

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Radikal Bebas dan Stres Oksidatif

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya, dan memiliki sifat yang sangat labil dan reaktif (Andesty Nanda, *et al.* 2020) Radikal bebas memiliki peran penting dalam kerusakan jaringan dan proses patologi dalam organisme hidup. Abnormalnya kadar radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh dapat menyerang senyawa yang rentan, seperti lipid dan protein dan berimplikasi pada timbulnya berbagai penyakit (Amic *et al.* 2013).

Radikal bebas dapat diproduksi secara alami oleh tubuh baik melalui proses metabolisme, peradangan (*inflamasi*), kekurangan gizi, dan dapat juga disebabkan oleh faktor eksternal yaitu respon tubuh terhadap pengaruh dari luar seperti polusi udara, sinar UV dan asap rokok (Winarsi, 2007 dalam penelitian Sari, 2017:107). Adapun yang termasuk radikal bebas yaitu *Reactive Oxygen Species* (ROS), *Reactive Nitrogen Species* (RNS), dan radikal lainnya (Puspitasari; dkk, 2016). Apabila produksi radikal bebas dalam jumlah abnormal, maka dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif. (Apollo Sinaga, 2016:176).

Stres oksidatif merupakan keadaan yang ditandai dengan terjadinya ketidakseimbangan antara senyawa antioksidan alami di dalam tubuh dan produksi radikal bebas yang berlebihan. Stres oksidatif dapat menyebabkan berkurangnya kemampuan darah dalam mengantarkan oksigen sehingga dapat menyebabkan apoptosis (kematian) sel (Khairun dan Desty, 2018:412-413). Secara kumulatif *stres oksidatif* menjadi penyebab berbagai penyakit seperti gangguan pada pembuluh darah (arteriosklerosis, hipertensi, iskemia, kardiomiopati, gagal jantung), penyakit pada mata (katarak dan retina), saraf (alzheimer, parkinson, depresi dan stroke), paru-paru (asma dan bronkitis), sendi (rematik dan radang), multi organ (kanker, penuaan, diabetes, inflamasi dan infeksi), ginjal (glomerulonefritis dan gagal ginjal) dan gangguan pada janin (preeklamsia) (Puspita, 2017:15).

B. Antioksidan

Salah satu senyawa yang sangat diperlukan untuk menghambat radikal bebas dan mencegah terjadinya stres oksidatif tersebut adalah antioksidan. Dalam pengertian kimia, antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron yang bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat sebagai oksidan sehingga aktivitasnya dapat dihambat (Malangngi, Sangi, Paendong, 2012:6). Antioksidan dapat tersedia dalam beberapa bentuk seperti:

- a. gizi (vitamin E dan vitamin C)
- b. non-gizi (karoten, likopen, flavonoid, dan klorofil)
- c. enzim (glutathion peroksidase, koenzim Q10 atau ubiquinon) (Amin, 2015:2).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan radikal bebas. Antioksidan akan berinteraksi dengan cara menstabilkan radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan karena radikal bebas yang mungkin dapat terjadi (Handayani et al., 2018). Antioksidan yang biasa digunakan oleh manusia ada dua macam yaitu:

- a. Antioksidan sintetis (buatan)

Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia dan diproduksi untuk tujuan komersial. Antioksidan sintetis biasanya banyak digunakan oleh industri pangan dan makanan, yang paling sering digunakan yaitu BHA (*Butylated Hydroxyl Anisole*), BHT (*Butylated Hydroxytoluene*) dan profil galat (Sari, 2017:108). Jika dilihat berdasarkan batas asupan harian yang ditetapkan oleh BPOM, batas penggunaan BHA adalah 0–0,5 mg/kg berat badan, sedangkan batas penggunaan BHT perhari adalah 0–0,3 mg/kg berat badan (BPOM RI, 2019:159-160). Jika penggunaan antioksidan sintetis melebihi batas asupan yang telah ditetapkan, dapat menyebabkan keracunan dan bersifat karsinogenik (Wulansari, 2018:421).

Antioksidan alami.

Antioksidan alami adalah antioksidan yang diperoleh secara alami yang sudah ada dalam bahan pangan. Antioksidan alami berupa senyawa flavonoid yang merupakan kelompok senyawa polifenol yang berasal dari tanaman seperti teh, buah - buahan dan sayuran salah satunya adalah kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Senyawa flavonoid dapat bekerja langsung untuk meredam radikal bebas oksigen seperti superoksida yang dihasilkan dari reaksi enzim xantin oksidase. Selain bekerja sebagai antioksidan, flavonoid dapat bekerja sebagai antiaterosklerosis, antitrombogenik, antiinflamasi, antitumor, antivirus dan antiosteoporosis (Simanjuntak, 2012). Sistem antioksidan dalam tubuh manusia terbagi menjadi 3 golongan diantaranya (Risma, 2022:7):

1. Antioksidan Primer

Antioksidan primer yaitu antioksidan yang fungsinya mencegah pembentukan radikal bebas selanjutnya (propagasi), contoh dari antioksidan ini adalah transferin, feritin, vitamin A, fenolat, flavonoid, katekin, kuersetin dan albumin.

2. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder yaitu antioksidan yang fungsinya menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukannya, contoh dari antioksidan sekunder yaitu *Superoxide Dismutase (SOD)*, *Glutation Peroxidase (GPx)* dan katalase.

3. Antioksidan Tersier / *Repair Enzyme*

Antioksidan tersier yaitu antioksidan yang berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang sudah rusak akibat aktivitas radikal bebas, contoh antioksidan tersier yaitu metionin sulfosida reduktase, DNA repair enzyme, protease, transferase, dan lipase.

C. Metode Pengukuran Aktivitas Antioksidan

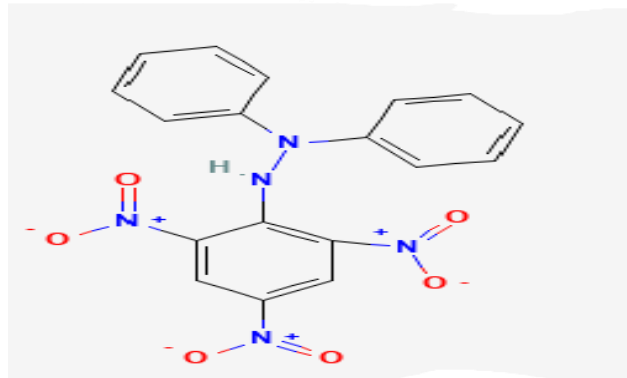
Pengujian aktivitas antioksidan pada tumbuhan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dapat menggunakan beberapa metode (Hasyim Ibroham *et al.*).

1. Metode DPPH (2,2 dipenyl-1-picrylhidrazyl)

Metode DPPH memberikan informasi tentang reaktifitas suatu senyawa yang diuji dengan radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap (Lung dan Destiani, 2017: 54). Prinsip dari pengukuran antioksidan dengan menggunakan metode ini adalah dengan mengukur pemudaran warna yang terjadi pada larutan DPPH akibat adanya antioksidan yang menetralkan molekul radikal bebas. Radikal bebas yang awalnya berwarna ungu, akan kehilangan warnanya dan tergantikan dengan terbentuknya larutan warna kuning. Hal ini terjadi karena larutan DPPH telah mendapatkan elektron dari senyawa antioksidan (Wulan, Yudistira, Rotinsulu, 2019:111).

Metode DPPH sering digunakan karena memiliki beberapa kelebihan, diantaranya karena metode ini sederhana, mudah dan cepat dilakukan, peka

dan memerlukan lebih sedikit sampel. Selain membutuhkan senyawa DPPH yang stabil, metode ini juga membutuhkan senyawa pembanding seperti vitamin A, vitamin C dan vitamin E (Julizan, 2019:42), kuersetin (Gayatri, 2021:2)



Sumber: (Zahra, 2021:37)

Gambar 2. 1 Struktur DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) (PubChem CID 74358)

Penentuan aktivitas antioksidan adalah dengan menghitung persentase peredaman antioksidan terhadap radikal bebas. Penentuan aktivitas antioksidan adalah dengan menghitung persentase peredaman antioksidan terhadap radikal bebas. Nilai persentase peredaman yang diperoleh selanjutnya ditentukan harga peredaman efektif lima puluh persennya atau dikenal sebagai *inhibitory concentration 50* (IC50). Nilai IC50 merupakan nilai konsentrasi senyawa antioksidan yang mampu meredam aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50%, semakin kecil nilai IC50 maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Nurhasnawati, 2017:93).

Tabel 2. 1 Kategori kekuatan aktivitas antioksidan (Nasution, Batubara, Surjanto, 2015:6)

No.	Kategori	IC50
1.	Sangat kuat	<50 ppm
2.	Kuat	50-100 ppm
3.	Sedang	101-150 ppm
4.	Lemah	150-200 ppm

1. ABTS (2,2'-azinobis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]- diammonium salt)

ABTS merupakan salah satu senyawa radikal kation organik yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan yang bereaksi pada pH 7,4 berdasarkan waktu dan perubahan warna. Aktivitasnya ditandai dengan perubahan warna yang awalnya biru hijau menjadi tidak berwarna (Risma, 2022:10).

Prinsip pengujian menggunakan metode ABTS adalah dengan menghilangkannya warna kation ABTS untuk mengukur aktivitas antioksidan yang langsung bereaksi dengan kation ABTS. Salah satu kelemahan metode ini yaitu ABTS sangat sensitif terhadap cahaya, jadi dalam proses inkubasi membutuhkan waktu sekitar 12-16 jam dalam kondisi gelap (Setiawan, Yunita, Kurniawan, 2018:85).

2. FRAP (*Ferric Reducting Antioxidant Power*)

FRAP merupakan suatu metode analisis dalam uji aktivitas antioksidan yang biasa digunakan untuk mengukur kekuatan antioksidan dalam mereduksi Fe^{3+} -TPTZ menjadi Fe^{2+} - TPTZ yang awalnya berwarna kuning menjadi warna biru (Risma, 2022: 13). Kelebihan metode ini adalah cukup sederhana, reagen yang dibutuhkan mudah disiapkan, serta metode ini tidak membutuhkan biaya yang mahal (Fikey, 2020: 3).

3. CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*)

Pengujian antioksidan menggunakan metode CUPRAC, kompleks bisneokuproin-tembaga (II) akan mengoksidasi senyawa antioksidan yang terdapat dalam ekstrak tanaman dan mengalami reduksi membentuk kompleks bisneokuproin-tembaga (I). Hal ini dapat dilihat secara visual karena adanya perubahan larutan yang awalnya berwarna biru menjadi berwarna kuning (Haeria, Tahar, Munadiah, 2018:95).

D. Tanaman rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.)

1. Klasifikasi dan Morfologi kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L)

Rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* L) termasuk dalam spesies hibiscus famili malvaceae. Rosella mulai dikenal dan ditanam di Asia pada abad ke-

17. Ditanam besar-besaran di Indonesia pada tahun 1920. Rosella adalah sejenis tumbuhan herba tahunan yang dapat hidup lama, dapat tumbuh mencapai ketinggian 0,5-3 meter, biasanya tanaman ini tumbuh pada iklim tropis dan subtropis. Sekarang tanaman ini sudah tersebar di seluruh dunia. Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan kedudukan tanaman rosella diklasifikasikan sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Ordo : Malvales
- Famili : Malvaceae
- Genus : *Hibiscus*
- Species: *Hibiscus sabdariffa* L.



Sumber : (Hidayat 2019.)

Gambar 2. 2 Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L)

2. Ciri-ciri morfologi dan kandungan kimia tanaman Kelopak Bunga Rosella sebagai berikut:
 - a. Daun

Jenis daun tanaman rosella adalah daun tunggal berbentuk bulat oval, memiliki tulang daun menjari, bagian ujung daun menumpul, tepi daun bergerigi dan pangkal daun berlekuk. Panjang daun rosella sekitar 6 sampai 15 cm dengan lebar 5 sampai 8 cm. Tangkai daun rosella berbentuk bulat dan berwarna hijau dengan panjang 4 sampai 7 cm (Nurnasari & Khuluq, 2018).

Daun rosela herbal mengandung beberapa senyawa fitokimia yang berfungsi sebagai antioksidan dan antibakteri. Senyawa antioksidan yang terdapat dalam daun rosela antara lain asam neo klorogenat, asam klorogenat, asam kriptoklorogenat, rutin, dan isoquercitrin (Wang *et al.* 2014). Senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri terdapat di daun rosela herbal terdiri dari 0,23 mg/g flavonoid, 0,125 mg/g fenolik, 0,13 mg/g saponin, 0,12 mg/g alkaloid, dan 0,17 mg/g tanin. Disamping itu kandungan nutrisi daun rosela herbal berupa 86,2% kadar air, 1,7±3,2% protein, 1,1% lemak, 10% serat, kalsium 0,18%, 54 mg/100 g asam askorbat (Nurnasari & Khuluq, 2018)

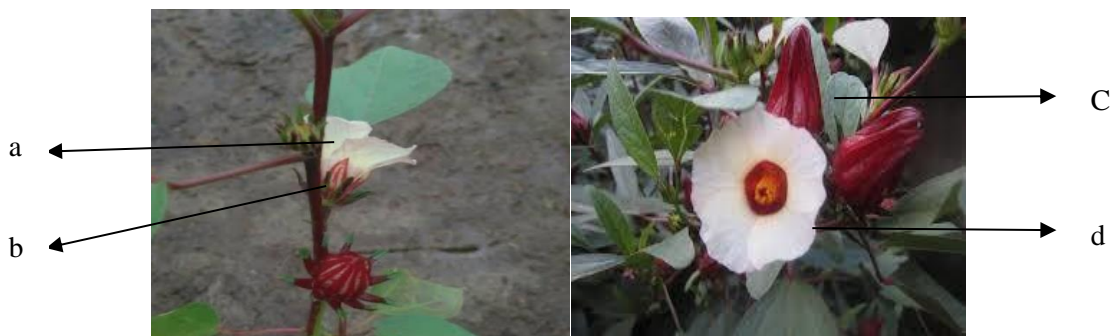


Sumber : (Hidayat, 2019)

Gambar 2. 3 Daun Tanaman Rosella

b. Bunga

Bunga rosella mempunyai diameter antara 8-10 cm dan bunga rosella merupakan bunga tunggal mempunyai 8-11 helai kelopak yang berbulu dan berwarna merah. Mahkota rosella memiliki bentuk corong dengan panjang 3-5 cm dan putiknya berbentuk tabung, berwarna kuning atau merah. Tangkai sari merupakan tempat melekatnya kumpulan benang sari berukuran pendek dan tebal, panjangnya sekitar 5 cm dan lebar sekitar 5 cm.



Sumber : (Hidayat, 2019)

Gambar 2. 4 (a). Bunga Rosella, (b).kelopak rosela muda

(c). kelopak bunga rosella tua, (d.) tampak bunga rosella dari depan

c. Buah

Buah rosella berbentuk bulat telur atau bulat yang meruncing di bagian ujungnya menyerupai kapsul, berwarna hijau kemerah-merahan, dan ukuran buah rosella 13 ± 22 mm x 11 ± 20 mm. Buah rosella dibentuk 1±2 hari setelah penyerbukan terjadi dan umumnya beruang 5. Buah muda diselubungi oleh kulit tipis yang berwarna hijau kuning mengkilat, dan seluruh bagian buah diselubungi oleh daun kelopak (Nurnasari & Khuluq, 2018). Kandungan fitokimia buah rosella herbal adalah sebagai berikut: α -terpinil asetat, pektin, anisaldehyd, asam askorbat, kalsium oksalat, asam kaprilik, asam sitrat, asam asetat, etanol, asam format, asam pelargonik, asam propionate, isopropyl alkohol, methanol, benzyl alkohol, 3-metil-1-butanol, benzaldehid dan mineral. Disamping itu kandungan nutrisi buah rosella herbal adalah 9,2% kadar air, 1,145% protein, 2,61% lemak, 12% serat, 12,0% kalsium, 273,2 mg fosfor, 6,7 mg asam askorbat. (Nurnasari & Khuluq, 2018).

d. Kalik rosella (kelopak bunga rosella)

Kalik rosella (kelopak bunga rosella) memiliki beberapa warna tergantung dari jenis varietasnya. Bunga yang sudah gugur akan membentuk kalik (kelopak bunga). Kandungan penting yang terdapat dalam kelopak bunga rosella adalah pigmen antosianin yang membentuk flavonoid yang berperan sebagai antioksidan. Flavonoid rosella yang terdiri dari flavonols dan pigmen antosianin. Pigmen antosianin ini membentuk warna ungu kemerahan di kelopak bunga rosella. Antosianin diyakini sebagai antioksidan yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit degenerative, oleh karena itu kalik rosella lebih banyak di gunakan. (Mastuti *et al.*, 2013).

Kandungan fitokimia kalik buah rosella merah terdiri dari alkaloid, flavonoid, fenol hidroquinon, steroid, triterpenoid, tanin, dan saponin (Rungkat Zakaria dkk 2015). Kelompok fitokimia tersebut memiliki senyawa bioaktif sebagai aktivitas antioksidan dan antibakteri.



Sumber : (Nurnasari & Khuluq, 2018)

Gambar 2. 5 (a). kelopak rosella (b). buah rosella.

e. Biji

Tanaman rosela memiliki biji yang bentuknya seperti ginjal dengan sudut meruncing dan berbulu. Panjang biji ini sekitar 5 mm dan lebar 4 mm. Tiap buah berisi 30±40 biji, ukuran biji 3±5 mm x 2±4 mm dan berwarna coklat kemerahan (Nurnasari & Khuluq, 2018).

Biji rosela memiliki kandungan sterol diantaranya β -sitosterol (61,3%), kampasterol (16,5%), kolesterol (5,1%), dan ergosterol (3,2%) (Nurnasari & Khuluq, 2018). Biji rosela juga mengandung senyawa fenolik dengan kandungan paling tinggi bila dibandingkan dengan bagian daun dan batang. Hal ini karena tanaman memerlukan senyawa tersebut untuk melindungi bunga dan biji dari serangan patogen tanaman. Semakin banyak senyawa phenol dalam sampel, semakin tinggi aktivitas antioksidan ekstrak uji (Sitoresmi Purbowati et al., 2015).



Sumber : (Nurnasari & Khuluq, 2018)

Gambar 2. 6 (a). biji rosella segar (b). biji rosella kering

f. Batang

Batang rosella berbentuk bulat, tegak, dan berkayu. Batang mempunyai diameter 2-2,5 cm. Ketinggian dari tanaman rosella dapat mencapai 3 meter.



Sumber (Hidayat, 2019)

Gambar 2. 7 Batang Tanaman Rosella

1. Kandungan Kimia Rosella

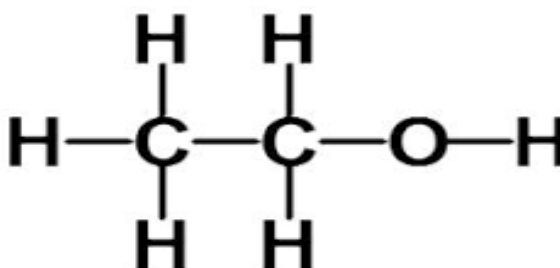
Bahan penting yang terkandung di dalam kelopak bunga rosella adalah gossy peptin, anthocyanin, dan gluside hibiscin. Ketiga zat inilah yang menjadikan rosella bukan sekedar tanaman hias yang indah, tetapi juga berkhasiat bagi kesehatan. Selain itu kelopak bunga rosella merah juga mengandung asam organik, polisakarida, dan flavonoid. Tanaman ini juga memiliki kandungan vitamin C yang sangat tinggi dan kaya akan mineral. Rosella diketahui memiliki kandungan senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan serta memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi (Nurnasari & Khuluq, 2018).

E. Ekstraksi

Menurut Marjoni (2016) dalam bukunya yang berjudul “Dasar-dasar Fitokimia untuk Diploma III Farmasi”, ekstraksi adalah proses penyarian zat aktif dari suatu bahan alam menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi bertujuan untuk menarik semua zat aktif dan komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Proses terjadinya ekstraksi dimulai dari pelarut akan menembus dinding sel dan selanjutnya akan masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut pada bagian luar sel dan selanjutnya berdifusi masuk ke dalam pelarut. Proses tersebut akan terus berulang sampai konsentrasi zat aktif di dalam sel seimbang

dengan konsentrasi zat aktif di luar sel.

Aktivitas antioksidan ekstrak rosel dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96%. (Inggrid, 2018). Etanol merupakan pelarut organik yang memiliki Sifat polar dikarenakan adanya gugus hidroksil (OH), sehingga etanol mampu berikatan dengan molekul bersifat polar atau molekul ion. Sedangkan gugus etil (C₂H₅) pada etanol, memberikan etanol sifat non-polar, sehingga etanol mampu berikatan dengan molekul bersifat non-polar. Dengan demikian, etanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang bersifat polar maupun senyawa yang bersifat non-polar (Chandra *et al* 2022. Etanol memiliki rumus kimia C₂H₅OH.



Gambar 2. 8 Struktur Kimia Etanol.

Tabel 2. 2 Sifat Fisik dan Kimia Etanol

Parameter	Keterangan
Bentuk	cair
Warna	Tidak berwarna
Polaritas	polar
Berat molekul	46,04g/mol
Massa jenis	0,789g/cm ³
Titik didih	78,4°C

Senyawa polar merupakan senyawa yang terbentuk sebagai akibat dari adanya ikatan antar elektron pada unsur-unsurnya. Hal tersebut diakibatkan karena unsur yang saling berikatan memiliki perbedaan nilai keelektronegatifan. Senyawa polar memiliki ciri-ciri larut dalam pelarut polar dan air, memiliki pasangan elektron bebas, serta memiliki kutub positif dan

negatif akibat distribusi elektron yang tidak merata (Nazarullail & Bagus Rendy, 2021).

Menurut Marjoni (2016:18) dan Hanani (2015:11), ada beberapa faktor yang harus diperhatikan dalam melakukan ekstraksi yaitu:

- a. Jumlah simplisia yang akan diekstrak
- b. Derajat kehalusan simplisia
- c. Jenis pelarut yang digunakan dalam ekstraksi
- d. Waktu ekstraksi
- e. Metode ekstraksi
- f. Kondisi proses ekstraksi
- g. Suhu dan tekanan

Ekstraksi simplisia dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas. Pemilihan metode ekstraksi harus dilakukan dengan memperhatikan sifat senyawa, pelarut yang digunakan, dan alat ekstraksi yang tersedia (Hanani, 2015:11). Berikut adalah beberapa metode ekstraksi yang dapat digunakan:

1. Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisir (Hanani, 2015:11). Maserasi biasanya dilakukan selama 3-5 hari dengan perbandingan analit-pelarut yaitu 1:10. Selama proses perendaman, bahan yang diekstraksi harus diaduk secara berulang. Hal ini bertujuan untuk menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi lebih cepat dalam cairan. Tanpa adanya pengadukan akan mengakibatkan berkurangnya perpindahan bahan aktif selama proses maserasi (Marjoni, 2016:41).

Menurut Hargono dkk. (1986) pada penelitian (Hasyim Ibroham *et al.*), ada beberapa variasi metode maserasi, antara lain digesti, maserasi melalui pengadukan kontinyu, remaserasi, maserasi melingkar, dan maserasi melingkar bertingkat. Digesti merupakan maserasi menggunakan pemanasan lemah (40-50°C). Maserasi pengadukan kontinyu merupakan maserasi yang dilakukan pengadukan secara terus-menerus, misalnya menggunakan shaker, sehingga dapat mengurangi waktu hingga menjadi

6-24 jam. Remaserasi merupakan maserasi yang dilakukan beberapa kali. Maserasi melingkar merupakan maserasi yang cairan pengestrak selalu bergerak dan menyebar. Maserasi melingkar bertingkat merupakan maserasi yang bertujuan untuk mendapatkan pengestrakan yang sempurna.

Tabel 2. 3 Kelebihan dan kekurangan metode maserasi

Kelebihan	Kekurangan
Peralatan yang digunakan sangat sederhana	Membutuhkan banyak waktu proses penyarian tidak sempurna, karena zat aktif yang mampu terekstraksi hanya sebesar 50%
Teknik pengerjaan relative sederhana dan mudah	proses penyarian tidak sempurna, karena zat aktif yang mampu terekstraksi hanya sebesar 50% Pelarut yang digunakan cukup banyak
Biaya oprasional lebih rendah	Pelarut yang digunakan cukup banyak
Dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil karena tidak dilakukan pemanasan	Kemungkinan ada beberapa senyawa yang hilang saat proses ekstraksi
Proses ekskresi lebih hemat penyari	Beberapa senyawa sulit diekskresi pada suhu kamar Jika menggunakan pelarut air membutuhkan pengawet untuk mencegah pertumbuhan bakteri dan kapang

Sumber: (Hanani, 2015:11).

2. Perkolasi

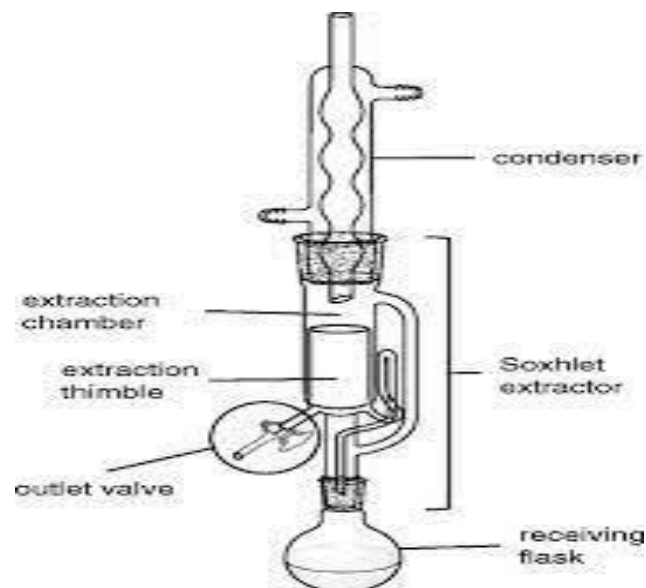
Perkolasi adalah cara ekstraksi simplisia menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan mengalirkan pelarut melalui simplisia hingga senyawa tersari sempurna. Kelemahan metode ini adalah waktu yang dibutuhkan lebih lama dan jumlah pelarut yang dibutuhkan lebih banyak (Hanani, 2015:11).

3. Refluks

Refluks adalah salah satu ekstraksi cara panas, ekstraksi ini dilakukan dengan pelarut pada suhu didih selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Agar hasil penyarian maksimal, refluks umumnya dilakukan berulang antara 3-6 kali terhadap residu pertama (Hanani, 2015:11).

4. Soxhletasi

Soxhletasi adalah salah satu metode ekstraksi cara panas menggunakan pelarut organik pada suhu didih dengan alat soxhlet. Pada metode ini, 13 simplisia dan ekstrak berada pada labu yang terpisah. Pemanasan yang dilakukan mengakibatkan pelarut menguap, dan uap akan masuk ke dalam labu pendingin. Hasil kondensasi jatuh ke bagian simplisia sehingga ekstraksi berlangsung terus-menerus dengan jumlah pelarut yang relatif konstan. Ekstraksi ini juga dikenal sebagai ekstraksi sinambung (Hanani, 2015:11).



Sumber :(Triesty 2017.)

Gambar 2. 9 . Sketsa alat Soxhlet Extraction.

Tabel 2. 4 Kelebihan dan kekurangan metode soxhletasi

Kelebihan	Kekurangan
Dapat digunakan untuk sampel dengan tekstur lunak dan tidak tahan terhadap pemanasan langsung	Tidak baik digunakan untuk bahan- bahan tumbuhan yang mudah rusak dengan adanya pemanasan
Sampel dapat diekstraksi secara sempurna karena dilakukan secara berulang	Terjadinya reaksi penguraian, karena ekstrak yang sudah terkumpul dalam labu akan terus-menerus dipanaskan
Pelarut yang dibutuhkan lebih sedikit	Pelarut yang digunakan mempunyai titik didih rendah, sehingga mudah menguap
Pelarut yang digunakan tidak habis, karena dapat digunakan lagi setelah hasil isolasi dipisahkan	Jumlah total senyawa yang diekstraksi akan melampaui kelarutannya dalam pelarut tertentu sehingga akan mengendap dalam wadah
Waktu yang digunakan lebih efisien karena prosesnya cepat	Metode ini terbatas pada pelarut campuran, karena uap pelarut mempunyai komposisi yang berbeda dalam pelarut cair
Pelarut organik dapat mengambil senyawa organik berulang kali	

Sumber: (Hanani, 2015:11).

5. Infusa

Infusa termasuk ke dalam salah satu jenis ekstraksi dengan cara panas. Pada metode ini, pelarut yang digunakan adalah air, pada suhu 96- 98 °C selama 15-20 menit (terhitung setelah mencapai suhu 96 °C). Bejana infusa yang berisi sampel tercelup dalam penangas air. Metode ini cocok untuk ekstraksi simplisia yang bersifat lunak, misalnya bunga dan daun (Hanani, 2015:13).

6. Dekokta

Prinsip kerja dekokta hampir sama dengan infusa, hanya saja terdapat perbedaan lama waktu ekstraksi. Pada metode ini waktu yang dibutuhkan sekitar 30 menit dan suhunya mencapai titik didih air (Hanani, 2015:13).

7. Destilasi (penyulingan)

Destilasi yaitu salah satu metode ekstraksi dengan cara panas, prinsip kerja metode ini yaitu menarik atau menyari senyawa yang ikut menguap 14 bersama air sebagai pelarutnya. Pada proses pendinginan, senyawa dan uap air akan

terkondensasi dan terpisah menjadi destilat air dan senyawa yang diekstraksi. Biasanya metode ini digunakan untuk mengisolasi minyak atsiri pada tanaman (Hanani, 2015:13).

8. Lawan arah (*counter current*)

Metode ini serupa dengan perkolasi, tetapi simplisia bergerak berlawanan arah dengan pelarut yang digunakan. Cara ini banyak di manfaatkan untuk ekstraksi bahan herbal dalam skala besar (Hanani, 2015:13).

9. Ultrasonik

Metode ini melibatkan penggunaan gelombang ultrasonik dengan frekuensi 20-2000 kHz sehingga permeabilitas dinding sel meningkat dan isi sel keluar. Frekuensi getaran yang dihasilkan akan memengaruhi hasil ekstraksi (Hanani, 2015:13).

10. Gelombang Mikro (*microwave assisted extraction, MAE*)

Metode ini menggunakan gelombang mikro (2450 MHz) merupakan ekstraksi yang selektif dan digunakan untuk senyawa yang memiliki dipol/dipole polar. Kelebihan dari metode ini jika dibanding metode konvensional seperti maserasi adalah lebih menghemat waktu dan pelarut (Hanani, 2015:13).

11. Ekstraksi gas superkritis (*supercritical gas extraction, SGE*)

Metode ini menggunakan CO₂ dengan tekanan tinggi, dan banyak digunakan untuk ekstraksi minyak atsiri atau senyawa yang bersifat mudah meguap atau termolabil. Penggunaan karbondioksida (CO₂) lebih disukai karena bersifat inert, toksisitasnya rendah, aman bagi lingkungan, harga relatif mudah, dan tidak mudah terbakar pada kondisi superkritisnya (Hanani, 2015:13).

F. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan metode yang digunakan untuk mempelajari komponen senyawa aktif yang terdapat pada sampel. uji skrining yang akan di lakukan pada kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) yaitu:

1. Flavonoid

Ekstrak dilarutkan kemudian dipipet 1 mL dan ditambahkan serbuk Mg secukupnya lalu ditetesi dengan larutan asam klorida pekat sebanyak 10 tetes. Positif mengandung flavonoid jika terjadi perubahan warna maka positif

mengandung flavonoid (Handayani dkk., 2018)

2. Alkaloid

Ekstrak dimasukkan kedalam masing-masing tabung reaksi kemudian ditetesi (Syarif et al.2015,h.84)

- b. HCl 0,5 N dan pereaksi Mayer, jika mengandung alkaloid maka akan menghasilkan endapan kuning.
- c. HCl 0,5 N dan pereaksi Baughardat, jika mengandung alkaloid maka akan menghasilkan endapan coklat.
- d. HCl 0,5 N dan pereaksi Dragendrof, jika mengandung alkaloid akan menghasilkan endapan jingga.

3. Saponin

Uji busa: Larutan uji dicampur dengan air dan dikocok. Diamati pembentukan buih, buih stabil selama 15 menit maka menandakan adanya saponin (Waris, Najib, & Pratiwi, 2016, h.344).

4. Fenol

Ekstrak dilarutkan sebanyak 10 ml air suling lalu kocok perlahan dan biarkan memisah lalu tambahkan NaCl dan tambahkan 2-3 tetes pereaksi FeCl₃. Fenolik dianggap positif jika terbentuk warna hijau atau hijau biru (Syarif, 2015, h.84).

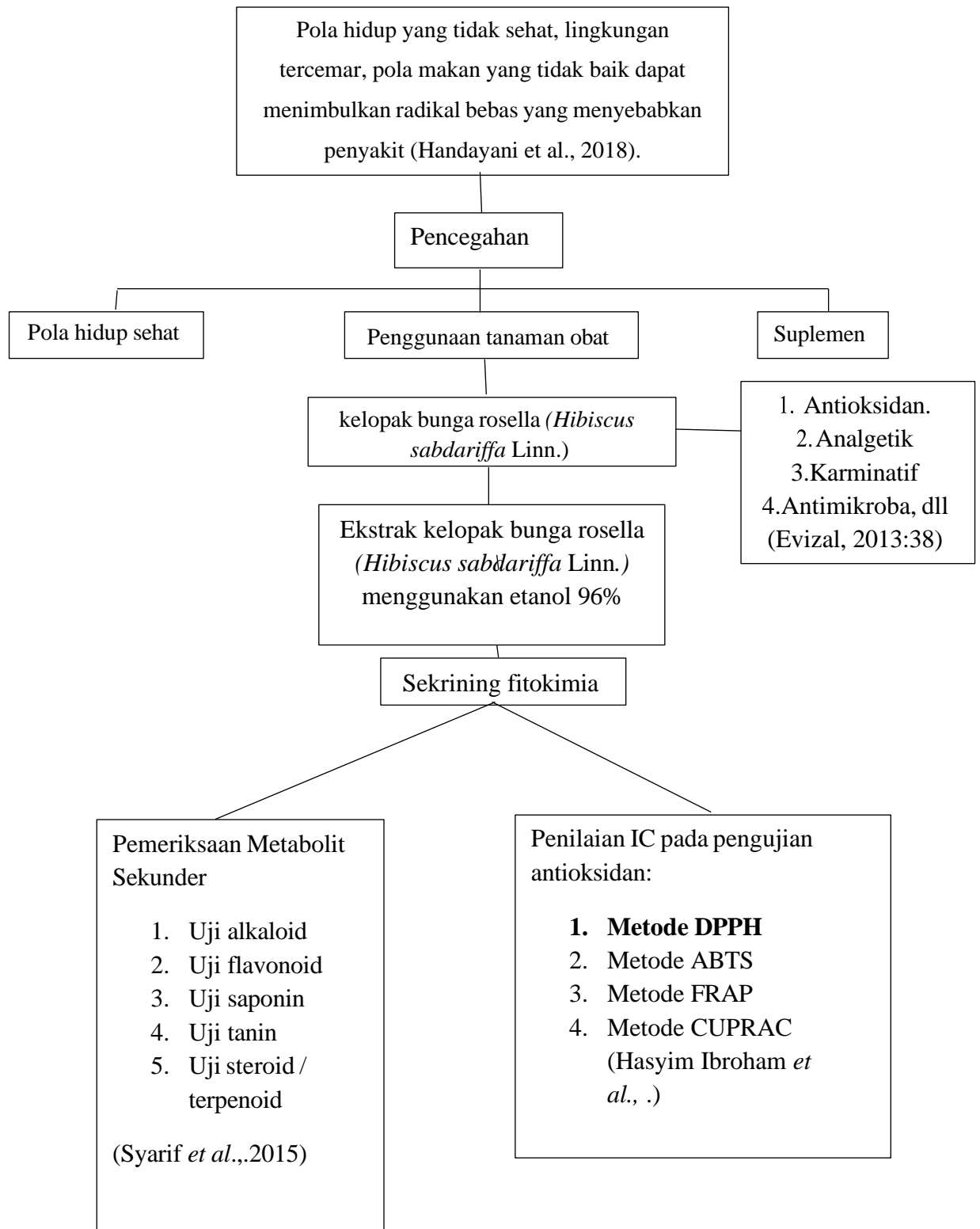
5. Steroid

Ekstrak dilarutkan kemudian dipipet sebanyak 1ml dan ditambahkan kloroform lalu di kocok,kemudian ditambahkan 2 tets larutan Lieberman, bauchaerdar terbentuk larutan berwarna merah untuk pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau menunjukkan reaksi positif (Syarif, 2015.84).

6. Tanin

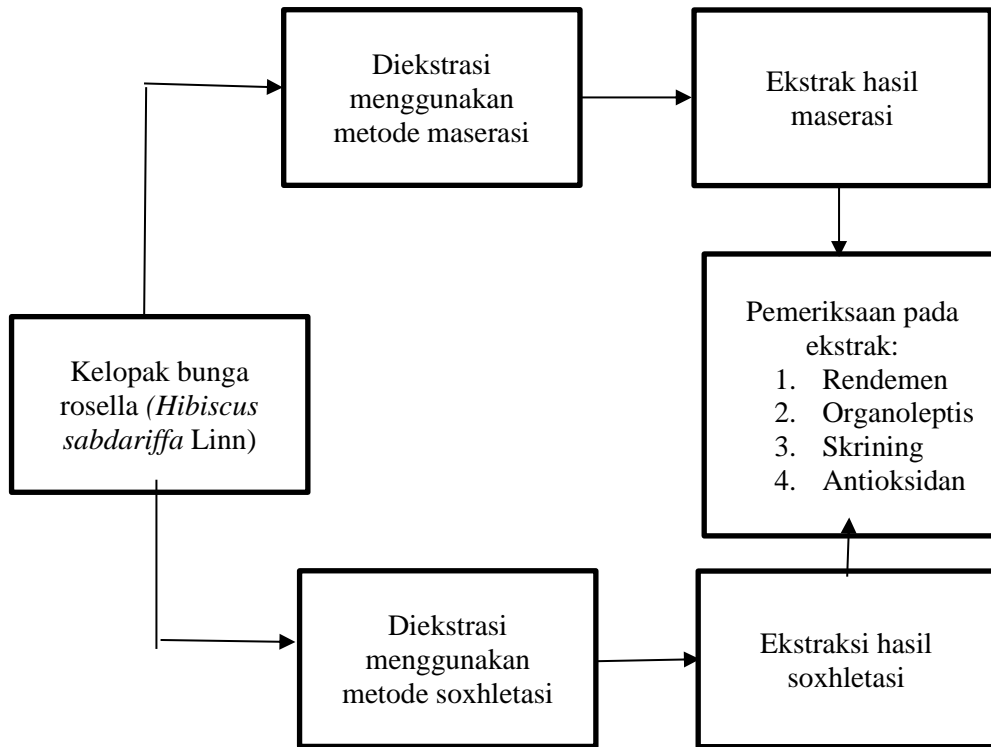
Diambil 2 mL filtrat yang telah diencerkan, kemudian tambahkan 1% gelatin dalam natrium klorida 10%. Ekstrak yang mengandung Tanin akan membentuk endapan. (Novriyanti., 2022).

G. Kerangka Teori



Gambar 2.10 kerangka teori

H. Kerangka konsep



Gambar 2.11 kerangka konsep

I. Definisi Operasional

Tabel 2. 5 Definisi Oprasional

Variable penelitian	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Hasil ukur	Skala
Metode Ekstraksi kelopak bunga rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> Linn.)	Metode ekstraksi proses penyarian zat aktif dari suatu bahan alam menggunakan pelarut yang sesuai (Marjoni, 2016)	Membandingkan dari literatur		Metode soxhletasi dan metode maserasi	Nominal
Rendemen	Rendemen adalah perbandingan jumlah ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi tanaman, rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak	Observasi	Sepatula, cawan porselen, timbangan digital.	Persentase	Rasio
Sifat organoleptik ekstrak kelopak bunga rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> Linn)					
a. Warna	Penilaian visual peneliti terhadap warna dari ekstrak kelopak bunga rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> Linn)	Melihat warna ekstrak kelopak bunga rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> Linn)	Panca indra	1= tidak berwarna 2= merah 3=merah pekat	Nominal
b. Aroma	Penilaian visual peneliti melalui indra penciuman terhadap ekstrak kelopak bunga rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> Linn)	Mencium bau ekstrak kelopak bunga rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> Linn)	Panca indra	1= aroma etanol 2= aroma kelopak bunga rosella 3= aroma kelopak bunga rosella kuat	Nominal
c. Tekstur	Bentuk dari ekstrak kelopak bunga rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> Linn)	Merasakan tekstur dari ekstrak kelopak bunga rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> Linn)	Panca indra	1= cair 2= agak kental 3= kental	Nominal

Variable peneliti	Definis	Cara ukur	Alat ukur	Hasil ukur	Skala
Profil metabolit sekunder					
Senyawa alkaloid	Senyawa yang teridentifikasi jika terbentuk endapan setelah direaksikan dengan pereaksi dragebdrof, bauchardat, dan Mayer (marjoni,2016)	Observasi	Visualisasi dengan mata	(+) terbentuk endapan pada sampel yang telah direaksikan dengan reagen (minimal dua sampel yang menghasilkan endapan) (- terbentuk)tidak endapan pada sampel yan direaksikan dengan ketiga reagen	Nominal
Senyawa flafanoid	Apabila terbentuk warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alcohol pada uji flafanoid (Marjoni, 2016)	Observasi	Visualisasi dengan mata	(+)terbentuk warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (-) tidak terbentuk warna merah, kuning,jingga, pada lapisan amil alkohol	Nominal
Senyawa saponin	senyawa yang teridentifikasi apabila terbentuk buih pada saat penambahan larutan HCl 2 N (Marjoni, 2016)	Observasi	Visualisasi dengan mata	(+) terbentuk buih pada saat penambahan larutan HCl 2 N (-) tidak terbentuk buih pada saat penambahan larutan HCl 2 N	Nominal

Variable peneliti	Definis	Cara ukur	Alat ukur	Hasil ukur	Skala
Senyawa fenol	Senyawa yang teridentifikasi apabila terbentuk warna biru atau hijau kehitaman saat penambahan pereaksi FeCl_3 (Marjoni, 2016)	Observasi	Visualisasi dengan mata	(+) terbentuk warna biru atau hijau kehitaman saat penambahan pereaksi FeCl_3 (-) tidak terbentuk warna biru atau hijau kehitaman saat penambahan pereaksi FeCl_3	Nominal
Aktivitas antioksidan dengan menghitung IC_{50}	Observasi terhadap perubahan warna DPPH yang dinyatakan dalam % inhibisi, kemudian diamati melalui spektrofotometer UvVis	Observasi	visualisasi dengan mata dan spektrofotometer	1= sangat kuat (<50ppm) 2= kuat (50-100ppm) 3= sedang (101-150ppm) 4= lemah (151-200ppm)	Ordinal