

PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL DARI EKSTRAK ETANOL BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.) BERWARNA UNGU MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Andi Herlinda¹, Abd. Malik² dan Ahmad Najib³
Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia Makassar
andiherlinda@gmail.com

ABSTRACT

One of the herb plants, purple Roselle flowers (Hibiscus sabdariffa L), used to traditionally for various diseases. The aim of this research is to determine the total phenolic content of ethanol extract of purple Roselle flowers. Sample as many one kilograms extracted by maceration method using ethanol 96%. Resulty 120 grams thick extract. Total phenolic content determined by UV-Vis spectrophotometer at wave leght 743 nm with gallic acid as standard reference with Folin-Ciocalteau reagent. The result show the rendamen of ethanolic extract 12% with total phenolic content 1.6726 %.

Keywords: Total phenolic, extract ethanol of purple Roselle flowers (*Hibiscus sabdariffa* L), Folin-Ciocalteau method, UV-Vis spectrophotometer.

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tanaman sebagai bahan obat telah dimanfaatkan masyarakat Indonesia sejak dahulu, salah satu tanaman yan banyak digunakan sebagai bahan obat saat ini yaitu bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang menjadi begitu populer, hal ini dikarenakan hampir seluruh bagian tanamannya dapat digunakan untuk kebutuhan pengobatan. Nilai gizi dan kandungan kimia dari rosella diantaranya adalah vitamin C, vitamin A, dan 18 jenis asam amino yang diperlukan tubuh, protein, karbohidrat, tiamin, kalsium, antosianin, niacin, flavonoid, alkaloid dan asam stearat. Antosianin, flavonoid, dan polyphenol merupakan zat kardioprotektif pencegah penyakit kardiovaskular yang terdapat dalam kelopak bunga rosella. Selain itu kelopak bunga rosella juga berfungsi untuk menurunkan kadar kolesterol darah, antikanker, peluruh air seni, merangsang keluarnya empedu dari hati, antihipertensi, antidiabetes, mengurangi kekentalan (viskositas) darah, antiskorbut (sariawan akut), mengurangi batuk, meningkatkan peristaltik usus serta terapi gangguan liver dan asam urat (Herti, 2005; Mahadevan *et al.*, 2009).

Rosella (*Hibiscus sabdariffa*, L) adalah tanaman yang berasal dari Asia dan Afrika. Menurut penelitian yang dilakukan Hsieh dkk (2008) kelopak bunga Rosella memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 0,25 mg/ml (Ruangsri *et al.*, 2008).

Rosella mengandung senyawa fenolik yaitu flavonoid (antosianin) pada kelopak bunganya. Mengingat pentingnya fungsi senyawa fenolik sebagai antioksidan untuk pencegahan dan pengobatan

penyakit degeneratif, kanker, penuaan dini dan gangguan sistem imun tubuh, maka perlu dilakukan penelitian mengenai kadar fenolik total dalam kelopak bunga rosella ungu. Dengan demikian, usaha pemanfaatan tanaman rosella sebagai obat herbal dapat lebih maksimal karena dengan melihat kadar fenolik total maka besar aktivitas antioksidannya dapat diperkirakan (Apsari, 2011).

II. METODE PENELITIAN

A. Pengambilan dan pengolahan sampel

Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang digunakan berasal dari Lahan Gunung Pohsarung, Kecamatan Semen, Kabupaten Kediri (Jawa Timur). Sampel yang digunakan yaitu ekstrak etanol bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) berwarna ungu.

B. Pengolahan Sampel

Bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) berwarna ungu yang telah dikeringkan selanjutnya dibuat serbuk lalu siap diekstraksi.

C. Metode Ekstraksi

Serbuk bunga rosella kelopak berwarna ungu bunga Ditimbang 1 kg bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) ungu, kemudian dimasukan serbuk bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) ungu yang akan disari kedalam bejana maserasi. Dituang secara perlahan pelarut etanol 96% kedalam bejana maserasi yang berisi serbuk bunga rosella ungu. Kemudian biarkan cairan penyari merendam serbuk simplisia selama selama 3x24 jam, kemudian disaring dan dilakukan remaserasi dengan pelarut yang sama

sampai jernih. Proses ekstraksi ini dapat dihentikan apabila warna ampas serbuk telah berubah menjadi lebih pucat atau maserat berwarna lebih bening. Hasil penyarian dari ekstrak diuapkan dengan menggunakan rotavapor dibawah titik didih hingga diperoleh ekstrak kental dan untuk menghilangkan keberadaan jejak- jejak sisa air.

Penetapan Kadar Fenolik Total

a. Pembuatan Larutan baku

Pembuatan larutan standar asam galat dilakukan dengan melarutkan 10 mg asam galat kedalam etanol 96% menggunakan labu takar 10 mL hingga menghasilkan konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan stock dipipet sebanyak 0,25 mL diencerkan dengan etanol 96% hingga volume 25 mL hingga dihasilkan konsentrasi 10 ppm. Dari larutan tersebut dipipet 1, 2, 3, 4 dan 5 mL dan dicukupkan dengan etanol 96% hingga 10 mL, sehingga dihasilkan konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm. untuk pembuatan kurva baku masing-masing tabung reaksi. Selanjutnya untuk masing-masing larutan standar tersebut ditambahkan dengan 0,4 mL reagen Folin- Ciocalteau dan diinkubasi selama 4-8 menit. Kemudian larutan ditambahkan dengan 4,0 mL Na₂CO₃ 7%, lalu ditambahkan dengan aquadest steril sampai batas tanda. Setelah 2 jam inkubasi, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 743 nm dengan larutan blanko air suling dan reagen Folin-Ciocalteau.

b. Pengukuran Kadar Fenolik Total dari Bunga Rosella Berwarna Ungu

Penetapan kadar pada ekstrak etanol bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) ungu merujuk pada prosedur Chun *et al* (2003) dengan beberapa modifikasi yaitu sampel ekstrak etanol bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) ungu dibuat dengan cara menimbang 10 mg kemudian dilarutkan dengan 10 mL etanol 96% dan dihomogenisasi. Dipipet sebanyak 1 mL kemudian dicukupkan dengan 10 ml etanol 96%. Selanjutnya dipipet 1 ml dari larutan tersebut untuk tiga replikasi. Masing-masing larutan ditambahkan dengan 0,4 mL reagen *Folin-Ciocalteau* dikocok dan dibiarkan 4-8 menit, tambahkan 4,0 mL larutan Na₂CO₃ 7% kocok hingga homogen. Tambahkan aquadest steril hingga 10 mL dan diamkan selama 2 jam pada suhu ruangan. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum 743 nm yang akan memberikan kompleks biru. Lakukan 3 kali pengulangan sehingga kadar fenol yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen asam galat/100 mg sampel segar. Nilai fenolik total dinyatakan dalam *Galic Acid Equivalents* (GAE) tiap 100 g berat kering

ekstrak etanol bunga rosella ungu g GAE/100 g berat kering ekstrak etanol rosella ungu.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

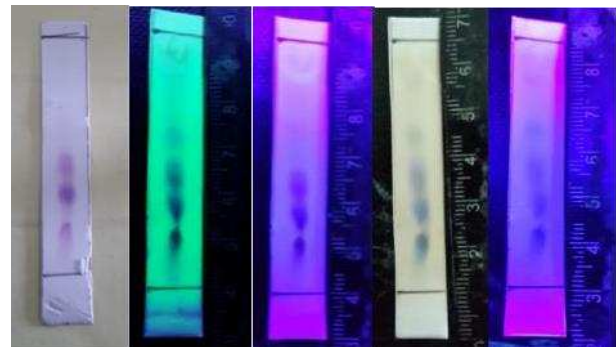
Bobot ekstrak etanol bunga rosella ungu yang diperoleh yaitu 120 gram. Sedangkan persen rendamen pada ekstrak etanol Rosella ungu 12%. Hasil pemeriksaan secara kualitatif dengan menggunakan KLT membuktikan bahwa kelopak bunga Rosella mengandung fenolik.

Tabel 1. Hasil Uji Kualitatif Adanya Senyawa Fenolik ekstrak etanol bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) ungu

Sampel	Uji fenolik	Hasil pengamatan (Flavonoid)
	FeCl ₃	
Kelopak Ungu	Biru Kehitaman	(+)

Keterangan :

(+) = menunjukkan adanya flavonoid



Gambar 1. Profil KLT Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Berwarna Ungu

Keterangan :

Fase diam : Silica gel 60 F₂₅₄

Fase gerak : n-nutanol:Asam asetat:Aquadest (4:1:5)

(A) Sinar tampak

(B) UV₂₅₄ nm

(C) UV₃₆₆ nm

(D) Penyemprotan FeCl₃

(E) Penyemprotan FeCl₃ UV₃₆₆ nm

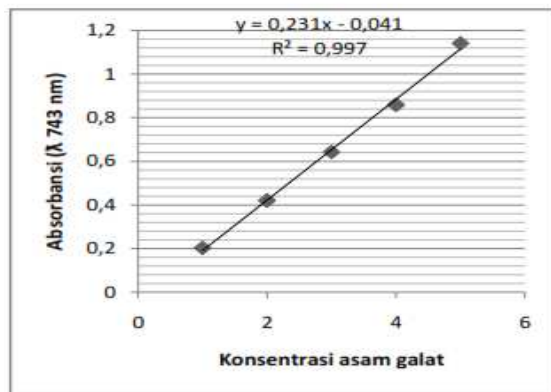
Analisis metode penetapan kadar fenolik dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu cara Chun *et al.* (2003), dan sebagai standar digunakan larutan asam galat atau asam 3,4,5-trihidroksibenzoat (C₆H₂(OH)₃CO₂H) (Apsari dan Susanti, 2011). Asam galat murni berbentuk bubuk organik Kristal tak berwarna dan merupakan molekul bebas atau bagian dari molekul tanin. Asam galat

mempunyai sifat antifungal, antioksidan, dan antiviral (Nely dan Fardiaz, 2007).

Untuk menentukan analisis fenolik total, terlebih dahulu dilakukan scanning dari panjang gelombang 400-800 nm. Diperoleh panjang gelombang maksimal 473 nm sesuai dengan metode Chun *et al* (2003). Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada larutan standar asam galat yang akan digunakan sebagai pembanding.

Tabel 2. Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total Bunga Rosella Berwarna Ungu

Sampel	Rata-rata kandungan fenolik total (mg GAE/100 g)	% Kadar Fenolik
Bunga Rosella Ungu	16,7265	1,6726



Gambar 2. Kurva kalibrasi asam galat pada panjang gelombang 743 nm

Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan serapan maksimum 473 nm. Warna yang dihasilkan dari larutan standar asam galat adalah kuning. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, semakin pekat warna kuning yang dihasilkan. Hasil Pengukuran absorbansi larutan standar asam galat diperoleh dimasukkan kedalam Microsoft excel untuk mendapatkan kurva kalibrasi larutan 4 standar asam galat berupa grafik kurva konsentrasi (C) versus absorbansi (A) dan dapat ditunjukkan pada gambar 2. Berdasarkan Gambar dapat dilihat bahwa kurva kalibrasi dengan persamaan regresi untuk untuk absorbansi asam galat sebesar $y = 0,2312x - 0,041$; larutan standar senyawa fenolik diperoleh hubungan yang linier antara absorbansi dengan konsentrasi. Pada pengukuran absorbansi yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0.9971. nilai (r) yang mendekati 1 menunjukkan bahwa persamaan regresi adalah linear.

Kandungan penting yang terdapat pada kelopak bunga rosella adalah pigmen antosianin yang merupakan golongan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan (Mardiah *et al*, 2009).

Adapun hasil yang diperoleh dari kadar fenolik total ekstrak etanol bunga Rosella ungu, 16,7265 mg RE/ g ekstrak atau 1,6726 %. Senyawa fenol yang terkandung dalam ekstrak etanol bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) berwarna ungu merupakan hasil metabolit sekunder yang potensial sebagai sumber bahan baku obat.

IV. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kadar ekstrak etanol bunga rosella ungu memiliki kandungan fenolik dengan kadar fenolik total sebesar 16,7265 mg GAE/g ekstrak dengan persentase kadar fenol total (b/b) sebesar 1,6726 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Apsari, P.D., & Susanti, H. 2011. *Perbandingan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Merah dan Ungu Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa, Linn) Secara Spektrofotometri*. ISBN: 978-979-18458-4-7.
- Ariati, R., Arifin, H., & Muchtar, H. 2012. *Pengaruh Fraksi Air Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa. L) Terhadap Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih Jantan Hiperkolesterol dan Hiperkolesterol Disfungsi Hati*. Artikel. Universitas Andalas.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Penelitian Tanaman Obat Dibeberapa Perguruan Tinggi Indonesia Edisi X*. Jakarta: Percetakan Negara.
- Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Chun, O.K., Kim, D.O., and Lee, C.Y., 2003, Superoxide Radical Scavenging Activity of The Major.
- Polyphenols in Fresh Plums, *J. Agric. Food Chem*, 51, 8067-8072.
- Fessenden, J, *et al*. 1986. *Kimia Organik Edisi III*. Glora Aksara Pratama. Jakarta.

- Harborne. (1996). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Harbone, J.R., (1987). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Mengekstraksi Tumbuhan*. Terjemahan Padmawinata Edisi kedua ITB. Bandung.
- Harmanto, N. 2007. *Herbal Untuk Keluarga Jus Herbal Segar dan Menyehatkan*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Harmita. 2006. *Petunjuk pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. FMIPA. Universitas Indonesia. Depok.
- Herty, M dan Kristiana, L. 2005, *Khasiat dan Manfaat Rosela*. Cetakan I, Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Huang, D., Ou, B., and Prior, R.L., 2005, The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841.
- Khopkar. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Laurence, J.D. 12 Juli 2013. *Hibiscus sabdariffa*. 17 September 2013: [http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search topic=TSN&search value=503001](http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search%20topic=TSN&search%20value=503001).
- Lee, K.I., Kim, Y.J., and Lee, C.H. 2003. Cocoa Has More Phenolic Phytochemical and Higher Antioxidant Capacity than Tea and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.*, 51 : 7292-7295.
- Mahadevan, N., Shivali and Kamboj, V. 2009. *Hibiscus sabdariffa Linn. – An overview*. Natural product radiance, Vol. 8(1), 2009, pp. 77-83.
- Mardiah, et al. 2009. *Budidaya dan Pengolahan Rosella*. Ed. Ke-1. Jakarta. Agromedia.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavanoid*. Terjemahan Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB : Bandung.
- Maryani, H., Kristiana, L. 2008. *Khasiat dan Manfaat Rosela*. Jakarta. PT Agro Media Pustaka. hal 6, 25-31.
- Mulja, M, dan Suharman. 1995. *Spektrofotometri UV-Vis. Analisis Instrumental (pp. 26,28-30)*. Surabaya : Airlangga University Press.
- Nely dan Fardiaz. 2007. *Aktivitas Antioksidan Rempah Pasar dan Bubuk Rempah Pabrik dengan Metode Polifenol dan Uji AOM (Active Oxygen Method)*. Institute Tehnologi Bandung : Bandung.
- Ruangsi, P., Chumsri, P., Sirichote, A., dan Itharat, A., 2008, Changes in Quality and Bioactive Properties of Concentrated Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) Extract, *As. J. Food Ag-Ind*,1(02), Hal 62-67.
- Rostinawati, T., 2009. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L.) Terhadap Escherichia coli, Salmonella typhi dan Staphylococcus aureus Dengan Metode Difusi Agar*. (Skripsi). Jatinangor : Universitas Padjadjaran.
- Seafast. 2 Maret 2012. *Senyawa Fenolik pada Sayuran Indigenus*. 21 September 2013 : <http://seafast.ipb.ac.id/tpc-project/wp-content/uploads/2012/03/1-senyawa-fenolik.pdf>
- Seafast. 2012. *Biosintesis Senyawa Fenolik*. 21 September 2013. seafast.ipb.ac.id/tpc-project/wp-content/uploads/2012/03/2-biosintesis.pdf.
- Silvi,2008 *Special Preblem With The Extraction of Plant*. Human Press : Totowa, New Jersey.
- Steenis. V, et al. 2005. *Flora*. PT. Pradnya Paramita, Jakarta.
- Sukesi dan Sirat, D.W. 2012. *Antioksidan dalam Baksos Rumput Laut Merah Eucheuma Cottonii*. *Jurnal Sains dan Seni Pomits* Vol. 1, No. 1: 1-4.
- Soekamto, M.A. *Pengaruh Pemberian Seduhan Kelopak Kering Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa) Terhadap kadar Trigliserida Serum Tikus Sprague-Dawley Hiperkolestrolemik*. Karya Tulis Ilmiah
- Sudjadi. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. PT. Pustaka Pelajar. Jakarta.
- Tanjong, A. 2011. *Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L.) Terhadap Koloni Candida*

Albicans yang Terdapat pada Plat Gigitiruan. (Skripsi). Makassar: Universitas Hasanuddin.

Ukheyana, E., (2012). Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik Dan Flavanoid total Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucid L. Kunth*). Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor

Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Penerjemah Dr. Soendani Noerono. Edisi Kelima. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.