

PENENTUAN TOTAL ANTOSIANIN DARI KELOPAK BUNGA ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L) DENGAN METODE MASERASI DAN SOKSHLETASI

Meiny Suzery, Sri Lestari, Bambang Cahyono*

Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang, Jl. Prof. Sudharto, Tembalang Semarang 50275
(Phone: 62-24-76480824, * E-mail: bambang_cahyono@undip.ac.id)

ABSTRAK--- Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan salah satu tanaman yang mengandung zat warna antosianin. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi terhadap total antosianin rosela (*Hibiscus sabdariffa*). Dalam penelitian ini dilakukan ekstraksi pigmen antosianin melalui metode maserasi 5°C, 25°C dan soxhletasi, penentuan panjang gelombang maksimum ekstrak hasil isolasi dan penentuan total antosianin. Dari penelitian yang sudah dilakukan terhadap ekstrak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) didapatkan rendemen dari maserasi 5°C sebesar 15,1%, maserasi 25°C sebesar 17,7%, dan soxhletasi sebesar 10,4%. Pengukuran λ_{max} menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum ekstrak etanol hasil maserasi 5°C, 25°C dan soxhletasi sebesar 545 nm. Metode maserasi 5°C menghasilkan total antosianin sebesar 77,26mg/100g, maserasi 25°C sebesar 128,76mg/100g dan soxhletasi sebesar 86,83mg/100g. Hasil keseluruhan menunjukkan metode yang paling efektif untuk mengekstraksi pigmen antosianin rosela adalah dengan metode maserasi 25°C karena memberikan rendemen ekstrak dan total antosianin paling tinggi.

Kata kunci: rosela, pigmen antosianin, maserasi, soxhletasi

ABSTRACT--- Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) is one of the plants that contain anthocyanin pigment. The purposes of this research is to study influence extraction method of total anthocyanins roselle. Extraction anthocyanin pigment was done with maceration 5°C and 25°C method for 24 hours and soxhletation for 8 hours using ethanol solvent, determination of maximum wavelength from results of anthocyanin extraction, and measurement of total anthocyanin. The results of this research were the yield of produced by maceration 5°C and 25°C method and soxhletation were 15.1%, 17.7% and 10.4%, respectively. Maximum wavelength of ethanolic extract from maceration 5°C and 25°C method and soxhletation was 545 nm. The total anthocyanin from maceration 5°C and 25°C method and soxhletation were 77.26 mg/100 g, 128.76 mg/100 g, and 86.83 mg/100 g, respectively. Therefore, the effective method for extraction of anthocyanin from roselle calyxes roselle was maceration 25°C method that giving yield and total anthocyanin was highest.

Keyword: roselle, anthocyanin pigment, maceration, soxhletatio

PENDAHULUAN

Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) termasuk famili *Malvaceae* yang merupakan tanaman tropis yang banyak tumbuh di Indonesia. Kelopak bunganya biasa digunakan pada pengobatan tradisional, seperti pengobatan penyakit batuk, gangguan pencernaan, menurunkan tekanan darah, merangsang gerak peristaltik usus serta berpengaruh terhadap fungsi diuretik. Telah dilaporkan bahwa bunga ini mengandung gossipetin, glukosida, bibiscin, antosianin *hibiscus*, dan asam protocatechuic *hibiscus*^[1]. Warna merah yang bagus dan rasa yang unik menjadikan rosela sebagai produk makanan yang berharga^[2]. Sejak awal 1970-an, rosela mendapat banyak perhatian karena berpotensi sebagai sumber pewarna makanan alami, farmasi dan kosmetik. Kelopak bunganya

mengandung pigmen merah empat antosianin, yakni delphinidin 3-sambubiosida, sianidin 3-sambubiosida, delphinidin 3-glukosida dan sianidin 3-glukosida^[3].

Antosianin termasuk golongan senyawa flavonoid, merupakan kelompok terbesar pigmen alami pada tumbuhan yang larut dalam air yang bertanggung jawab untuk memberikan warna pada bunga, buah dan sayuran. Antosianin rosela dapat juga bermanfaat bagi kesehatan sebagai sumber antioksidan. Hal ini disebabkan senyawa polifenolik ini merupakan glikosida turunan polihidroksi dan polimetoksi dari 2-phenilbenzopirilium atau garam flavilium^[4].

Metode untuk memperoleh senyawa antosianin yang pernah dilakukan sebelumnya antara lain dengan *supercritical fluid*, ekstraksi

air, ekstraksi pelarut organik, dan lain-lain^[1]. Cara tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing, *supercritical fluid* diketahui lebih ramah lingkungan, selektif dan cepat dalam proses ekstraksi tetapi membutuhkan tekanan yang tinggi sehingga biaya ekstraksi lebih mahal dibandingkan dengan ekstraksi pelarut biasa. Oleh karena itu, ekstraksi antosianin dari rosela dilakukan dengan cara yang sederhana, yakni dengan cara maserasi^[1] dan soxhletasi^[5].

Percobaan ini sangat penting dilakukan mengingat struktur kimia antosianin cenderung kurang stabil dan mudah mengalami degradasi, stabilitas antosianin diantaranya dipengaruhi oleh pH dan temperatur^[6]. Antosianin lebih stabil pada larutan asam dengan nilai pH yang rendah dibanding larutan basa dengan pH yang tinggi. Disamping itu, laju degradasi antosianin meningkat selama proses ekstraksi seiring dengan meningkatnya temperatur.

Hingga saat ini, suatu penelitian yang mencoba membandingkan metode ekstraksi pigmen antosianin kelopak bunga rosela, belum pernah dilaporkan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan dalam penemuan metode ekstraksi yang lebih tepat terhadap kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) dalam usaha untuk mendapatkan total antosianin paling tinggi.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan baku yang digunakan yaitu kelopak bunga rosela kering diperoleh dari perkebunan rosela di Mijen, Kabupaten Semarang. Bahan kimia yang digunakan etanol 96%, HCl 0,2N, KCl, (CH₃COOH)K, akuades. Peralatan yang utama adalah Spektrofotometer UV-Vis, *water batch* dan alat-alat gelas.

Metode

A. Ekstraksi pigmen antosianin

Isolasi pigmen antosianin dari bunga rosela dilakukan dengan 3 metode yaitu maserasi pada suhu 5°C dan 25°C, serta dengan metode soklet.

Maserasi 5°C. Maserasi sampel dengan cara merendam 100 gram serbuk kelopak bunga rosela dengan 300 mL pelarut etanol pada

temperatur 5°C selama 24 jam^[1]. Kemudian disaring dan diambil filtratnya.

Maserasi 25°C. Maserasi sampel dengan cara merendam 100 gram serbuk kelopak bunga rosela dimaserasi dengan 300 mL pelarut etanol pada temperatur kamar atau 25°C selama 24 jam^[1]. Kemudian disaring dan diambil filtratnya.

Sokshletasi. Sebanyak 100 gram serbuk kelopak bunga rosela diekstraksi menggunakan soxhlet dalam pelarut etanol pada temperatur 78°C selama 8 jam^[5], kemudian diambil filtratnya.

B. Penentuan λ maksimum Ekstrak

Penentuan λ maksimum ekstrak kelopak bunga rosela dilakukan dengan metode spektroskopi UV-Vis. Sekitar 1 mL dari masing-masing ekstrak hasil maserasi 5°C dan 25°C, serta ekstrak hasil soxhletasi dilarutkan dalam pelarut etanol menjadi 10 mL, selanjutnya absorbansi diukur pada panjang gelombang 400–800 nm.

C. Penentuan Total Antosianin dengan Metode pH Differensial^[7]

Penetapan antosianin dilakukan dengan metode perbedaan pH yaitu pH 1,0 dan pH 4,5. Pada pH 1,0 antosianin berbentuk senyawa oxonium dan pada pH 4,5 berbentuk karbinol tak berwarna. Hal tersebut dapat dilakukan dengan membuat suatu alikuot larutan antosianin dalam air yang pH-nya 1,0 dan 4,5 untuk kemudian diukur absorbansinya.

a. Pembuatan larutan pH 1,0 dan pH 4,5

Larutan pH 1,0. Sekitar 1,490 gram KCl dilarutkan dengan akuades dalam tabung volumetrik 100 ml sampai batas. Kemudian campurkan 25 ml larutan KCl dengan 67 ml HCl 0,2 N. Tambahkan HCl kembali jika perlu sampai pH mencapai $1,0 \pm 0,1$.

Larutan pH 4,5. Sekitar 1,640 gram potasium asetat dilarutkan dengan akuades dalam tabung volumetrik 100 ml sampai batas. Tambahkan larutan HCl 0,2 N sampai pH $4,5 \pm 0,1$.

b. Pengukuran dan Perhitungan konsentrasi antosianin total

Dua larutan sampel disiapkan dari masing-masing filtrat, pada sampel pertama digunakan larutan pH 1,0 dan untuk sampel kedua digunakan larutan pH 4,5, kemudian absorbansi dari setiap larutan diukur pada panjang gelombang 510 dan 700 nm. Absorbansi dari sampel yang telah dilarutkan (A) ditentukan dengan rumus:

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH\ 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{pH\ 4,5}$$

Kandungan pigmen antosianin pada sampel dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Antosianin} = \frac{\text{Absorbansi}}{\epsilon \times L} \times MW \times \frac{Vd}{Wd} \times \frac{1}{1000} \times 100\%$$

Keterangan:

- ϵ = absorptivitas molar Sianidin-3-glukosida = 26900 L/(mol.cm)
- L = lebar kuvet = 1 cm
- MW = berat molekul Sianidin-3-glukosida (449,2 g/mol)
- Vd = volume akhir pengenceran
- Wd = berat ekstrak kering (g)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel bunga rosela kering (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang diperoleh dari perkebunan rosela di Mijen, Kabupaten Semarang, mula-

mula distandardisasi melalui pengukuran kadar air sehingga dapat diketahui berat sampel bebas kandungan air yang diekstraksi. Dari penelitian yang dilakukan diperoleh kadar air sebesar 13,63%.

Sampel berupa serbuk bunga rosela sebanyak \pm 100 g diekstraksi dengan etanol menggunakan 3 metode yang berbeda yakni maserasi pada 5°C dan temperatur kamar (25°C) selama 24 jam serta dengan metode soxhletasi selama 8 jam. Hal ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas metode ekstraksi pada antosianin dengan kondisi temperatur yang berbeda. Antosianin merupakan molekul yang tidak stabil. Stabilitas antosianin diantaranya dipengaruhi oleh pH dan temperatur^[6]. Sedangkan, pertimbangan lama waktu ekstraksi dikarenakan waktu, tenaga maupun ekstrak yang diperoleh.

Hasil ekstraksi dipekatkan dengan *water batch*, sehingga diperoleh cairan kental dan bebas pelarut. Penggunaan metode ekstraksi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda nyata pada terhadap rendemen ekstrak pekat pigmen bunga rosela. Hasil rata-rata rendemen disajikan pada Tabel 4.1. Berdasarkan hasil perhitungan dapat dilihat bahwa ekstraksi dengan maserasi pada temperatur kamar (25°C) menghasilkan rendemen yang lebih besar dibandingkan dengan maserasi 5°C dan soxhletasi.

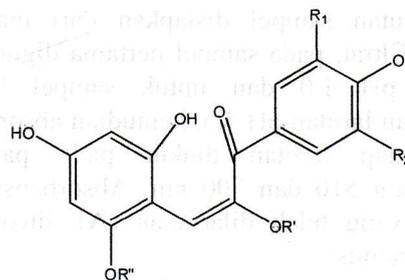
Tabel 1 Hasil ekstraksi dengan metode maserasi 5°C, 25°C dan soxhletasi

No	Metode	Waktu (jam)	Sebelum pemekatan	Sesudah pemekatan	Berat Ekstrak	Rendemen
1	Maserasi 5°C	24	Merah Tua	Cairan kental merah pekat	15,1172 g	15,1%
2	Maserasi 25°C	24	Merah Tua	Cairan kental merah pekat	17,6884 g	17,7%
3	Soxhletasi	8	Merah Tua	Cairan kental merah pekat	10,4242 g	10,4%

Pada data 1 dan 2 terjadi kenaikan rendemen. Hal ini menunjukkan bahwa dengan meningkatnya temperatur maka rendemen ekstrak yang dihasilkan lebih besar, karena

kelarutan semakin meningkat dan mobilitas partikel meningkat, sehingga interaksi antara pelarut dengan zat yang akan diekstrak lebih mudah dan sering terjadi. Tetapi pada data 2

dan 3 tidak terjadi kenaikan rendemen meskipun ada kenaikan temperatur, hal ini karena pada soxhletasi waktu ekstraksi yang digunakan lebih singkat. Dimungkinkan jika waktu ekstraksi lebih lama maka rendemen yang dihasilkan lebih besar, karena terpenuhinya waktu kontak antara pelarut untuk berinteraksi dengan zat yang akan diekstrak. Namun hal ini tidak dilakukan mengingat struktur antosianin yang tidak stabil, karena dengan memanaskan larutan antosianin terlalu lama menyebabkan kesetimbangan akan bergeser ke bentuk kalkon sehingga menurunkan kuantitas bentuk kation flavilium yang berwarna^[6].



Struktur molekul kalkon ($R' =$ glikosil dan $R'' = H$ atau gula. R_1 dan $R_2 = H, OH$ atau OCH_3).

Penentuan λ maksimum ekstrak kelopak bunga rosela dilakukan dengan metode spektroskopi UV-Vis. Sampel diencerkan dalam pelarut etanol dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm. Adapun data yang dihasilkan dari standardisasi antosianin masing-masing ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Data penentuan panjang gelombang maksimum ekstrak

Panjang gelombang (nm)	Absorbansi		
	Ekstrak (maserasi 5°C)	Ekstrak (maserasi 25°C)	Ekstrak (Sokletasi)
665	0,035	0,085	-
655	-	-	0,077
545	0,471	0,671	0,360

Berdasarkan data di atas, panjang gelombang maksimum yang diperoleh pada pengukuran ekstrak etanol rosela hasil maserasi 5°C, 25°C dan soxhletasi sebesar 545 nm. Menurut Harborne^[8], antosianin memiliki range daerah spektrum tampak pada 475-550 nm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol rosela hasil maserasi 5°C, 25°C dan soxhletasi mengandung antosianin. Panjang gelombang yang terukur adalah panjang gelombang dari empat antosianin yang terdapat dalam rosela yakni delphinidin-3 sambubiosida, sianidin-3 sambubiosida, delphinidin-3 glukosida, dan sianidin-3 glukosida.

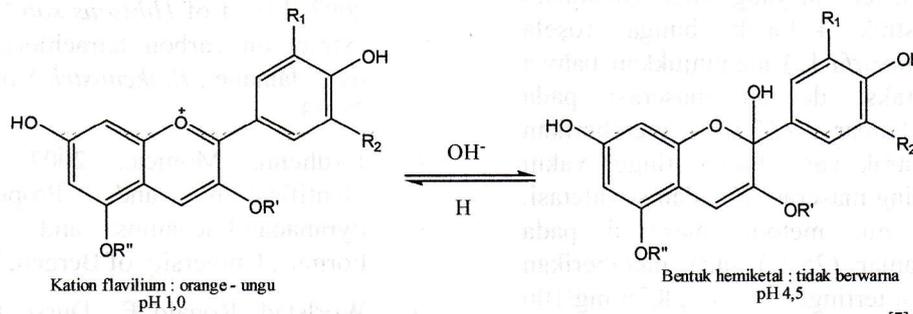
Antosianin berada dalam beberapa bentuk kesetimbangan. Studi kinetika dan termodinamika yang dipelajari secara umum menerima susunan perbedaan transformasi (transfer proton, isomerisasi dan tautomerisasi)

kation flavilium dari antosianin sederhana pada berbagai kondisi pH. Pada larutan asam kuat (di bawah pH 2) kation flavilium lebih dominan dan memberikan larutan antosianin yang berwarna merah^[6].

Penetapan antosianin dilakukan dengan metode perbedaan pH yaitu pH 1,0 dan pH 4,5. Pada pH 1,0 antosianin berbentuk senyawa oxonium. Keadaan yang semakin asam apalagi mendekati pH 1 akan menyebabkan semakin banyaknya pigmen antosianin berada dalam bentuk kation flavilium atau oxonium yang berwarna dan pengukuran absorbansi akan menunjukkan jumlah antosianin yang semakin besar^[9,10]. Pada pH 4,5 yakni pada asam yang lemah kation flavilium berubah ke bentuk yang lebih stabil hemiketal yang tak berwarna dan bentuk kalkon^[6]. Perbedaan absorbansi antara dua

larutan buffer sepadan dengan pigmen

antosianin monomeri.



Struktur kation flavilium dan bentuk hemiketal. R = H atau substituen glikosida^[7]

Sampel diukur pada panjang gelombang 510 dan 700 nm, meskipun pada penentuan λ maksimum ekstrak diperoleh λ maksimum sebesar 545 nm tetapi pada perhitungan total antosianin digunakan panjang gelombang 510 nm. Karena dalam pengukuran absorbansi pH 1,0 pada panjang gelombang 510 nm memberikan absorbansi yang lebih tinggi dibanding pada panjang gelombang 545 nm. Hal ini sesuai dengan data yang disajikan pada Tabel 4.3. Menurut Tensiska dkk^[10] pada panjang gelombang 510

nm adalah panjang gelombang maksimum untuk sianidin-3-glikosida sedangkan panjang gelombang 700 nm untuk mengoreksi endapan yang masih terdapat dalam sampel. Jika sampel benar-benar jernih maka absorbansi pada 700 nm adalah 0. Tetapi, pada penelitian ini nilai absorbansi pada panjang gelombang 700 nm tidak memberikan nilai 0, hal ini disebabkan masih adanya partikel-partikel kecil dalam sampel.

Tabel 4 Total antosianin rosela dengan menggunakan metode ekstraksi yang berbeda

Metode ekstraksi Rosela	Total Antosianin (mg/100 g)	Total Antosianin (mg/100 g) setelah dikoreksi dengan kadar air
Maserasi 5°C	66,72	77,26
Maserasi 25°C	111,21	128,76
Soxhletasi	74	86,83

Hasil percobaan menunjukkan metode maserasi 25°C menghasilkan total antosianin tertinggi dibandingkan dengan maserasi 5°C. Hal ini disebabkan adanya kenaikan temperatur sehingga antosianin yang terekstrak lebih banyak sedangkan kenaikan temperatur yang terjadi pada soxhletasi tidak mengakibatkan naiknya total antosianin pada ekstrak. Hal ini disebabkan waktu ekstraksi yang digunakan lebih singkat mengingat struktur antosianin yang cenderung tidak stabil. Dari penelitian Chumsri^[3] didapatkan total antosianin dari kelopak bunga kering rosela ±502,33 mg/100 gram, lebih besar dari total antosianin yang didapatkan dari hasil

maserasi 25°C. Dengan demikian, kelopak bunga rosela yang diperoleh dari perkebunan rosela di Mijen, Kabupaten Semarang hanya mengandung 25% total antosianin dari rosela yang berasal Provinsi Songkhla, Thailand. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya bibit, tempat tumbuh, iklim, kondisi (umur dan cara panen) dari sampel^[11].

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa metode yang paling efektif untuk mengekstraksi pigmen antosianin rosela adalah dengan metode maserasi 25°C karena memberikan rendemen ekstrak 17,7% dan total antosianin 128,76 mg/100 g.

SIMPULAN

Dari penelitian yang sudah dilakukan terhadap ekstrak kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) menunjukkan bahwa metode ekstraksi dengan maserasi pada temperatur kamar (25°C) memberikan rendemen ekstrak yang paling tinggi yakni 17,7% dibanding maserasi 5°C dan soxhletasi. Di samping itu, metode maserasi pada temperatur kamar (25°C) juga memberikan total antosianin tertinggi yakni 128,76 mg/100 g dibandingkan metode maserasi 5°C dan soxhletasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wang, Chau-jong, 2008, "Hibiscus Anthocyanins for Inhibiting Cancers", *United States Patent*, 20080113050
2. Halimatul, S.M.N., Amin, I., Mohd.-Esa, N., Nawalyah, A.G. dan Muskinah, S.M., 2007, Protein Quality of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Seeds, *ASEAN Food Journal*, Vol 14 (2), pp 131-140
3. Chumsri, P., Sirichote, A., dan Itharat, A., 2007, Studies of the optimum conditions for the extraction and concentration of roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) extract, *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, Vol 30 (Suppl.1), pp 133-139
4. Março, P.H., Levi, M.A.B., Scarminio, I.S., Poppi, R.J. dan Trevisan, M.G, 2005, Exploratory Analysis of Simultaneous Degradation of Anthocyanins in the Calyces of Flowers of the *Hibiscus sabdariffa* Species by PARAFAC Model, *Analytical Sciences*, Vol 21
5. Dahiru, D., Obi, O. J. dan Umaru, H., 2003, Effect of *Hibiscus sabdariffa* calyx extract on carbon tetrachloride induced liver damage, *Biokemistri*, Vol 15 (1), pp 27-33
6. Jordheim, Monica., 2007, "Isolation, Identification and Properties of Pyranoanthocyanins and Anthocyanin Forms", University of Bergen, Norway
7. Worlstad, Ronald E., Durst, Robert W., and Leeb, Jungmin., 2005, "Tracking color and pigment changes in anthocyanin products", *Trends in Food Science & Technology*, 16, 423-428
8. Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia: Penentuan cara modern menganalisis tumbuhan*, terbitan kedua, ab. K. Padmawinata dan I. Soediro, Penerbit ITB, Bandung
9. Giusti, M. M., dan Worlstad, R. E., 2001, "Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy", Oregon State University.
10. Tensiska., Sukarminah, Een., dan Natalia, Dita., 2006, "Ekstraksi Pewarna Alami dari Buah Arben (*Rubus idaeus* (Linn.)) dan Aplikasinya pada Sistem Pangan"
11. Paulose TT., 1970, Development of ginger in India, *India Spices*, Vol 7 (2), hal 2