

# PERBANDINGAN KADAR FENOLIK TOTAL EKSTRAK METANOL KELOPAK MERAH DAN UNGU BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*, Linn) SECARA SPEKTROFOTOMETRI

Pramudita Dwi Apsari, Hari Susanti

Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta

## Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kadar fenolik total pada kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*, Linn) dengan variasi warna. Kadar fenolik total ditetapkan menggunakan metode Spektrofotometri visibel dengan pereaksi Folin Ciocalteu. Prinsip dari metode ini adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru dari fosfomolibdat-fosfotungstat yang direduksi senyawa fenolik dalam suasana basa yang dapat diukur secara spektrofotometri. Sebagai pembanding digunakan asam galat. Kadar fenolik total pada kelopak merah dan kelopak ungu berturut-turut yaitu  $(1,568 \pm 0,031)$  g GAE/100 g ekstrak dan  $(1,860 \pm 0,053)$  g GAE/100 g ekstrak. Dapat disimpulkan bahwa kelopak ungu mengandung senyawa fenolik lebih tinggi dibandingkan kelopak merah.

**Kata kunci :** *Rosella (Hibiscus sabdariffa, Linn), fenolik total, metode Folin Ciocalteu, kelopak merah, kelopak ungu.*

## PENDAHULUAN

Rosella (*Hibiscus sabdariffa*, Linn) adalah tanaman yang berasal dari Asia dan Afrika. Menurut penelitian yang dilakukan Hsieh dkk (2008) kelopak bunga rosella memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> 0,25 mg/ml. Rosella mengandung senyawa fenolik yaitu flavonoid (antosianin) pada kelopak bunganya (Ruangsri dkk, 2008).

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. Dengan demikian, usaha pemanfaatan tanaman rosella sebagai obat herbal dapat lebih maksimal karena dengan melihat kadar fenolik total maka

besar aktivitas antioksidannya dapat diperkirakan.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelopak merah dan kelopak ungu bunga rosella, reagen Follin Ciocaltaeu p.a (E-Merck), metanol p.a (E-Merck), etanol p.a (E-Merck), asam galat p.a (Sigma), petroleum eter teknis (Brataco Chemica), air suling, feriklorida p.a (E-Merck), natrium karbonat p.a (E-Merck).

### Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, neraca

analitik AND GR 202, aluminium foil, kuvet, kertas saring, *rotary evaporator*, spektrofotometer (UV-Vis Shimadzu UV PharmaSpec 1700), Halogen Moisturizer Analyzer (Mettler Toledo), alat maserasi, penangas air, mikropipet, corong Buchner.

## Prosedur Penelitian

### Pembuatan ekstrak metanol

Sebanyak 250,0 gram serbuk kelopak merah dan ungu bunga rosella masing-masing terlebih dahulu diawalemakkan dengan petroleum eter. Serbuk kemudian direndam dengan 750 ml metanol sambil diaduk dengan distirer selama 3 jam, setelah didiamkan selama 24 jam, disaring dengan corong Buchner dan filtrat yang diperoleh dipisahkan dengan *rotary evaporator*.

Uji pendahuluan adanya senyawa fenol

#### a. Uji Senyawa Polifenol

Sejumlah ekstrak metanol kelopak merah dan kelopak ungu bunga rosella ditambah 3 tetes pereaksi  $\text{FeCl}_3$ . Terjadinya warna hijau biru menunjukkan adanya polifenol.

#### b. Uji Flavonoid

Ekstrak metanol kelopak merah dan ungu masing-masing dilarutkan dalam metanol. Larutan ekstrak kemudian diteteskan di atas kertas saring, dikeringkan dan selanjutnya kertas saring diuapi dengan amoniak. Timbulnya warna kuning intensif menunjukkan adanya flavonoid.

#### c. Uji Tanin

Ekstrak metanol kelopak merah dan ungu masing-masing dilarutkan dalam air suling dan dipanaskan selama 30 menit di atas penangas air, kemudian disaring. Filtrat ditambah larutan  $\text{NaCl}$  2%; bila terjadi endapan, disaring melalui kertas saring. Filtrat ditambah larutan gelatin 1%; bila

timbul endapan menunjukkan adanya tanin atau zat samak.

### Penetapan kadar fenolik total

#### a. Pembuatan Reagen

##### 1) Pembuatan larutan induk asam galat (500 $\mu\text{g/ml}$ )

Sebanyak 50,0 mg asam galat dilarutkan dalam 0,5 ml etanol p.a, kemudian diencerkan dengan air suling sampai volume 100,0 ml.

##### 2) Pembuatan larutan $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 7,5%

Sebanyak 7,5 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ditambah 80 ml air suling, kemudian dididihkan sampai serbuk  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  larut sempurna. Setelah itu didiamkan selama 24 jam, disaring dan diencerkan dengan air suling sampai volume 100,0 ml.

#### b. Tahapan penentuan kadar senyawa fenolik total

##### 1) Penentuan *Operating Time*

Sebanyak 300  $\mu\text{l}$  larutan asam galat konsentrasi 15  $\mu\text{g/ml}$  ditambah 1,5 ml reagen Folin Ciocalteau (1:10), kemudian digojog dan didiamkan selama 3 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 1,2 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%, digojog homogen, dan diukur absorbansinya dalam rentang waktu 0-90 menit pada panjang gelombang 765 nm.

##### 2) Penentuan panjang gelombang absorbansi maksimum

Sebanyak 300  $\mu\text{l}$  larutan asam galat konsentrasi 15  $\mu\text{g/ml}$  ditambah 1,5 ml reagen Folin Ciocalteau (1:10), kemudian digojog dan didiamkan selama 3 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 1,2 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%, digojog homogen, dan didiamkan pada suhu kamar pada

range *operating time*, kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 600-850 nm.

- 3) Pembuatan kurva baku asam galat dengan reagen *Folin-Ciocalteu* (Murtijaya dan Lim, 2007).

Sebanyak 300 µl larutan asam galat konsentrasi 10, 15, 20, 25, 30, 35 dan 40 µg/ml masing-masing dimasukkan dalam tabung, kemudian ditambah 1,5 ml reagen Folin Ciocalteu (1:10) dan digojog. Setelah didiamkan selama 3 menit, masing-masing larutan ditambah 1,2 ml larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5% digojog homogen, dan didiamkan pada range *operating time* pada suhu kamar. Semua larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang absorbansi maksimum, kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (µg/ml) dengan absorbansi.

- 4) Penetapan kadar fenolik total (Murtijaya dan Lim, 2007)

Sebanyak 25,0 mg ekstrak metanol kelopak merah bunga rosella dilarutkan sampai volume 25,0 ml dengan campuran metanol : air suling (1:1). Larutan ekstrak

yang diperoleh dipipet 300 µl dan ditambah 1,5 ml reagen Folin-Ciocalteu dan digojog. Setelah didiamkan selama 3 menit, ditambah 1,2 ml larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5% dan didiamkan lagi pada range *operating time* pada suhu kamar. Absorbansi larutan ekstrak diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang absorbansi maksimum. Dilakukan 5 kali pengulangan.

#### Analisis Data

Analisis data terlebih dahulu dilakukan dengan metode kurva standar, regresi linier  $y = bx + a$  dibuat berdasarkan data absorbansi dan konsentrasi dari larutan standar.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji polifenol dilakukan untuk memastikan adanya senyawa polifenol dalam kelopak bunga rosella. Hasil uji polifenol ditandai dengan terjadinya reaksi antara senyawa polifenol dan ferri klorida membentuk kompleks berwarna hijau, ungu, biru. Reaksi ini tidak spesifik, sehingga tidak dapat digunakan untuk membedakan masing-masing golongan polifenol.

Uji flavonoid dilakukan untuk memastikan ada tidaknya senyawa flavonoid yang merupakan bagian dari senyawa fenolik dalam

Tabel I. Hasil Uji Pendahuluan Adanya Senyawa Fenolik

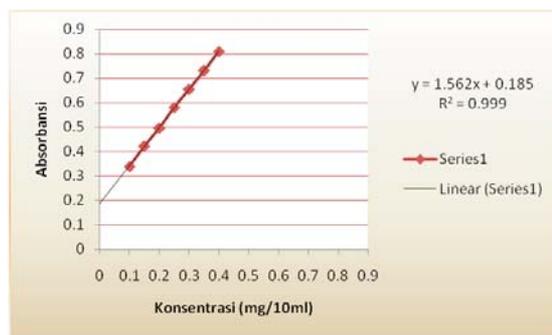
Sampel	Uji Kualitatif	Pereaksi	Teori	Hasil	Kesimpulan
KelopakMerah	Polifenol	FeCl <sub>3</sub>	Hijau, ungu, biru atau hitam	Hijau	+
	Flavonoid	Uap Amoniak	Kuning intensif	Kuning	+
	Tanin	NaCl 2% Gelatin 1%	Terbentuk endapan	Terbentuk endapan	+
Kelopak Ungu	Polifenol	FeCl <sub>3</sub>	Hijau, ungu, biru atau hitam	Hijau	+
	Flavonoid	Uap Amoniak	Kuning intensif	Kuning	+
	Tanin	NaCl 2% Gelatin 1%	Terbentuk endapan	Terbentuk endapan	+

kelopak bunga rosella. Untuk itu, ekstrak yang dilarutkan dalam metanol ditotolkan pada kertas saring kemudian dikeringkan dan dilewatkan di atas uap amoniak. Timbul warna kuning menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Warna kuning tersebut disebabkan karena pembentukan struktur kinoid pada cincin B yang mengandung ikatan rangkap terkonjugasi yang lebih panjang dan planar sehingga dapat berfluorosensi (Robinson, 1995).

Tanin juga merupakan salah satu bagian dari senyawa fenolik. Uji terhadap tanin dilakukan untuk memastikan apakah dalam kelopak bunga rosella mengandung senyawa tanin. Salah satu sifat yang dapat digunakan sebagai pertanda adanya tanin adalah terjadinya endapan protein; dalam uji ini dikatakan positif apabila terbentuk endapan setelah penambahan gelatin (protein) pada larutan ekstrak.

Penetapan kadar fenolik total dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu yang berisi campuran natrium tungstat, natrium molibdat, litium sulfat, asam klorida pekat, asam fosfat 85%, bromin, dan air suling. Reagen Folin Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan Folin membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya. Prinsip dari metode folin ciocalteu adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang 765 nm. Pereaksi ini mengoksidasi fenolat (garam alkali) atau gugus fenolik-hidroksi mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) yang terdapat dalam pereaksi Folin Ciocalteu menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Untuk menciptakan kondisi basa digunakan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%. Selama reaksi berlangsung, gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan pereaksi Folin Ciocalteu, membentuk kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru dengan struktur yang belum diketahui dan dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat, setara

dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk; artinya semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) menjadi kompleks molibdenum-tungsten sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat



Gambar I. Grafik hubungan antara konsentrasi ( $\mu\text{g}/10\text{ml}$ ) dan absorbansi larutan asam galat

Pada penentuan kadar fenolik total, larutan standar yang digunakan adalah asam galat atau asam 3,4,5-trihidroksibenzoat ( $\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{CO}_2\text{H}$ ) dengan variasi konsentrasi 10, 15, 20, 25, 30, 35, dan 40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

Tabel II. Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total Kelopak Bunga Rosella dengan variasi warna merah dan ungu

Replikasi	Kadar (g GAE/100g ekstrak) berdasarkan variasi warna kelopak	
	Kelopak Merah	Kelopak Ungu
1	1,528	1,785
2	1,573	1,880
3	1,560	1,888
4	1,585	1,874
5	1,592	1,874
$\bar{x}$	1,568	1,860
SD	0,025	0,042
CV	1,59%	2,26%
L.E	0,031	0,053
$\bar{x} \pm \text{L.E}$	1,568 $\pm$ 0,031	1,860 $\pm$ 0,053

Kadar fenolik total pada kelopak ungu lebih besar dibandingkan dengan kelopak merah. Hal ini didukung oleh hasil uji terhadap kandungan zat dalam kelopak. Uji tanin menunjukkan bahwa pada konsentrasi larutan ekstrak yang sama, larutan ekstrak kelopak ungu membentuk endapan lebih banyak dibanding dengan larutan ekstrak kelopak merah.

Perbedaan warna pada kedua kelopak bunga rosella berhubungan juga dengan kadar fenolik total. Menurut Sirait (2007), Antosianin pelargonidin dan sianidin memberikan warna merah pada kelopak bunga sedangkan antosianin delphinidin memberikan warna ungu pada kelopak bunga. Dilihat dari strukturnya antosianin delphinidin memiliki gugus hidroksil lebih banyak pada cincin B dibandingkan dengan antosianin pelargonidin dan sianidin sehingga antosianin delphinidin memiliki kemampuan mereduksi lebih kuat. Kadar antosianin lebih tinggi pada kelopak ungu hal ini dibuktikan dengan spektra pada larutan ekstrak kelopak ungu lebih tinggi dibandingkan larutan ekstrak kelopak merah pada konsentrasi yang sama.

### KESIMPULAN

Kadar fenolik total pada ekstrak metanol kelopak merah dan ungu bunga rosella pada penelitian berturut-turut yaitu  $1,568 \pm 0,031$  g GAE/100 g ekstrak dan  $1,860 \pm 0,053$  g GAE/100 g ekstrak. Kadar fenolik total pada kelopak ungu bunga rosella lebih tinggi dibandingkan dengan kelopak merah. Hal ini disebabkan kandungan senyawa fenolik seperti

tanin, flavonoid, dan antosianin pada kelopak ungu lebih tinggi.

### DAFTAR PUSTAKA

- Hseih, B.C., Matsuura, R., Moriyama, H., Chen R.L.C., Shimamura, T., dan Ukeda, H., 2008, Characterization of Superoxide Anion Scavenging Compounds in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Extract by Electron Spin Resonance and LC/MS, *Food Sci. Technol. Res*, 14 (4), Hal 383 – 388.
- Murtijaya, J., dan Lim Y.Y., 2007, Antioxidant Properties of *Phylanthus amarus* Extracts as Affected by Different Drying Methods, *LWT-Food Sci. Technol*, 40, Hal 1664-1669.
- 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.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Edisi VI, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, ITB press, Bandung, Hal 57, 73, 199.
- Sirait, M., 2007, *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*, ITB press, Bandung, Hal 152.

