

Pengembangan Rosella Ungu (*Hibiscus sabdariffa*) sebagai Minuman Isotonik Berpotensi Antioksidan dan Mampu Meningkatkan Kebugaran Tubuh

Development of Dark Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) as Potentially Antioxidant Isotonic Drinks and
Its Capability to Improve Physical Fitness

Setyaningrum Ariviani*, Gusti Fauza, Cristiva Pawestri

Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Negeri Sebelas Maret,
Jl. Ir. Sutami No 36 A, Kentingan, Surakarta 57126, Indonesia
Email: setya_ariviani@yahoo.com

Submisi: 24 Agustus 2016; Penerimaan: 5 September 2017

ABSTRAK

Olahraga menginduksi kehilangan cairan tubuh dan pembentukan radikal bebas yang lebih banyak. Oleh karena itu, tubuh membutuhkan asupan minuman isotonik yang kaya antioksidan. Antioksidan plasma berpengaruh pada kebugaran tubuh manusia. Rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L) memiliki kapasitas sebagai antioksidan karena memiliki kadar antosianin dan vitamin C yang tinggi. Aplikasi ekstrak rosella ungu sebagai minuman isotonik belum pernah dilakukan sebelumnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan rosella ungu sebagai minuman isotonik yang berpotensi antioksidan dan mampu meningkatkan kebugaran tubuh pasca stress fisik. Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap. Ekstraksi rosella ungu menggunakan pelarut yang berbeda dilakukan pada tahap pertama. Ekstrak dengan aktivitas antiradikal tertinggi digunakan untuk formulasi minuman isotonik. Pada tahap terakhir, minuman isotonik dengan tingkat kesukaan konsumen tertinggi dievaluasi kapasitas antioksidan dan efektivitasnya dalam peningkatan kebugaran tubuh pasca stress fisik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknik ekstraksi menggunakan air sebagai pelarut menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antiradikal tertinggi, yaitu mencapai ekuivalen $93,16 \pm 3,94$ mmol BHT/L. Minuman isotonik dengan penggunaan 50% ekstrak rosella ungu menunjukkan tingkat kesukaan konsumen tertinggi. Minuman isotonik rosella ungu terbukti berpotensi sebagai antiradikal dan mampu meningkatkan kebugaran tubuh pasca stress fisik dengan skor IKJ (indeks kesegaran jasmani) mencapai 52,3 yang mengindikasikan tingkat kebugaran sedang.

Kata kunci: Antioksidan; rosella ungu; minuman isotonik; kebugaran tubuh

ABSTRACT

Exercise induces more body fluid loss and free radicals formation. Therefore, the body requires an intake of isotonic drink that rich in antioxidant. Plasma antioxidant has an effect on the human physical fitness. Having high level of anthocyanin and vitamin C, dark red roselle (*Hibiscus sabdariffa* L) has antioxidant capacity. However, the application of dark red roselle extract as an isotonic drink has not yet been reported. This research was aimed to develop red dark roselle as an isotonic drink with high level of antioxidant and ability to increase human physical fitness in exercise. This study was conducted in two stages. The first stage was extraction of dark red roselle with different solvent. The extract with highest antiradical activity was used for isotonic drink formulation. In the second stage, the antioxidant capacity and its effectiveness on improving physical fitness in exercise were evaluated on the isotonic drink with the highest level of consumer preference. The result showed that extraction technique using distilled water gave an extract with the

highest antiradical activity. The isotonic drink containing 50% dark red roselle extract showed the highest consumer preference level. The drink showed to have potentially antiradical and capability for increasing physical fitness in exercise with the score of PFI (physical fitness index) reached 52.3 indicating a medium level of physical fitness.

Keywords: Antioxidant; dark red roselle; isotonic drink; physical fitness

PENDAHULUAN

Olahraga disatu sisi mempunyai efek yang baik di bidang kesehatan, khususnya terkait dengan penyakit degeneratif seperti aterosklerosis, jantung koroner, dan diabetes militus. Sehingga berolahraga menjadi demikian populer dan dilakukan oleh berbagai lapisan masyarakat, besar-kecil, tua-muda, orang sehat maupun orang sakit. Namun berolahraga mengakibatkan pengeluaran cairan yang berlebihan melalui keringat. Apabila jumlah cairan yang keluar tidak tergantikan maka tubuh akan mengalami kekurangan cairan dan dehidrasi (Borowski dkk., 1998). Berolahraga juga merupakan sumber pembentukan radikal bebas di dalam tubuh. Hal ini dikarenakan olahraga akan menyebabkan peningkatan panas tubuh dan konsumsi oksigen hingga 20 kali lipat, sehingga mengakibatkan produksi radikal yang berlebihan (Cases dkk., 2005).

Minuman isotonik didefinisikan sebagai minuman yang mengandung karbohidrat (monosakarida, disakarida dan terkadang maltodekstrin) dengan konsentrasi 6–9% (b/v) dan mengandung sejumlah kecil mineral (elektrolit) seperti natrium, kalium, klorida, fosfat serta perisa buah (*fruit flavor*) (Murray dan Undermann, 2003). Minuman isotonik mampu menggantikan cairan tubuh dengan cepat karena mengandung elektrolit yang dibutuhkan tubuh dan memiliki osmolalitas yang sesuai dengan tekanan osmotik tubuh. Kondisi dehidrasi akibat berolahraga dapat dikembalikan melalui respon stimulasi peningkatan asupan air dan sodium (Costill, 1988). Cairan yang mengandung karbohidrat dan elektrolit dengan konsentrasi yang signifikan dapat memperbaiki efek yang ditimbulkan oleh olah raga (Davis dkk., 1988).

Menurut Chawla dkk. (2007), kebugaran adalah kemampuan seseorang untuk dapat mempertahankan kondisi tubuhnya setelah melakukan latihan fisik atau aktivitas pada kondisi yang sama dengan sebelum melakukan latihan fisik. Status antioksidan dalam darah berpengaruh terhadap kebugaran seseorang. Radikal bebas memacu stress oksidatif yang berdampak terhadap kerusakan otot (Ihara dkk., 2001).

Terdapat tiga varietas rosella yaitu rosella merah (*light red roselle*), ungu (*dark red roselle*) dan putih (*white roselle*). Christian dkk. (2006) melaporkan bahwa rosella merah (*traditional red*) dan rosella ungu (*early bearing red*) memperlihatkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding rosella putih. Rosella diketahui mempunyai kapasitas sebagai antioksidan terkait komponen antosianin,

vitamin C, flavonoid dan asam fenolat (Tsai dkk., 2002; Ali dkk., 2005; Christian dan Jackson, 2009, Da-Costa-Rocha dkk., 2014). Penelitian Christian dan Jackson (2009) menunjukkan bahwa ekstrak etanol rosella ungu memperlihatkan kadar antosianin yang lebih besar dibanding rosella merah. Kadar vitamin C rosella mencapai 241 mg/100 g (Wong dkk., 2002), lebih tinggi dari buah jeruk (49 mg/100 g), belimbing (35 mg/100 g), pepaya (78 mg/100 g), mangga (41 mg/100 g) (Nio, 1992) maupun salak (129–171 mg/kg bk) (Ariviani dan Parnanto, 2013).

Morillas-Ruiz dkk. (2006) menyatakan minuman suplementasi antosianin dari anggur hitam, *rasberry* dan *red currant* dapat menurunkan oksidasi protein setelah latihan dengan menggunakan sepeda. Lecarpentier (2007) menyatakan pada otot yang mengalami kelelahan, perlakuan dengan memberikan antioksidan sebelum latihan dapat mengurangi efek negatif dari radikal bebas.

Clarkson dan Thompson (2000) melaporkan bahwa suplementasi vitamin C berguna pada penurunan efek latihan yang mengakibatkan otot kehilangan kekuatannya. Finaud dkk. (2006) menyebutkan bahwa suplementasi antioksidan vitamin C berdampak positif terhadap performa. Jakeman dan Maxwell (1993) melaporkan bahwa pemberian vitamin C sebesar 400 mg kepada responden dapat memberikan efek proteksi terhadap kerusakan otot yang diinduksi dengan naik turun bangku selama 60 menit.

Penelitian ini mengkaji pengembangan rosella ungu sebagai minuman isotonik berpotensi antioksidan dan mampu meningkatkan kebugaran tubuh pasca stress fisik. Potensi antioksidatif ditentukan dengan penentuan kadar total antosianin, kadar vitamin C dan kapasitas antiradikal. Efek kebugaran ditentukan secara *in vivo* dengan *Harvard Step Up Test* menggunakan 5 relawan.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan penelitian meliputi rosella ungu “Madu Sari”, sukrosa “Gulaku” dan fruktosa “Rose Brand” diperoleh dari Pasar Gede Surakarta, garam-garam mineral *food grade* (NaCl, KCl, MgCO₃, Ca-Laktat, dan Na-Sitrat) dari Brata Chemical cabang Surakarta. KCl (Merck, 99%), HCl (Merck, 37%), dan CH₃CO₂Na.3H₂O (Merk, 99%) untuk pembuatan bufer pH 1 dan pH 4,5. Bahan-bahan yang digunakan untuk

analisis memiliki kualifikasi pro analisis, yaitu: KI, I₂, KIO₃, Na₂S₂O₃, BHT (*butylated hydroxytoluene*), amilum, methanol, produksi Merck, DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) produksi Sigma.

Alat

Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi rosella dan pembuatan minuman isotonik, yaitu neraca analitik, pompa vakum, *waterbath*, peralatan gelas. Peralatan untuk analisis antara lain spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1240 (Shimadzu), vortex, peralatan gelas, micropipet, bangku setinggi 40 cm, metronom, tensi meter, stopwatch.

Metode

Penelitian ini dilaksanakan dalam beberapa tahapan penelitian. Tahap pertama dilakukan ekstraksi dengan variasi pelarut, selanjutnya ekstrak dengan aktivitas antiradikal tertinggi diaplikasikan dalam pembuatan minuman isotonik dengan variasi formula. Pada tahapan terakhir formula dengan tingkat kesukaan tertinggi ditentukan kapasitas antioksidan dan efek konsumsinya terhadap kebugaran tubuh pasca stress fisik.

Ekstraksi Rosella Ungu

Ekstraksi rosella ungu dilakukan menggunakan air, air yang diasamkan dengan asam sitrat 3%, dan air yang diasamkan dengan HCl 1%. Bubuk rosella kering (lolos ayakan 30 mesh), diekstraksi dengan proporsi bahan dan pelarut (1:10). Proses ekstraksi dilakukan dengan maserasi (24 jam, pada suhu ruang) secara bertingkat (2 kali).

Pembuatan Minuman Isotonik

Minuman isotonik dibuat menggunakan komposisi elektrolit mengacu pada komposisi elektrolit minuman isotonik Pocari Sweat, dengan sedikit modifikasi pada komposisi Na⁺ dan Sitrat³⁻. Komposisi elektrolit yang digunakan dalam formulasi minuman isotonik disajikan pada Tabel 1. Minuman isotonik rosella dibuat dengan 3 proporsi ekstrak rosella, yaitu 50%, 60% dan 70%. Minuman isotonik selanjutnya dipasteurisasi pada suhu 65 ± 2°C selama 30 menit, dikemas dalam botol dan disimpan pada suhu refrigerator (10 ± 2°C) sampai akan digunakan.

Tabel 1. Komposisi elektrolit minuman isotonik

Kation	Konsentrasi elektrolit		Anion	(mEq/L)
	(mEq/L)			
Na ⁺	28,43		Cl ⁻	16,0
K ⁺	5,0		Sitrat ³⁻	17,44
Ca ²⁺	1,0		Laktat	1,0
Mg ²⁺	0,5			

Analisis Total Antosianin dengan Metode pH Differensial (Giusti dan Worlsted, 2001)

Prinsip analisis kadar antosianin dengan metode pH differensial adalah bahwa antosianin mengalami perubahan warna berdasarkan perubahan pH. Pada kondisi pH 1 antosianin berada dalam bentuk *oxonium* atau *flavylium* yang memiliki intensitas warna kuat, sedangkan pada kondisi pH 4,5 antosianin dalam bentuk *carbinol* yang tidak berwarna. Ekstrak ditambah buffer pH 1 sampai dilution faktor (DF) yang diinginkan. Ekstrak ditambah buffer pH 4,5 sampai dilution faktor (DF) yang diinginkan. Pengukuran absorbansi A_{vis-max} nm dan A700 nm.

$$\text{Kadar total antosianin (mg/L)} = \frac{A}{(2 \times L)} \times \text{MW} \times \text{DF} \quad (1)$$

Keterangan:

- A = [(Abs_{vis-max} - Abs 700) pH 1 - (Abs_{vis-max} - Abs 700) pH 4,5].
- MW = Berat molekul Sianidin-3- glukosida (449,2 gram/mol)
- DF = *Dilution factor* (faktor pengenceran).
- ε = absorptivitas molar Sianidin-3- glukosida = 26.900 L/(mol.cm)
- L = Lebar cuvet (1 cm)

Analisis Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (Krings dan Berger, 2001)

Aktivitas antiradikal ekstrak rosella maupun minuman isotonik dianalisis menggunakan metode DPPH sesuai Krings dan Berger (2001) dengan sedikit modifikasi. Komponen antioksidan dalam sampel akan mereduksi radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) menjadi difenil pikril hidrazin sehingga warna ungu semakin memudar. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm. Sampel (1 mL) ditambah 1 mL DPPH 0,45 mM dan 4 mL metanol, divortex lalu diinkubasi selama 30 menit pada kondisi gelap. Absorbansi kontrol diukur dari 1 ml DPPH 0,45 mM ditambah 5 mL metanol. Aktivitas antiradikal sampel dinyatakan sebagai ekuivalen aktivitas antiradikal BHT (mmol/L).

Aktivitas antiradikal (%) =

$$\left(\frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \right) \times 100\% \quad (2)$$

Analisis Kadar Vitamin C dengan Metode Titrasi Iodin (Suntornsuk dkk., 2002)

Kadar vitamin C ditentukan dengan metode titrasi iodometri langsung. Sebanyak 10 mL sampel dipipet ke dalam erlenmeyer 100 mL. Ditambahkan 2 mL larutan indikator amilum 1%. Campuran dititrasi dengan 0,0068 N iodine yang telah distandarisasi menggunakan larutan standar sekunder Na₂S₂O₃ yang telah distandarisasi dengan KIO₃. Kadar vitamin C dinyatakan dalam mg asam askorbat per liter sampel.

Kadar vitamin C (mg/L) =

$$\frac{\text{volumeiodin(ml)} \times \text{Niodin} \times \text{BMvitaminC}}{2 \times \text{volumesampel(L)}} \quad (3)$$

Analisis Sensoris dengan Uji Kesukaan Metode Ranking (Meilgaard dkk., 1999)

Analisis sensoris yang dilakukan dalam penelitian adalah uji kesukaan terhadap warna, aroma, rasa, dan *overall* minuman isotonik yang dibuat dengan penggunaan 50%, 60%, dan 70% ekstrak rosella ungu. Sebanyak 30 panelis semi terlatih diminta untuk mengurutkan tingkat kesukaannya dengan memberikan nilai 1 untuk tingkat kesukaan tertinggi, 2 untuk tingkat kesukaan berikutnya dan 3 untuk tingkat kesukaan terendah. Selanjutnya data yang diperoleh ditransformasi mengikuti Tabel Fisher dan Yates.

Uji Kebugaran dengan Metode Harvard Step Up Test (Maud and Foster, 1995)

Harvard step up test merupakan tes sederhana yang dilakukan selama 5 menit dengan menggunakan bangku setinggi 40 cm untuk laki-laki dan 33 cm untuk perempuan. Responden melakukan latihan dengan frekuensi 2,5 langkah per menit. Responden duduk selama 5 menit, dihitung denyut nadi selama 30 detik. Kemudian metronome dipasang pada ketukan 120 pukulan per menit (30 langkah lengkap). Responden melakukan latihan ini maksimal selama 5 menit. Usai latihan, responden duduk kembali, tunggu 1 menit, hitung denyut nadi selama 30 detik. Kebugaran dinyatakan sebagai indeks kesegaran jasmani (IKJ).

$$\text{IKJ} = \frac{\text{Waktuaktu} \times 100}{5,5 \times (\text{denyutnadi} \text{ setelah } 1 \text{ menit istirahat})} \quad (4)$$

Kriteria penilaian:

>80 = amat baik; 50–80 = sedang; < 50 = kurang

Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian ini terbagi menjadi beberapa tahap. Pada tahap penentuan kapasitas antioksidan ekstrak rosella yang meliputi kadar total antosianin, kadar vitamin C dan aktivitas antiradikal menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari satu faktor yaitu jenis pelarut yang terdiri dari tiga taraf yaitu air, air yang diasamkan dengan asam sitrat 3% dan air yang diasamkan dengan HCl 1%. Tahap formulasi menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 1 faktor yaitu proporsi ekstrak rosella yang ditambahkan yang terdiri dari tiga taraf yaitu 50% ekstrak, 60% ekstrak, dan 70% ekstrak. Sedangkan pada pengujian efek konsumsi minuman isotonik rosella terhadap kebugaran menggunakan

RAL dengan 1 faktor yaitu jenis minuman yang dikonsumsi yang terdiri dari tiga taraf yaitu air putih, minuman isotonik tanpa ekstrak rosella, dan minuman isotonik rosella ungu. Tiap-tiap pengujian dilakukan tiga kali ulangan sampel. Data hasil penelitian diuji secara statistik menggunakan sidik ragam ANOVA dengan IBM SPSS Statistik 22. Jika terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf signifikansi 5% ($p < 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kapasitas Antioksidan Ekstrak Rosella Ungu dengan Variasi Pelarut

Ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan (Harborne, 1987). Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi menggunakan variasi pelarut untuk ekstraksi komponen antioksidan rosella ungu. Pelarut yang digunakan yaitu air, air yang diasamkan dengan asam sitrat 3%, dan air yang diasamkan dengan HCl 1%. Hal ini mengingat komponen utama yang bertanggungjawab terhadap kapasitas antioksidan rosella adalah antosianin dan vitamin C. Kedua senyawa tersebut diketahui bersifat larut air. Penggunaan asam sitrat 3% mengacu kepada penelitian Narwidina (2010) yang melakukan penelitian tentang minuman isotonik berbasis antosianin beras hitam. Sedangkan penggunaan air yang diasamkan dengan HCl 1% mengacu kepada Francis (1989). Ekstrak rosella ungu yang dihasilkan selanjutnya ditentukan kapasitas antioksidannya dengan penentuan kadar total antosianin, vitamin C dan aktivitas antiradikal (Tabel 2).

Tabel 2 memperlihatkan bahwa jenis pelarut yang digunakan untuk ekstraksi tidak berpengaruh terhadap kadar total antosianin maupun kadar vitamin C ekstrak rosella. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa pH tidak berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi antosianin. Menurut Turker dan Erdogdu (2006), pH mempengaruhi efisiensi ekstraksi antosianin dan koefisien difusinya, semakin rendah pH maka koefisien difusinya semakin tinggi. Hasil yang berbeda pada Tabel 2. Kapasitas antioksidan ekstrak rosella ungu menggunakan berbagai jenis pelarut

Pelarut	Kapasitas antioksidan ekstrak		
	Kadar total antosianin (mg/L)	Kadar vitamin C (mg/L)	Aktivitas antiradikal ekuivalen BHT (mmol/L)
Air	1816,6 ± 200,4 ^a	2114,3 ± 36,2 ^a	93,16 ± 3,94 ^c
Air yang diasamkan dengan asam sitrat 3%	1851,3 ± 351,1 ^a	2074,5 ± 36,2 ^a	89,67 ± 0,85 ^b
Air yang diasamkan dengan HCl 1%	2100,2 ± 381,3 ^a	2079,4 ± 31,4 ^a	82,96 ± 0,98 ^a

Ket: Angka yang diikuti huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$)

penelitian ini dimungkinkan karena keberadaan vitamin C dalam rosella, sehingga pH pelarut tidak berpengaruh terhadap kadar antosianin ekstrak. Keberadaan vitamin C mengakibatkan penurunan kadar antosianin maupun vitamin C, karena kondensasi vitamin C pada atom C no 4 molekul antosianin. Vitamin C juga berperan sebagai aktivator molekul oksigen yang menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas ini mengakibatkan pemutusan cincin pirilium dari antosianin melalui mekanisme oksidasi (Garcia-Viguera dan Bridle, 1999; De Rosso and Mercadante, 2007a; Cao dkk., 2009; Cavalcanti dkk., 2011).

Antosianin bertindak sebagai antioksidan dengan menyumbang hidrogen yang sangat reaktif sehingga mencegah pembentukan radikal lebih lanjut (Lapornik dkk., 2005). Struktur fenolik dari antosianin bertanggungjawab terhadap kapasitas antioksidannya, yaitu kemampuan dalam menangkap oksigen reaktif (*reactive oxygen species, ROS*) seperti radikal superoksida, oksigen singlet, peroksida, hidrogen peroksida dan radikal hidroksi (Wang dan Stoner, 2008). Castaneda-Ovando dkk. (2009) menyatakan bahwa antosianin mampu menangkap radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen dari struktur fenoliknya.

Menurut Pokorny dkk. (2001), pH suatu sistem akan sangat mempengaruhi aktivitas antioksidan antosianin. Antosianin kurang efektif sebagai *metal chelators* pada kondisi pH rendah (asam), namun kemampuan mendonorkan hidrogen (*antiradical capacity*) dari antosianin meningkat pada kondisi yang semakin asam. Data pada Tabel 2 memperlihatkan bahwa ekstrak rosella dengan penggunaan pelarut air memiliki kapasitas antiradikal yang lebih tinggi dibanding penggunaan pelarut yang pH nya lebih rendah (air yang diasamkan dengan asam sitrat 3% maupun HCl 1%). Hasil ini mengindikasikan bahwa pH menjadi kurang berpengaruh terhadap aktivitas antiradikal antosianin jika dalam sistem tersebut juga terdapat vitamin C. Potensi antioksidan antosianin tergantung pada struktur kimia molekulnya, seperti jumlah gugus hidroksil, sifat dan jumlah serta posisi gula dalam molekul antosianin, sifat dan jumlah asam aromatik maupun alifatik yang menempel pada gugus gula (Kahkonen dan Heinonen, 2003; Kong dkk., 2003). Sebagaimana telah dijelaskan sebelumnya, keberadaan vitamin C mengakibatkan degradasi antosianin melalui mekanisme kondensasi dan oksidasi. Kedua reaksi tersebut tentu saja akan menyebabkan perubahan struktur dari antosianin yang mungkin berdampak pada penurunan aktivitas antiradikalnya. Keberadaan vitamin C mengakibatkan peningkatan laju degradasi dan penurunan waktu paruh sianidin 3-glukosida fraksi antosianin buah acai (*Euterpe oleracea* Mart) secara signifikan, namun tidak berpengaruh terhadap laju degradasi dan waktu paruh sianidin 3-rutinosida (Pacheco-palencia dkk., 2007). Aktivitas DPPH *radical scavenging* sianidin 3-glukosida lebih tinggi

dibanding sianidin 3-rutinosida (Kahkonen dan Heinonen, 2003; Gabrielska dan Oszmianski, 2005). Pacheco-palencia dkk. (2007), melaporkan bahwa keberadaan vitamin C mengakibatkan penurunan kapasitas antioksidan ORAC (*oxygen radical absorbance capacity*) fraksi antosianin buah acai (*Euterpe oleracea* Mart.).

Formulasi Minuman Isotonik Rosella Ungu

Ekstrak rosella yang digunakan untuk pembuatan minuman isotonik adalah ekstrak dengan pelarut air, karena teknik ekstraksi dengan pelarut air memperlihatkan kapasitas antiradikal tertinggi. Isotonik terdiri dari dua kata, yaitu “iso” yang berarti sama dan “tonik” yang berarti tekanan. Tekanan yang sama artinya cairan di dalam minuman isotonik harus mempunyai tekanan yang sama seperti yang terdapat dalam sel tubuh. Minuman isotonik didefinisikan sebagai minuman yang mengandung karbohidrat (monosakarida, disakarida dan terkadang maltodekstrin) dengan konsentrasi 6–9% (b/v) dan mengandung sejumlah kecil mineral (elektrolit) seperti natrium, kalium, klorida, posfat serta perisa buah (fruit flavor) (Murray dan Undermann, 2003). Garam-garam mineral yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah NaCl, KCl, MgCO₃, Ca-Laktat dan NaSitrat. Sedangkan untuk sumber karbohidrat digunakan sukrosa dan fruktosa.

Formulasi minuman isotonik rosella ini menggunakan karbohidrat sebesar 8% (b/v) terdiri dari sukrosa (75 g/L) dan fruktosa (5 g/L). Osmolaritas minuman isotonik rosella yang dibuat dalam penelitian ini adalah 301,74 mOsm/L. Murray dan Undermann (2003) menyebutkan bahwa kandungan karbohidrat minuman isotonik 6–9% (b/v). Nilai osmolaritas dan kandungan karbohidrat pada minuman isotonik ini juga memenuhi *Standard 2.6.2 Non Alcoholic Beverages and Brewed Soft Drinks (Federal Register of Legislative Instruments, 2009)* tentang minuman isotonik yang menyebutkan bahwa total karbohidrat minuman isotonik adalah 50–100 g/L dan osmolaritas rata-rata untuk minuman isotonik sebesar 250–340 mOsm/L.

Tabel 3. Hasil uji kesukaan terhadap warna, aroma, rasa, *overall* dari minuman isotonik rosella ungu

Proporsi ekstrak rosella yang ditambahkan	Skor tingkat kesukaan(*)			
	Warna	Aroma	Rasa	Overall
50%	0,51 ^a	0,21 ^a	0,76 ^a	0,77 ^a
60%	0,09 ^b	0,26 ^a	-0,04 ^b	-0,04 ^b
70%	-0,59 ^c	-0,48 ^b	-0,72 ^c	-0,72 ^c

Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$). Angka yang tertera di tabel merupakan hasil analisis ragam dengan menggunakan Tabel Fisher dan Yates. (*): Skor 0,85 menunjukkan tingkat kesukaan 1, skor 0 tingkat kesukaan ke-, skor -0,85 tingkat kesukaan terendah

Tingkat kesukaan konsumen terhadap minuman isotonik rosella ungu diuji menggunakan metode ranking untuk mendapatkan proporsi ekstrak rosella yang memberikan tingkat kesukaan tertinggi. Hasil uji kesukaan terhadap berbagai formula minuman isotonik rosella ungu disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 memperlihatkan bahwa proporsi ekstrak rosella yang ditambahkan berpengaruh terhadap kesukaan panelis terhadap warna, rasa dan *overall* minuman isotonik rosella ungu. Minuman isotonik dengan formula 50% ekstrak rosella secara signifikan memperlihatkan tingkat kesukaan tertinggi, baik terhadap parameter warna, aroma, rasa maupun *overall*. Berdasarkan uji sensoris yang telah dilakukan ini selanjutnya dipilih minuman isotonik dengan formula 50% ekstrak rosella ungu untuk ditentukan kapasitas antioksidan maupun efek konsumsinya terhadap kebugaran tubuh pasca stress fisik pada tahapan berikutnya.

Kapasitas Antioksidan Minuman Isotonik Rosella Ungu

Minuman isotonik rosella formula terpilih ditentukan kapasitas antioksidannya, meliputi kadar total antosianin, kadar vitamin C dan aktivitas antiradikal. Hal ini dimaksudkan untuk memastikan bahwa minuman isotonik rosella ungu yang dihasilkan masih memiliki kapasitas antioksidan. Dryby dkk. (2001) melaporkan bahwa degradasi antosianin kubis merah, *blackcurrant* dan *elderberry* dalam soft drink dengan konsentrasi sukrosa rendah (8,6%) lebih tinggi daripada dalam buffer pH 3. Stabilitas antosianin *blackcurrant*, *grape marc* dan *elderberry* dalam model sistem dengan penambahan sukrosa 10% lebih rendah dibanding kontrol tanpa penambahan sukrosa pada pH 3, 4 dan 5 (Malien-Aubert dkk., 2001). De Roso dan Mercadante (2007b) menunjukkan bahwa penambahan gula dan garam berdampak negatif terhadap stabilitas antosianin *acai* dan *acerola*. Mengingat pembuatan minuman isotonik melibatkan penambahan gula (sukrosa dan fruktosa) dan penambahan beberapa garam mineral, maka uji kapasitas antioksidan minuman isotonik rosella ini perlu dilakukan untuk menentukan potensi antioksidatif minuman isotonik rosella ungu formula terpilih.

Data kapasitas antioksidan minuman isotonik rosella ungu pada Tabel 4 memperlihatkan bahwa minuman isotonik rosella ungu yang dibuat dengan teknik dan formula terpilih (50% ekstrak rosella ungu) masih menunjukkan potensi

Tabel 4. Kapasitas antioksidan minuman isotonik rosella ungu

Kapasitas antioksidan	Minuman isotonik rosella ungu
Total antosianin (mg/L)	434,39 ± 15,52
Vitamin C (mg/L)	780,41 ± 19,88
Aktivitas antiradikal (ekuivalen mmol BHT/L)	35,68 ± 1,03

antioksidan yaitu kadar total antosianin, vitamin C dan kapasitas antiradikal berturut-turut 434,39 ± 15,52 mg/L; 780,41 ± 19,88 mg/L dan 35,68 ± 1,03 ekuivalen mmol BHT/L. Kapasitas antioksidan minuman isotonik yang meliputi kadar total antosianin, vitamin C dan aktivitas antiradikal kurang dari 50% kapasitas antioksidan ekstrak rosella ungu. Hal ini mengindikasikan bahwa pembuatan minuman isotonik mengakibatkan degradasi antosianin maupun vitamin C, sehingga mengakibatkan penurunan aktivitas antiradikalnya. Degradasi antosianin karena keberadaan gula maupun garam telah dilaporkan oleh beberapa penelitian sebelumnya (Dryby dkk., 2001; Malien-Aubert dkk., 2001; De Roso and Mercadante, 2007b). Garcia-Viguera dan Bridle (1999), De Rosso and Mercadante (2007a), Cao dkk. (2009), Cavalcanti dkk. (2011), melaporkan bahwa keberadaan vitamin C mengakibatkan penurunan kadar vitamin C maupun antosianin melalui mekanisme kondensasi.

Efek Konsumsi Minuman Isotonik Rosella Ungu terhadap Kebugaran Tubuh Pasca Stress Fisik

Latihan fisik merupakan suatu bentuk stress biologis yang dapat menimbulkan perubahan fisik fisiologik. Latihan fisik dapat meningkatkan stres oksidatif dan dapat menyebabkan ketidakseimbangan homeostasis (Finaud dkk., 2006). Kelompok intervensi dalam penelitian ini terdiri dari 3 macam, yaitu diberi air putih sebagai kontrol, minuman isotonik tanpa rosella ungu yang dibuat sendiri (bukan minuman isotonik yang dijual dipasaran) dan minuman isotonik rosella ungu. Tiap-tiap jenis minuman yang diberikan kepada responden adalah sebanyak 240 mL. Penelitian uji kebugaran dilakukan di pagi hari. Responden bersama-sama mengkonsumsi sarapan pagi dengan menu yang sama. Kemudian responden mengkonsumsi minuman sesuai dengan jenis minuman yang akan mereka konsumsi. Uji kebugaran dilakukan 90 menit setelah mengkonsumsi minuman. Menurut Walton (2006), antosianin dapat dideteksi pada plasma darah 6 menit setelah dikonsumsi dengan maksimal konsentrasi diraih 30 hingga 120 menit pasca konsumsi.

Berdasarkan data efek konsumsi minuman isotonik rosella ungu (Tabel 5), terbukti bahwa konsumsi minuman isotonik rosella ungu mampu meningkatkan kebugaran tubuh pasca stress fisik. Hal ini terlihat dari skor rerata IKJ responden

Tabel 5. Efek konsumsi minuman isotonik rosella ungu terhadap indeks kesegaran jasmani

Minuman	Indeks kesegaran jasmani
Air	32,95 ± 6,09 ^b
Isotonik	21,32 ± 1,40 ^a
Isotonik rosella ungu	52,31 ± 3,41 ^c

Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan berbeda nyata (*p* < 0,05)

yang mengkonsumsi minuman isotonik rosella ungu yang secara signifikan lebih tinggi dibanding yang lain dan masuk dalam kategori bugar (sedang). Meskipun konsumsi air putih memperlihatkan skor IKJ yang secara signifikan lebih tinggi dibanding minuman isotonik, namun keduanya masuk dalam kategori tidak bugar (kurang).

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa rosella ungu memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai minuman isotonik berpotensi antioksidan dan mampu meningkatkan kebugaran tubuh pasca stress fisik dengan aplikasi teknologi yang mudah dan sederhana. Teknik ekstraksi menggunakan pelarut air menghasilkan ekstrak rosella ungu dengan kapasitas antiradikal tertinggi. Minuman isotonik dengan penggunaan ekstrak air rosella ungu (50%) memiliki tingkat kesukaan tertinggi dan terbukti memiliki kapasitas antioksidan dan mampu meningkatkan kebugaran tubuh pasca latihan dengan skor IKJ mencapai 52,31.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, B.H., Wabel, N.A. dan Blunden, G. (2005). Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.: a review. *Phytotherapy Research* **19**: 369–375. doi: 10.1002/ptr.162.
- Ariviani, S. dan Parnanto, N.H.R. (2013). Kapasitas antioksidan buah salak (*Salacca edulis* Reinw) kultivar Pondoh, Nglumut dan Bali serta korelasinya dengan kadar fenolik total dan vitamin C. *Agritech* **33**(3): 324–333.
- Borowski, L. (1988). Sweating: Student find exercise and dehydration to be hot topics in chemistry. *The Science Teacher Journal* **65**(7): 20–25.
- Borrás-Linares, I., Fernández-Arroyo, S., Arráez-Roman, D., Palmeros-Suárez, P.A., Val-Díaz, R.D., Andrade-González, I., Fernández-Gutiérrez, A., Gómez-Leyva, J. F. dan Segura-Carretero, A. (2015). Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Industrial Crops and Products* **69**: 385–394. doi: 10.1016/j.indcrop.2015.02.053.
- Cao, S., Liu, L., Lu, Q., Xu, Y., Pan, S. dan Wang, K. (2009) Integrated effects of ascorbic acid, flavonoids and sugar on thermal degradation of anthocyanins in blood orange juice. *European Food Research Technology* **228**: 975–983. doi: 10.1007/s00217-009-1015-2.
- Cases, N., Aguilo, A., Tauler, P., Sureda, A., Lompart, I., Pons, A. dan Tur, J.A. (2005). Differential responses of plasma and immune cell's vitamin E levels to physical activity antioxidant vitamin supplementation. *European Journal of Clinical Nutrition* **59**(6): 781–788. doi: 10.1038/sj.ejcn.1602143.
- Castaneda-Ovando, A. Pacheco-Hernandez, M. L., Paez-Hernandez, M.E, Rodriguez, J.A. dan Galan-Vidal, C.A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* **113**: 859–871. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.09.001.
- Cavalcanti, R.N., Santos, D.T. dan Meireles, M.A.A. (2011). Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems-An overview. *Food Research International* **44**: 499–509. doi: 10.1016/j.foodres.2010.12.007.
- Chawla, K., Mishra, R., Sachdeva, V. dan Beenu. (2007). Correlation of antioxidant and fitness levels in undergraduate medical students. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology* **51**(3): 293–295.
- Christian, K.R., Nair, M.G. dan Jackson, J.C. (2006). Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory activity of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*). *Journal of Food Composition and Analysis* **19**(8): 778–783. doi: 10.1016/j.jfca.2006.04.004.
- Clarkson, P.M. dan Thompson, H.S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *The American Journal of Clinical Nutrition* **72**: 637S–646S.
- Costill, D.L. (1988). Carbohydrate for exercise: dietary demands for optimal performance. *International Journal of Sports Medicine* **9**(1): 1–18. doi: 10.1055/s-2007-1024971.
- Christian, K.R. dan Jackson, J.C. (2009). Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) during maturity. *Journal of Food Composition and Analysis* **22**(7): 663–667. doi: 10.1016/j.jfca.2009.05.007.
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I. dan Heinrich, M. (2014). *Hibiscus sabdariffa* L.—A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry* **165**: 424–443. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.002.
- Davis, J.M., Lamb, D.R., Pate, R.R., Slentz, C.A., Burgess, W.A. dan Bartoli, W.P. (1988). Carbohydrate-electrolyte drinks: effects on endurance cycling in the heat. *The American Journal of Clinical Nutrition* **48**: 1023–1030.

- De Rosso, V.V. dan Mercadante, A.Z. (2007a). The high ascorbic acid content is the main cause of the low stability of anthocyanin extracts from Acerola. *Food Chemistry* **103**: 935–943. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.09.047.
- De Rosso, V.V. dan Mercadante, A.Z. (2007b). Evaluation of colour and stability of anthocyanins from tropical fruits in an isotonic soft drink system. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **8**: 347–352. doi: 10.1016/j.ifset.2007.03.008.
- DepKes RI. (1994). *Pedoman Pengukuran Kesegaran Jasmani*. Direktorat Bina Kesehatan Puskesmas. Jakarta.
- Dhanutirto, H. (1970). *Kesanggupan Badan*. Tesis. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Dyrby, M., Westergaard, N. dan Stapelfeldt, H. (2001). Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. *Food Chemistry* **72**: 431–437. doi: 10.1016/S0308-8146(00)00251-X.
- Federal Register of Legislative Instruments (2009). *Standard 2.6.2 Non Alcoholic Beverages and Brewed Soft Drink*. Federal Register of Legislative Instruments, New Zealand.
- Finaud, J., Gerard, L. dan Edith, F. (2006). Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Journal of Sports Medicine* **36**(4): 327–358.
- Francis, F.J. (1989). *Colorants*. Eagan Press, Minnesota, USA.
- Gabrielska, J. dan Oszmianski, J. (2005). Antioxidant activity of anthocyanin glycoside derivatives evaluated by the inhibition of liposome oxidation. *Zeitschrift für Naturforsch* **60c**: 399–407.
- Garcia-Viguera, C. dan Bridle, P. (1999). Influence of structure on colour stability of anthocyanins and flavylum salts with ascorbic acid. *Food Chemistry* **64**: 21–26. doi: 10.1016/S0308-8146(98)00107-1.
- Giusti, M.M. dan Worshtad, R.E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible Spectroscopy. *Dalam*: Wrolstad, R.E., Acree, T.E., Decker, E.A., Penner, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Smith, D.M. dan Sporns, P. (ed). *Current Protocol in Food Analytical Chemistry*. Wiley, New York.
- Harborne, J.B. dan Williams, C.A. (1987). Anthocyanins and other flavonoids. *Natural Product Reports* **18**: 310–333. doi: 10.1039/NP9951200639.
- Hernández, Y., Lobo, M.G. dan González, M. (2006). Determination of vitamin C in tropical fruits: a comparative evaluation of methods. *Food Chemistry* **96**: 654–664. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.04.012.
- Ihara, H., Shino, Y., Morita, Y., Kawaguci, E., Hashizume, N. dan Yoshida, M. (2001). Is skeletal muscle damaged by the oxidative stress following anaerobic exercise? *Journal of Clinical Laboratory Analysis* **15**: 239–243.
- Jakeman, P. dan Maxwell, S. (1993). Effect of antioxidant vitamin supplementation on muscle function after eccentric exercise. *European Journal of Applied Physiology* **67**: 426–430.
- Kahkonen, M.P. dan Heinonen, M. (2003). Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**(3): 628–633. doi: 10.1021/jf025551i.
- Kong, J-M., Chia, L-S., Goh, N-K., Chia, T-F. dan Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* **64**: 923–933. doi: 10.1016/S0031-9422(03)00438-2.
- Krings, U. dan Berger, R.G. (2001). Antioxidant activity of some roasted foods. *Food Chemistry* **72**: 223–229. doi: 10.1016/S0308-8146(00)00226-0.
- Lapornik, B., Prosek, M. dan Wondra, A.G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering* **71**: 214–222. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2004.10.036.
- Lecarpentier, Y. (2007). Physiological role of free radicals in skeletal muscles. *Journal of Applied Physiology* **103**: 1917–1918. doi: 10.1152/jappphysiol.01047.2007.
- Malien-Aubert, C., Dangles, O. dan Amiot, M.J. (2001). Color stability of commercial anthocyanin-based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra- and intermolecular copigmentation. *Journal Agriculture and Food Chemistry* **49**(1): 170–176.
- Maud, P.J. dan Foster, C. (1995). *Physiological Assessment of Human Fitness*. Human Kinetics Publisher,ampaign, Illinois, USA.
- Meilgaard, M., Civille, G.V. dan Carr, B.T. (1999). *Sensory Evaluation Techniques*. Third edition. CRC Press, Boca Raton.
- Morillas-Ruiz, J., Garcia, J.A.V., Lopez, F.J. dan Vidal-Guevara, Z.P. (2006). Effect of polyphenolic antioxidants on exercise-induced oxidative stress. *Clinical Nutrition* **25**: 444–453. doi: 10.1016/j.clnu.2005.11.007.

- Murray, R.S. dan Undermann, B.E. (2003). Fluid replacement: a historical perspective and critical review. *International Sports Journal* 7(2): 58–73.
- Narwidina, P. (2010). *Pengembangan Minuman Isotonik Antosianin Beras Hitam (Oryza sativa L. indica) dan Efeknya terhadap Kebugaran dan Aktivitas Antioksidan pada Manusia Pasca Stres Fisik: A Case Control Study*. Thesis. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Nio, O.K. (1992). *Daftar Analisis Bahan Makanan*. Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Pacheco-palencia, L.A., Hawken, P. dan Talcot, S.T. (2007). Juice matrix composition and ascorbic acid fortification effects on the phytochemical, antioxidant and pigment stability of acai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Food Chemistry* 105: 28–35. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.03.027.
- Padayatty, S.J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.H., Chen, S., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S.K. dan Levine, M. (2003). Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition* 22(1): 18–35.
- Pérez-Ramírez, I. F., Castaño-Tostado, A., Ramírez-de León, J.A., Rocha-Guzmán, N.E. dan Reynoso-Camacho, R. (2015). Effect of stevia and citric acid on the stability of phenolic compounds and in vitro antioxidant and antidiabetic capacity of a roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage. *Food Chemistry* 172: 885–892. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.09.126.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. dan Gordon, M. (2001). *Antioxidants in Food*. CRC Press Cambridge. England.
- Suharto (1997). *Kebugaran Jasmani dan Peranannya, Informasi, Kesehatan, dan Olahraga*. Pusat Komunikasi Pemuda. Jakarta.
- Suntornasuk, L., Gritsanapun, W., Nilkamhank, S. dan Paochom, A. (2002). Quantitation of vitamin C content in herbal juice using direct titration. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 28(5): 849–855. doi: 10.1016/S0731-7085(01)00661-6.
- Tsai, P-J. dan Huang, H-P. (2002). Effect of polymerization on the antioxidant capacity of anthocyanins in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. *Food Research International* 37: 313–318. doi: 10.1016/j.foodres.2003.12.007.
- Turker, N. dan Erdogdu, F. (2006). Effects of pH and temperature of extraction medium on effective diffusion coefficient of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* var. L.). *Journal of Food Engineering* 76: 579–583. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2005.06.005.
- Wahjoedi (1999). *Landasan Evaluasi Pendidikan Jasmani Edisi I*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Walton, M.C. (2006). *Berry Fruit Anthocyanin and Human Nutrition-Bioavailability and Antioxidant Effects*. Thesis. Nutritional Science. Massey University, Palmerson North, New Zeland.
- Wang, L-S. dan Stoner, G.D. (2008). Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Letters* 269(2): 281–290. doi: 10.1016/j.canlet.2008.05.020.
- Wong, P-K, Yusof, S., Ghazali, H.M. dan Man, Y.B.C. (2002). Physico-chemical Characteristics of roselle (*Hibiscussabdariffa*L.). *Nutrition and Food Science* 32(2): 68–73. doi: 10.1108/0034665021041699.