Hanya pelarut yang memiliki konstanta dielektrik dan faktor disipasi yang baik yang dapat digunakan. Mandal et al (2007) menyatakan bahwa konstanta dielektrik etanol dan air berturut-turut adalah 24,30 dan 78,30, yang berarti bahwa air memiliki kemampuan yang



lebih baik dalam menyerap energi gelombang mikro. Namun etanol memiliki faktor disipasi yang lebih baik yaitu 2500 dibandingkan dengan air (1570) yang berarti etanol memiliki efisiensi mengubah energi gelombang mikro yang lebih baik daripada air. Pada MAE sendiri suhu dapat diatur dengan kombinasi pelarut yang memiliki kemampuan memanaskan yang berbeda. Diketahui bahwa air dan etanol memiliki titik didih yang berbeda. Kombinasi sifat kedua pelarut inilah yang dapat mempengaruhi hasil perolehan rendemen ekstrak kelopak bunga rosela.

Rendemen ekstrak yang tinggi dihasilkan karena peningkatan pergerakan molekul yang dipengaruhi oleh induksi ionik dan rotasi dipol tanpa merubah struktur molekul sampelnya. Konduksi ionik mengacu pada migrasi elektroforetik ion dalam pengaruh perubahan medan listrik. Dalam pengaruh suatu medan listrik, ion yang terdapat pada bahan yang dipanaskan akan bergerak dan bergesekan hingga menimbulkan panas (Mandal et al., 2007). Selain itu terjadinya pembengkakan material tanaman akibat adanya pemanasan

dielektrik disebabkan oleh aktivitas-aktivitas molekul air dan etanol (Maksum and Purbowati, 2017). Dengan demikian tidak ada panas yang hilang ke lingkungan karena panas dibangkitkan dari bahan itu sendiri melalui interaksi molekul dengan medan elektromagnetik. Pemanasan dengan MAE memiliki kelebihan pemanasan yang lebih merata karena energi *microwave* ditransfer langsung pada material. Pada proses konvensional energi termal ditransfer ke material melalui konveksi, konduksi, dan atau radiasi panas dari permukaan material, sehingga akan banyak energi panas yang hilang ke lingkungan. Hal inilah yang membuat pemanasan dengan gelombang mikro jauh lebih cepat jika dibandingkan dengan reaksi pemanasan konvensional, seperti pada metode ekstraksi sokhletasi (Widoretno et al., 2017). Pemanasan konvensional membutuhkan waktu yang lebih lama untuk menghasilkan rendemen yang optimal sehingga dapat mengakibatkan terjadinya dekomposisi baik substrat, pereaksi maupun produk yang dihasilkan (Amir et al., 2016).

### **Penentuan Kadar Antosianin (dephinidin-3-sambubioside)**

Delphinidin-3-sambubioside dan cyanidin-3-sambubioside adalah kandungan senyawa antosianin yang dominan yaitu 71,4% dan 26,6% (Hikmawati, 2017). Dephinidin-3-sambubioside digunakan sebagai patokan pada penentuan kadar antosianin karena merupakan senyawa yang dominan.

Penentuan senyawa antosianin dilakukan dengan mengukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal dan panjang gelombang 700 nm. Pengukuran pada daerah panjang gelombang dilakukan karena aglikon pada antosianin (kation flavilium) mengandung ikatan rangkap terkonjugasi sehingga dapat diserap pada daerah panjang gelombang 500 nm (Hayati et al., 2012). Pada penentuan panjang gelombang maksimal didapatkan puncak absorbansi pada panjang gelombang 522 nm, sehingga panjang gelombang 522 nm yang digunakan untuk penentuan kadar antosianin.

Penentuan kadar antosianin dilakukan dengan mengambil

sebanyak 4 mL larutan dari masing – masing pengenceran ekstrak kelopak bunga rosela, ditambah dengan 6 mL larutan pH 1 dan 4,5 kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 522 nm dan 700 nm. Keasaman pH dapat mempengaruhi warna dari antosianin, sehingga akan ada perbedaan intensitas warna antara konsentrasi ekstrak dengan pH 1 dan pH 4,5. Keadaan yang semakin asam (mendekati pH 1) akan menyebabkan semakin banyaknya pigmen antosianin berada dalam bentuk kation flavilium atau oxonium yang berwarna dan pengukuran absorbansi akan menunjukkan jumlah antosianin yang semakin besar. Pada pH 4,5 kation flavilium berubah ke bentuk yang lebih stabil hemihektal yang tak berwarna dalam bentuk kalkon (Suzery et al., 2010). Adanya perbedaan intensitas warna tersebut digunakan untuk penentuan kadar antosianin. Gradien pH dapat menyebabkan perubahan warna yang akan berpengaruh pada absorbansi konsentrasi ekstrak.

Tabel 3 Perbandingan Hasil Penetapan Kadar Antosianin (delphinidin-3-sambubioside) dalam Ekstrak Kelopak Bunga Rosella

Pelarut	Rata-rata Kadar Antosianin $\pm$ Standar Deviasi	
	% b/b	Per 100 gram ekstrak
Etanol 0%	0,03428 $\pm$ 0,00014	34,28 $\pm$ 0,14 mg <sup>bcd</sup>
Etanol 30%	0,06802 $\pm$ 0,00075	68,02 $\pm$ 0,75 mg <sup>acde</sup>
Etanol 50%	0,10680 $\pm$ 0,00155	106,80 $\pm$ 1,55 mg <sup>abde</sup>
Etanol 70%	0,09396 $\pm$ 0,00064	93,96 $\pm$ 0,64 mg <sup>abce</sup>
Etanol 96%	0,08168 $\pm$ 0,00078	81,68 $\pm$ 0,78 mg <sup>abcd</sup>

Keterangan :

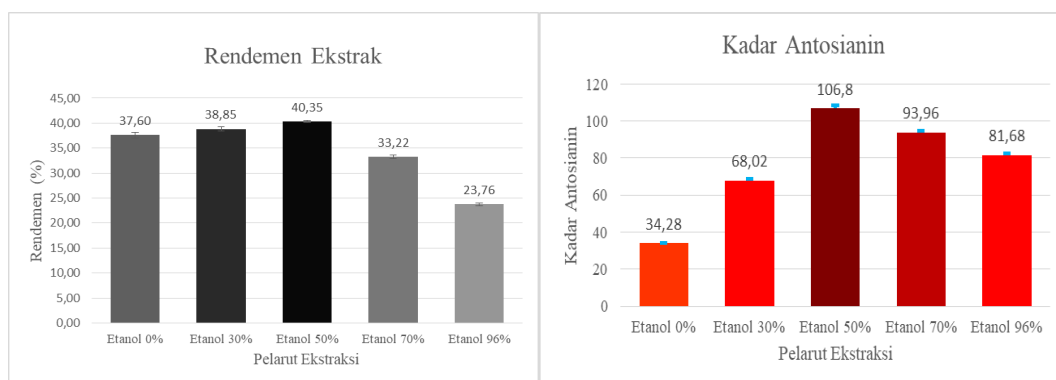
a = beda signifikan dengan pelarut etanol 0%

b = beda signifikan dengan pelarut etanol 30%

c = beda signifikan dengan pelarut etanol 50%

d = beda signifikan dengan pelarut etanol 70%

e = beda signifikan dengan pelarut etanol 96%



Gambar 1. Rendemen dan Kadar Antosianin pada Ekstrak Kelopak Bunga Rosella

Hasil penentuan kadar antosianin dapat diketahui perbedaan yang signifikan antar variasi kombinasi pelarut air-etanol. Hasil tertinggi diperoleh dari ekstraksi dengan pelarut air-etanol 50% yaitu 0,10680 $\pm$ 0,00155% (b/b) artinya dalam 100 gram sampel ekstrak rosella mengandung 106,80 $\pm$ 1,55 mg antosianin delphinidin-3-sambubioside. Kadar antosianin yang diperoleh masih lebih tinggi bila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Maksum dan

Purbowati (2017), yaitu 74,8 mg/100 gram menggunakan metode MAE dan pelarut air dengan waktu ekstraksi 5 menit.

Seperti halnya senyawa fenol, antosianin dapat larut dalam pelarut polar seperti air, etanol dan aseton. Hal ini dikarenakan antosianin dalam sel tumbuhan terletak dalam vakuola (*aqueous solution*), sehingga kemungkinan besar bersifat polar (Moulana et al., 2012). Namun jika dilihat derajat polaritasnya, antara antosianin sebagai salut dengan etanol

dan air sebagai solvent tidak seimbang (Maksum and Purbowati, 2017). Besarnya polaritas suatu zat mempunyai hubungan tegak lurus dengan besarnya konstanta dielektriknya. Mandal et al (2007) menyatakan bahwa konstanta dielektrik air dan etanol berturut-turut adalah 78,3 dan 24,3. Sekitar 80-90% kandungan fenol pada Rosella adalah antosianin dengan konstanta dielektrik sekitar 30-40 (Maksum and Purbowati, 2017). Untuk itulah perlu dilakukan penambahan air untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi.

Sejumlah air dapat mempengaruhi polaritas relatif pelarut sehingga dapat meningkatkan kapasitas polaritas. Dan interaksi antara bahan tanaman sebagai salut dan air-etanol sebagai solvent meningkat seiring dengan meluasnya permukaan akibat terjadinya pembengkakan pada sel tanaman. Namun demikian pembengkakan sel tanaman berlebih akan terjadi dengan adanya air berlebih sehingga mengakibatkan *termalstress* karena timbulnya panas yang cepat dalam larutan. Akibatnya kadar antosianin cenderung turun pada konsentrasi etanol yang lebih kecil karena banyak

senyawa yang terdekomposisi dengan terjadinya pembengkakan dan *termalstress*. Hal ini yang membuat kesesuaian polaritas pelarut dan zat terlarut sangat menentukan efisiensi proses ekstraksi berbantu gelombang mikro yang dilakukan.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Tensiska dan Een Sukarminah (2007) proses ekstraksi pigmen alami dari buah arben menggunakan etanol dan etil asetat menghasilkan total antosianin yang sangat kecil yakni 7,3 dan 2,4 mg/100 gram. Hal ini dapat disebabkan karena pelarut etanol dan etil asetat tidak memiliki tingkat kepolaran yang sama dengan pigmen antosianin buah arben (Tensiska and Sukarminah, 2010). Selain itu Mardiah (2010) yang mengekstraksi kulit batang rosella memberikan hasil yang lebih baik pada ekstraksi dengan pelarut air-etanol dibandingkan dengan air saja. Setiono dan Kumoro (2013) melaporkan bahwa kadar antosianin yang dihasilkan dari ekstraksi bunga rosella menggunakan pelarut etanol lebih tinggi daripada pelarut air yaitu sebesar 2,6718 mg/L sedangkan dengan pelarut air sebesar 1,3359 mg/L pada pH 4,5. Choiriyah (2017)

melaporkan bahwa ekstrak rosella dengan kadar fenolik, antosianin, dan aktivitas antioksidan yang tinggi diperoleh dengan menggunakan pelarut air : etanol 70% : asam sitrat.

Kelarutan antosianin bunga rosella lebih besar di dalam etanol juga dapat dipengaruhi oleh terikatnya gula dengan pigmen antosianin akibat adanya glikolisasi pada struktur antosianin (Rein, 2005). Reaksi glikolisasi memberikan kelarutan dan kestabilan terhadap pigmen antosianin. Antosianin dalam bentuk glikosida lebih larut dalam air dan non-glikosida (antosianidin) lebih larut dalam etanol. Sehingga dengan penggunaan campuran pelarut air dan etanol dapat meningkatkan jumlah senyawa yang terekstrak (Mardiah, 2010).

#### **Analisa Data ANOVA**

Uji Anova dilakukan terhadap hasil rendemen ekstrak dan kadar antosianin menggunakan SPSS 16.0. Pengambilan keputusan berdasarkan taraf kepercayaan 95% atau nilai signifikansi  $<0,05$  yang berarti memiliki perbedaan yang signifikan. Pemilihan perbandingan nilai signifikan berdasar pada rumusan masalah dan tujuan yaitu perbedaan

perlakuan kelima pelarut kombinasi air-etanol pada ekstraksi antosianin kelopak bunga rosella menggunakan metode MAE dan hasil optimalnya. Berdasarkan output *Multiple Comparisons* (Hasil Uji Tukey HSD) diketahui nilai  $\text{sig}<0,05$  untuk rendemen ekstrak dan kadar antosianin, maka dapat disimpulkan bahwa rendemen ekstrak dan kadar antosianin dari kombinasi pelarut air-etanol 0%, 30%, 50%, 70% dan 96% adalah berbeda. Sehingga perbedaan rata-rata rendemen ekstrak dan kadar antosianin secara deskriptif antara perlakuan kelima pelarut tersebut adalah signifikan.

#### **KESIMPULAN**

Kesimpulan ekstraksi antosianin kelopak bunga rosella dengan metode MAE menggunakan kombinasi pelarut air-etanol optimal pada kombinasi pelarut air-etanol 50% dengan rendemen  $40,35 \pm 0,26\%$  dan kadar antosianin  $106,80 \pm 1,55$  mg/100 gram. Adanya perbedaan yang signifikan pada kombinasi pelarut air-etanol dalam rendemen ekstrak dan kadar antosianinnya.

#### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Materia Medica

Batu (MMB), Institut Atsiri Universitas Brawijaya Malang dan UPT Laboratorium Putra Indonesia Malang yang telah membantu penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Amir, A., Wiraningtyas, A., Ruslan, R., Annafi, N., 2016. *Perbandingan Metode Ekstraksi Natrium Alginat: Metode Konvensional dan Microwave Assisted Extraction (MAE)*. Chempublish Journal. 1, 7–13.
- Choiriyah, N.A., 2017. *Ekstraksi Senyawa Antosianin dan Fenolik Rosella Ungu Dengan Variasi Pelarut*. Darussalam Nutrition Journal. 1, 16–21.
- Departemen Kesehatan RI, 1997. *Kodeks Kosmetika Indonesia, XLII-XLIX*. Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta.
- Depkes RI, 1995. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Djaeni, M., Ariani, N., Hidayat, R., Utari, F., 2017. *Ekstraksi Antosianin dari Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L.) Berbantu Ultrasonik: Tinjauan Aktivitas Antioksidan*. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 6.
- El Husna, N., Novita, M., Rohaya, S., 2013. *Kandungan Antosianin dan Aktivitas Antioksidan Ubi Jalar Ungu Segar dan Produk Olahannya*. Agritech 33, 296–302.
- Hayati, E.K., Budi, U.S., Hermawan, R., 2012. *Konsentrasi Total Senyawa Antosianin Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L.): Pengaruh Temperatur dan pH*. Jurnal Kimia 138–147.
- Hikmawati, 2017. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosela (Hibiscus sabdariffa L.) Terhadap Pseudomonas aeruginosa Secara In Vivo Menggunakan Model Infeksi Drosophila melanogaster*.
- Komala, O., Rosyanti, R., Muhtabadihardja, M., 2013. *Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L.) Terhadap Bakteri Streptococcus pneumoniae*. Ber. Biologi 12, 73–78.
- Kristiana, H.D., Ariviani, S., Khasanah, L.U., 2012. *Ekstraksi Pigmen Antosianin Buah Senggani (Melastoma Malabathricum Auct. Non Linn) Dengan Variasi Jenis Pelarut*. Jurnal Teknosains Pangan 1, 105–109.
- Kusumaningrum, M., Harianingsih, H., 2018. *Ekstraksi Antioksidan pada Lidah Buaya (Aloe vera) Berbantu Gelombang Mikro*. Jurnal Inovasi Teknik Kimia. 3.
- Maksum, A., 2019. *Pengaruh Variasi Daya Dan Waktu Ekstraksi Berbantu Gelombang Mikro Terhadap Total Fenol Dan pH Bunga Rosela (Hibiscus Sabdariffa L.)*. Jurnal Gizi Dan Pangan Soedirman 2, 16–26.
- Maksum, A., Purbowati, I.S.M., 2017. *Optimasi Ekstraksi Senyawa Fenolik Dari Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus*

- sabdariffa*) Berbantu Gelombang Mikro. Agrin 21.
- Mandal, V., Mohan, Y., Hemalatha, S., 2007. *Microwave Assisted Extraction—an Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research*. Pharmacogn. Rev. 1, 7–18.
- Mardiah, M., 2010. *Ekstraksi Kulit Batang Rosella (Hibiscus sabdariffa L.) Sebagai Pewarna Merah Alami*. Jurnal Pertanian. 1, 1–8.
- Moulana, R., Juanda, J., Rohaya, S., Rosika, R., 2012. *Efektivitas Penggunaan Jenis Pelarut dan Asam dalam Proses Ekstraksi Pigmen Antosianin Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L.)*. Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia. 4.
- Octaviani, D.Y., Nugroho, T.T., Dahliaty, A., 2015. *Penentuan Total Konsentrasi Antosianin dari Ubi Jalar Ungu (Ipomoea Batatas L.) dengan Metode pH Diferensial Spektrofotometri*. Repositoria FMIPA I(1), 1–8.
- Pratama, R.Y., 2019. *Peningkatan Nilai IC<sub>50</sub> Kompleks Fe Antosianin Pada Gansella Herbal Tea* (Karya Tulis Ilmiah). Akademi Analis Farmasi dan Makanan Putra Indonesia Malang.
- Priska, M., Peni, N., Carvallo, L., Ngapa, Y.D., 2018. *Antosianin dan Pemanfaatannya*. CAKRA Kimia Indonesia E-J Application Chemical 6, 79–97.
- Rahmawati, T.R., 2011. *Aktivitas Antioksidan Minuman Serbuk Buah Buni (Antidesma bunius (L.) Spreng) pada Tingkat Kematangan yang Berbeda*. Fakultas Ekologi Manusia. Institut Pertanian Bogor.
- Rein, M., 2005. *Copigmentation Reactions and Color Stability of Berry Anthocyanins*.
- Setiono, M., Kumoro, A.C., 2013. *Penentuan Jenis Solven dan pH Optimum Pada Analisis Senyawa Delphinidin Dalam Kelopak Bunga Rosela Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS*. Jurnal Teknologi Kimia Dan Industri. 91–96.
- Suzery, M., Lestari, S., Cahyono, B., 2010. *Penentuan Total Antosianin dari Kelopak Bunga Rosela (Hibiscus sabdariffa L) dengan Metode Maserasi dan Sokshletasi*. Jurnal Sains Dan Matematika. 18, 1–6.
- Tensiska, Sukarminah, E., 2010. *Ekstraksi Pewarna Alami Dari Buah Arben (Rubus idaeus L) dan Aplikasinya Pada Sistem Pangan*. Staf Pengajar Jurusan Teknologi Industri Pangan Fakultas Teknologi Industri. UNPAD.
- Voigt, R., 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Edisi V*, Diterjemahkan oleh S. Noer. Universitas. Gadjah Mada Press Yogyakarta.