

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.)

2.1.1 Morfologi Tanaman Rosella



Gambar 2.1 Bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)
Sumber : Layanan Informasi Desa (2018)

Klasifikasi Rosella menurut BPOM RI (2010)

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan Biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledone
Bangsa	: Malvales
Suku	: Malvaceae
Marga	: Hibiscus
Jenis	: <i>Hibiscus sabdariffa</i> Linn

Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan jenis tanaman sepatu dari famili Malvaceae yang tumbuh baik di daerah beriklim tropis dan subtropis. Habitat asli tanaman ini terbentang dari India hingga Malaysia. Saat ini tanaman rosella tersebar di daerah tropis dan subtropis di seluruh dunia dengan nama yang berbeda-beda di masing-masing daerah (Maryani and Kristiana, 2008).

Nama Hibiscus berbeda di setiap Negara. Di Australia tanaman ini dikenal sebagai Rosella. Di India, Rosella dikenal dengan nama Meshta atau Chinbaung. Di Myanmar, Rosella dikenal dengan nama Krajeb. Di Thailand dikenal dengan nama Bissap. Di Malaysia, Rosella dikenal dengan nama Asam paya atau Asam susur. Di Indonesia dikenal dengan sebagai Rosella, Asam paya, Asam susur dan Frambozen. Di Kepulauan Karibia dan Jamaika Rosella dikenal sebagai Sorrel. Di Namibia dikenal sebagai Omutete. Di Mesir, Sudan, dan Arab Saudi, Rosella dikenal dengan nama Karkade, Di Prancis, Rosella dikenal sebagai Oseille sedangkan di Cina Rosella dikenal sebagai Luo shen hua (Mardiah, 2010).

Pada awalnya tumbuhan ini dikenal sebagai penghasil serat yang dimanfaatkan untuk membuat karung goni. Rosela merupakan tumbuhan semak yang tingginya dapat mencapai 3 m. Tanaman rosella berupa semak yang tegak dengan tinggi 50 cm hingga 2,4 meter, akarnya berupa akar tunggang, berbatang silindris dan berkayu, berbulu dengan banyak percabangan. Batangnya berwarna hijau saat masih muda, dan akan berubah menjadi coklat kemerahan ketika menjelang dewasa dan sudah berbunga. 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 (BPOM RI, 2010)

Daun pada tanaman rosella melekat pada batang, berseling 3-5 helai dengan panjang 7,5 – 12,5 cm berwarna hijau, ibu tulang daun kemerahan, tangkai daun pendek. Bentuk helaian daun bersifat anisofili (polimorfik), helaian daun yang terletak di bagian pangkal batang tidak berbagi, bentuk daun bulat telur, tangkai daun pendek. Daun – daun di bagian cabang dan ujung batang berbagi, menjadi 3 toreh, lebar toreh daun 2,5 cm, tepi daun beringgit, daun penumpu berbentuk benang, panjang tangkai daun 0,3-1,2 cm, berwarna hijau hingga merah, pangkal daun meruncing, tepi daun beringgit, ujung daun tumpul hingga meruncing, sedikit berambut.

Bunga tunggal, kuncup bunga tumbuh di bagian ketiak daun, tangkai bunga berukuran 5-20 mm; kelopak bunga berlekatan, tidak gugur, tetap mendukung buah, berbentuk lonceng; mahkota bunga berlepasan, berjumlah 5 petal, mahkota bunga berbentuk bulat telur terbalik, berwarna merah sampai kuning dengan warna kuning lebih gelap dibagian tengahnya, benang sari terletak pada satu kolom pendukung benang sari, panjang kolong pendukung benang sari 1 mm, kepala sari berwarna merah, panjang tangkai sari 1 mm, tangkai putik berada dalam kolom pendukung benang sari, jumlah kepala putik ada 5 buah dengan warna merah (BPOM RI, 2010).

Buah kapsul berbentuk bulat telur, ukuran buah 13-22 mm tiap buah berisi 30-40 biji. Ukuran biji 3-5 mm x 2-4 mm, warna coklat kemerahan.

Rosella dapat hidup di berbagai kondisi lingkungan, akan tetapi berbeda daerah akan berbeda pula warna bunga yang dihasilkan. Rosella yang dihasilkan

oleh lahan di sekitar pegunungan berwarna merah kehitaman, yang dipelihara di rumah akan berwarna merah tetapi kurang cerah, dan yang ditanam di lahan pertanian dan dataran rendah akan berwarna merah cerah (Alfian and Susanti, 2012).

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 meter 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.

Tanaman rosella memiliki umur panen yang singkat sehingga mudah dan murah untuk dibudidayakan. Sampai saat ini penggunaan rosella lebih banyak sebagai minuman kesehatan. Bagian tanaman rosella yang dapat diolah adalah kelopak bunganya. Tanaman rosella dikembangkan menjadi bahan baku minuman karena memiliki pigmen antosianin yang berbentuk flavonoid sebagai antioksidan. Pigmen antosianin ini yang membentuk warna ungu kemerahan pada kelopak bunga rosella.

2.1.2 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, niasin, 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).

Bunga rosella memiliki beberapa kandungan zat seperti gossypetin, glukosida, hibiscin, flavonoid, theflavin, katekin dan antosianin (Djaeni et al., 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-sambuside dan cyaniding-3-sambusioside dengan kadar 96 mg tiap 100 g bunga rosella (Lawren, 2014).

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Kelopak Bunga Rosella Segar

Komponen	Jumlah dalam 100 gram kelopak segar	
Kalori	44	kalori
Air	86,2	%
Protein	1,6	gram
Lemak	0,1	gram
Kabrohidrat	11,1	gram
Serat	2,5	gram
Abu	1,0	gram
Kalsium	0,16	gram
Fosfor	0,06	gram
Besi	0,0038	gram
Beta karoten	285	ig
Asam askorbat	0,014	gram
Tiamin	0,04	mg
Riboflavin	0,6	mg
Niasin	0,5	mg

Sumber : Maryani dan Kristiana (2008)

Konsentrasi total antosianin antara 364,98 dan 606,67 mg/100 g sampel kering dalam ekstrak yang diperoleh 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 (Hikmawati, 2017).

Sterol minyak biji rosella terdiri atas 61,3% β -sitosterol, 16,5% kampasterol, 5,1% kolesterol dan 3,2% ergosterol. Karkade (bunga kering tanpa ovari) mengandung 13% campuran asam sitrat dan asam malat, dua antosianin, gosipetin (hidroksiflavon) dan hibiskin, asam askorbat 0,004-0,005%. Mahkota bunga mengandung glikosida-flavon hibiskritin, yang mengandung aglikon hibisketin. Bunga rosella juga mengandung fitosterol. Bunga kering mengandung 15,3% asam hibiskat. Akar rosella mengandung saponin dan asam tartrat (BPOM RI, 2010).

2.1.3 Pemanfaatan Kelopak Bunga Rosella

Pemanfaatan rosella di Indonesia belum sebanyak di negara – negara lain. Namun, akhir – akhir ini minuman berbahan rosella mulai dikenal sebagai minuman kesehatan. Bahan minuman berbahan rosella ini yang dikemas seperti teh celup sudah banyak diperoleh di pasar swalayan.

Di Afrika Timur, kelopak bunga rosella ini dapat digunakan untuk mengurangi batuk dengan cara mengolahnya menjadi rebusan yang dinamakan sudan tea. Selain itu dapat digunakan untuk menyembuhkan penyakit yang berhubungan dengan empedu dengan cara menambahkan garam, lada dan tetes tebu pada jus rosella.

Herrera Arelano dalam Marwati menyatakan bahwa ekstrak kelopak bunga rosella yang telah distandarisasi sehingga mengandung 9,6 mg antosianin, memiliki potensi menurunkan tekanan darah yang tidak berbeda nyata dengan pemberian Captopril 5 mg/hari, jika diberikan setiap hari selama 4 minggu. Ekstrak terstandart ini diperoleh dari 10 gram kelopak kering dalam 520 mL air. Manfaat ini juga dibuktikan pada 31 penderita hipertensi sedang yang diterapi teh rosella selama 12 hari dan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Terdapat penurunan tekanan darah sistolik sebesar 11,2% dan tekanan darah diastolik sebesar 10,7%.

Hasil penelitian Kirdpon dkk (1994) dalam Marwati (2010) pada 36 pria yang mengonsumsi jus rosella sebanyak 16-24 gram/dl/hari terjadi penurunan kreatinin, asam urat, sitrat, tartrat, kalsium, natrium dan fosfat di dalam urinya. Kandungan gossipetin anthocyanin dan glucosidehibiscin dalam kelopak bunga rosella yang diduga memiliki aktivitas sebagai penurun viskositas dan penurunan tekanan darah serta perangsang peristaltik usus.

Uji klinik menunjukkan bahwa pemberian 500 mg ekstrak air bunga kering rosella per hari selama 4 minggu dapat menurunkan secara bermakna kadar kolesterol sebesar 8,3 – 14,4% pada 42 orang, usia 18 – 75 tahun dengan kadar kolesterol serum 175 – 327 mg/dL. Ekstrak rosella menghambat oksidasi LDL, menurunkan serum trigliserida, serum kolesterol. Rasio LDL-HDL juga berkurang dengan ekstrak rosella (BPOM RI, 2010)

Kelinci yang diinduksi senyawa 2,4-dinitrofenilhidrazin (2,4-DNPH) kemudian diberikan ekstrak kelopak bunga rosella kering dengan dosis 100 mg/kgBB dua kali sehari selama 14 hari secara bermakna mengurangi kadar produk peroksidasi lipid seperti asam tiobarbiturat dan hiperperoksida, meningkatkan

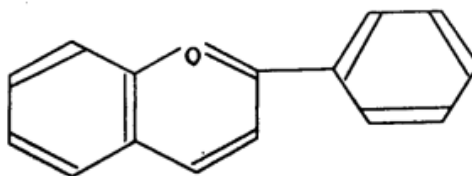
kadar antioksidan seperti katalase, superoksida dismutase, glutathion peroksidase dan glutathion tereduksi. Efek proteksi terhadap radikal bebas ini diperkirakan karena kandungan asam askorbat, betakaroten dan senyawa fenolik, terutama antosianin (BPOM RI, 2010)

2.2 Antosianin

2.2.1 Struktur dan Sifat Antosianin

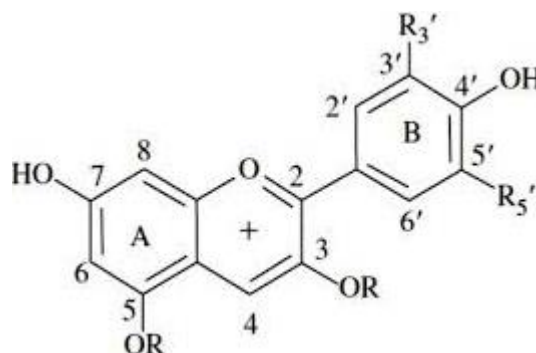
Antosianin merupakan salah satu zat yang dapat digunakan sebagai pewarna alami karena berwarna merah, jingga hingga biru yang banyak terdapat pada bunga, daun tumbuhan dan buah. Antosianin merupakan senyawa flavonoid yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Antosianin dalam bentuk aglikon lebih aktif daripada bentuk glikosidanya (Ali et al., 2013).

Antosianin berasal dari bahasa Yunani yang berarti bunga biru, merupakan zat warna alami golongan flavonoid dengan tiga atom karbon yang diikat oleh sebuah atom oksigen yang menghubungkan dua cincin aromatik benzene (C_6H_6) (Hambali and Noermansyah, 2015). Antosianin memiliki karakteristik kerangka karbon ($C_6C_3C_6$) dengan struktur dasar antosianin adalah 2-fenil-benzofirilium dari garam flavilium (Santoso and Estiasih, 2014).



Gambar 2.2 Struktur Flavilium Antosianin (Priska et al., 2018)

Antosianin merupakan turunan suatu struktur aromatik tunggal yaitu sianidin, dimana semua jenis antosianin memiliki perbedaan yang didasarkan pada ikatan gugus R3' dan R5' dengan cincin aromatik antosianin.



Gambar 2.3 Struktur dasar antosianin (Priska et al., 2018)

Tabel 2.2 Perbedaan Letak Gugus Tersubstitusi dari Enam Antosianidin

Antosianidin	Gugus yang tersubstitusi						Warna
	3	5	6	7	R3'	R5'	
Pelargonidin	OH	OH	H	OH	H	H	Oranye
Sianidin	OH	OH	H	OH	OH	H	Merah – oranye
Delfinidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	Merah – biru
Peonidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	H	Merah – oranye
Petunidin	OH	OH	H	OH	OH	OCH ₃	Merah – biru
Malvidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	Merah – biru

Sumber : (Priska et al., 2018)

Hingga kini terdapat lebih dari 700 jenis antosianin di alam yang diisolasi dari berbagai jenis tanaman dan telah diidentifikasi. Beberapa yang memegang peranan penting diantaranya adalah pelargonidin, sianidin, peonidin, delfinidin, petunidin, malvidin (Santoso dan Estiasih, 2014). Salah satu yang sering digunakan sebagai senyawa referensi adalah turunan sianidin dan peonidin, kandungannya pun paling banyak terdapat di alam (Bridgers et al., 2010).

Antosianin dapat menyerap cahaya pada daerah sinar tampak karena adanya ikatan rangkap terkonjugasi pada gugus kromofor yang terdapat pada struktur

antosianin, sehingga memungkinkan analisis pigmen tersebut menggunakan secara spektroskopi. Warna akan semakin kuat jika susunan ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur antosianin semakin banyak dan panjang. Hal ini karena energi yang dibutuhkan untuk mengalami transisi pada ikatan rangkap terkonjugasi makin kecil, sehingga absorpsi akan semakin bergeser ke panjang gelombang yang lebih besar (Setiono and Kumoro, 2013).

Antosianin terserap pada panjang gelombang 250 – 700 nm, dengan 2 puncak sebagai gugus gula (glikon) di panjang gelombang sekitar 278 nm, dan puncak utama sebagai antosianin (aglikon) di sekitar panjang gelombang 490-535 nm (Mahmudatussa'adah et al., 2014). Jika gugus gula dari masing – masing struktur antosianin dihilangkan dengan oleh adanya hidrolisis asam, maka molekul yang tersisa merupakan sebuah aglikon yang akan menyerap cahaya pada panjang gelombang yang bervariasi.

Tabel 2.3 Panjang Gelombang Maksimum Serapan Cahaya Tampak dari 6 Jenis Antosianin

Aglikon	Panjang Gelombang Maks	Warna
Pelargonidin	494 nm	Oranye
Sianidin	506 nm	Oranye – merah
Peonidin	506 nm	Oranye – merah
Delfinidin	508 nm	Merah
Petunidin	508 nm	Merah
Malvidin	510 nm	Kebiruan – merah

Sumber : (Priska et al., 2018)

Antosianin bersifat hidrofilik sehingga mudah larut dalam air (El Husna dkk., 2013). Antosianin lebih larut dalam pelarut polar daripada dalam pelarut nonpolar. Selain itu antosianin lebih stabil dalam larutan yang asam (pH 1-4). Kombinasi pelarut polar dengan asam organik seperti asam asetat, asam sitrat atau asam klorida yang tepat (pH 1-2) dapat lebih memantapkan kestabilan antosianin

dalam bentuk kation flavium merah. Kombinasi dengan asam lemah, warna merah antosianin akan memudar pada pH 3, merah keunguan pada pH 4, ungu pada pH 5-6 dan ungu biru pada pH 7 (Priska et al., 2018).

Agar kesetimbangan antosianin tetap terjaga dan tidak mudah tergeser maka baik untuk menjaga kestabilan antosianin agar tak mudah terdegradasi. Kondisi tidak stabil ini dapat menyebabkan hidrolisis ikatan glikosidik pada senyawa antosianin dan terbukanya cincin aglikon membentuk berbagai aglikon yang labil, dan gugus karbinol dan kalkon yang tak berwarna (Priska dkk., 2018).

Kestabilan antosianin juga dipengaruhi oleh suhu. Laju kerusakan antosianin (degradasi antosianin) cenderung meningkat selama proses penyimpanan yang diiringi dengan kenaikan suhu. Degradasi termal menyebabkan hilangnya warna pada antosianin yang akhirnya terjadi pencoklatan.

Rahmawati (2011), mengemukakan bahwa 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.

2.2.2 Fungsi dan Pemanfaatan Antosianin

Peranan antosianin pada tanaman antara lain, memberikan daya tarik tanaman pada serangga untuk membantu proses penyerbukan dan penyebaran biji. Selain itu dapat melindungi tanaman terhadap pengaruh biotik dan abiotik dengan cara kontribusi pada pengaturan pergerakan osmotik zat terlarut, meningkatkan pertahanan diri terhadap infeksi dan kerusakan karena jamur, menjaga kondisi suhu tanaman, dan sebagai fotoprotektor pada kloroplas terhadap paparan sinar UV-B

serta berkurangnya biomassa dan mengganggu pertumbuhan tanaman (Priska dkk., 2018).

Antosianin juga memiliki peranan pada lingkungan yaitu mampu menyerap dan mencegah sinar matahari untuk masuk ke dalam air, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri tertentu yang mendegradasi kotoran di dalam air dan memperlambat fotosintesis tanaman perairan (Priska dkk., 2018).

Dalam bidang kesehatan, senyawa antosianin juga berfungsi sebagai antioksidan yang disebabkan karena ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur antosianin. Antosianin disini berperan menjaga kerusakan sel akibat penyerapan sinar ultraviolet berlebih. Ia melindungi sel-sel tubuh dari peribahan akibat radikal bebas. Antioksidan adalah molekul yang berkemampuan memperlambat ataupun mencegah oksidasi molekul lain. Kandungan antioksidan yang rendah dapat menyebabkan stres oksidatif dan merusak sel-sel tubuh. oleh karena itu efek pengobatan rosella ini terhadap berbagai penyakit merupakan efek dari antioksidannya (Ali et al., 2013). Fungsi antioksidan ini dapat mencegah berbagai penyakit degeneratif seperti pencegahan penyakit kardiovaskuler karena aterosklerosis. Konsumsi antosianin rata – rata sebanyak 19,8 – 64,9 mg pada wanita dan 18,4 – 44,1 mg pada pria setiap hari selama kurang lebih 12 hari dapat menurunkan kadar kolesterol hingga 13,6% (BPOM RI, 2010).

Fungsi lain dari antosianin adalah sebagai anti diabetes, anti hipoglikemik, anti hipertensi, anti kanker, anti inflamasi, pencegahan penurunan daya ingat, serta anti obesitas. Oleh sebab itu antosianin lebih sering dimanfaatkan dalam bidang kesehatan utamanya dalam industri farmasi. Dalam bidang pangan antosianin dapat

berfungsi sebagai bahan tambahan makanan sebagai pemberi warna dalam makanan dan minuman (Priska et al., 2018).

2.2.3 Uji Antosianin

Pengujian antosianin dimaksudkan untuk memastikan bahwa di dalam bunga rosela memang benar mengandung senyawa antosianin dengan menggunakan uji fotokimia atau uji warna dengan penambahan reagen dan terjadi perubahan warna yang positif. 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 differensial spektrofotometri. Pada pH 1,0 antosianin berbentuk senyawa oxonium. Keadaan yang semakin asam apalagi 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 yakni pada asam yang lemah kation flavilium berubah ke bentuk yang lebih stabil hemihektal yang tak berwarna dalam bentuk kalkon. Perbedaan absorbansi antara dua sampel larutan buffer sepadan dengan pigmen monomeri (Suzery et al., 2010)

Menurut penelitian (Octaviani et al., 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):

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

Absorbansi dari sampel yang telah dilarutkan (A) ditentukan dengan rumus

$$A = (A_{530} - A_{700})_{pH1,0} - (A_{530} - A_{700})_{pH4,5}$$

Dimana :

A = absorbansi

ϵ = Absorptivitas molar delphinidin-3-sambusiode (29000 L/(mol.cm))

L = lebar cuvet = 1 cm

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

DF = Faktor pengenceran

V = volume ekstrak pigmen (L)

Wt = bobot bahan awal (g)

2.3 Ekstraksi Berbantu Gelombang Mikro (*Microwave Assisted Extraction/MAE*)

Ekstraksi adalah pemisahan atau pengambilan satu komponen yang terdapat di dalam suatu bahan padat atau cairan dengan menggunakan bantuan pelarut berdasarkan perbedaan kelarutan antara pelarut dan zat terlarut, efektivitas suatu proses ekstraksi jugkerana ditentukan oleh kemurnian pelarut, suhu ekstraksi, metode ekstraksi dan ukuran partikel-partikel bahan yang diekstraksi. Makin murni suatu pelarut dan makin lama waktu kontak antara pelarut dengan bahan yang

diekstraksi pada suhu tertentu, maka ekstrak yang dihasilkan makin banyak (Widoretno dkk., 2017).

Beberapa tahun terakhir, penggunaan *microwave* untuk proses ekstraksi bahan aktif dari tanaman menunjukkan minat dan potensi penelitian yang luar biasa. Teknik konvensional untuk proses ekstraksi bahan aktif menghabiskan bahan waktu dan bahan pelarut, tidak aman secara termal dan analisa dari bahan aktif terbatas karena proses ekstraksinya. Menurut beberapa hasil penelitian, metode ekstraksi berbantu gelombang mikro dapat mencegah kerusakan senyawa target akibat aktivitas enzimatis. Pemanasan dengan MAE memiliki kelebihan yaitu lebih merata karena membangkitkan panas dari dalam bahan tersebut (Mandal dkk, 2017). Selain itu waktu pemanasan dengan gelombang mikro jauh lebih cepat jika dibandingkan dengan waktu reaksi pemanasan konvensional (Widoretno et al., 2017). Pemanasan akibat gelombang mikro dalam proses ekstraksi antosianin telah dilaporkan memberikan keuntungan diantaranya mudah, layak dan efisien (Santoso and Estiasih, 2014).

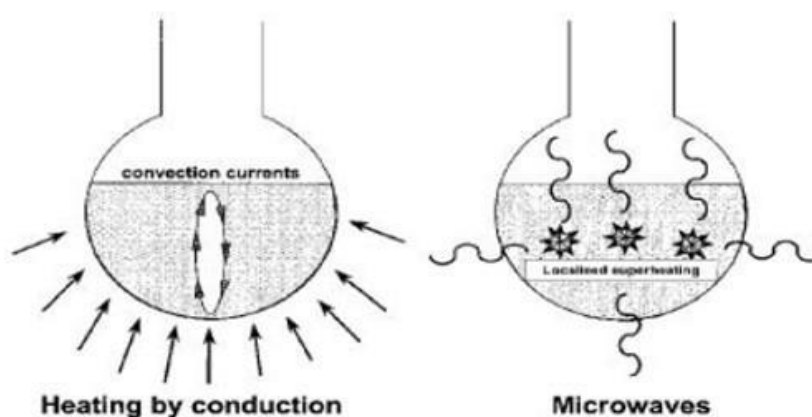
2.3.1 Teori *Microwave*

Gelombang mikro merupakan medan elektromagnetik yang tak terionisasi dengan rentang frekuensi 300 MHz hingga 300 GHz dan diposisikan antara sinar X dan sinar inframerah dalam spektrum elektromagnetik (Kusumaningrum and Harianingsih, 2018). Aplikasi terakhir adalah aksi secara langsung dari gelombang terhadap material yang memiliki kemampuan untuk mengubah sebagian energi elektromagnetik yang diserap menjadi energi panas (Mandal et al., 2007).

Gelombang mikro terdiri dari dua medan listrik osilasi tegak lurus yaitu medan listrik dan medan magnet dan yang pertama bertanggung jawab untuk

pemanasan. Tidak seperti pemanasan konvensional dimana pemanasan diberikan dari luar permukaan bahan dengan banyak energi panas yang hilang ke lingkungan. Sedangkan dalam MAE, pemanasan terjadi secara terarah dan selektif, sehingga praktis tidak ada panas yang hilang, karena pemanasan terjadi dari dalam sampel itu sendiri. Mekanisme pemanasan seperti ini dapat secara signifikan mengurangi waktu ekstraksi hingga kurang dari 30 menit (Mandal et al., 2007).

Pemanasan menggunakan gelombang mikro merupakan dampak interaksi antara kandungan bahan dengan gelombang elektromagnetik. Prinsip pemanasan menggunakan gelombang mikro berdasarkan tumbukan langsung dengan material atau pelarut yang diatur oleh dua fenomena, yaitu konduksi ionik dan rotasi dipole. Rotasi dipol berarti penataan kembali dipol molekul dengan medan listrik yang berubah dengan cepat (Maksum, 2019).



Gambar 2.4 Skema prinsip pemanasan oleh konduksi dalam metode konvensional dengan irradiasi gelombang mikro pada MAE

2.3.2 Prinsip Ekstraksi

Ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro merupakan proses ekstraksi yang memanfaatkan energi yang ditimbulkan oleh gelombang mikro dengan frekuensi 2450 MHz dalam bentuk radiasi non-ionisasi elektromagnetik. Energi ini dapat menyebabkan pergerakan molekul dengan migrasi ion dan rotasi dari dua kutub, tetapi tidak mengubah struktur molekulnya. Mekanisme proses ekstraksi pada metode MAE yaitu 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. Meningkatnya dehidrasi selulosa disebabkan karena energi panas pada dinding sel bahan serta menurunkan kekuatan mekanis selulosa sehingga mengganggu permeabilitas dinding selnya. Rusaknya matrik bahan mempermudah senyawa target keluar dan larut dalam pelarut (Santoso and Estiasih, 2014). Selain itu, suhu yang meningkat akan meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam matriks bahan dan senyawa aktif akan terekstrak oleh pelarut panas.

Sampel daun tembakau pernah diperiksa menggunakan mikroskop elektron untuk mengetahui kerusakan sel selama proses ekstraksi menggunakan MAE. Pemeriksaan dilakukan terhadap sampel yang tidak mendapat perlakuan, sampel yang diekstraksi dengan metode refluks panas dan sampel dari ekstraksi dengan MAE. Hasil menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan struktural antara sampel tanpa perlakuan dengan sampel ekstraksi refluks panas, kecuali sedikit terdapat pecah pada permukaan sampel. Namun permukaan pada sampel MAE terlihat sangat hancur. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan gelombang mikro pada

sampel dapat mempengaruhi struktur sel karena kenaikan suhu yang mendadak dan peningkatan tekanan internal. Selama proses pecahnya sel, eksudasi bahan aktif ke dalam pelarut terjadi dengan cepat. Mekanisme dari MAE yaitu mendorong analit ke dalam pelarut melalui pecahnya sel berbeda dengan prinsip ekstraksi refluks yang bergantung pada proses permeasi dan kelarutan untuk membawa analit keluar dari matriks (Zhou and Liu, 2006).

Efek dari energi *microwave* sangat tergantung pada kerentanan dielektrik dari pelarut dan matriks tanaman. Sebagian besar, sampel direndam dalam pelarut tunggal atau campuran pelarut yang menyerap energi gelombang mikro dengan kuat. Naiknya suhu meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam matriks tanaman, sehingga zat aktif dilepaskan ke dalam pelarut panas di sekitarnya (Mandal et al., 2007).

Penggunaan oven *microwave* di laboratorium pertama kali dilakukan oleh Abu Samra dkk pada tahun 1975, dalam penelitiannya mengenai analisis jejak logam bahan alam. Hasil penelitian ini baru dapat dipublikasikan pada tahun 1986. Kemudian Ganzier mengembangkan protokol ekstraksi lipid, antinutritives dan pestisida dari tanah, biji-bijian dan makanan dalam beberapa mililiter pelarut, diiradiasi selama 30 detik hingga 7 kali dalam oven *microwave* rumah tangga (1140 W). Sejak saat itu metode penggunaan gelombang mikro telah dikembangkan untuk ekstraksi berbagai jenis sampel seperti tanaman, bahan alam dan logam (Mandal et al., 2007).

2.3.3 Faktor Efektifitas MAE

2.3.3.1 Sifat dan Volume Pelarut

Memilih pelarut yang tepat merupakan dasar untuk memperoleh proses ekstraksi yang optimal. Selain memperhatikan kelarutan analit target dan interaksi antara pelarut dan matriks sampel, dalam MAE juga perlu memperhatikan sifat pelarut dalam menyerap gelombang mikro (Azmi and Yunianta, 2014). Pelarut yang digunakan dapat sama dengan pelarut yang digunakan pada metode konvensional, namun pelarut yang optimal dalam MAE tidak selalu disimpulkan dari yang digunakan pada metode konvensional.

Efisiensi berbagai pelarut yang dipanaskan dengan *microwave* tergantung pada faktor disipasi ($\tan \delta$) yang merupakan ukuran kemampuan pelarut untuk menyerap energi gelombang mikro dan meneruskannya sebagai panas ke molekul sekitarnya. Faktor disipasi dapat diberikan dengan persamaan :

$$\tan \delta = \varepsilon''/\varepsilon'$$

dimana ε'' adalah hilangnya dielektrik yang menunjukkan efisiensi mengubah energi gelombang mikro menjadi panas. Sedangkan ε' adalah konstanta dielektrik yang merupakan ukuran kemampuan untuk menyerap energi gelombang mikro. Tabel 2.4 mencantumkan konstanta dielektrik dan faktor disipasi untuk pelarut yang dapat digunakan dalam MAE. Tabel tersebut menunjukkan bahwa etanol dan metanol akan mengalami penyerapan gelombang mikro yang lebih rendah daripada air karena nilai ε' yang lebih rendah tetapi efisiensi pemanasan keseluruhan untuk kedua pelarut akan tetap lebih tinggi daripada air (karena peningkatan nilai $\tan \delta$). Sedangkan heksana dan pelarut yang kurang polar seperti kloroform tidak akan menghasilkan panas (Mandal et al., 2007).

Tabel 2.4 Faktor Disipasi dan Konstanta Dielektrik untuk Beberapa Pelarut yang Biasa Digunakan Dalam MAE

Pelarut	Konstanta dielektrik (ϵ')	Dielektrik loss ($\tan \delta$) x 10^{-4}
Acetone	20,70	
Acetonitrile	37,50	
Ethanol	24,30	2500
Hexane	1,89	
Methanol	32,60	6400
2-propanol	19,90	6700
Water	78,30	1570

Volume pelarut juga merupakan faktor penting. Prinsipnya adalah bahwa pelarut harus cukup untuk merendam seluruh sampel selama waktu irradiasi. Secara umum rasio volume pelarut yang lebih tinggi terhadap matriks padat mungkin efektif dalam metode ekstraksi konvensional. Namun, dalam MAE rasio yang lebih tinggi dapat menghasilkan ekstrak yang lebih rendah, yang mungkin disebabkan oleh pengadukan pelarut yang tidak memadai oleh gelombang mikro. Ekstraksi dengan banyak pelarut akan membutuhkan lebih banyak energi dan waktu untuk melakukan proses lanjutan, seperti pada proses pemurnian.

Beberapa penelitian menggunakan rasio sampel:pelarut antara 1:10 hingga 1:40. Kusumaningrum dan Hariningsih (2018) menggunakan rasio 1:10 untuk sampel:pelarut pada ekstraksi aloe vera menggunakan MAE. Begitu pula ekstraksi kelopak rosella dengan MAE telah dilakukan oleh Alam dkk (2019) menggunakan rasio sampel:pelarut yaitu 1:10. Ekstraksi buah murbei diekstraksi menggunakan metode MAE menggunakan rasio sampel:pelarut 1:4, 1:5, dan 1:6 (Azmi and Yunianta, 2014).

2.3.3.2 Lama/Waktu Ekstraksi

Waktu merupakan salah satu parameter yang penting dalam proses ekstraksi. Umumnya dengan meningkatkan waktu ekstraksi, dapat meningkatkan jumlah analit yang diharapkan, meskipun resiko degradasi mungkin terjadi. Pada

MAE waktu 15-20 menit dinilai cukup, bahkan dalam waktu 40 detik telah terbukti memberikan hasil ekstraksi yang baik (Mandal et al., 2007). Total fenol tertinggi yang diperoleh dari ekstraksi bunga rosella dengan metode MAE adalah pada lama ekstraksi 5 menit dan terjadi penurunan pada lama ekstraksi 7 menit dan 9 menit (Maksum, 2019). Pada ekstraksi daun teh menggunakan metode MAE menunjukkan bahwa waktu ekstraksi 4 menit memberikan nilai total kandungan *catechin* tertinggi dari pada waktu 2 menit, 3 menit, 5 menit, dan 6 menit (Kamaluddin et al., 2014). Studi yang tepat tentang optimasi waktu ekstraksi sangat penting, karena waktu ekstraksi dapat bervariasi dengan menggunakan bagian tanaman yang berbeda. Waktu irradiasi juga dipengaruhi oleh sifat dielektrik pelarut. Pelarut seperti air, etanol dan metanol sangat panas pada paparan yang lama, sehingga berisiko pada bahan yang bersifat termolabil (Mandal et al., 2007)

2.3.3.3 Daya Microwave

Daya gelombang mikro dan waktu irradiasi merupakan 2 faktor yang saling mempengaruhi satu sama lain. Kombinasi daya tinggi dengan waktu ekstraksi yang pendek merupakan pilihan bijaksana. Begitu pula sebaliknya. Secara umum efisiensi ekstraksi ditingkatkan dengan meningkatkan daya gelombang mikro dari 30 W menjadi 150 W. Selama waktu ekstraksi pendek (1-2 menit), hasil ditingkatkan dengan meningkatkan daya gelombang mikro. Perbedaan dari ginsenoside yang diekstraksi dengan 30 W dan 150 W, menunjukkan hasil yang signifikan dengan waktu ekstraksi yang pendek dibandingkan dengan waktu ekstraksi yang panjang. Daya tinggi dengan paparan yang lama akan meningkatkan resiko degradasi termal (Mandal et al., 2007)

Pada tingkat daya yang lebih tinggi pola ekstraksi sama sedangkan kemurnian berkurang secara substansial. Pada daya yang lebih tinggi akan menghasilkan suhu yang lebih tinggi pula sehingga pecahnya sel terjadi dengan cepat, mengakibatkan analit target dan pengotor terlarut ke dalam pelarut. Sedangkan pada tingkat daya yang lebih rendah, dinding sel mungkin pecah secara bertahap, sehingga memungkinkan terjadi selektivitas analit yang terlarut ke dalam pelarut (Mandal et al., 2007)

2.3.3.4 Karakteristik Bahan

Ukuran partikel dan sifat dari sampel merupakan faktor dalam MAE untuk memperoleh senyawa target. Ukuran partikel sampel umumnya berkisar 100 μm – 2 mm. Serbuk halus dapat meningkatkan ekstraksi karena memiliki permukaan yang lebih luas sehingga memberikan kontak yang lebih baik antara matriks dengan pelarut. Selain itu partikel yang lebih halus akan meningkatkan penetrasi *microwave* lebih dalam. Salah satu kelemahan yang terkait penggunaan partikel yang lebih halus yaitu kesulitan memisahkan matriks dari pelarut setelah irradiasi gelombang mikro (Mandal et al., 2007).

Selain itu perlu diperhatikan sifat kelarutan dari bahan yang akan diekstraksi untuk membantu pemilihan pelarut ekstraksi yang akan digunakan. Dengan memperhatikan polaritas bahan aktif maka akan mempermudah bahan aktif melarut ke dalam pelarut.

2.3.3.5 Suhu

Suhu dan daya *microwave* terkait satu sama lain. Dalam *microwave* yang menggunakan tekanan suhu bisa mencapai jauh di atas titik didih pelarut. Suhu yang meningkat akan meningkatkan efisiensi ekstraksi karena desorpsi analit ke dalam

bahan pelarut pun meningkat. Selain itu dengan kenaikan suhu kemampuan pelarut untuk melarutkan analit meningkat, dikarenakan turunnya viskositas dan tegangan permukaan. Pada MAE suhu dapat diatur dengan kombinasi pelarut yang memiliki kemampuan memanaskan yang berbeda (Mandal et al., 2007).

Tabel 2.5 Titik Didih dan Suhu di Bawah *Microwave* Pada 175 psig dari Beberapa Pelarut Ekstraksi (Mandal et al., 2007)

Solvent	Titik Didih °C	Suhu pada 175 psig
Dichloromethane	39,8	140
Acetone	56,2	164
Methanol	64,7	151
Hexane	68,7	Nh
Ethanol	78,3	164
Acetonitrite	81,6	194
2-propanol	82,4	145
Petrol ether	35-80	Nh
Acetone/hexane (1:1)	52	156

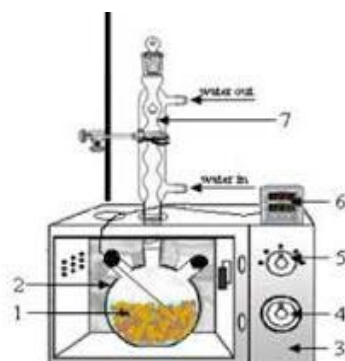
nh = *not heat under microwave*

2.3.4 Kelebihan MAE

Kelebihan metode ekstraksi berbantu gelombang mikro, antara lain metode ini cocok digunakan untuk mengekstraksi bahan – bahan yang bersifat thermolabil, karena memiliki kontrol yang lebih baik terhadap temperatur jika dibandingkan dengan metode konvensional. Selain itu waktu yang dibutuhkan untuk proses ekstraksi lebih singkat, konsumsi energi dan penggunaan pelarut yang lebih sedikit dan akurasi dan persisi yang lebih tinggi (Maksum, 2019).

2.3.5 Deskripsi Alat

Skema alat *microwave-assisted extraction* adalah sebagai berikut



Gambar 2.5 Skema Alat *Microwave-Assisted Extraction* (Widoretno dkk., 2017)

Keterangan gambar :

1. Bahan yang diekstraksi
2. Ekstraktor (labu alas bulat leher tiga)
3. Microwave oven
4. Pengatur waktu
5. Pengatur daya
6. Indikator suhu
7. Kondensor

2.4 Kerangka Teori dan Kerangka Konsep

Tanaman rosella merupakan salah satu tanaman obat yang telah terbukti dapat digunakan untuk terapi penyakit hipertensi, diabetes dan diuretik dengan dengan cara diminum sebagai minuman kesehatan (Patel, 2014). Bagian tanaman yang digunakan adalah kelopak bunganya. Masyarakat mengkonsumsi rosella biasanya dengan cara menyeduh kelopak bunga rosella yang telah dikeringkan. Tanaman ini mengandung berbagai macam senyawa aktif diantaranya adalah antosianin yang berfungsi sebagai antioksidan selain sebagai zat warna alami.

Antosianin adalah senyawa flavonoid yang bersifat hidrofilik yaitu larut dalam pelarut yang polar dan dapat diperoleh dengan cara ekstraksi. Antosianin lebih stabil dalam pelarut yang asam (pada pH 1- 4) dan mudah terdegradasi oleh adanya panas (termal). Pelarut air paling banyak digunakan pada metode ekstraksi

kelopak bunga rosella. Selain larut dalam air, antosianin juga larut dalam pelarut organik seperti etanol, metanol, aseton dan kloroform (Kristiana dkk., 2012).

Metode ekstraksi non-konvensional khususnya ekstraksi *Microwave Assisted Extraction* (MAE) dipilih untuk mengekstraksi kelopak bunga rosella, karena dapat menghemat waktu ekstraksi dan menekan jumlah pelarut yang digunakan. Metode ekstraksi MAE dipengaruhi oleh lama waktu ekstraksi daya alat dan jumlah pelarut yang digunakan. Alat yang akan digunakan memiliki daya 1200 watt. Lama waktu ekstraksi berdasarkan waktu mendidihnya etanol menggunakan *microwave*, dan akan dilihat temperatur *microwave*.

Penggunaan kombinasi pelarut air-etanol perlu dilakukan untuk mengetahui hasil rendemen dan kadar total antosianin yang optimal. Hal ini didasarkan pada sifat antosianin yang hidrofilik atau larut dalam pelarut polar. Pelarut air-etanol dengan kombinasi 0%, 30%, 50%, 70% dan 96% akan digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi dengan metode MAE.

Ekstrak kelopak bunga rosella yang diperoleh akan dihitung prosentase rendemen ekstrak dan diukur kadar antosianin pada masing – masing ekstrak menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

