



Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol-air (1:1) bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

VITRI AGUSTIARINI* DAN DINA PERMATA WIJAYA

Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan 30862, Indonesia

<p>Kata kunci: antioksidan, bunga rosella, DPPH, IC₅₀, radikal bebas</p>	<p>ABSTRAK: Senyawa radikal bebas merupakan produk metabolisme normal didalam tubuh yang dapat menyebabkan terjadinya oksidasi seperti kerusakan membran, modifikasi protein, kerusakan DNA, dan kematian sel. Penggunaan antioksidan dapat meredam dan menangkap radikal bebas. Tumbuhan yang memiliki aktivitas antioksidan yaitu bunga rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.). Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol-air (1:1) bunga rosella dan vitamin C sebagai pembanding metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine) dengan parameter IC₅₀. Penelitian ini menggunakan konsentrasi 20,40,60,80 dan 100 ppm. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak etanol-air (1:1) bunga rosella sebesar 43µg/ml yang termasuk kedalam antioksidan sangat kuat sedangkan IC₅₀ vitamin C sebesar 2,06 µg/ml. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa ekstrak etanol air (1:1) bunga rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat.</p>
<p>Keywords: antioxidants, roselle flowers, DPPH, IC₅₀, free radicals</p>	<p>ABSTRACT: Free radical compounds of normal metabolic products in the body that can cause oxidation such as membrane damage, protein modification, DNA damage, and cell death. The use antioxidants can reduce and capture free radicals. Roselle flowers (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) are antioxidant-rich plants. The purpose study was to antioxidant activity of the ethanol-water extract (1:1) of rosella flower and vitamin C using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine) method with parameter IC₅₀. This study concentrations of 20,40,60,80 and 100 ppm. The results showed that the IC₅₀ value of the ethanol-water extract (1:1) of rosella flower was 43 g/ml which is a very strong antioxidant, while the IC₅₀ of vitamin C was 2.06 g/ml. Conclusion of this study ethanol-water extract (1:1) of rosella flower (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L) has antioxidant activity.</p>

1 PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan hasil proses metabolisme didalam tubuh seperti radikal hidroksil, peroksil dan superoksida apabila produksi berlebih menyebabkan timbulnya stres oksidatif [1]. Stres oksidatif ini dapat menyebabkan kerusakan oksidatif baik secara langsung atau tidak langsung pada tingkat makromolekul seperti protein, lipid, karbohidrat, asam nukleat. Selain itu, stres oksidatif dapat memicu beberapa proses seluler seperti vasodilatasi, transduksi sinyal, diferensiasi sel, perkembangan dan sejumlah penyakit degeneratif [2]. Antioksidan dapat mencegah terjadinya kerusakan jaringan dan sel yang disebabkan oleh radikal bebas [3]. Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat mencegah stress oksidatif dengan menghambat reaksi rantai oksidatif sehingga tubuh terlindungi dari berbagai macam

penyakit degeneratif. Antioksidan yang sering digunakan yaitu antioksidan sintetik. Penggunaan antioksidan sintetik dapat menyebabkan masalah kesehatan diantaranya rheumatoid arthritis, penyakit jantung kanker dan penuaan dini. Dari permasalahan tersebut, maka perlu dilakukan penggantian antioksidan sintetik menjadi antioksidan alami dari bahan alam [4]. Salah tanaman memiliki aktivitas farmakologi sebagai antioksidan yaitu bunganrosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Bunga rosella memiliki metabolit sekunder berupa asam protocatechuic dan antosianin yang memiliki efek farmakologi sebagai anti kanker, hipertensi, peradangan, mutase genetik, leukemia dan gangguan gastrointestinal [5,6]. Ekstrak bunga rosella memiliki metabolit sekunder yaitu cyanidin-3-O-sambubioside, delphinidin-3-O-glucoside, delphinidin-3-O-sambubiosid, polyphenolic compounds dan organic acids [7,8]. Berdasarkan penelitian ekstrak rosella mengandung bioaktif antosianin total senyawa

* Corresponding Author: email: vitriagustiarini@mipa.unsri.ac.id No HP.: +62 85292211664

wa $14,80 \pm 0,08$ mg/g, dengan total fenol $23,77 \pm 0,25$ mg/g, vitamin C $10,74 \pm 0,14$ mg/g, IC_{50} 202.47 L/mL, dan aktivitas mikroba pada *Staphylococcus aureus* $11,6 \pm 0,3$ dan *Escherichia coli* $12,6 \pm 0,6$ mm [9]. Berdasarkan penelitian ekstrak etanol kelopak rosella memiliki aktivitas antioksidan IC_{50} 130 ppm [10]. Kemampuan suatu senyawa sebagai antioksidan dalam menghambat radikal dilihat dari kemampuan senyawa dalam mendonorkan hydrogen. Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka peneliti tertarik untuk melakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol-air (1:1) bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

2 BAHAN DAN METODE

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Bahan yang digunakan pada penelitian yaitu bunga rosella, ascorbic acid, 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), aquadest, etanol pa, etanol 96%, metanol

Waktu dan tempat

Penelitian dilakukan pada Agustus sampai September 2021 di Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Universitas Sriwijaya.

Prosedur Penelitian

Preparasi Ekstrak

Untuk persiapan sampel, sebanyak 300 g serbuk rosella diekstraksi dengan metode maserasi dengan perbandingan pelarut etanol 96% dan air (1:1) v/v selama 3 x 24 jam kemudian ekstrak disaring dan filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40 C.

Uji Aktivitas Antioksidan

Pembuatan Larutan dan Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Larutan DPPH 0,1 mM dibuat dengan cara menimbang DPPH 3,95 mg dan dilarutkan hingga homogen dalam etanol p.a 100 mL. Larutan disimpan dalam wadah yang terlindungi cahaya selanjutnya diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm untuk menentukan panjang gelombang optimum [11].

Penentuan Operating Time

Siapkan labu ukur 5 mL sebanyak 3 buah, masing-masing ditambahkan larutan DPPH dan larutan vitamin C $15 \mu\text{g/mL}$ dan ditambahkan methanol p.a sampai tanda batas kemudian divorteks selama 30 detik, dan serapan nya diukur menggunakan spek-

trofotometer UV-Vis pada panjang gelombang optimum setiap 5 menit sekali selama 60 menit. Lakukan replikasi sebanyak 3 kali

Pengukuran Larutan Vitamin C sebagai Pembanding

Pembuatan larutan induk vitamin C konsentrasi 100 ppm dengan cara menimbang 1 mg vitamin C dan dilarutkan dalam 10 mL aquadest kemudian dikocok hingga homogen. Larutan vitamin C dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Setiap konsentrasi diambil 1 mL dan tambahkan larutan DPPH 0,1 mM 1 ml dan dikocok hingga homogen dan diinkubasi pada suhu ruang berdasarkan penentuan operating time. Serapan dari larutan diukur pada panjang gelombang yang telah didapatkan dari penentuan panjang gelombang optimum DPPH [11].

Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Larutan induk masing-masing ekstrak dibuat dengan konsentrasi 750 ppm dengan cara ekstrak etanol-air (1:1) bunga rosella ditimbang sebanyak 7,5 mg dan dilarutkan dalam 10 mL aquadest kemudian dikocok hingga homogen. Kemudian diencerkan untuk memperoleh konsentrasi 20,40,60,80 dan 100 ppm. Setiap konsentrasi diambil 1 mL, ditambahkan larutan DPPH 0,1 mM 1 mL lalu dikocok hingga homogen kemudian diinkubasi pada suhu ruang sesuai penentuan operating time (OT). Serapan diukur pada panjang gelombang optimum DPPH [12].

Perhitungan Inhibition Concentration 50 % (IC_{50})

Uji aktivitas antioksidan data dianalisis menggunakan dengan persamaan regresi linier ($y = bx + a$) dan diperoleh nilai IC_{50} . Penentuan aktivitas antioksidan berdasarkan besarnya serapan radikal DPPH oleh sampel melalui perhitungan persentase inhibisi dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs. kontrol} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. kontrol}} \times 100\%$$

Serapan DPPH digunakan untuk menghitung IC_{50} . IC_{50} merupakan konsentrasi sampel yang dapat meredam 50% radikal.. Aktivitas antioksidan sebagai peredaman radikal bebas menggunakan regresi linier dengan persamaan regresi ($y = a + bx$) dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai sumbu x dan nilai % inhibisi (antioksidan) sebagai sumbu y. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan IC_{50} setiap sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang diperoleh sebagai IC_{50} [13].

Analisis Data

Aktivitas antioksidan di ukur spektrovotometer UV-Vis, dan data yang diperoleh disajikan dalam bentuk

tabel. Perbandingan yang digunakan sebagai kontrol positif adalah vitamin C.

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Aktivitas Antioksidan

Hasil Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Pengukuran panjang gelombang maksimum digunakan untuk mengetahui λ yang memiliki serapan tertinggi. Pengukuran sampel dilakukan pada panjang gelombang maksimum dengan tujuan untuk memperoleh kepekaan lebih maksimal dan meminimalkan kesalahan [15]. Hasil penentuan panjang gelombang DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) konsentrasi 0,1 mM diperoleh λ maks sebesar 515 nm. Berdasarkan hasil yang diperoleh berbeda dengan absorbansi λ maks secara teoritis yaitu 517 nm. Perbedaan 2 nm masih dalam batas yang diperbolehkan yaitu kurang 3 nm.

Waktu Operating Time

Tujuan penentuan operating time (OT) yaitu untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan larutan pembanding dalam penelitian ini yaitu vitamin C tepat habis bereaksi. Konsentrasi larutan 0,1 mM diperoleh Panjang gelombang 515 nm. Penentuan operating time (OT) berdasarkan waktu nilai absorbansi mulai stabil yang ditunjukkan dengan selisih nilai absorbansi tiap selang waktu. Adapun grafik operating time. Berdasarkan hasil penentuan OT pada larutan pembanding vitamin C terlihat bahwa absorbansi mulai stabil pada menit ke-20 hingga menit ke-25 yaitu 0,056 nm. Hasil yang diperoleh sudah sesuai dengan absorbansi maksimum DPPH yaitu 20-25 menit [16].

Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Berbanding Air (1:1) Bunga Rosella dan Larutan Vitamin C (IC_{50})

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol berbanding air (1:1) bunga rosella menggunakan metode DPPH dan vitamin C sebagai pembanding dapat dilihat pada Tabel 1.

Penelitian ini menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Prinsip metode DPPH perubahan warna DPPH dari violet menjadi kekuningan karena terjadi proses donasi hydrogen elektron sehingga akan tereduksi dan besarnya donor elektron sebanding dengan perubahan warna dan diikuti penurunan absorbansi DPPH [17]. Selanjutnya nilai % inhibisi digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi ekstrak (ppm) yang dapat menghambat stress oksidatif sebesar 50%. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh nilai absorpsi se-

makin kecil dengan peningkatan konsentrasi larutan. Penurunan absorbansi disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi larutan, karena semakin banyak senyawa antioksidan yang menjadi donor elektron dari DPPH. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol-air (1:1) bunga rosella memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} 43 μ g/ml meskipun jika dibandingkan dengan vitamin C memiliki hasil aktivitas antioksidan yang sangat aktif/kuat dengan nilai IC_{50} 2.058 μ g/ml. Hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan pada uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kelopak bunga rosella 67,3 ppm yang termasuk dalam katagori antioksidan sangat kuat [18]. Persen penangkapan radikal bebas dapat dilihat bahwa persen inhibisi vitamin C lebih kuat dibandingkan dengan sampel uji yang digunakan. Hal ini disebabkan karena vitamin C merupakan senyawa yang murni dan senyawa populer dalam menangkal radikal bebas [19].

Tabel 1. Hasil pengukuran IC_{50} ekstrak etanol-air (1:1) bunga rosella dan vitamin C

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		% Inhibisi	IC_{50} (μ g/ml)
		Blanko	Sampel		
Vitamin C	2	1.278	0.624	51.498	2.058
	4	1.278	0.559	56.241	
	6	1.278	0.518	59.499	
	8	1.278	0.382	70.523	
	10	1.278	0.290	77.456	
Ekstrak Etanol : Air (1:1) Bunga Rosella	20	1	0.704	42.121	43
	40	1	0.665	45.327	
	60	1	0.584	51.932	
	80	1	0.335	72.430	
	100	1	0.239	80.295	

Metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol-air (1:1) bunga rosella yaitu flavonoid. Senyawa flavonoid mendonorkan atom hidrogen ke radikal bebas DPPH yang dapat membentuk senyawa DPPH tereduksi (DPPH-H) yang stabil. Pada keadaan diamagnetik DPPH-H menjadi stabil. Hasil donasi proton flavonoid diberikan pada radikal O^* yang diikuti dengan reaksi terminasi flavonoid. Kemampuan flavonoid dalam menurunkan stress oksidatif dan mengurangi ROS (*reactive oxygen species*) dapat memiliki efek sebagai antioksidan. Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan melalui dua jalur yaitu dengan peredam radikal bebas secara langsung dengan menyumbangkan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya, sehingga flavonoid akan teroksidasi oleh radikal menjadi senyawa yang lebih stabil melalui *chelating ion logam* [20].

4 KESIMPULAN

Dari hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol-air (1:1) bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ 43 µg/ml dan IC₅₀ Vitamin C 2.058 µg/ml.

Ucapan Terima Kasih

Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya Nomor 0265/UN9.FMIPA/TU.SK/2021, yang telah membantu memberikan bantuan biaya penelitian melalui skema dana inovasi 2021.

REFERENSI

- [1] Benharlal PS, Arumughan C.2007., *Chemical composition and in vitro antioxidant studies on Syzigium cumini fruit*. J Sci Food Agr 2560–2569. doi: 10.1002/jsfa.2957.
- [2] Islam S, Nasrin S, Khan MA, Hossain ASMS, Islam F, Khandokhar P, Mollah MNH, Rashid M, Sadik G, Rahman MAA, Alam AHMK.2013., *Evaluation of antioxidant and anticancer properties of the seed extracts of Syzigium fruticosum Roxb*. Growing in Rajshahi, Bangladesh. BMC Compl Altern Med.142–151. doi: 10.1186/1472-6882-13-142.
- [3] Saefudin, Marusin, S. dan Chairul, 2013., *Aktivitas Antioksidan pada Enam Jenis Tumbuhan Sterculiaceae*. Bogor: Jurnal Penelitian Hasil Hutan. Vol 31(2): 103-104.
- [4] Sen S, Chakraborty R, Sridahar C, Reddy YSR, De B. 2010., *Free radical, antioxidant, disease and phytomedicines: current status and future prospect*. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research.3(1):91-100.
- [5] Mohd-Esa N, Hern FS, Ismail A, Yee CL. 2010., *Antioxidant activity in different parts of roselle (Hibiscus sabdariffa L.) extracts and potential exploitation of the seeds*. Food Chem 122:1055–1060
- [6] Yin G, Cao L, Xu P, Jeney G, Nakao M, 2011., *Hepatoprotective and antioxidant effects of Hibiscus sabdariffa extract against carbon tetrachloride-induced hepatocyte damage in Cyprinus carpio*. Vitro Anim Cell Dev Biol 47:10–15
- [7] Formagio ASN, Ramos DD, Vieira MC, Ramalho SR, Silva MM, Zarate NAH, Foglio MA, Carvalho JE. 2015., *Phenolic compounds of Hibiscus sabdariffa and influence of organic residues on its antioxidant and antitumoral properties*. Braz J Biol 75(1):69–76
- [8] Tahir HE, Xiaobo Z, Jiyong S, Mariod AA, Wiliam T. 2016., *Rapid determination of antioxidant compounds and antioxidant activity of Sudanese Karkade (Hibiscus sabdariffa L.) using near infrared spectroscopy*. Food Anal Method 9:1228–1236
- [9] Maksun, A. and I.S.M. Purbowati.2017., *Optimasi Ekstraksi Senyawa Fenolik dari Kelopak Bunga Roselle (Hibiscus sabdariffa) Berbantu Gelombang Mikro*. Agrin, 21(2): 91-104.
- [10] Hutami, R.A.P., Joshita, D., Abdul, M.2014., *Pemanfaatan Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L.) sebagai Pewarna dan Antioksidan Alami dalam Formulasi Lipstik dan Sediaan Oles Bibir*. Depok. Fakultas Farmasi UI. Halaman 2-5.
- [11] Febriani, K. 2012., *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Gambir (Cocculus orbiculatus (L.) DC dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi yang Aktif*, Skripsi, S.Farm., Farmasi, FMIPA, Universitas Indonesia, Depok
- [12] Bendira, A. 2012., *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Premna oblongata Miq dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Teraktif*, Skripsi, S.Farm, Program Studi Ekstensi Farmasi, FMIPA, Universitas Indonesia, Depok.
- [13] Ulfah Rahmayani, Delianis Pringgenies, Ali Djunaedi, 2013., *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Keong Bakau (Telescopium telescopium) dengan Pelarut yang Berbeda terhadap Metode DPPH (Diphenyl Picril Hidrazil)*. Journal Of Marine Research, Halaman 36-45
- [14] Isnindar. 2011., *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (Diopyroskaki Thunb) dengan Metode DPPH*. Majalah Obat Tradisional. 16 (3). 157-164.
- [15] Gandjar, I.G., dan Rohman, A.2007., *Kimia Farmasi Analisis*. Cetakan II. Yogyakarta.
- [16] Buanasari, Eden, W.T., dan Solichah, A.I., 2017., *Extraction of Phenolic Compound from Petai Leaves (Parkia speciosa Hassk.) Using Microwave and Ultrasound Assisted Methods*, JBAT, 6 (1), 25-31.
- [17] Dris, R. And Jain, S.M., 2004., *Production Practices and Quality Assessment of Food Crops: Quality Handling and Evaluation*, kluwer Academic Publisher, New York, pp. 58-60
- [18] Maria Ingrid, Yansen Hartanto dan Jesslyn Fedora Widjaja,2018., *Karakteristik Antioksidan pada Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa Linn.)*, Jurnal Re-kayasa Hijau Vol 2 No 3, pp 283-289
- [19] Ika Juniawati Putri, Fauziah dan Elfita,2012., *Aktivitas Antioksidan Daun dan Biji Buah Nipah (Nypa fruticans) Asal Pesisir Banyuasin Sumatera Selatan Dengan Metode DPPH*, Maspari Journal, 2013, 5 (1), 16-21
- [20] Nijveldt, R.J., Van Nood, E., & Van Hoorn, D.E.C., 2001, *Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications*, American Journal of Clinical Nutrition, 74/4, pp 418-425