

EKSTRAKSI SENYAWA ANTOSIANIN DAN FENOLIK ROSELLA UNGU DENGAN VARIASI PELARUT

*(Extraction of the anthocyanin and phenolic compound of purple roselle calyces
using various solvents)*

Nurul Azizah Choiriyah

Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Darussalam Gontor - Kampus Mantingan
Jl. Raya Maospati-Solo, Sambu Rejo, Mantingan, Kec. Ngawi, Jawa Timur 63257, Indonesia

ABSTRACT

Roselle is a good source of phenolic and anthocyanin compound. The objective of this study was to determine the best solvent for extracting anthocyanin and phenolic compound of roselle. Roselle was extracted using ethanol 70%:citric acid (88:2 b/b), water:ethanol 70%:citric acid (50:44:2 b/b/b), and water:citric acid (100:2 b/b). Evaluation parameter were phenolic content, anthocyanin content and antioxidant activity (DPPH method). Data was taken triplicate for all parameters using completely randomized experiment design. Highest antioxidant activity, phenolic and anthocyanin content was obtained in roselle extract using water:ethanol 70%:citric acid (50:44:2 b/b/b).

Keywords: *roselle, anthocyanin, phenolic, antioxidant, solvent*

ABSTRAK

Rosella merupakan bahan yang mengandung senyawa fenolik dan antosianin yang tinggi. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk menentukan pelarut (air+asam, air+etanol 70%+asam, dan etanol 70%) terpilih dalam mengekstrak rosella berdasarkan kadar total fenolik, kadar total antosianin, dan aktivitas antioksidan DPPH. Ekstraksi rosella dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%:asam sitrat (88:2 b/b), air:etanol 70%:asam sitrat (50:44:2 b/b/b), dan air:asam sitrat (100:2 b/b). Parameter yang diamati adalah kadar fenolik, antosianin, dan aktivitas antioksidan. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan tiga kali ulangan percobaan. Ekstrak rosella dengan kadar fenolik, antosianin, dan aktivitas antioksidan yang tinggi diperoleh dengan menggunakan pelarut air:etanol 70%:asam sitrat (50:44:2 b/b/b).

Kata kunci: rosella, antosianin, fenolik, antioksidan, pelarut

*Korespondensi: Telp: +685 641 565 555, Surel: nurul.azizah.choiriyah@gmail.com

PENDAHULUAN

Rosella merupakan tanaman subtropis yang tumbuh di beberapa negara seperti Indonesia, India, Mexico, dan Thailand. Menurut Peng *et al.* (2011), rosella merupakan sumber antosianin yang baik, juga merupakan bahan yang kaya akan antioksidan. Antosianin merupakan pewarna alami yang berkontribusi memberikan warna merah keunguan. Valls *et al.* (2009) melaporkan bahwa antosianin termasuk antioksidan yang memiliki kemampuan sebagai penangkap radikal bebas, mencegah diabetes, memiliki efek hipoglikemik, menurunkan trigliserida darah, dan menurunkan kadar kolesterol darah. Senyawa antioksidan lain yang terdapat pada rosella yaitu senyawa fenolik.

Antosianin umumnya lebih stabil pada larutan asam apabila dibandingkan dengan larutan netral atau alkali (Ovando *et al.* 2009). Kestabilan antosianin pada pH asam mengakibatkan antosianin lebih banyak digunakan pada makanan asam seperti jus, minuman ringan, piket, acar, pudding, dan yoghurt. Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa ekstraksi antosianin rosella dalam suasana asam mampu meningkatkan kandungan antosianin dan aktivitas antioksidannya. Selain itu, pelarut yang digunakan juga menentukan besarnya kandungan antioksidan dan aktivitas antioksidan yang diperoleh (Sindi *et al.* 2014)

Menurut penelitian Sindi *et al.* (2014), rosella yang diekstrak dengan air dengan dan tanpa asam format memberikan yield dari total polifenol (masing-masing 21.67 ± 0.93 dan 17.94 ± 0.29 mg/g equivalent asam galat) yang lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan rosella yang diekstrak dengan methanol, ethil asetat dan heksana dengan penambahan asam format maupun tidak. Hal tersebut menunjukkan bahwa pelarut non polar kurang efektif untuk digunakan sebagai pelarut rosella. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk menentukan

pelarut (air+asam, air+ethanol 70%+asam, dan ethanol 70%) terpilih dalam mengekstrak rosella berdasarkan kadar total fenolik, kadar total antosianin, dan aktivitas antioksidan DPPH.

METODE

Desain, tempat, dan waktu

Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian dilakukan dengan tiga kali ulangan percobaan. Dilaksanakan pada bulan September 2014-November 2014, bertempat di Laboratorium Rekayasa Proses Pengolahan Fakultas Teknologi Pertanian UGM, Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian UGM.

Cara pengambilan sampel

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* var. *Sabdariffa*) ungu kering yang diperoleh dari Pasar Gedhe Solo, aquades, etanol 70%, asam sitrat, dan reagen kimia untuk analisis seperti asam gallat, DPPH, larutan folin ciocalteau, larutan buffer KCl, larutan Na-asetat yang diperoleh dari Sigma. Alat yang digunakan untuk proses ekstraksi antara lain hot plate, magnetic stirrer dan alat-alat gelas yang dibutuhkan untuk keperluan proses. Alat yang digunakan untuk analisis dalam penelitian ini antara lain: spektrofotometer, dan alat pendukung laboratorium lainnya.

Jenis dan cara pengumpulan data

Ekstraksi rosella

Ekstraksi rosella bertujuan mendapatkan senyawa antosianin dan fenolik dari rosella melalui metode ekstraksi secara maserasi. Ekstraksi rosella dilakukan dengan menggunakan metode maserasi yang merupakan modifikasi dari metode Cisse *et al.* (2009). 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). Pelarut dan perbandingan pelarut yang digunakan ini berdasarkan penelitian Burgos *et al.* (2013). Diagram alir metode ekstraksi rosella dapat dilihat pada Gambar 1. Ekstrak rosella selanjutnya dikarakterisasi dengan menganalisis aktivitas antioksidan (metode DPPH), total fenolik, dan total antosianin yang terkandung didalamnya.

Analisis kadar antosianin

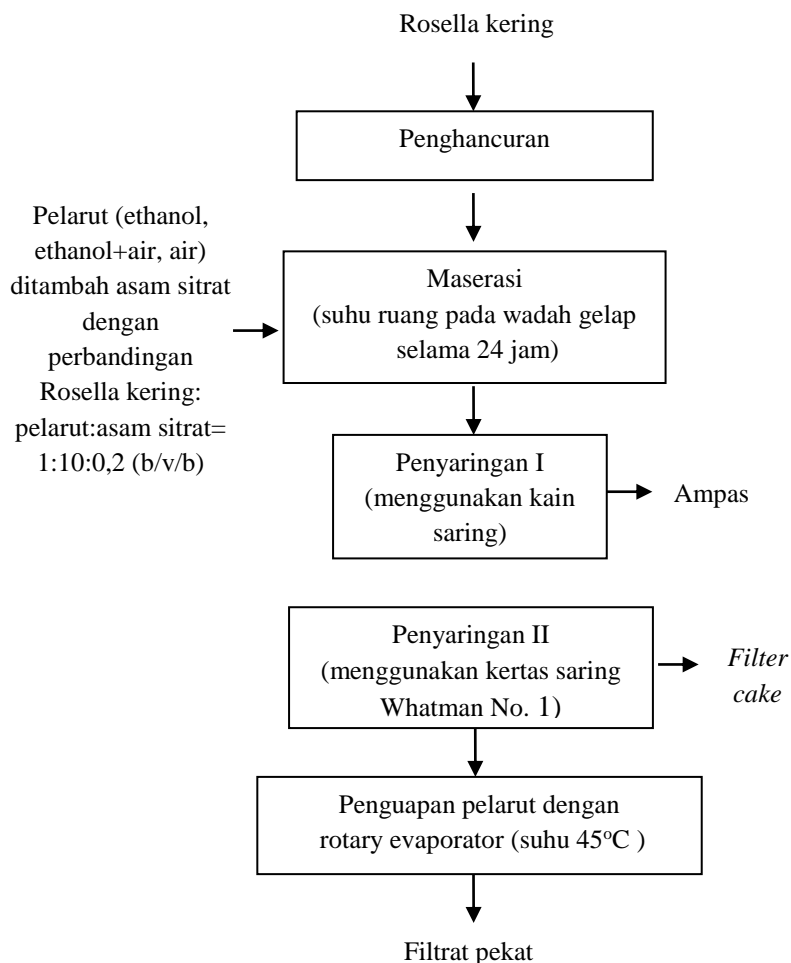
Total antosianin diukur berdasarkan metode pH-differential (Giusti and Worlstad, 2001). Sebanyak masing-masing 0,1 gram sampel ditambah aquades hingga volume menjadi 10 ml. Larutan tersebut diambil 1 ml dan diencerkan 7,5 kali menggunakan larutan KCl pH 1 dan larutan sodium asetat pH 4,5. Absorbansi dari kedua perlakuan pH diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang

514 nm dan 700 nm setelah didiamkan selama 30 menit. Panjang gelombang 514 adalah panjang gelombang maksimum untuk sianidin-3-glukosida sedangkan panjang gelombang 700 nm untuk mengoreksi endapan yang masih terdapat pada sampel. Nilai absorbansi sampel ekstrak dihitung dengan menggunakan persamaan:

$$A = [(A_{510} - A_{700})pH_1 - (A_{510} - A_{700})pH_{4,5}]$$

Total antosianin dihitung sebagai sianin-3-glikosida menggunakan koefisien ekstingsi molar sebesar 26.900 L cm⁻¹ dan berat molekul sebesar 449,2 g/mol. Total antosianin dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Total antosianin (\% b/b)} = \frac{(A \times MW \times DF \times V \times 100\%)}{\epsilon \times L \times Wt}$$



Gambar 1. Ekstraksi bunga rosella

Analisis kadar fenolik

Kadar fenolik sampel ditentukan dengan metode Mohd-Esa *et al.* (2010). Sampel sebanyak 0,1 mg ditambahkan aquades hingga volume mencapai 10 ml. Larutan tersebut diambil 1 ml dan ditambahkan 1 ml Na₂CO₃ 7 % dan folin ciocalteau sebanyak 0,5 ml. Selanjutnya divorteks dan dibiarkan selama 30 menit. Setelah inkubasi 30 menit, larutan ditera absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm. Konsentrasi fenol dari sampel dihitung berdasar kurva standar yang diperoleh dari larutan fenol murni. Untuk mendapatkan kurva standar fenol digunakan asam gallat. Konsentrasi asam gallat pada larutan asam gallat yang digunakan adalah 0,20,40,60,80,100 ppm. Satu ml larutan standar ditambah 1 ml Na₂CO₃ 7 % dan folin ciocalteau 0,5 ml. Kemudian divortex dan dibiarkan selama 30 menit. Kemudian ditera absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm.

Analisis aktivitas antioksidan metode DPPH

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode radikal DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil radical scavenging) (Mohd-Esa *et al.* 2010). Larutan antosianin dan bubuk ekstrak antosianin digunakan sebagai sampel. 0,2 ml ekstrak yang telah diencerkan ditambahkan larutan DPPH 0,1 mM. Selanjutnya larutan tersebut divorteks dan didiamkan selama 30 menit. Pembacaan absorbansi sampel dengan spektrofotometer pada panjang gelombang =517 nm.

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

Pengolahan dan analisis data

Variabel yang digunakan pada ekstraksi rosella yaitu jenis pelarut. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA dengan uji lanjut DMRT taraf signifikansi 95%. Analisis ANOVA dan DMRT dilakukan dengan menggunakan program SPSS 15.0.

HASIL

Total antosianin ekstrak Rosella

Tabel 1. Hasil analisis kadar total antosianin ekstrak rosella

Pelarut	Total antosianin (mg/100 g bahan)
Etanol 70% :asam sitrat (88:2 b/b)	781,78 ^b
Air:Etanol 70%:asam sitrat (50:44:2 b/b/b)	883,87 ^b
Air:asam sitrat (100:2 b/b)	578,75 ^a

Total fenolik ekstrak rosella

Tabel 2. Hasil analisis total fenolik ekstrak rosella

Pelarut	Total fenolik (mg GAE/ml ekstrak)
Etanol 70 % :asam sitrat (88:2 b/b)	9,98 ^b
Air:etanol 70 %:asam sitrat (50:44:2 b/b/b)	10,79 ^b
Air:asam sitrat (100:2 b/b)	8,44 ^a

Tabel 3. Hasil analisis aktivitas antioksidan metode DPPH pada ekstrak rosella

Pelarut	Aktivitas penangkapan DPPH (%)
Etanol 70 % :asam sitrat (88:2 b/b)	70,02 ^b
Air:Etanol 70 %:asam sitrat (50:44:2 b/b/b)	80,23 ^c
Air:asam sitrat (100:2 b/b)	60,04 ^a

Aktivitas antioksidan ekstrak rosella

Pada penelitian ini, aktivitas antioksidan ekstrak rosella diukur

menggunakan metode DPPH. Pada uji aktivitas antioksidan ini, ekstrak rosella

yang digunakan sebesar 10 ppm. Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak rosella menggunakan metode DPPH ditunjukkan oleh Tabel 3.

PEMBAHASAN

Tabel 1 menunjukkan bahwa total antosianin ekstrak rosella berkisar 578,75 mg/100 g bahan-883,87 mg/100 g bahan. Total antosianin terendah diperoleh pada ekstrak yang dihasilkan dengan pelarut air+asam. Sama seperti senyawa fenolik, air kurang efektif dalam mengekstrak senyawa antosianin. Dalam hal ini kepolaran senyawa antosianin rosella mendekati kepolaran etanol 70% maupun dengan kepolaran campuran pelarut etanol 70% ditambah air dengan perbandingan 50:44. Senyawa fenolik sebagai metabolit sekunder dalam tanaman berpotensi sebagai zat antioksidan. Hal ini disebabkan oleh keberadaan gugus hidroksil dalam senyawaan fenolik. Gugus hidroksil dapat berfungsi sebagai penyumbang atom hidrogen ketika bereaksi dengan senyawa

Tingginya aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh adanya senyawa fenolik dan antosianin yang terdapat pada ekstrak. Pada ekstrak yang diperoleh menggunakan pelarut air+etanol+asam memiliki kadar total fenolik dan total antosianin yang tidak berbeda nyata dengan ekstrak yang diperoleh menggunakan pelarut etanol+asam, namun ekstrak yang diperoleh dengan pelarut air+etanol+asam memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi, hal ini bisa disebabkan karena adanya komponen senyawa lain yang bersifat antioksidan yang lebih terekstrak jika menggunakan pelarut air+etanol+asam yaitu vitamin C. Hal ini juga dimungkinkan karena jenis antosianin yang di ekstrak berbeda-beda yang berpengaruh terhadap kemampuannya dalam menangkap radikal bebas.

radikal melalui mekanisme transfer elektron sehingga proses oksidasi dihambat. Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa kadar total fenolik ekstrak rosella berkisar antara 8,44 mg GAE/ml ekstrak-10,79 mg GAE/ml ekstrak. Pelarut air+asam menghasilkan total fenolik paling rendah dibandingkan pelarut etanol+asam dan campuran air+etanol+asam pada ekstraksi rosella. Berdasarkan Liu *et al.* (2000), pelarut air tidak efisien dalam mengekstrak senyawa fenolik. Dalam penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa fenolik rosella memiliki profil kepolaran yang lebih mirip dengan air:etanol 70 %:asam sitrat (50:44:2 b/b/b) ataupun etanol:asam sitrat (88:2 b/b) daripada dengan air:asam sitrat (100:2 b/b).

Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH berkisar antara 60,04%-70,02%. Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH oleh ekstrak rosella paling tinggi diperoleh dengan menggunakan pelarut air+etanol+asam diikuti oleh etanol+asam dan terakhir air+asam.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu pelarut air:etanol 70%:asam sitrat (50:44:2 b/b/b) merupakan pelarut terpilih dalam menghasilkan ekstrak rosella dengan kadar total fenolik, total antosianin, dan aktivitas antioksidan yang tinggi. Hal ini dikarenakan kepolaran senyawa antosianin dan fenolik mendekati kepolaran pelarut air:etanol 70 %:asam sitrat (50:44:2 b/b/b). Tingginya aktivitas antioksidan pada ekstrak rosella dipengaruhi oleh senyawa fenolik dan antosianin yang terkandung di dalamnya.

DAFTAR PUSTAKA

Burgos G, Amoros W, Munoa L, Sosa P, Cayhualla E, Sanchez C, Diaz C,

- Phenolic, Total Anthocyanin and Phenolic Acid Concentrations and Antioxidant Activity of Purple-Fleshed Potatoes as Affected by Boiling. *J Food Composition and Analysis* 30:6-12.
- Cisse M, Vaillant F, Acosta O, Dhuique-Mayer C, and Dornier M. 2009. Thermal Degradation Kinetics of Anthocyanins from Blood Orange, Blackberry, and Roselle Using The Arrhenius, Eyring, and Ball Models. *J Agricultural and Food Chemistry* 57(14):6285–6291.
- Giusti MM and Worlstad RE. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. Oregon State University. Oregon.
- Liu FF, Ang CYW, and Springer D. 2000. Optimization of Extractions for Active Components in *Hypericum perforatum* Using Response Surface Methodology. *J Agriculture and Food Chemistry* 48:3364–3371.
- Mohd-Esa N, FS Hern, A Ismail, CL Yee. 2010. Antioxidant activity in different parts of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts and potential exploitation of the seeds. *Food Chemistry* 122:1055-1060.
- Ovando AC, Hernández MLP, Hernández MEP, Rodríguez JA, and Vidal CAG. 2009. Chemical Studies of Anthocyanins: A Review. *Food Chemistry* 113:859-871.
- Peng CH, Chyau CC, Chan KC, Chan TH, Wang CJ, and Huang CN. 2011. Hibiscus Sabdariffa polyphenolic Extract Inhibits Hyperglycemia, Hyperlipidemia, and Glycation-Oxidative Stress while Improving Insulin Resistance. *J Agriculture and Food Chemistry* 59:9901–9.
- Sindi HA, Marshall LJ, and Morgan MRA. 2014. Comparative Chemical and Biochemical Analysis of Extracts of Hibiscus Sabdariffa. *Food Chemistry* 164: 23-29.
- Valls J, S Millán, MP Martí, E Borràs, L Arola. 2009. Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *J. Chromatogr. A* 1216:7143–7172.