

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa*) Menggunakan Metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazyl (DPPH)

(*Testing the Antioxidant Activity of Rosella Flower Extract (Hibiscus Sabdariffa) Using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) Method*)

Rodiatullah^[1], Roshandy Asri Fardani^{[2]*}, Idham Halid^[3], Bustanul Atfal^[4]

^{[1],[2],[3],[4]}D3 Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Medica Farma Husada Mataram

E-mail: rodibodak828@gmail.com, fardaniroushandy67@gmail.com, idhamhalid1988@gmail.com, atfalbustanul87@gmail.com

KEYWORDS:

Rosella Flower, Antioxidant, DPPH

ABSTRACT

Antioxidants are compounds needed by the body to counteract free radicals. These antioxidants can inhibit oxidation reactions, by binding free radicals and highly reactive molecules. One compound that can capture free radicals is Flavonoid derivatives. Rosella flower plants contain flavonoid compounds, namely anthocyanins. The purpose of this study was to determine the natural antioxidant activity of rosella flower extract with DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) method. Measurement of absorbance of flavonoid content contained in rosella flowers using Uv-Vis spectrophotometry. Antioxidant activity test with DPPH method and IC50 value parameter, to calculate antioxidant activity using linear regression equation. The result of antioxidant activity of rosella flower is 1.01 µg/mL and antioxidant activity of vitamin C as a comparison is 43.29 µg/mL. Antioxidant activity in rosella flowers and Vitamin C is categorized as very good.

KATA KUNCI:

Bunga Rosella, Antioksidan, DPPH

ABSTRAK

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dibutuhkan oleh tubuh untuk menangkal radikal bebas antioksidan ini dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Salah satu senyawa yang dapat menangkap radikal bebas yaitu turunan Flavonoid. Tanaman bunga rosella mengandung senyawa flavonoid yaitu golongan antosianin. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antioksidan alami ekstrak bunga rosella dengan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). Pengukuran absorbansi dari kandungan flavonoid yang terdapat pada bunga rosella menggunakan spektrofotometri Uv-Vis. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan parameter nilai IC₅₀, untuk menghitung aktivitas antioksidan menggunakan persamaan regresi linear. Hasil aktivitas antioksidan dari bunga rosella yaitu 1.01 µg/mL dan aktivitas antioksidan dari vitamin C sebagai pembanding yaitu 43.29 µg/mL. Aktivitas antioksidan pada bunga rosella dan Vitamin C masuk kedalam kategori sangat kuat.

1. PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan. Radikal bebas dapat masuk ke dalam tubuh dan menyerang sel-sel yang sehat dan menyebabkan sel-sel tersebut kehilangan fungsi dan strukturnya (Liochev, 2013). Efek negatif radikal bebas terhadap tubuh dapat di cegah dengan senyawa yang di sebut antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menstabilkan radikal bebas dalam

melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Selawa et al, 2013).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat mencegah reaksi berantai radikal bebas sehingga dapat menghindari kerusakan oksidatif pada lipida (Selawa et al., 2013). Di mana antioksidan memiliki kemampuan memberikan elektron, mengikat dan mengakhiri reaksi berantai radikal bebas (Halliwell, 2012). Antioksidan dapat diperoleh dalam bentuk sintetik dan alami, akan tetapi

kekhawatiran terhadap efek samping antioksidan sintetik menjadikan antioksidan alami menjadi alternatif yang terpilih. Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan oleh spesies oksigen reaktif, mampu menghambat penyakit degeneratif juga dapat menghambat peroksidasi lipid pada makanan.

Salah satu jenis bahan alam yang memiliki aktivitas antioksidan adalah Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*). Bunga Rosella memiliki kandungan vitamin, mineral, dan komponen bioaktif seperti asam organik, phytosterol dan beberapa diantaranya memiliki aktivitas antioksidan. Kandungan penting yang berperan sebagai antioksidan pada bunga Rosella adalah pigmen antosianin yang termasuk kedalam golongan flavonoid (Dwiyanti, 2014). Antosianin memiliki kemampuan yang tinggi sebagai antioksidan disebabkan karena kemampuannya menangkap radikal bebas dan menghambat peroksida lemak. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pratama (2022) bunga rosella mengandung senyawa antosianin yang berperan sebagai antioksidan, sehingga dari penelitian tersebut bunga rosella dapat digunakan untuk menghambat kenaikan bilangan peroksida pada minyak goreng curah.

Salah satu metode uji aktivitas antioksidan yang sering digunakan adalah metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl). Mekanisme kerja dari metode DPPH adalah mereaksikan antioksidan yang terdapat pada sampel dengan DPPH di mana antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya sehingga akan menghambat aktivitas dari radikal bebas (Sitorus dkk., 2013). Oleh karena itu, dilakukan penelitian ini dengan tujuan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak bunga rosella dengan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} . (Gustandy, 2013)

Berdasarkan paparan latar belakang tersebut, maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dengan metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil)

2. METODE PENELITIAN

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen. Prosedur penelitian atau tahapan yang dilakukan yaitu bunga rosella dicuci, dipotong dan dihaluskan dengan blender sambil ditambahkan pelarut. Perbandingan bunga rosella dan pelarut yaitu 1:2 (sebanyak 400g) bunga rosella dimaserasi dalam 1 L etanol teknis). Maserasi dilakukan selama 5 hari dan wadah coklat. Selanjutnya dilakukan penyaringan dan pengeringan sampel dengan metode evaporasi vakum menggunakan rotary vacuum evaporator. Hasil ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak bunga rosella sebanyak 50 gram.

Ekstrak bunga rosella seri konsentrasi 2 ppm, 5 ppm dan 10 ppm dari masing masing konsentrasi diambil 2 ml lalu tambahkan dengan larutan DPPH 40 ppm sebanyak 2 ml, lalu kocok dengan vortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 519 nm.

Aktivitas antioksidan diekspresikan dengan persen inhibisi yang dihitung dengan rumus persen inhibisi.

Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} dari masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC_{50} .

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh hasil sebagai berikut :

TABEL 1.
HASIL MASERASI BUNGA ROSELLA

Sampel	Bobot Kering	Bobot Ekstrak	Rendemen
Bunga Rosella	400 gram	50 gram	12,5%

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar aktivitas antioksidan ekstrak bunga rosella digunakan parameter nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%*). IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi senyawa antioksidan yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH. Hasil pengukuran antioksidan ekstrak bunga rosella berdasarkan hambatan yang diberikan pada radikal DPPH dapat dilihat pada Tabel 1.

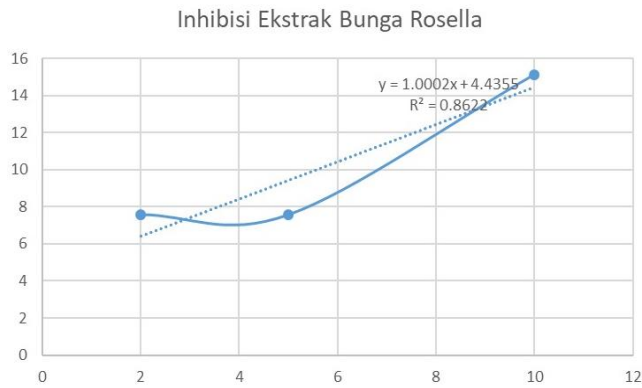
TABEL 2.
PERSEN ERSEN PENGHAMBAT ENGHAMBAT EKSTRAK KSTRAK BUNGA UNGA ROSELLA DAN VITAMIN C

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel	% Inhibisi
Ekstrak Bunga Rosella	2	0,158	0,146	7,59
	5		0,146	7,59
	10		0,134	15,13
Vitamin C	2	0,158	0,150	5,06
	5		0,146	7,59
	10		0,128	18,85

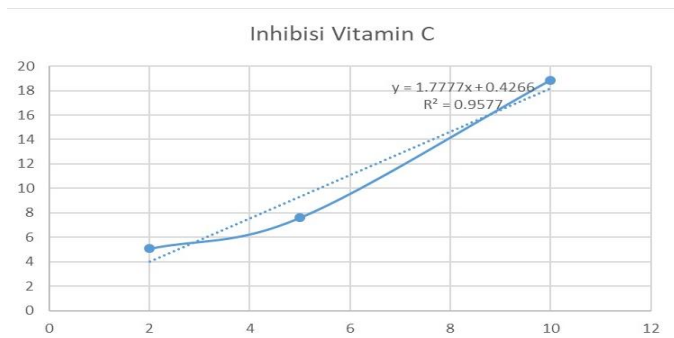
Berdasarkan Tabel 2 memperlihatkan bahwa semakin semakin besar konsentrasi larutan, aktivitas antioksidan semakin tinggi. Hal ini ditandai dengan semakin

padarnya warna DPPH dan semakin besarnya nilai % inhibisi.

Setelah mendapatkan data % penghambatan maka dibuat grafik antara konsentrasi larutan (x) dan % inhibisi (y). Data persen penghambatan selanjutnya dianalisis menggunakan persamaan regresi linear untuk didapatkan nilai IC₅₀. Berikut persamaan regresi linear ekstrak bunga rosella dan vitamin C.



Gbr 1. Persamaan Regrasi Linear Ekstrak Bunga Rosella



Gbr 2. Persamaan regrasi linear vitamin C

Nilai IC₅₀ ditentukan menggunakan persamaan regresi linear yang diperoleh. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas antioksidan (Molyneux, 2004). suatu senyawa antioksidan dikatakan sebagai nilai IC₅₀ 100-150 mg/L, lemah apabila nilai IC₅₀ antara 150-200 mg/L, dan sangat lemah bila nilai IC₅₀ lebih dari 200 mg/L

TABEL 3. NILAI KATEGORI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Nilai	Kategori
<50	Sangat kuat
51-100	Kuat
101-150	Sedang
151-200	Lemah
>200	Sangat Lemah

(Rahman, 2014)

Hasil persamaan regrasi linear, diperoleh nilai IC₅₀ ekstrak bunga rosella dan vitamin C seperti pada Tabel 4

TABEL 4 NILAI IC₅₀ EKSTRAK BUNGA ROSELLA DAN VITAMIN C

No.	Sampel	Nilai IC ₅₀ (mg/L)
1	Ekstrak Bunga Rosella	45,67
2	Vitamin C	24,49

Tabel 4 menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ dari ekstrak bunga rosella sebesar 45,67 mg/L sedangkan nilai IC₅₀ vitamin C jauh berbeda dengan ekstrak bunga rosella yaitu sebesar 24,49 mg/L. Aktivitas antioksidan ekstrak bunga rosella dan vitamin C sama-sama tergolong sebagai antioksidan sangat kuat.

B. Pembahasan

Ekstraksi merupakan salah satu metode pemisahan dua atau lebih komponen dengan menambahkan suatu pelarut yang tepat. Pada penelitian ini ekstraksi bunga rosella dilakukan dengan teknik maserasi. Pada teknik ini sampel bunga rosella segar yang telah dihaluskan dengan cara diblender kemudian direndam dengan etanol teknis 96%. Pemilihan pelarut etanol 96% tersebut didasarkan pada kemudahannya saat diuapkan serta sifatnya yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semi polar dan nonpolar (Sulastris dkk., 2015)

Metode pengujian antioksidan dengan menggunakan DPPH merupakan metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan sampel secara in vitro dan juga merupakan metode yang sederhana, cepat, serta bahan kimia dan sampel yang digunakan hanya sedikit. Uji aktivitas antioksidan ekstrak bunga rosella dilakukan dengan mengukur nilai aktivitas hambatan terhadap radikal bebas DPPH menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Prinsip dari metode ini adalah interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH.

IC₅₀ adalah konsentrasi efektif dari ekstrak bunga rosella yang mampu menangkal 50% dari total DPPH dalam larutan. Nilai IC₅₀ ekstrak bunga rosella dan asam askorbat yang ditentukan pada penelitian ini ditunjukkan pada Tabel .

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak bunga rosella memiliki nilai IC₅₀ sebesar 45,67 dan sebagai pembanding dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan asam askorbat, dan di peroleh nilai IC₅₀ sebesar 24,49. Nilai IC₅₀ ekstrak bunga rosella dan asam askorbat tergolong nilai yang sangat kuat untuk menangkal radikal bebas. Menurut Molyneux (2004) pada Tabel 3 tentang nilai kategori aktivitas antioksidan..Aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena bunga rosella banyak mengandung senyawa bioaktif seperti peptin, antosianin, dan flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan metabolit sekunder yang

tersebar pada tumbuhan dan termasuk senyawa fenolik sehingga cenderung mudah larut dalam pelarut polar. Flavonoid bersifat antioksidan sehingga mampu meredam aktivitas radikal hidroksil (Sidana et al., 2013).

Berdasarkan penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bunga rosella memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 45,67 ppm yang berarti ekstrak bunga rosella memiliki kemampuan sangat kuat sebagai antioksidan sesuai dengan kategori pada Tabel 3.

REFERENSI

- Agoes, Goeswin., 2008. Pengembangan Sediaan Farmasi, Edisi Revisi dan Perluasan, 206, 207, ITB, Bandung.
- Alfira, A. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Aktif Kulit Batang Sintok. Skripsi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Barus, P. 2009. Pemanfaatan Bahan Pengawet dan Antioksidan Alami pada Industri Bahan Makanan. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap Dalam bidang Ilmu Kimia Analitik Pada Fakultas MIPA Diucapkan di Hadapan Rapat Terbuka Universitas Sumatra Utara 3.
- Dwiyanti, Gebi dan Hati Nuraeni. 2014. Aktivitas Antioksidan The Rosella (Hibiscus sabdariffa) Selama Penyimpanan dan Suhu Ruang. Seminar : Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains Vol 5, No 1. Bandung : Universitas Pendidikan Indonesia.
- Fardani, Roushandy, 2018. Pengaruh Penambahan Bubuk Bawang Merah Terhadap Bilangan peroksida Pada Minyak Goreng Curah. Media Of Medical Laboratory Sciene Vol. 2 (1) Hal. 35.
- Ghosal, M. dan Mandal, P. 2012. Phytochemical screening and antioxidant activities of two selected bihi fruits used as vegetable in Darjeeling Himalaya. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. ISSN:0975-1491.4(2)
- Gustandy, M. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Buah Anggur Bali. Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas. 10(2):109-120
- Hernani dan Raharjo, M., 2005, Tanaman Berkhasiat Antioksidan, Cetakan I, Penebar Swadaya, Jakarta, Hal 3, 9, 11, 16-17.
- Ingrid, M. et al., 2018. Karakteristik Antioksidan pada Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L). Jurnal Rekayasa Hijau Vol 2(3).
- Jagdish Singh AK, Upadhyay A, Bahadur B, Singh B, Singh KP, Mathura Rai AK. 2006 Antioxidant phytochemical in cabbage (Brassica Oleracea L. var. capitata). Scientia Horticulture ; 108:233-237.
- Kemendag, 2019. Mengenal Definisi Minyak Curah Versi Kementerian Perdagangan <https://m.Cnnindonesia.com>.
- Kristiani dan Sri Kasmiyati. 2007. Minyak Krengseng Fermentatif dari Ketam Sawah (Birgus Latro). Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, 3(2).
- Rahman, N., Bahriul, P., & Diah, A.W.M. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam dengan menggunakan 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. Jurnal Akademika Kimia, 3(3), 143-149.
- Triyem. 2010. Aktivitas Antioksidan dari Kulit Batang Manggis Hutan (Garcinia cf. bancana Miq), Tesis, Program Pascasarjana, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Vasic, S.M., Stefanovic, O.D. 2012. Biological Activities of Extracts from Cultivated Granadilla Passiflora alata. EXCLI Journal, 11:208-21-ISSN 1611-2156.