



**PERBANDINGAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN FENOLIK TOTAL PADA
EKSTRAK ETANOL BUNGA ROSELLA MERAH (*Hibiscuss sabdariffa* L.) ASAL
KABUPATEN BENGKULU TENGAH DAN KABUPATEN SEMARANG
DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

SKRIPSI

Oleh :

ANJANI CHINTYA PRATIWI

NIM : 050217A107

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS NGUDI WALUYO
UNGARAN**

2020

Universitas Ngudi Waluyo
Progam Studi Farmasi
Skripsi, Januari 2020
Anjani Chintya Pratiwi
050217A107

PERBANDINGAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN FENOLIK TOTAL PADA EKSTRAK ETANOL BUNGA ROSELLA MERAH (*Hibiscuss sabdariffa* L.) ASAL KABUPATEN BENGKULU TENGAH DAN KABUPATEN SEMARANG DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

INTISARI

Latar Belakang : *Hibiscuss sabdariffa* L. diketahui memiliki kandungan senyawa flavonoid dan fenolik yang mempunyai aktivitas farmakologis. Perbedaan tempat tumbuh mempengaruhi kandungan metabolite skunder yang dihasilkan bunga rosella merah. Hal ini menunjukkan perlu adanya pengendalian mutu kualitas simplisia, sehingga dapat menjamin kualitas metabolite skunder yang dihasilkan dan tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui kadar flavonoid total dan fenolik total ekstrak etanol Bunga Rosella Merah dari asal dua daerah yang berbeda

Metode : Simplisia didapatkan dari Kabupaten Bengkulu Tengah dan Kabupaten Semarang. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dan dilanjutkan dengan purifikasi ekstrak menggunakan n-heksan. Pengujian flavonoid dan fenolik dilakukan secara kualitatif (uji warna ,KLT) dan uji kuantitatif (Spektrofotometri Uv-vis).

Hasil : Hasil kadar flavonoid total ekstrak bunga rosella merah asal Kabupaten Bengkulu Tengah sebesar 10,90 mgQE/g sampel, asal Kabupaten Semarang sebesar 27,70 mgQE/g sampel. Kadar fenolik total ekstrak bunga rosella merah asal Kabupaten Bengkulu Tengah sebesar 11,33 mgGAE/g sampel, asal Kabupaten Semarang sebesar 24,80 mgGAE/g sampel. Hasil uji statistik didapatkan hasil kadar flavonoid total dan fenolik total ekstrak bunga rosella terdapat perbedaan kadar yang signifikan.

Simpulan : Kadar flavonoid total dan fenolik total asal Kabupaten Semarang lebih tinggi dibandingkan kadar flavonoid total dan fenolik total asal Kabupaten Bengkulu Tengah.

Kata kunci : *Hibiscuss sabdariffa* L., Flavonoid, Fenolik.

Ngudi Waluyo University
Pharmacy Study Program
Skripsi, Januari 2020
Anjani Chintya Pratiwi*
050217A107

COMPARISON OF TOTAL FLAVONOID LEVELS AND TOTAL PHENOLICS Of ROSELLA RED ETHANOL EXTRACT (*Hibiscuss sabdariffa* L.) FROM CENTRAL BENGKULU REGENCY AND SEMARANG REGENCY USING UV-VIS SPECTROFOTOMETRY METHOD

ABSTRACT

Background : *Hibiscuss sabdariffa* L. are known to contain flavonoid and phenolic compounds which have pharmacological activities. Differences in growing sites affect the secondary metabolite content produced by red rosella flowers. This shows the need for quality control of simplicia quality, so that it can guarantee the quality of secondary metabolites produced and the purpose of this study is to determine total flavonoid and total phenolic levels of ethanol extract of Red Rosella from two different regions

Method : Simplisia was obtained from Bengkulu Tengah Regency and Semarang Regency. Extraction was conducted by maceration method and continued with extraction purification using n-hexane. Flavonoid and phenolic testing was carried out qualitatively (color test, TLC) and quantitative test (Uv-vis spectrophotometry).

Results : The results of total flavonoid levels of red rosella flower extract from Central Bengkulu Regency were 10,90 mgQE/g sample, from Semarang Regency amounted to 27,70 mgQE/g sample. Total phenolic content of red rosella flower extract from Bengkulu Tengah Regency was 11,33 mgGAE/g sample, from Semarang Regency was 24,80 mgGAE/g sample. Statistical test results obtained the results of total flavonoid levels and total phenolic rosella flower extracts there were significant differences in levels.

Conclusion : Total flavonoid and total phenolic levels from Semarang Regency are higher than total flavonoid and total phenolic levels from Central Bengkulu Regency.

Keywords : *Hibiscuss sabdariffa* L., Flavonoids, Phenolic, Place of growth

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi berjudul :

**PERBANDINGAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN FENOLIK TOTAL PADA
EKSTRAK ETANOL BUNGA ROSELLA MERAH (*Hibiscuss sabdariffa* L.) ASAL
KABUPATEN BENGKULU TENGAH DAN KABUPATEN SEMARANG
DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Disusun oleh;

ANJANI CHINTYA PRATIWI

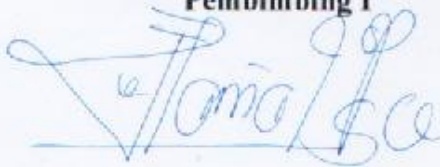
NIM. 050217A107

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS NGUDI WALUYO UNGARAN

Telah diperiksa dan disetujui oleh pembimbing dan telah
Diperkenankan untuk diujikan

Ungaran, Februari 2020

Pembimbing I



Fania Putri Luhurningtyas, S.Farm., M.Si., Apt
NIDN. 0627049102

Pembimbing II



Nova Hasani Furdiyanti, S.Farm., M.Sc., Apt
NIDN. 06111118401

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi berjudul

**PERBANDINGAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN FENOLIK TOTAL PADA
EKSTRAK ETANOL BUNGA ROSELLA MERAH (*Hibiscuss sabdariffa* L.) ASAL
KABUPATEN BENGKULU TENGAH DAN KABUPATEN SEMARANG DENGAN
METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Disusun oleh;

ANJANI CHINTYA PRATIWI

050217A107

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS NGUDI WALUYO

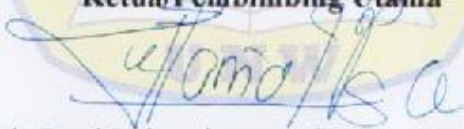
Telah diujikan dan dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi Program
Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo, pada :

Hari : Jum'at

Tanggal : 07 Februari 2020

Tim Penguji:

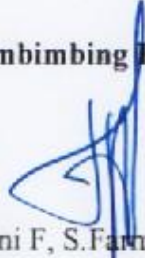
Ketua/Pembimbing Utama


Fania Putri Luhurningtyas, S.Farm., M.Si., Apt
NIDN. 0627049102

Anggota/Penguji

Anggota/Pembimbing Pendamping


Rissa Laila Vifta, S.Si., M.Sc
NIDN.0027079001


Nova Hasani F, S.Farm., M.Sc., Apt
NIDN. 06111118401

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi




Rella Yuswantina, S.Farm., Apt., M.Si
NIDN. 0630038702

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Nama : Anjani ChintyaPratiwi
NIM : 050217A107
Tempat Tanggal Lahir : Bengkulu, 16 juli 1996
Agama : Islam
Nama Orang Tua
Ayah : Azhari, SH
Ibu : Harniza
Alamat : Prumnas citra arkagriya blok C no 04 padang lekat
Kab.Kepahiang, Prov. Bengkulu

Riwayat Pendidikan :

1. SDN 04 KOTABENGKULU Tahun 2002-2008
2. SMPN 01 KEPAHANG Tahun 2008-2011
3. SMAN 01 KEPAHANG Tahun 2011-2014
4. DIII Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu Tahun 2014-2017

Saat ini tercatat sebagai mahasiswa semester V Prodi S1 Farmasi Universitas
Ngudi Waluyo Ungaran periode 2018-2020

PERNYATAAN ORISINILITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini saya,

Nama : Anjani Chintya Pratiwi

NIM : 050217A107

Mahasiswa : Program studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi berjudul "**PERBANDINGAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN FENOLIK TOTAL PADA EKSTRAK ETANOL BUNGA ROSELLA MERAH (*Hibiscuss sabdariffa* L.) ASAL KABUPATEN BENGKULU TENGAH DAN KABUPATEN SEMARANG DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**" adalah karya ilmiah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik apapun di Perguruan Tinggi manapun.
2. Skripsi ini merupakan ide dan hasil karya murni saya yang dibimbing dan dibantu oleh tim pembimbing dan narasumber.
3. Skripsi ini tidak memuat karya atau pendapat orang lain yang telah dipublikasikan kecuali secara tertulis dicantumkan dalam naskah sebagai acuan dengan menyebut nama pengarang dan judul aslinya serta dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran di dalam pernyataan ini, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah saya peroleh dan sanksi lain sesuai dengan norma yang berlaku di Universitas Ngudi Waluyo.

Ungaran, Februari 2020
Yang membuat pernyataan,



Anjani Chintya Pratiwi
050217A107

HALAMAN KESEDIAAN PUBLIKASI

Yang bertanda tangan di bawah ini saya,

Nama : Anjani Chintya Pratiwi

NIM : 050217A107

Mahasiswa : Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo

Dengan ini menyatakan bahwa:

Menyatakan memberi kewenangan kepada Universitas Ngudi Waluyo untuk menyimpan, mengalih media/formatkan, merawat dan mempublikasikan skripsi saya dengan judul **"Perbandingan Kadar Flavonoid Total Dan Fenolik Total Pada Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah (*Hibiscuss sabdariffa* L.) Asal Kabupaten Bengkulu Tengah Dan Kabupaten Semarang Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis"** untuk kepentingan akademis.

Ungaran, Februari 2020
Yang membuat pernyataan,



ANJANI CHINTYA PRATIWI
050217A107

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi Ini Saya Persembahkan Untuk :

1. Kedua orang tuaku tercinta, ayahanda (Azhari, SH) dan ibunda (Harniza) ini anakmu mencoba memberikan yang terbaik untukmu. Betapa diri ini ingin melihat kalian tersenyum bahagia dan bangga padaku. Betapa tak ternilai kasih sayang dan pengorbanan kalian untukku. Terima kasih atas dukungan moril maupun material untukku selama ini.
2. Adikku-adikku (Andini Oetari Nurinsani), (Achmad Fikri Subarkah), (Dara Amanda Salsa Billa), aku mungkin bukan seorang kakak yang patut untuk kalian teladani. Aku hanya berusaha sebisaku untuk menjadi kakak yang baik untuk kalian. Terima kasih atas dukungan dan doa untukku selama ini.
3. Untuk pria yang selalu di sampingku (Briptu. Denian Dewa Nanda) yang selalu menguatkan, dan memberi support .
4. Dosen-dosenku yang telah menjadi orang tua keduaku, yang namanya tak bisa ku sebutkan satu persatu yang selalu memberikan motivasi untukku, selalu peduli dan perhatian, ucapan terimakasih yang tak terhingga atas ilmu yang telah kalian berikan sangatlah bermanfaat untukku.
5. Yang ku banggakan ibuku yang manis, cantik dan baik ibu Nurfijrin Ramadhani, M.Sc., Apt , ibu Herlina, S.Si yang telah memberikan bimbingan , dan saran dalam penyusunan karya tulis ilmiah ku sehingga menjadi sebuah karya tulis ilmiah yang sempurna dan mendapatkan nilai yang baik.

6. Terkhusus untuk seorang sahabat spesial (Elfa Oktari) terima kasih untuk segala support, telah menjadi sahabat yang paling berkesan, paling baik, paling mengerti, selalu menjadi sumber kekuatan dalam cobaan bahkan dikeadaan paling buruk, I love you.
7. Untuk sahabat-sahabatku tersayang di kampus yang selalu optimis (ayu wandira, Anggita fusva, gerry franjhasdika, M. Raja, vio viery, Uci Arisanti, Reka nanda Sari, Wiwi Utari, Wika Ruanza, Aziz Mahmuda, Setyo Budi Nugroho). Terima kasih Karena kalian selalu siap menampung air mata, tawaku, tempat sharing , penyemangat dan dukungan yang selalu kalian berikan untukku. I love you Guys
8. Dan yang terakhir terima kasih juga dengan semua teman-teman universitas ngudi waluyo angkatan 7 ,telah hadir selama 2 tahun ini semoga kita akan berjumpa di lain waktu dengan almamater masing-masing yang berbeda.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **“Perbandingan Kadar Flavonoid Total Dan Fenolik Total Pada Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah (*Hibiscuss sabdariffa* L.) Asal Kabupaten Bengkulu Tengah Dan Kabupaten Semarang Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis”**.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat Universitas untuk menyelesaikan program studi Sarjana Farmasi jurusan di Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo Ungaran tahun 2019. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam menyusun skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari banyak pihak, maka dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Subyantoro, M. Hum selaku rektor Universitas Ngudi Waluyo Ungaran.
2. Richa Yuswantina, S.Farm., M.Si., Apt selaku Ketua Prodi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo Ungaran.
3. Fania Putri Luhurningtyas, S.Farm., M.Si., Apt selaku Pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk membimbing penulis dalam melakukan penulisan skripsi ini.

4. Nova Hasani Furdiyanti, S.Farm., M.Sc., Apt selaku Pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk membimbing penulis dalam melakukan penulisan skripsi ini.
5. Seluruh staf karyawan Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
6. Kedua orang tua saya terkasih, yang senantiasa memberi semangat dan doa untuk menyelesaikan skripsi ini.
7. Teman-teman serta semua pihak yang telah memberikan bimbingan, saran dan semangat kepada penulis yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Karena keterbatasan waktu dan kemampuan penulis dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis dengan tulus mengharapkan saran dan kritik dari pembaca sehingga dapat digunakan untuk pengembangan lebih lanjut.

Ungaran, Februari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN DEPAN	i
INTISARI.....	ii
ABSTRACT	iii
HALAMAN PERSETUJUAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	vi
PERNYATAAN ORISINALITAS	vii
SURAT PERNYATAAN KESEDIAAN PUBLIKASI.....	viii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ix
PRAKATA.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR BAGAN.....	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Kajian teori.....	5
1. Bunga Rosella	5
2. Flavonoid.....	9
3. Fenolik.....	11
4. Ekstraksi.....	12
5. Kromatografi Lapis Tipis.....	15
6. Spektrofotometri Uv-Vis.....	17
B. Kerangka Teori.....	23
C. Kerangka Konsep.....	24
D. Hipotesis Penelitian.....	24

BAB III METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian.....	25
B. Waktu Dan Tempat	25
C. Variabel Penelitian.....	26
D. Alat Dan Bahan Penelitian.....	26
E. Prosedur kerja penelitian.....	27
F. Analisis data	36
G. Diagram Alir Penelitian	38

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman	47
B. Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Bunga Rosella Merah	49
C. Purifikasi Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah.....	51

D. Uji Kualitatif Dengan Menggunakan Uji Warna	54
E. Uji Kualitatif Dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis	55
F. Uji Kuantitatif Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah	60
G. Uji Kuantitatif Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah	67

BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan	81
B. Saran	81

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Hasil Simplisia Kering	49
Tabel 4.2	Hasil Ekstrak Etanol 70% Bunga Rosella Merah.....	51
Tabel 4.3	Hasil Ekstrak Etanol 70% Bunga Rosella Merah.....	54
Tabel 4.4	Hasil Identifikasi Kualitatif Ekstrak Bunga Rosella Merah	55
Tabel 4.5	Hasil Uji Klt Flavonoid dan Fenolik Ekstrak Bunga Rosella Merah.....	57
Tabel 4.6	Nilai Rf flavonoid Ekstrak Bunga Rosella Merah.....	58
Tabel 4.7	Nilai Rf Uji Fenolik Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah	60
Tabel 4.8	Hasil Absorbansi Kurva Baku Kuersetin	66
Tabel 4.9	Hasil Perhitungan Kadar Flavonoid Total	67
Tabel 4.10	Hasil Absorbansi Kurva Asam Galat	71
Tabel 4.11	Hasil Perhitungan Kadar Fenolik Total	73
Tabel 4.12	Hasil Kadar Flavonoid total Spss <i>Independent</i> Sampel T-Test Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah.....	78
Tabel 4.13	Hasil kadar fenolik total Spss <i>Independent</i> SampeL t-Test Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah.....	79
Tabel 4.14	Hubungan Kadar Flavonoid Total Dan Fenolik Total	80

DAFTAR BAGAN

Bagan 2.1	Kerangka Teori	23
Bagan 2.2	kerangka konsep	24
Bagan 3.1	Pembuatan Ekstrak Bunga Rosella Merah	38
Bagan 3.2	Analisis Kualitatif Flavonoid Dengan Metode Reaksi Warna	39
Bagan 3.3	Analisis Kualitatif Fenolik Dengan Metode Reaksi Warna	40
Bagan 3.4	Analisis Kualitatif Flavonoid Dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	41
Bagan 3.5	Analisis Kualitatif Fenolik Dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	42
Bagan 3.6	Penentuan Kurva Baku Kuersetin Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis.	43
Bagan 3.7	penentuan kurva baku asam galat menggunakan spektrofotometri Uv-Vis.....	44
Bagan 3.8	Analisis Kuantitatif Flavonoid Total Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis	45
Bagan 3.9	Analisis Kuantitatif Fenolik Total Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1	Bunga Rosella Merah (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	5
Gambar 2.2	Struktur Dasar Flavonoid	10
Gambar 2.3	Struktur Fenolik.....	12
Gambar 2.4	Skema Instrument Uv-Vis	18
Gambar 4.1	Persamaan Reaksi Flavonoid.....	55
Gambar 4.2	Pola Kromatogram Metabolit Skunder flavonoid Ekstrak Bunga Rosella Merah dengan sinar UV 366	57
Gambar 4.3	Pola Kromatogram Metabolit Skunder flavonoid Ekstrak Bunga Rosella Merah dengan sinar UV 366	59
Gambar 4.4	Reaksi Pembentukan Kompleks Flavonoid- AlCl_3	61
Gambar 4.5	Panjang Gelombang Kuersetin	63
Gambar 4.6	Grafik Hasil Absorbansi Kurva Baku Kuersetin	65
Gambar 4.7	Panjang Gelombang Asam Galat.....	68
Gambar 4.8	Reaksi Asam Galat Dengan Natrium Karbonat Dan Reagen Follin-Ciocalteu.....	69
Gambar 4.9	Grafik Hasil Absorbansi Kurva Baku Asam Galat.....	71

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Determinasi tanaman	88
Lampiran 2.	Perhitungan Rendemen	92
Lampiran 3.	Perhitungan harga Rf pada UV 366 nm	94
Lampiran 4.	Hasil Spektrofotometri Panjang Gelombang Kuersetin	96
Lampiran 5.	Hasil Spektrofotometri <i>Operating Time</i> Kuersetin	97
Lampiran 6.	Hasil Spektrofotometri Kurva Baku kuersetin	98
Lampiran 7.	Perhitungan kadar flavonoid total ekstrak sampel Asal	99
Lampiran 8.	Hasil Spektrofotometri Panjang Gelombang asam galat.....	101
Lampiran 9.	Hasil Spektrofotometri <i>Operating Time</i> Asam Galat.....	102
Lampiran 10.	Hasil Spektrofotometri Kurva Baku Asam Galat	103
Lampiran 11.	Perhitungan Kadar Fenolik Total Ekstrak Bunga Rosella Merah.....	104
Lampiran 12.	Hasil Data SPSS Windows 16 Flavonoid Ekstrak Bunga Rosella Merah.....	106
Lampiran 13.	Proses pembuatan simplisia.....	107
Lampiran 14.	Pembuatan Ekstrak	108
Lampiran 15.	Identifikasi Metabolit Sekunder	109
Lampiran 16.	Penentuan Kadar Flavonoid total dan fenolik total	110

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Obat tradisional indonesia telah lama dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat dalam menjaga kesehatan dan mengobati beberapa penyakit. Banyak obat-obatan yang telah teruji khasiatnya dan tetap lestari hingga saat ini dengan dukung oleh pembuktian ilmiah melalui uji praklinik dan uji klinik (Wasito, 2011). Salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai bahan obat saat ini yaitu Bunga Rosella Merah yang menjadi begitu populer, hal ini dikarenakan hampir seluruh bagian tanamannya dapat digunakan untuk kebutuhan pengobatan (Herlinda *et al.*, 2013).

Bukti-bukti empiris dan dukungan ilmiah yang semakin banyak menyebabkan herbal semakin populer di kalangan masyarakat dunia. Banyak tanaman herbal dilaporkan memiliki kandungan senyawa-senyawa antioksidan seperti fenolik dan flavonoid yang berguna untuk meregenerasi sel dan menangkal radikal bebas yang diperlukan untuk terapi penyakit degeneratif, misalnya Diabetes Mellitus (DM) (Nishanthini *et al.*, 2012), menurunkan risiko serangan penyakit kardiovaskuler, tekanan darah, dan aterosklerosis (Heinrich *et al.*, 2008). Salah satu tanaman yang mengandung flavonoid dan fenolik adalah Bunga rosella merah(Purbowati, 2014).

Pada penelitian ini peneliti ingin membandingkan kadar flavonoid total dan fenolik total pada Bunga Rosella Merah pada daerah dengan iklim

yang berbeda yakni di daerah Kabupaten Bengkulu Tengah dan Kabupaten Semarang. Kabupaten Semarang merupakan daerah dataran tinggi dan Kabupaten Bengkulu tengah merupakan daerah dataran rendah.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Suradji *et al* (2019) terdapat hasil yaitu kadar flavonoid total untuk ekstrak Bunga Rosella Merah asal kediri yaitu 0,2816 mg RE/g dengan persentase 0,02816% dan untuk ekstrak bunga Rosella Merah asal Luwu Utara yaitu 2,075 mg RE/g dengan persentase 0,207%. Menunjukkan bahwa kadar flavonoid total terdapat perbedaan. Dikarenakan adanya perbedaan kadar flavonoid total pada penelitian sebelumnya, pada penelitian ini juga akan dilakukan pengujian fenolik total pada ekstrak etanol Bunga Rosella Merah asal daerah yang berbeda untuk mengetahui adakah perbedaan kadar fenolik total terhadap ekstrak etanol Bunga Rosella Merah.

Metode analisis kualitatif yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa golongan flavonoid dan fenolik adalah kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengetahui sampel benar-benar mengandung flavonoid dan fenolik serta menghitung nilai Rfnya, sedangkan analisis kuantitatif flavonoid dan fenolik dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid dan fenolik. Flavonoid dan fenolik mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis (Rohyami, 2016).

Berdasarkan pernyataan di atas maka dari itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian identifikasi dan penetapan kadar Bagaimana perbandingan kadar flavonoid total dan fenolik total yang terdapat dalam ekstrak etanol Bunga Rosella Merah Asal Kabupaten Bengkulu Tengah dan Kabupaten Semarang dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan dapat diidentifikasi beberapa permasalahan sebagai berikut:

1. Berapa kadar flavonoid total dan fenolik total yang terdapat dalam ekstrak etanol bunga rosella merah asal Kabupaten Bengkulu Tengah dan Kabupaten Semarang?
2. Apakah terdapat perbedaan kadar flavonoid dan fenolik total yang terdapat dalam ekstrak etanol bunga rosella merah asal Kabupaten Bengkulu Tengah dan Kabupaten Semarang dengan metode Spektrofotometri UV-Vis?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk menganalisis kadar flavonoid total dan fenolik total yang terdapat dalam ekstrak etanol Bunga Rosella Merah asal Kabupaten Bengkulu Tengah dan Kabupaten Semarang.
2. Untuk menganalisis adakah perbedaan kadar flavonoid total dan fenolik total yang terdapat dalam ekstrak etanol bunga rosella merah asal Kabupaten Bengkulu Tengah dan Kabupaten Semarang dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

D. Manfaat Penelitian

Diharapkan dari penelitian yang akan dilakukan nantinya dapat bermanfaat bagi :

1. Bagi Akademik

Penelitian ini dapat dijadikan sumber pustaka di perpustakaan untuk menambah wawasan dan ilmu pengetahuan bagi pembaca. Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan informasi bagi aktivitas Universitas Ngudi Waluyo Kabupaten Semarang, Jawa Tengah.

2. Bagi Peneliti

Memberikan tambahan pengetahuan terkait pengaruh metode perbedaan tempat asal tumbuh terhadap kadar flavonoid total dan fenolik total pada Bunga Rosella Merah, serta sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo Ungaran.

3. Bagi Instansi/Bagi Masyarakat

Memberikan informasi bagi masyarakat tentang perbedaan kandungan flavonoid dan fenolik pada ekstrak etanol Bunga Rosella Merah dari tempat yang berbeda hingga dapat mengetahui kualitas Bunga Rosella Merah yang baik.

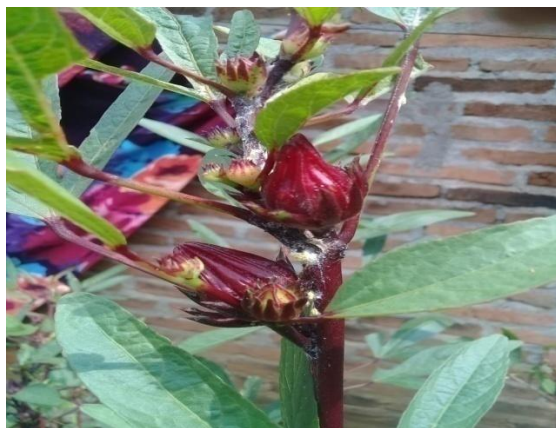
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kajian teori

1. Bunga Rosella

a. Klasifikasi Bunga Rosella Merah



Gambar 2. 1 Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* L.)

(Dokumentasi Pribadi)

Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan tanaman herbarium dengan tatanan taksonomi sebagai berikut (Bhattacharayya *et al*, 1999) :

Klasifikasi : Plantae
Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Division : Magnoliophyta
Subdivisi : Angiospermae
Class : Magnoliopsida

Subclass : Dilleniidae
Ordo : Malvales
Family : Malvaceae
Genus : Hibiscus L.
Species : *Hibiscus sabdariffa* L

Bunga Rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki struktur yang sama dengan bunga tanaman herbarium lainnya. Bunga berukuran besar dengan warna merah sampai kuning dan semakin gelap di tengah bunga. Struktur morfologi Bunga Rosella antara lain (Bhattacharayya *et al*, 1999) :

- 1) tangkai bunga (*pedicel*),
- 2) *epicalyx*,
- 3) kelopak bunga (*calyx*),
- 4) mahkota bunga (*corolla*),
- 5) tangkai putik (*androgynophorum*),
- 6) benang sari (*stamen*) dan
- 7) putik (*gynensium*).

b. Morfologi Bunga Rosella Merah

Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) termasuk famili Malvaceae yang merupakan tanaman tropis yang banyak tumbuh di Indonesia. Bunganya biasa digunakan pada pengobatan tradisional, seperti pengobatan penyakit batuk, gangguan pencernaan, menurunkan

tekanan darah, merangsang gerak peristaltik usus serta berpengaruh terhadap fungsi diuretik (Suzery, 2010).

Rosella termasuk tumbuhan semak tegak yang kebanyakan bercabang, memiliki bunga dan batang yang sewarna dan biasanya mencolok, memiliki daun berwarna hijau gelap sampai dengan merah dan memiliki kulit dan batang yang berserat kuat. Bunga berwarna merah sampai dengan kuning dengan warna gelap ditengahnya, dengan jumlah kelopak antara 3–7 buah. Bunga Rosella memiliki putik sekaligus serbuk sari sehingga tidak memerlukan bunga lain untuk bereproduksi (Mahadevan *et al.*, 2009).

Tinggi tanaman Rosella mencapai 0,5-2,4 m. Bunga Rosella merupakan bunga tunggal tidak lengkap (bunga bertangkai) dengan tipe daun bunga majemuk menyirip gasal berseling dan warna bunga dewasa bervariasi dari hijau tua sampai merah kekuningan. Batang tanaman bulat, berserat dan bercabang. Tanaman Rosella memiliki akar tunggal yang cukup dalam. Buah tanaman Rosella berwarna hijau tua dan mampu mencapai diameter 5,3 cm dan panjang 5 cm (Mahadevan *et al.*, 2009)

c. Kandungan Kimia Bunga Rosella

Kandungan penting yang terdapat dalam kelopak bunga rosella adalah pigmen antosianin yang membentuk flavonoid yang berperan sebagai antioksidan. Flavonoid rosella terdiri dari flavonols dan pigmen antosianin. kelopak bunga mengandung senyawa fenolik

dan antosianin. Antosianin merupakan sumber antioksidan alami. Pigmen antosianin ini membentuk warna ungu kemerahan menarik dikelopak rosella. Antosianin diyakini sebagai antioksidan yang diyakini dapat menyembuhkan berbagai penyakit degeneratif (Mardiah, 2010).

Kandungan fisikokimia kelopak bunga rosella, yaitu kadar air 12,81%, protein 7,51%, lemak 0,46%, serat 11,17% dan abu 11,24%. Rosella mengandung mineral K,P, Na Ca, Mg, Fe, Zn, Cu dan Mn, asam askorbat (140.13 mg/100g), total antosianin (622,91mg/100g) dan total fenolik (37.42 mg/g bk) (Purbowati, 2014).

Bunga Rosella Merah terdiri dari alkaloid, b-sitosterol, antosianin, asam sitrat, sianidin-3-rutinose, delphinidin, galactosa, pectin, asam protocatechuic, kuersetin, asam stearis, dan lilin. Rosella diketahui memiliki kandungan senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan sebanyak 23,10 mg dalam setiap gram bobot kering kelopak Rosella. Kelopaknya juga kaya akan asam dan pectin. Analisis fitokimia pada kelopaknya menunjukkan bahwa terdapat protein dan mineral seperti besi, fosfor, kalsium, magnesium, aluminium, mangan, sodium, potasium, kalsium sitrat, vitamin C, gossypetin, dan hibiscin chlorideare. Bijinya mengandung protein, lemak, serat, mineral (fosfor, magnesium, kalsium, lysine, tryptophan, nitrogen, asam lemak, selulosa, pentosan, dan zat tepung, steroid tokoferol (Mahadevan *et al.*, 2009).

d. Manfaat Bunga Rosella

Zat aktif yang paling berperan dalam kelopak bunga Rosella meliputi gossypetin, antosianin, dan glucoside hibiscin. Antosianin merupakan pigmen alami yang memberi warna merah pada seduhan kelopak bunga Rosella, dan mempunyai khasiat sebagai antioksidan. Kadar antioksidan yang tinggi pada kelopak Rosella dapat menghambat radikal bebas. Beberapa penyakit kronis yang ditemui saat ini banyak yang disebabkan oleh radikal bebas yang berlebihan. Diantaranya kerusakan ginjal, diabetes, jantung koroner, dan kanker (Bobby, 2009).

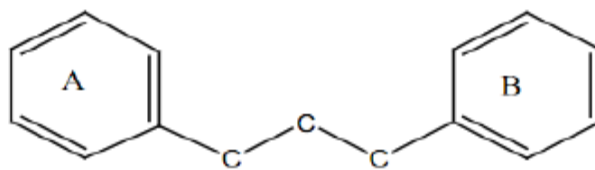
Semakin pekat warna merah pada kelopak Rosella, rasanya akan semakin asam dan kandungan antosianinnya semakin banyak. Kadar antioksidan dalam kelopak Rosella menjadi berkurang jika dikeringkan dengan proses pemanasan (dipanggang dalam oven). Kadar senyawa berkhasiat yang terkandung dalam kelopak Rosella berada pada tingkat tertinggi jika dikonsumsi dalam keadaan yang masih segar (Bobby, 2009).

2. Flavonoid

Flavonoid memiliki kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzen (C_6) terikat pada suatu rantai propana (C_3) sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$ susunan ini dapat menghasilkan 3 jenis senyawa flavonoid, yaitu : flavonoid atau ,3-diaril

propana, isoflavonoid atau 1,2-diaril propana dan neoflavonoid atau 1,1-diaril propana (Ishak, 2018).

Flavonoid adalah kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Flavonoid terdapat dalam semua tanaman hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tanaman. Flavonoid salah satu metabolit sekunder, kemungkinan keberadaannya dalam daun dipengaruhi oleh adanya proses fotosintesis sehingga daun muda belum terlalu banyak mengandung flavonoid (Markham, 1988)



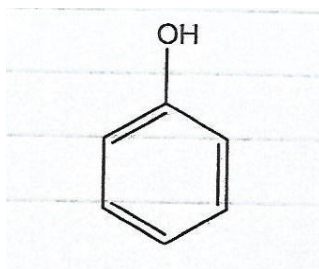
Gambar 2.2 Struktur Dasar Flavonoid (Harbone, 1987)

Flavonoid adalah senyawa fenol alam yang terdapat dalam hampir semua tumbuhan. Sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi, dan antikanker. Efek antioksidan senyawa ini disebabkan oleh penangkapan radikal bebas melalui donor atom hidrogen dari gugus hidroksil flavonoid. Beberapa penyakit seperti arterosklerosis, kanker, diabetes, parkinson, alzheimer, dan penurunan kekebalan tubuh telah diketahui dipengaruhi oleh radikal bebas dalam tubuh manusia. Flavonoid menjadi perhatian karena peranannya bersifat obat dalam pencegahan kanker dan penyakit kardiovaskular (Neldawati *et al*, 2013).

Flavonoid merupakan senyawa polar sehingga akan larut dalam pelarut polar yaitu air. Adanya yang terikat pada flavonoid menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam pelarut yang polar. Pada proses ekstraksi flavonoid, filtrat yang diperoleh diuapkan dengan waterbath dengan suhu 50° C, sampai terbentuk ekstrak kental. Penggunaan suhu 50° C dikarenakan komponen bioaktif seperti flavonoid, tanin, fenol rusak pada suhu lebih dari 60° C dan dapat mengalami perubahan struktur serta menghasilkan ekstrak yang rendah (Markham, 1988).

3. Fenolik

Fenolik adalah senyawa yang mempunyai sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Kelompok senyawa fenolik dan polifenol adalah fenol sederhana, asam fenolat, kumarin, tanin, dan flavonoid. Dalam tanaman, senyawa-senyawa ini biasanya berada dalam bentuk glikosida atau esternya. Standar yang digunakan pada analisis kandungan fenolik adalah asam galat, hal ini karena asam galat bersifat stabil, memiliki sensitivitas yang tinggi, dan harganya cukup terjangkau. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam pelarut polar karena umumnya mereka seringkali berikatan dengan gula sebagai glikosida, dan biasanya terdapat dalam vakuola sel (Harbone, 1987). Kandungan fenolik dari standar asam galat ditentukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteau (Rahayu *et al.*, 2015).



Gambar 2.3 Struktur Fenolik (Vermerris dan Nicholson, 2006)

Kelompok senyawa fenol yang berasal dari jalur sikhimat yang utama adalah fenil propanoid. Senyawa fenol ini mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri atas cincin benzena (C₆) yang terikat pada ujung rantai karbon propana (C₃). Beberapa jenis senyawa yang termasuk fenil propanoid adalah turunan asam sinamat, turunan alifenol, turunan propenil fenol, turunan kumarin. Senyawa-senyawa turunan asam sinamat biasanya mempunyai konfigurasi trans. Pengaruh sinar UV dapat menyebabkan terjadinya isomerisasi membentuk konfigurasi (Endarini, 2016).

Aktivitas antioksidan dari senyawa fenolik telah diketahui karena sifat redoksnya, yang memungkinkan senyawa fenolik dapat berperan sebagai agen pereduksi, pendonor hidrogen, pemadam singlet oksigen, dan sebagai pengkhelat logam (Karadeniz *et al.*, 2005).

4. Ekstraksi

a. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penyarian zat berkhasiat atau zat aktif yang terdapat dalam suatu bahan alam menggunakan pelarut dan metode yang sesuai, sehingga diperoleh ekstrak (Dirjen POM

RI, 2000). Tujuan ekstraksi bahan alam adalah menarik komponen kimia yang terdapat di dalamnya. Ekstraksi didasarkan pada perpindahan massa komponen ke dalam pelarut yang dipengaruhi oleh kelarutan komponen di dalam pelarut. Proses perpindahan massa komponen dimulai dari lapisan antar muka kemudian berdifusi ke dalam pelarut (Emilan *et al.*, 2011).

Menurut Badan POM RI (2010), ekstrak merupakan sediaan kering kental atau cair yang dibuat dengan penyari simplisia menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Penyarian dapat dilakukan dengan metode maserasi, perkolasi atau penyeduhan dalam air mendidih.

Terdapat 3 proses yang terjadi selama ekstraksi berlangsung yaitu :

- 1) Penetrasi pelarut ke dalam sel tanaman
- 2) Disolusi pelarut ke dalam sel tanaman
- 3) Difusi zat yang terekstraksi (solut) dari dalam ke luar sel

Ketiga proses tersebut terjadi secara terus-menerus hingga tercapai kesetimbangan di dalam sel tanaman dan pelarut. Kecepatan terjadinya kesetimbangan dipengaruhi oleh suhu, pH, ukuran partikel, serta kelarutan komponen dalam pelarut. Prinsipnya, komponen yang sifatnya polar lebih mudah larut dalam pelarut polar sedangkan komponen non polar mudah terlarut dalam pelarut non polar (Emilan *et al.*, 2011).

b. Metode Ekstraksi

Secara umum metode ekstraksi dapat dibedakan berdasarkan energi yang digunakan dan bentuk fase bahan yang diekstraksi. Berdasarkan energi yang digunakan metode ekstraksi dibagi menjadi ekstraksi cara panas yaitu refluks, sokletasi, destilasi, infudasi, dekoksi, dan ekstraksi cara dingin meliputi maserasi dan perkolasi, sedangkan berdasarkan bentuk fasenya ekstraksi dibedakan menjadi ekstraksi cair-cair dan ekstraksi cair-padat (Emilan *et al.*, 2011).

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Prosedurnya dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai dan wadah tertutup. Pengadukan dilakukan agar dapat meningkatkan kontak antara serbuk simplisia dan pelarut. Maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C), sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas. Metode ini dilakukan selama 3 hari, dilanjutkan remaserasi selama 2 hari (Depkes RI, 2006). Selama maserasi, proses perendaman dilakukan bersama dengan pengocokan secara berulang-ulang. Upaya ini menjamin kesetimbangan zat terekstraksi dalam cairan terjadi lebih cepat, sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan zat aktif. Secara teoritis, teknik maserasi tidak dapat menghasilkan ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan penyari, semakin banyak hasil yang

diperoleh (Voight, 1994).

Ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan prinsip kelarutan. Prinsip kelarutan adalah “*like dissolves like*” yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, demikian juga sebaliknya pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar, serta pelarut organik akan melarutkan senyawa organik (Arifianti *etal.*, 2014).

Keuntungan metode maserasi adalah prosedur dan peralatannya sederhana (Agoes, 2007). Metode ini dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Haryastuti, 2012).

5. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan teknik pemisahan campuran dengan menggunakan suatu plat fase diam yang nantinya fase diam tersebut akan secara seragam tersebar diatas permukaan plat tersebut yang kemudian fase gerak akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh gaya kapiler pada pengembangan menaik (*ascending*) atau karena gaya gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*) (Gandjar dan Rohman, 2007).

Silika gel merupakan fase diam yang sering digunakan untuk KLT. Zat ini digunakan sebagai adsorben *Universal* untuk kromatografi senyawa netral, asam, dan basa. Selain fase diam, terdapat fase gerak yang merupakan salah satu bagian penting dalam analisis pemisahan

senyawa menggunakan KLT karena polaritas dari fase gerak dapat menentukan pemisahan (Gandjar dan Rohman, 2007).

Pemisahan pada KLT berdasarkan prinsip *like dissolve like*, yaitu didasarkan pada kepolaran analit yang akan mempengaruhi interaksinya dengan fase diam dan fase gerak. Apabila kepolaran analit menyerupai kepolaran fase gerak maka analit akan larut dan terbawa oleh fase gerak di sepanjang permukaan fase diam melalui gaya kapiler, semakin kuat interaksi analit dengan fase gerak maka semakin jauh analit akan terbawa. Sebaliknya, jika kepolaran analit mirip dengan fase diam maka analit akan tertinggal di fase diam karena interaksinya yang kuat sementara komponen lainnya akan terelusi. Secara kuantitatif, pemisahan diukur melalui nilai R_f atau retardation factor, dua senyawa dengan nilai R_f sama pada suhu, fase gerak dan fase diam yang sama dapat diprediksikan sebagai senyawa yang identik namun untuk dapat memastikan, diperlukan data pendukung lain seperti deteksi bercak pada sinar UV (Lade *et al.*, 2014).

Metode KLT dapat digunakan untuk uji identifikasi suatu senyawa dalam campuran (sampel). Parameter yang digunakan adalah nilai R_f (*Retardation factor*). Dua senyawa dikatakan identik jika memiliki nilai R_f yang sama jika diukur pada kondisi KLT sama. Setelah pengembangan sampel akan diperoleh nilai R_f yang menggambarkan migrasi relatif komponen senyawa terhadap pelarut dan berhubungan dengan koefisien distribusi komponen. Dalam analisis kuantitatif dengan

metode KLT, nilai R_f diharapkan berada antara 0,2 sampai 0,8 (Kowalska T., 2003). Nilai R_f dihitung menggunakan rumus berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solute}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

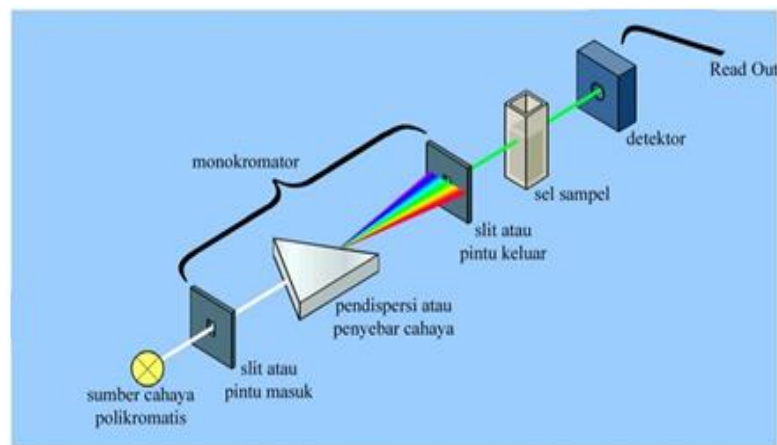
Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam kromatografi lapisan tipis yang juga mempengaruhi harga R_f antara lain struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya, tebal dan kerataan dari lapisan penyerap, pelarut dan derajat kemurnian fase gerak, derajat kejenuhan dari uap dalam bejana pengembangan yang digunakan, teknik percobaan, jumlah cuplikan yang digunakan, suhu dan kesetimbangan (Sastrohamidjojo, 2007).

6. Spektrofotometri Uv-Vis

Metode spektrofotometri merupakan salah satu metode yang banyak dipakai untuk menganalisa karakteristik suatu materi dengan cara menganalisa spektrum yang dihasilkan oleh materi tersebut. Gambaran spektra dari materi, yang merupakan hasil interaksi antara energi radiasi dengan atom-atom atau molekul-molekul penyusun materi, dinyatakan sebagai variasi intensitas radiasi atau absorbansi sebagai fungsi panjang gelombang (Maknunah, 2015).

Spektrofotometer Uv-Vis merupakan metode analisa yang cukup luas. Baik untuk analisa kualitatif maupun kuantitatif. Untuk analisa kuantitatif yang di perhatikan adalah :

- a Membandingkan λ maksimum
- b Membandingkan serapan (A), daya serapan (a)
- c Membandingkan spektrum serapannya



Gambar 2.4 Skema Instrument Uv-Vis (Maknunah, 2015).

Jangkauan gelombang yang tersedia untuk pengukuran membentang dari panjang gelombang pendek ultraviolet sampai ke garis infra merah. Untuk kemudahan pengacuan daerah spectrum secara garis besar dibagi dalam :

- a. Daerah Ultra Violet jauh : 100nm - 190nm
- b. Daerah Ultra Violet dekat : 180nm - 380nm
- c. Daerah Cahaya tampak : 380nm - 780nm
- d. Daerah Inframerah dekat : 780nm - 3000nm
- e. Daerah Inframerah : 2.5 μ m - 40 μ m atau 4000 cm⁻¹ - 250 cm⁻¹

Prinsip dari spektrofotometri UV-Vis adalah mengukur jumlah cahaya yang diabsorpsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul di dalam larutan. Ketika panjang gelombang cahaya ditransmisikan melalui

larutan. Sebagai energi cahaya tersebut akan diserap (diabsorpsi). Besarnya kemampuan molekul-molekul zat terlarut untuk mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dikenalkan dengan istilah absorbansi (A), yang setara dengan nilai konsentrasi larutan tersebut dan berkas cahaya yang dilalui (biasanya 1 cm dalam spektrofotometri) Ke suatu point dimana persentase jumlah cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi diukur dengan phototube (Rusli, 2009).

Spektrofotometer selain merupakan alat pengukur kualitatif juga merupakan alat pengukur kuantitatif, karena jumlah sinar yang diserap partikel di dalam larutan juga bergantung pada jenis dan jumlah partikel. Prinsip dasar spektrofotometri adalah pelewatan cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu melalui sampel. Cahaya tersebut kemudian diserap oleh sampel berwarna dan sebagian lagi diteruskan lalu ditangkap oleh alat pendeteksi/pengukur cahaya disebut fotometer. Intensitas cahaya yang diukur oleh fotometer dikonversi menjadi satuan serapan (absorbansi) dan kemudian digunakan untuk menghitung konsentrasi sampel dengan persamaan lambert-beer (Maknunah, 2015).

$$A = \log I_0/I = \epsilon C l$$

$$T = I_0/I$$

$$A = -\log T$$

Keterangan :

A = Serapan cahaya (Absorbansi)

I_0 = Intensitas cahaya tanpa absorbansi

I = Intensitas cahaya yang diteruskan oleh sampel

ϵ = Koefisien absorpsi molekul

l = Ketebalan lapisan larutan sampel

C = Konsentrasi

T = Transmittan

a Komponen Spektrofotometri (Rusli, 2009) :

1) Sumber Radiasi

Sumber radiasi monokromator kuvet detektor amplifier rekorder 21 sumber cahaya berasal dari lampu Deuterium (H0) untuk UV dengan panjang gelombang 180 – 400 nm dan lampu tungsten (wolfram) dan VIS dengan panjang gelombang 400 - 800 nm.

2) Monokromator

Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi cahaya dengan panjang gelombang tertentu. Monokromator akan memisahkan radiasi cahaya putih yang polikromatis menjadi cahaya monokromatis (mendekati monokromatis).

3) Kuvet

Pada umumnya spektrofotometri melibatkan larutan dengan demikian dibutuhkan wadah/sell untuk menempatkan larutan.

4) Detektor

Fungsinya mengubah energi radiasi yang jatuh mengenainya menjadi suatu besaran yang dapat diukur.

5) Amplifier

Fungsinya untuk memperkuat sinyal listrik.

6) Recorder

Alat untuk mencatat, dapat berupa gambar/angka-angka

b Tipe Instrument dari Spektrofotometri UV-Vis (Rusli, 2009).

1) Single Beam

Pada spektrofotometri UV-Vis tipe *single beam* absorpsi berdasarkan pada sinar tunggal dimana sampel akan ditentukan jumlahnya pada satu panjang gelombang atau *fix wave length*. Hasil biasanya dibandingkan dengan blanko (pelarut).

2) Double Beam

Pada spektrofotometri *double beam* absorpsi biasanya mempunyai variabel panjang gelombang atau '*multi wave length*'. Hasilnya bisa langsung dibandingkan dengan blanko.

Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam analisis secara spektrofotometri UV-Vis diantaranya (Gandjar dan Rohman, 2007):

1) Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis

Hal ini dilakukan jika senyawa yang dianalisis tidak memiliki serapan pada daerah ultraviolet dan visibel. Cara yang digunakan adalah dengan merubah senyawa tersebut menjadi senyawa lain sehingga memiliki serapan pada daerah tersebut.

2) Pemilihan panjang gelombang

Panjang gelombang yang digunakan adalah panjang gelombang yang maksimal. Panjang gelombang maksimal diperoleh dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu.

3) Waktu operasional (*operating time*)

Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan.

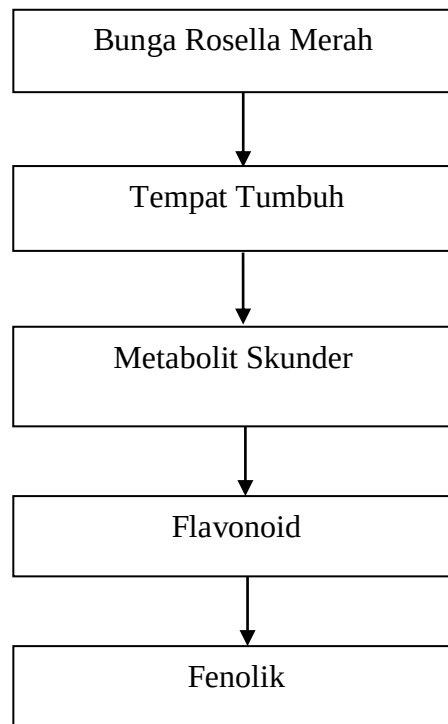
4) Pembuatan kurva baku

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi (y) dengan konsentrasi (x).

5) Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan

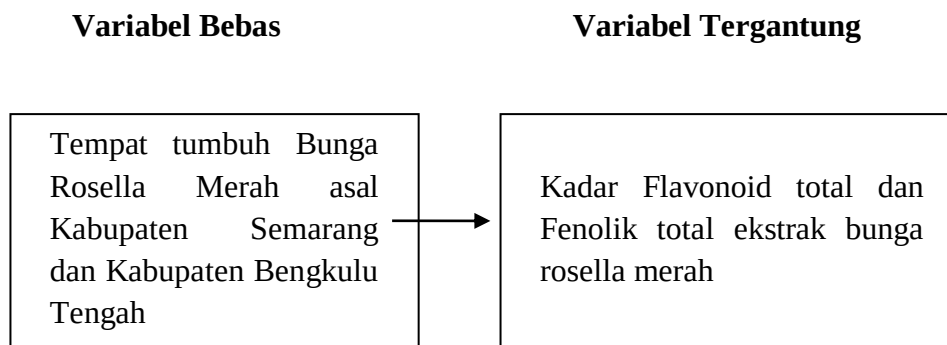
Absorban pada spektrofotometri hendaknya antara 0,2 sampai 0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmittan. Hal ini berdasarkan anggapan bahwa kesalahan pada pembacaan transmittan (T) adalah 0,005 atau 0,5%.

B. Kerangka Teori



Bagan 2.1 Kerangka Teori

C. Kerangka Konsep



Bagan 2.2 kerangka konsep

D. Hipotesis Penelitian

1. Ekstrak etanol Bunga Rosella Merah mengandung flavonoid total dan fenolik total dengan kadar tertentu.
2. Terdapat perbedaan kadar flavonoid total dan fenolik total ekstrak etanol Bunga Rosella Merah asal Kabupaten Bengkulu Tengah dan Kabupaten Semarang dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Dalam penelitian ini desain yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorium. Tahap penelitian dimulai dengan ekstraksi Bunga Rosella Merah menggunakan metode ekstraksi maserasi, kemudian dilanjutkan tahap kedua yaitu analisis kualitatif flavonoid dan fenolik Bunga Rosella Merah dalam menggunakan metode reaksi warna dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Tahap selanjutnya adalah analisis kuantitatif menggunakan Spektrofotometri UV-Vis, yang keduanya didukung dengan literatur dan pustaka yang sesuai dengan judul. Pada pengujian kuantitatif kadar flavonoid total dan fenolik total dilakukan tiga kali replikasi.

B. Waktu Dan Tempat

1. Lokasi penelitian

- a. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Ngudi Waluyo Ungaran.
- b. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematika Jurusan Biologi Fakultas MIFA Universitas Diponegoro Semarang.

2. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni hingga Juli 2019.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah Bunga Rosella Merah yang diambil dari kedua daerah yang berbeda yang berasal dari Kabupaten Bengkulu Tengah dan Kabupaten Semarang.

2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid total dan fenolik total ekstrak etanol Bunga Rosella Merah Variabel tergantung

Tempat tumbuh, struktur tanah, iklim/cuaca, perawatan tanaman, waktu panen tanaman.

D. Alat Dan Bahan Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan dalam Penelitian ini yaitu Blender (Philips), ayakan nomor 40, cawan porselin, kain flanel ,toples kaca, *rotary evaporator* (Rotavapor® R-300), waterbath (memmert wnb 6), Spektrofotometri UV-Vis (Shimazu), batang pengaduk, kuvet, tabung reaksi, labu ukur, gelas beker, gelas ukur, pipet tetes, corong pisah, chamber (Pyrex®), lampu UV 254 nm dan 366 nm, neraca analitik (Preeisa XB 220A), dan lempeng KLT Silika Gel GF₂₅₄.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam Penelitian ini yaitu, serbuk simplisia Bunga Rosella Merah, etanol 70% p.a (emparta®), aquades, n-butanol

p.a (E-Merck), asam asetat (emprove®), FeCl₃ p.a (E-Merck), AlCl₃ p.a (E-Merck), n-heksan p.a (E-Merck), reagen folin-ciocalteu p.a (E-Merck), NaCO₃ p.a (E-Merck), Asam Galat (Sigma®), dan Kuersetin (sigma®).

E. Prosedur kerja penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* L.) dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematika Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang dan Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Bengkulu dengan tujuan untuk menghindari kesalahan pengumpulan bahan utama penelitian dan mencegah kemungkinan tercampur dengan tanaman lain.

2. Proses Ekstraksi

a. Pengambilan Dan Pengolahan Sampel

1) Kriteria inklusi

Sampel bunga rosella diambil di desa Pekik Nyaring Kabupaten Bengkulu Tengah dan Desa Doplang Kabupaten Semarang yaitu bunga rosella yang sudah siap panen dengan umur tumbuhan 3-4 bulan, bunga masih dalam keadaan kuncup, berwarna merah pekat.

2) Besar sampel

Jumlah sampel simplisia Bunga Rosella Merah segar yang digunakan masing-masing daerah sebanyak 3 kg kelopak bunga

rosella merah asal Kabupaten Bengkulu Tengah dan Kabupaten Semarang.

3) Cara pengambilan sampel

Pada penelitian ini adalah sampel dengan jenis dan cara penambilan yang sama, diambil pada pagi hari, bunga yang masih dalam keadaan kuncup dan berwarna merah pekat sehingga mempunyai kesempatan yang sama untuk dipilih sebagai sampel.

4) Cara Pembuatan Simplisia

Bunga rosella merah yang masih segar dikumpulkan kemudian dipisahkan dari biji dan daun, diambil kelopak bunganya saja, dicuci bersih, disortasi basah untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, selanjutnya dilakukan proses pengeringan, dijemur di bawah sinar matahari yang sebelumnya ditutupi kain hitam terlebih dahulu untuk mencegah hilangnya zat aktif. Setelah itu simplisia yang kering disortasi kering agar menghilangkan kotoran, dihaluskan, diayak dengan mesh nomor 40, dan ditimbang berat serbuk kering bunga rosella merah keseluruhanya. Fungsi dari pembuatan simplisia agar mempermudah penarikan metabolite sekunder. Semakin halus serbuk simplisia maka penarikan metabolite sekunder akan semakin mudah, efektif dan efisien.

b. Pembuatan ekstrak dengan metode maserasi

Serbuk simplisia kering ditimbang masing-masing sebanyak 500 gram serbuk Bunga Rosella Merah asal Kabupaten Bengkulu Tengah dan 500 gram asal Kabupaten Semarang, serbuk simplisia Bunga Rosella Merah dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan (1:5) (w/v). Kemudian dimasukan serbuk Bunga Rosella Merah yang akan disari kedalam bejana maserasi Ditambahkan etanol 70% sebanyak 1875 ml (3,5 bagian) kedalam masing-masing bejana maserasi yang berisi serbuk Bunga Rosella Merah. Kemudian biarkan cairan penyari merendam serbuk simplisia selama 2-3 hari sesekali dilakukan pengadukkan setiap 6 jam sekali. Proses maserasi dilakukan di ruangan yang terlindungi dari sinar matahari. Ampas dari hasil maserasi kemudian, diremaserasi sebanyak 1 kali selama 1 hari dengan pelarut etanol 70% sebanyak 625 ml (1,5 bagian) sambil dilakukan pengadukan setiap 6 jam sekali. Larutan hasil penyaringan (filtrat) yang masih bercampur dengan pelarut Selanjutnya dipisahkan dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50° C dan tekanan 100 mBar sampai pelarut tidak menetes dan didapatkan ekstrak bunga rosella merah (Suzery *et al.*, 2010). Perhitungan rendemen dapat digunakan rumus :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$$

c. Purifikasi n-heksan

Ekstrak kental ditimbang 20 gram dilarutkan dengan 20 ml etanol 70% dan akuades 20 ml, kemudian dimasukkan dalam corong pisah ditambah n-heksan 100 ml. Kemudian digojog kurang lebih satu menit dan didiamkan beberapa menit hingga terbentuk lapisan, Filtrat yang diperoleh dimasukkan kembali ke dalam corong pisah, kemudian difraksi kembali dengan n-heksan sebanyak tiga kali pengulangan hingga diperoleh fraksi bening. Kemudian hasil dari fraksi dipekatkan hingga diperoleh filtratnya dan dihitung rendemen (Palupi, 2018)

3. Uji kualitatif Flavonoid dan Fenolik

a. Uji Kualitatif dengan Metode Uji Warna

1) Uji flavonoid

10 mg ekstrak ditambahkan 4 mL etanol 70% (p.a) hingga ekstrak larut (Depkes RI, 1995): sebanyak 2 mL larutan uji ditambahkan 0,5 gram serbuk seng, kemudian ditambahkan 2 mL HCl 2N, didiamkan 1 menit. Kemudian ditambahkan 10 tetes HCl pekat. Dikocok perlahan, kemudian didiamkan 2-5 menit. Hingga terbentuk warna merah intensif (positif flavonoid).

2) Uji Fenolik

10 mg ekstrak ditambahkan 4 mL etanol 70% (p.a) hingga ekstrak larut (Depkes RI, 1995): Sebanyak 2 mL larutan ekstrak etanol bunga Rosella dari masing-masing tempat tumbuh

ditambah dengan pereaksi FeCl_3 sebanyak 3 tetes. kemudian didiamkan 2-5 menit. Hingga terbentuk warna merah, biru ,hijau hitam menunjukkan adanya polifenol.

b. Uji kualitatif dengan menggunakan KLT

1) Uji flavonoid

Ekstrak etanol Bunga Rosella Merah masing-masing ditimbang sebanyak 0,1 gram dilarutkan dalam etanol p.a, kemudian ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT, masukan lempeng tersebut dalam wadah bejana yang berisi fase gerak n-heksan : etil asetat (1:4) yang telah dijenuhkan, selanjutnya biarkan fase gerak merambat sampai tanda batas. Kemudian keluarkan lempeng ditunggu sampai kering dulu, lalu disemprotkan AlCl_3 dan preaksi situborat. Hasil elusi diamati dengan lampu UV 254 nm dan 365 nm yang menunjukan warna-kuning, sebagai zat pembanding digunakan kuersetin (Islamiyati dan Saputri, 2018).

2) Uji fenolik.

Ekstrak Bunga Rosella Merah masing-masing ditimbang sebanyak 0,1 gram dilarutkan dalam etanol p.a ditotolkan pada plat KLT dan dielusi dengan menggunakan pelarut n-butanol : asam asetat : akuadest (4:1:5), kemudian diamati bercak pada lampu UV dan disemprot dengan reagen besi (III) klorida (FeCl_3). Positif mengandung fenol jika noda berwarna hijau,

merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat. Zat pembanding digunakan asam galat (Ahmad *et al.*, 2015).

4. Uji kuantitatif Penetapan kadar Flavonoid total dengan Spektrofotometri Uv-Vis

a. Pembuatan Reagen

1) Pembuatan Larutan Induk Kuersetin (1000 ppm)

Ditimbang serbuk kuersetin sebanyak 25 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a hingga volume 25 mL.

2) Pembuatan Pereaksi AlCl_3 10%

Ditimbang sebanyak 1 gram AlCl_3 padat dilarutkan dengan aquadest steril hingga 10 mL.

3) Pembuatan Larutan Asam Asetat 5 %

Sebanyak 0,5 ml asam asetat dilarutkan dengan aquadest sebanyak 10 mL (Putra *et al.*, 2018).

b. Penentuan panjang gelombang maksimum pada larutan standar kuersetin

Dibuat larutan baku kuersetin (1000 ppm) dengan cara menimbang 25 mg kuersetin larutkan dalam 25 ml etanol p.a, kemudian buat larutan dengan konsentrasi 40 ppm dengan cara dipipet 0,4 ml dari larutan baku kuersetin 1000 ppm dan ditambahkan etanol p.a kedalam labu 10 ml ad tanda batas. diambil sebanyak 1 mL, tambahkan 3 ml etanol p.a, 0,2 AlCl_3 , 0,2 asam asetat dan 5,6 ml aquadest pada masing-masing konsentrasi. Pembacaan dilakukan

dengan Spektrofotometri Visibel pada panjang gelombang 300-600 nm.

c. Penentuan *Operating Time*

Larutan kuersetin 40 ppm diambil sebanyak 1 mL Kemudian ditambahkan 3 ml etanol p.a, 0,2 AlCl₃, 0,2 asam asetat dan 5,6 ml aquadest. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang telah diperoleh dengan interval pada waktu 30 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil.

d. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Larutan seri kadar dibuat dengan menggunakan kuersetin dengan konsentrasi 1000 ppm sebagai baku standar. Dibuat seri kadar lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml masing – masing di pipet sebesar 0,2, 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml, dan 1 ml (20,40, 60, 80, dan 100 ppm) lalu ditambahkan etanol p.a hingga 10 ml. kemudian di pipet sebanyak 1 mL larutan seri kadar dari masing-masing konsentrasi ditambahkan 3 ml etanol p.a, direaksikan dengan 0,2 ml AlCl₃, 0,2 ml asam asetat dan 5,6 ml aquadest pada masing – masing konsentrasi didiamkan selama waktu optimum, dilakukan pembacaan.

e. Penentuan kadar Flavonoid total pada sampel dengan spektrofotometri vis

Sebanyak 25 mg ekstrak etanol bunga rosella lalu dilarutkan dalam 25 ml etanol 70% maka didapat konsentrasi larutan 1000 ppm, untuk konsentrasi 100 ppm dipipet 2,5 ml dan cukupkan sampai 25 ml

dengan etanol 70%. Larutan ekstrak etanol Rosella Merah 100 ppm ditambahkan 3 ml etanol p.a, 0,2 ml AlCl_3 , 0,2 ml asam asetat 1 M dan 5,6 ml akuades, inkubasi selama 16 menit pada suhu kamar kemudian dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Dilakukan 2 kali pengulangan.

5. Penetapan Kadar Fenolik Total.

a. Pembuatan Reagen

1) Pembuatan larutan induk asam galat (500 ppm)

Sebanyak 50 mg asam galat dilarutkan dalam etanol (p.a), ad 100 mL.

2) Pembuatan reagen Na_2CO_3 7,5%

Ditimbang sebanyak 7,5 gram Na_2CO_3 ditambahkan 100 mL aquadest, kemudian didihkan sampai serbuk Na_2CO_3 larut sempurna. Setelah itu diamkan selama 24 jam, disaring dan diencerkan dengan aquadest sampai volume 100 mL.

b. Penentuan Panjang Gelombang Absorbansi Maksimum Pada Larutan Standart Asam Galat

Pembuatan larutan standar asam gallat dilakukan dengan melarutkan Sebanyak 0,3 mL larutan asam galat konsentrasi 100 ppm ditambah 1,5 mL reagen Folin Ciocalteau, kemudian digojog dan didiamkan selama 3 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 1,2 mL larutan Na_2CO_3 7,5%, digojog hingga homogen, kemudian

absorbansinya diukur pada panjang gelombang 600-850 nm (Chief *et al.*, 2018).

f. Penentuan *Operating Time*

Sebanyak 0,3 mL larutan asam galat konsentrasi 100 ppm ditambah 1,5 mL reagen Folin Ciocalteu, kemudian digojog dan didiamkan selama 3 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 1,2 mL larutan Na_2CO_3 7,5%, digojog homogen, dan diukur absorbansinya dalam rentang waktu 0-60 menit pada panjang gelombang maksimum.

g. Pembuatan kurva baku asam galat dengan reagen folin-ciocalteu

Sebanyak 0,3 mL larutan asam galat konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm masing-masing dimasukkan dalam tabung, kemudian ditambah 1,5 mL reagen Folin Ciocalteu dan digojog. Setelah didiamkan selama 3 menit, masing-masing larutan ditambah 1,2 mL larutan Na_2CO_3 7,5% digojog homogen, dan didiamkan pada range *operating time* pada suhu kamar. Semua larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum, kemudian dibuat kurva baku hubungan antara konsentrasi asam galat (ppm) dengan absorbansi.

h. Penetapan kadar Fenolik total pada sampel dengan spektrofotometri Visibel

Sebanyak 25 mg ekstrak etanol bunga rosella lalu dilarutkan dalam 25 ml etanol 70% maka didapat konsentrasi larutan 1000 ppm, untuk konsentrasi 100 ppm dipipet 2,5 ml dan cukupkan sampai 25 ml dengan etanol 70%. Larutan ekstrak 100 ppm ditambahkan 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu dan digojog. Didiamkan selama 3 menit, ditambah 1,2 mL larutan Na_2CO_3 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 2 kali pengulangan.

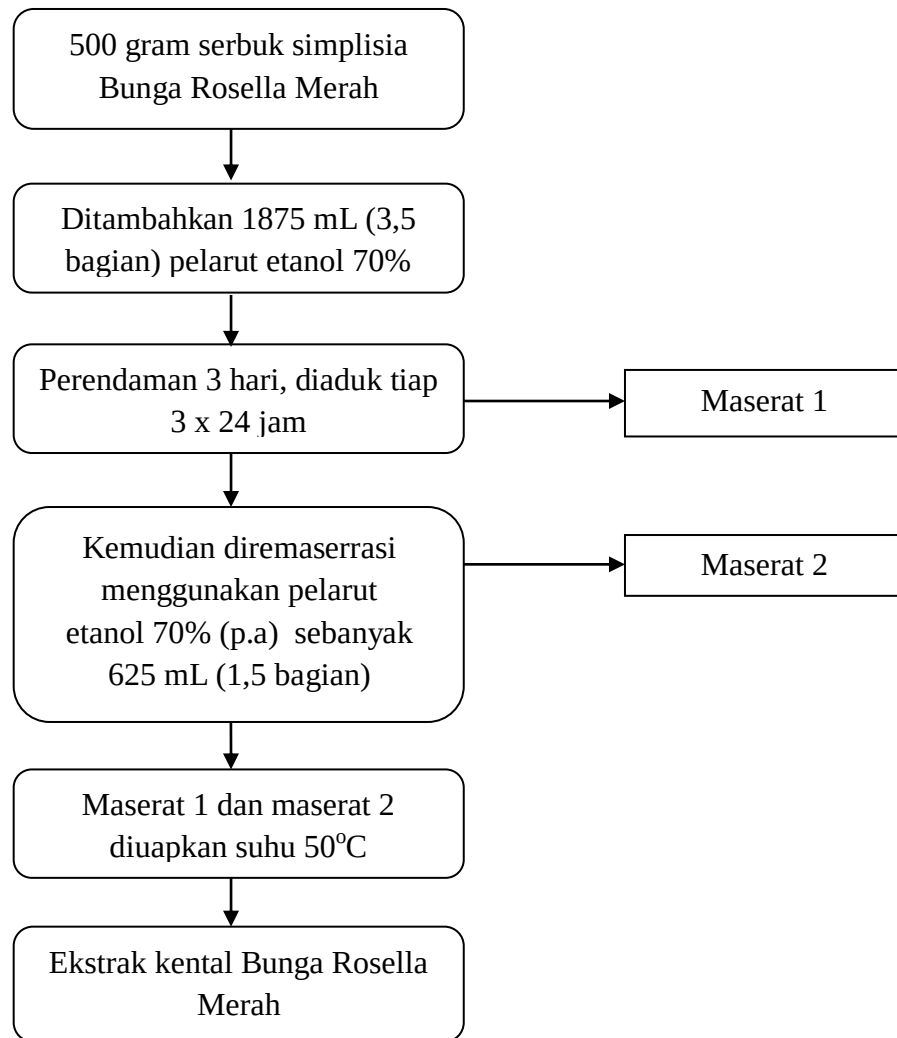
F. Analisis data

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara kualitatif menggunakan metode KLT untuk membuktikan bahwa ekstrak yang diperoleh mengandung flavonoid dan fenolik kemudian dianalisis secara kuantitatif menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis untuk menentukan kadar flavonoid total dan fenolik total dari metode ekstraksi maserasi. Secara kuantitatif, data deret konsentrasi yang dibuat dari baku kuersetin untuk flavonoid total dan asam galat untuk fenolik total kemudian dibuat persamaan kurva baku. Persamaan kurva baku $y = bx + a$ dengan $y =$ absorbansi dalam nm, $x =$ kadar dalam ppm (mg/L). Absorbansi ekstrak etanol Bunga Rosella Merah yang telah diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan kurva baku sehingga didapatkan kadar flavonoid total dan fenolik total Bunga Rosella Merah. Data

kadar flavonoid dan fenolik total ekstrak etanol Bunga Rosella Merah dari metode maserasi dianalisis secara statistik menggunakan uji T (*independent sampel T-test*) dideskripsikan.

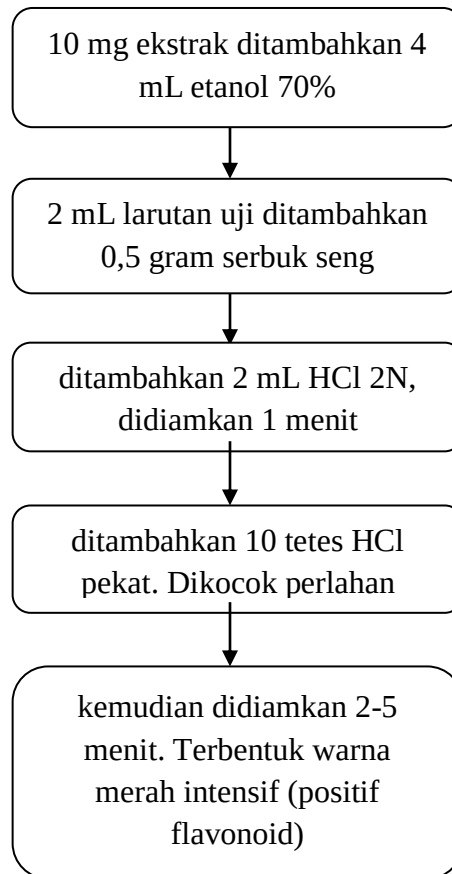
G. Diagram Alir Penelitian

1. Pembuatan Larutan Ekstrak Menggunakan Metode Maserasi



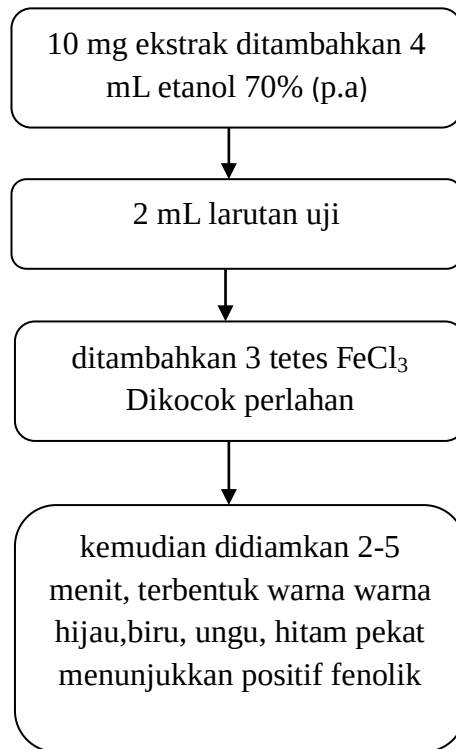
Bagan 3.1 Pembuatan Ekstrak Bunga Rosella Merah

2. Analisis Kualitatif Flavonoid Dengan Metode Reaksi Warna



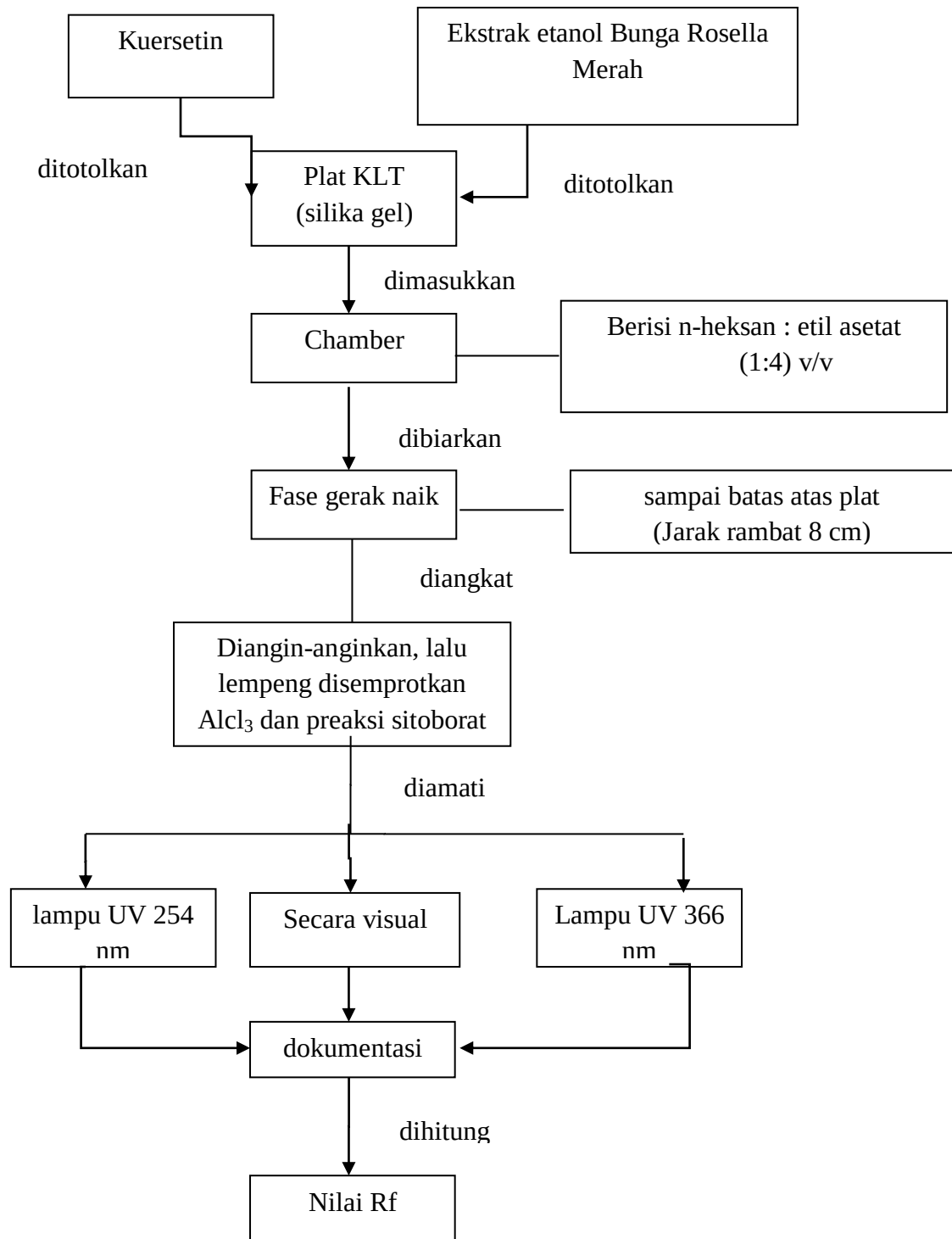
Bagan 3.2 Analisis Kualitatif Flavonoid Dengan Metode Reaksi Warna

3. Analisis Kualitatif Fenolik Dengan Metode Reaksi Warna



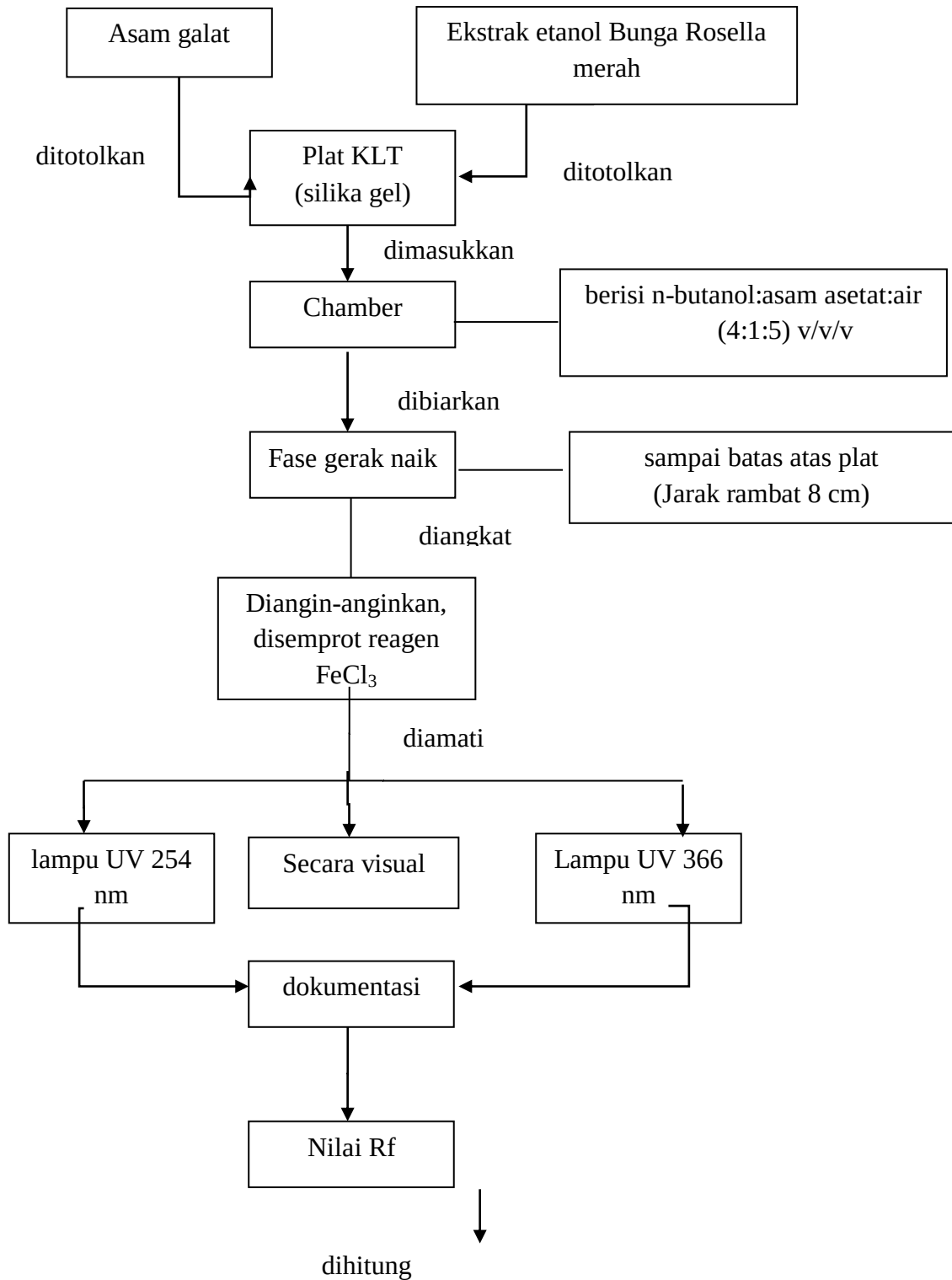
Bagan 3.3 Analisis Kualitatif Fenolik Dengan Metode Reaksi Warna

4. Analisis Kualitatif Flavonoid Dengan Kromatografi Lapis Tipis



Bagan 3.4 Analisis Kualitatif Flavonoid Dengan Kromatografi Lapis Tipis

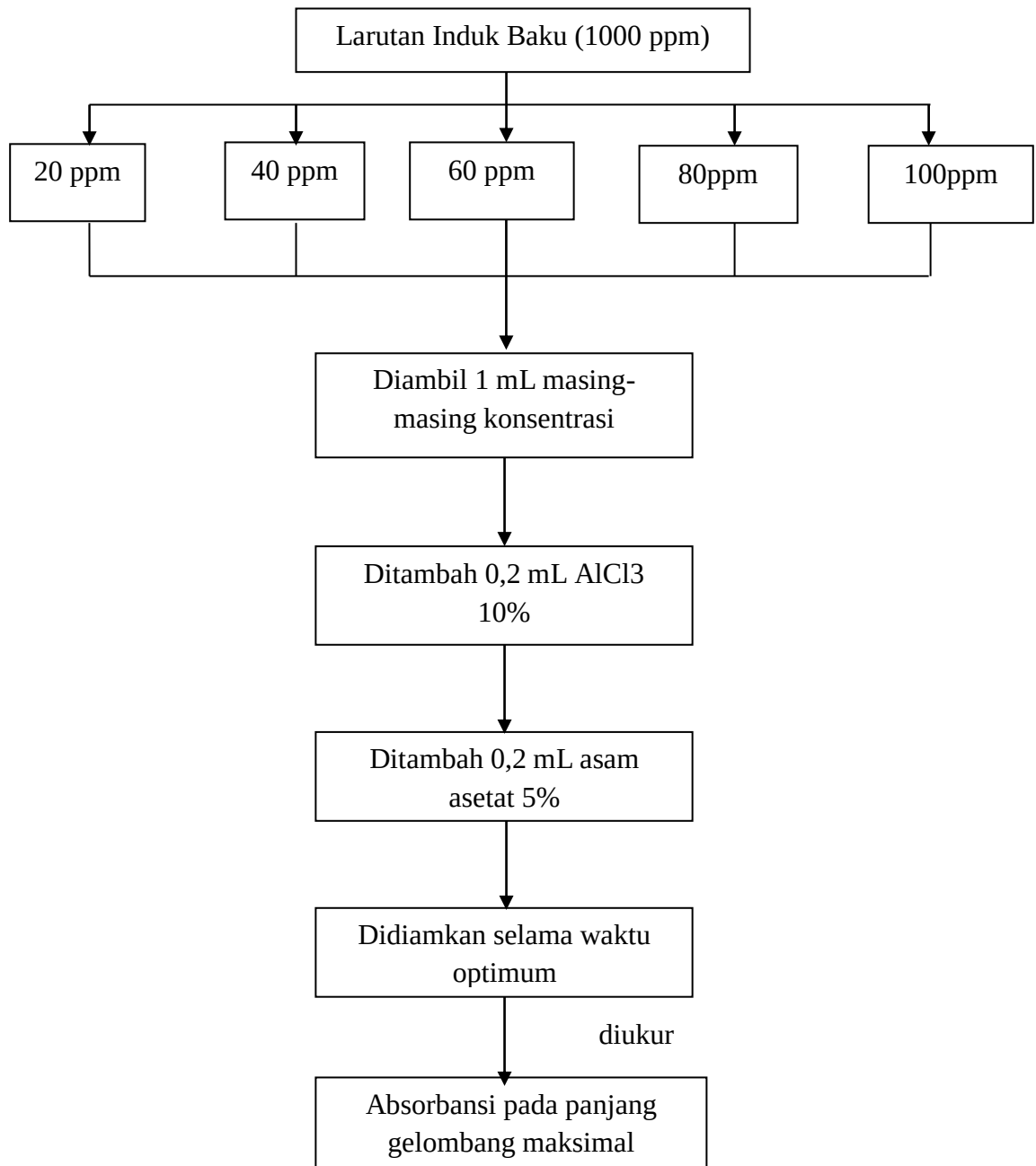
5. Analisis Kualitatif Fenolik Dengan Kromatografi Lapis Tipis



Bagan 3.5 Analisis Kualitatif Fenolik Dengan Kromatografi Lapis Tipis

6. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin Menggunakan Spektrofotometri

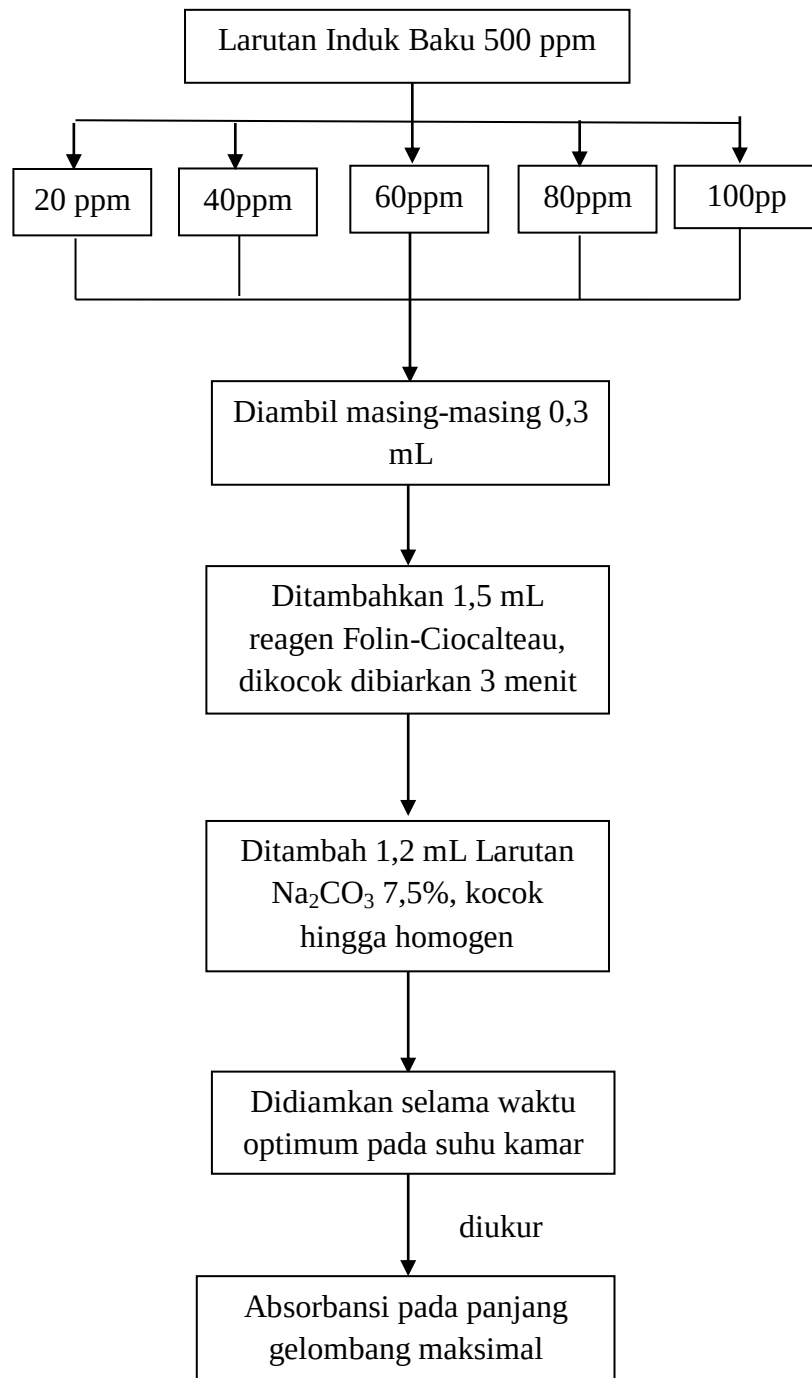
Uv-Vis.



Bagan 3.6 Penentuan Kurva Baku Kuersetin Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis.

7. Penentuan kurva baku asam galat menggunakan spektrofotometri

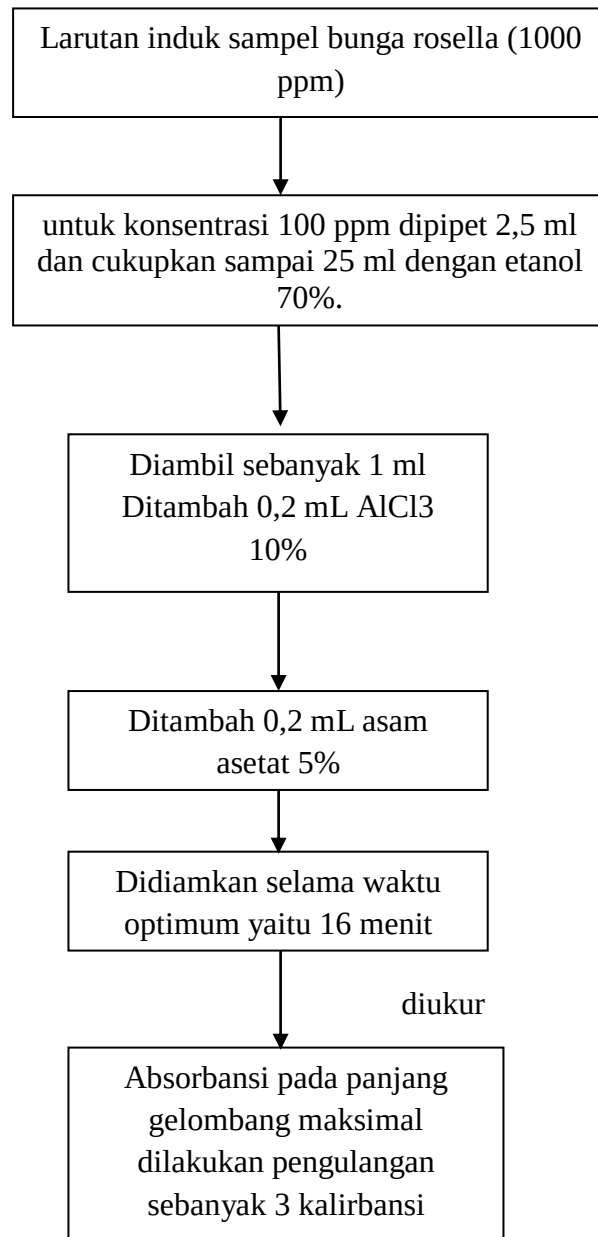
Uv-Vis



Bagan 3.7 penentuan kurva baku asam galat menggunakan spektrofotometri Uv-Vis

8. Analisis Kuantitatif Flavonoid Total Menggunakan Spektrofotometri

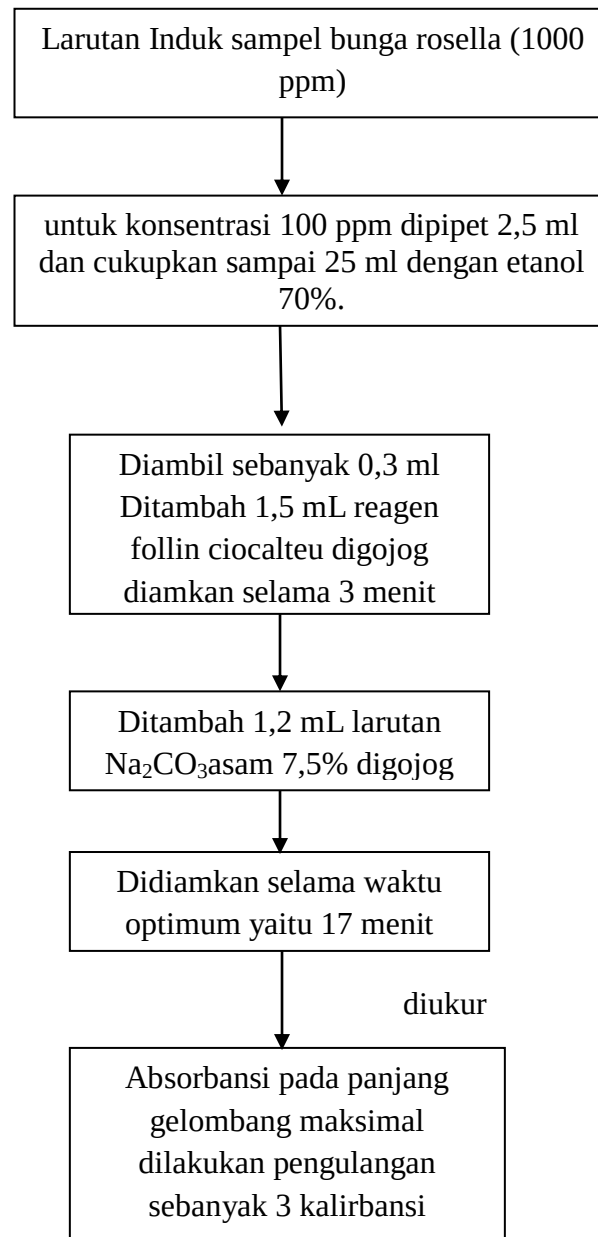
Uv-Vis



Bagan 3.8 Analisis Kuantitatif Flavonoid Total Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis

9. Analisis Kuantitatif Fenolik Total Menggunakan Spektrofotometri

Uv-Vis



Bagan 3.9 Analisis Kuantitatif Fenolik Total Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini termasuk dalam jenis penelitian yang bersifat *eksperimental murni*, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar flavonoid total dan fenolik total ekstrak etanol bunga rosella merah dari dua tempat tumbuh yang berbeda (A: Kabupaten Bengkulu Tengah, B: Kabupaten Semarang). Metode yang digunakan untuk menentukan kadar flavonoid total dan fenolik total secara kualitatif dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dan uji warna. Pada pengujian secara kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis yang dinyatakan dengan nilai absorbansi yang dihasilkan untuk menentukan kadar flavonoid total dan fenolik total. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Universitas Ngudi Waluyo Ungaran. Berikut merupakan hasil penelitian yang telah dilakukan.

A. Determinasi Tanaman

Tahap awal yang dilakukan dalam penelitian ini adalah determinasi tanaman. Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga rosella merah dan bagian tanaman yang diambil adalah bunga. Bunga rosella merah diperoleh dari dua daerah yang berbeda yaitu asal Desa Pekik Nyaring Kabupaten Bengkulu Tengah dan asal Desa Doplang Kabupaten Semarang pada bulan Mei 2019. Tujuan dari determinasi tanaman adalah untuk mengidentifikasi tanaman dan mengetahui kebenaran sampel yang akan digunakan dalam penelitian, sehingga kesalahan dalam pengambilan sampel yang digunakan dapat dihindari.

Determinasi dilakukan untuk memastikan kebenaran tanaman yang akan digunakan (Wachidah, 2013).

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistemik Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang dan Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Bengkulu. Hasil determinasi menunjukkan bahwa bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) masuk kedalam famili malvaceae dan spesies *Hibiscus sabdariffa* L dengan nama daerah rosella merah. Pemeriksaan karakteristik bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) meliputi tanaman berupa semak, annual, bercabang, tinggi mencapai 0,5-3. Memiliki akar tunggang, batang yang berbentuk bulat, tegak, berkayu, dan berwarna merah. Selain itu, bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) memiliki daun tunggal, duduk tersebar, dengan bentuk seperti bulat telur, berulang menjari, ujung yang tumpul, tepi yang bergerigi dan pangkal yang berlengkuk, panjang daunnya 6-15 cm dan memiliki lebar 5-8 cm.

Hasil determinasi adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Malvales
Famili	: Malvaceae

Genus : *Hibiscus*

Spesies : *Hibiscus sabdariffa* L.

Nama Daerah : Rosella

Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-Gol 8, Daun Tunggal tersebar-119b109b-120b-128b-129b-135b-136b-139b-140b-142b-143a-144a-Fam 75. Malvaceae -1a-2b-3b-5b-Hibiscus-1b-2b-4a (*Hibiscus sabdariffa* L).

B. Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Bunga Rosella Merah

Pembuatan ekstrak bunga rosella merah yang digunakan dalam penelitian ini diambil di Desa Pekik Nyaring Kabupaten Bengkulu Tengah dan Desa Doplang Kabupaten Semarang. Kemudian dilakukan sortasi basah untuk memilah yang masih bagus dan memisahkan bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia kemudian bunga rosella merah dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan tanah dan kotoran yang masih melekat pada simplisia (Ahmad *et al.*, 2015). Selanjutnya dilakukan proses pengeringan bertujuan agar simplisia tidak mudah rusak. Proses pengeringan menggunakan sinar matahari dengan ditutup kain hitam dengan tujuan untuk mencegah penguapan berlebih. Kemudian dilakukan penyerbukan dengan tujuan untuk memperluas permukaan simplisia sehingga akan mempercepat proses penyarian (Kiswandono, 2011).

Tabel 4.1 Hasil Serbuk Simplisia		
Asal simplisia	Berat Simplisia kering (Kg)	Berat Serbuk Simplisia (Kg)
Daerah A	3	1,2
Daerah B	3	1,3

Keterangan :

1. Daerah A : asal daerah kabupaten bengkulu tengah
2. Daerah B : asal daerah kabupaten semarang

Pembuatan ekstrak etanol bunga rosella merah dilakukan di Laboratorium Universitas Ngudi Waluyo Fakultas Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi. Ekstraksi dilakukan dengan metode ekstraksi cara dingin yaitu dengan cara maserasi karena pengerjaannya lebih mudah dan peralatan yang digunakan sederhana, serta proses maserasi sangat menguntungkan dalam ekstraksi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna. Metode maserasi memiliki keuntungan utama yaitu tidak dilakukan dengan pemanasan sehingga dapat mencegah rusak atau hilangnya zat aktif yang ingin disari (Sa'adah, 2015).

Perendaman suatu bahan dalam pelarut dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel dalam tiga tahapan, yaitu masuknya pelarut kedalam dinding sel tanaman atau pembengkakan sel, kemudian senyawa yang terdapat dalam dinding sel akan terlepas dan masuk ke dalam pelarut, diikuti oleh difusi senyawa yang terekstraksi oleh pelarut keluar dari dinding sel (Fauzana, 2010).

Pemilihan pelarut merupakan faktor yang menentukan dalam ekstraksi. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dapat menarik komponen aktif dari campuran. Hal-hal penting yang harus diperhatikan

dalam memilih pelarut adalah selektivitas, sifat pelarut, kemampuan untuk mengekstraksi, tidak bersifat racun, mudah diuapkan dan harganya relatif murah (Gamse, 2002).

Hasil ekstrak kental bunga rosella merah asal Kabupaten Bengkulu Tengah dan Kabupaten Semarang dapat dilihat pada tabel 4.2. Ekstrak yang diperoleh dari dua daerah yang berbeda memiliki rendemen ekstrak yang baik dengan hasil rendemen >10%, semakin tinggi nilai rendemen maka semakin baik kualitas hasil ekstraksi.

Tabel 4.2 Hasil Ekstrak Etanol 70% Bunga Rosella Merah

Sampel	Bobot Serbuk (gram)	Bobot Ekstrak (gram)	Rendemen (% b/b)	Karakteristik		
				Bentuk	Warna	Bau
Daerah A	500	208,66	41,73	Kental	Merah kehitaman	Khas
Daerah B	500	281,91	56,38	Kental	Merah kehitaman	Khas

Keterangan:

1. Daerah A : asal daerah kabupaten Bengkulu Tengah
2. Daerah B : asal daerah kabupaten Semarang

C. Purifikasi Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah

Purifikasi ekstrak merupakan suatu teknik pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan antara senyawa yang relatif polar dan relatif non polar yang sebelumnya tersari seluruhnya ke dalam ekstrak etanol bunga rosella merah (Kyky *et al*, 2014).

Prinsip dasar dari ekstraksi cair-cair ini melibatkan pengontakan suatu larutan dengan pelarut (*solvent*) lain yang tidak saling melarut (*immisible*) dengan pelarut asal yang mempunyai densitas yang berbeda sehingga akan

terbentuk dua fasa beberapa saat setelah penambahan solvent (Mirwan dan Wicakso, 2008)

Pada penelitian ini pelarut yang digunakan untuk purifikasi ekstrak yaitu n-heksan. n-heksan merupakan pelarut yang bersifat non polar, sehingga diharapkan akan dapat menarik senyawa yang terdapat di ekstrak yang cenderung bersifat non polar, pada proses dilakukan secara partisi berdasarkan perbedaan berat jenis pelarut, lapisan n-heksan akan berada diatas lapisan etanol karena memiliki berat jenis lebih kecil dibandingkan dengan etanol. Hasil purifikasi ekstrak kemudian diuapkan menggunakan waterbath dengan suhu 50 °C dan didapatkan ekstrak kental terpurifikasi n-heksan bunga rosella merah.

Ekstrak purifikasi n-heksana mengikat senyawa pengotor yang bersifat non polar sehingga didapatkan senyawa aktif yang lebih murni seperti senyawa golongan fenol. Kepolaran suatu pelarut juga mempengaruhi dari nilai rendemen serta kadar senyawa flavonoid dan fenolik. Pelarut n-heksana dapat menarik secara optimal senyawa non polar yang masih terdapat dalam ekstrak. Ekstrak purifikasi n-heksan mengikat senyawa metabolit yang terkandung dalam bunga rosella merah yang bersifat semi polar dan non polar, pelarut n-heksan cukup efektif dalam menarik senyawa yang bersifat non polar. Jadi ekstrak purifikasi n-heksan bebas dari senyawa pengotor yang dapat mengurangi nilai kadar senyawa aktif pada bunga rosella merah. Hal ini disebabkan karena adanya prinsip *like dissolve like* yaitu perolehan senyawa kimia didasarkan pada kesamaan sifat kepolaran terhadap pelarut yang

digunakan. Pelarut polar akan melarutkan solut yang polar dan pelarut non polar akan melarutkan solut yang non polar (Muhammad *et al.*, 2010).

Keuntungan dari proses purifikasi adalah meningkatkan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak bunga rosella merah. Sehingga aktivitas farmakologisnya pun dapat meningkat seiring dengan meningkatnya senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bunga rosella merah karena proses purifikasi (pemurnian).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Puspitasari dan Pramono (2015) kadar flavonoid ekstrak terpurifikasi lebih tinggi dibandingkan dengan kadar flavonoid ekstrak sebelum purifikasi, serta purifikasi memberikan efektivitas dalam menghilangkan zat *ballast* sehingga diperoleh ekstrak dengan kadar flavonoid yang lebih tinggi dan kadar zat *ballast* yang dapat diminimalisir.

Hasil ekstrak terpurifikasi n-heksan asal Daerah Kabupaten Bengkulu Tengah dan asal Kabupaten Semarang dapat dilihat pada tabel 4.3. Hasil rendemen yang diperoleh memiliki kualitas yang baik, karna semakin tinggi hasil rendemen ekstrak maka semakin sedikit zat pengotor yang terdapat pada ekstrak.

Tabel 4.3 Hasil Ekstrak Purifikasi Bunga Rosella Merah

Sampel	Bobot Ekstrak kental (Gram)	Bobot Ekstrak purifikasi (Gram)	Rendemen (% b/b)	Karakteristik		
				Bentuk	Warna	Bau
Daerah A	20	16,50	82,5	Kental	Coklat kehitaman	Khas
Daerah B	20	17,80	89	Kental	Coklat kehitaman	Khas

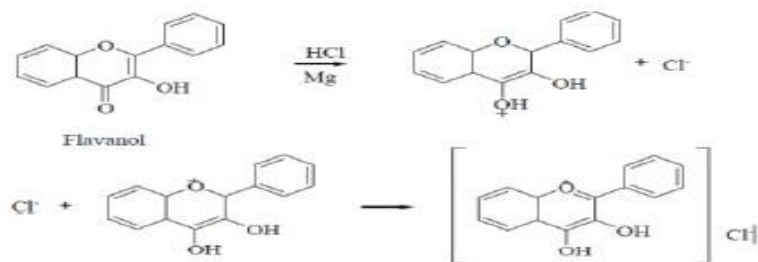
Keterangan:

1. Daerah A : asal daerah kabupaten bengkulu tengah
2. Daerah B : asal daerah kabupaten semarang

D. Uji Kualitatif Dengan Menggunakan Uji Warna

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan uji shinoda, perubahan warna pada identifikasi flavonoid dengan tes shinoda tersebut disebabkan oleh terjadinya hidrolisis flavonoid glikosida menjadi aglikon flavonoid dengan penambahan asam kuat yaitu HCl yang selanjutnya akan membentuk kompleks dengan serbuk magnesium dan menghasilkan perubahan warna menjadi kuning, merah atau jingga (Latifah, 2015)

Pada pengujian flavonoid, yang dilakukan Setiabudi dan Dian (2017) sampel ekstrak bunga rosella direaksikan dengan HCl dan Mg akan terbentuk warna merah. Senyawa flavonoid akan dioksidasi dengan ion magnesium dengan membentuk kompleks. Ekstrak positif mengandung flavonoid apabila terbentuk warna merah, kuning, atau jingga. Polihidroksi dari flavonon akan direduksi oleh magnesium dan asam klorida sehingga membentuk garam benzopirilium yang berwarna merah, kuning, atau disebut dengan garam flavilium flavonoid.



Gambar 4.1 Mekanisme Uji Flavonoid (Setiabudi & Tukiran, 2017)

Pada uji fenolik digunakan pereaksi FeCl_3 yang dimana ion Fe^{3+} membentuk kompleks dengan fenolik menghasilkan warna hitam. Dikatakan positif mengandung fenolik apabila terbentuk warna hijau, ungu, biru, atau hitam (Setiabudi & Tukiran, 2017).

Tabel 4.4 Hasil Identifikasi Kualitatif Ekstrak Bunga Rosella Merah

Senyawa Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil		Hasil Uji	Referensi
		Positif	Hasil		
Flavonoid	HCL Pekat	Merah-merah muda	Merah	+	(Setiabudi dan Tukiran, 2017)
Fenolik	FeCl_3	hitam	Hitam	+	(Setiabudi dan Tukiran, 2017)

E. Uji Kualitatif Dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Pada uji senyawa metabolit sekunder menggunakan kromatografi lapis tipis, silika gel GF diaktifkan dahulu dengan cara dipanaskan dengan oven pada suhu 110°C selama 30 menit. Silika GF (*gypsum fluorescence*) merupakan silika gel dengan pengikat dan indikator fluoresensi. Jenis silika gel ini biasanya berfluoresensi kehijauan jika dilihat pada sinar ultraviolet panjang gelombang pendek.

Kromatografi Lapis Tipis adalah suatu metode analisis yang digunakan untuk memisahkan suatu campuran senyawa secara cepat dan sederhana. Prinsipnya atas dasar perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam dibawah gerakan pelarut pengembang. Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu analisis kualitatif dari suatu sampel yang ingin dideteksi dengan prinsip kerjanya yaitu memisahkan komponen-komponen sampel berdasarkan perbedaan kepolaran pelarut yang digunakan. Teknik ini biasanya menggunakan fase diam dari bentuk plat silika dan fase geraknya disesuaikan dengan jenis sampel yang ingin dipisahkan. Semakin dekat kepolaran antara sampel dengan eluen maka sampel akan semakin terbawa oleh fase gerak tersebut (Sudjadi, 1986).

Fase Gerak yang digunakan adalah n-heksan : etil asetat (1:4) untuk identifikasi flavonoid dan untuk identifikasi fenolik menggunakan n-butanol : asam asetat : aquades (4:1:5). Pemilihan eluen tersebut karena sifat kepolaran masing-masing pelarut tersebut, dimana senyawa aktif polar akan lebih mudah terelusi oleh fase gerak yang bersifat polar dari pada fase gerak yang non polar. Sebaliknya, senyawa non polar lebih mudah terelusi oleh fase gerak non polar. Senyawa golongan alkaloid, steroid/terpenoid, flavonoid, dan fenol diperkirakan akan terikat pada pelarut etil asetat yang bersifat semipolar atau pelarut n-heksan yang bersifat nonpolar (Harbone, 1984).

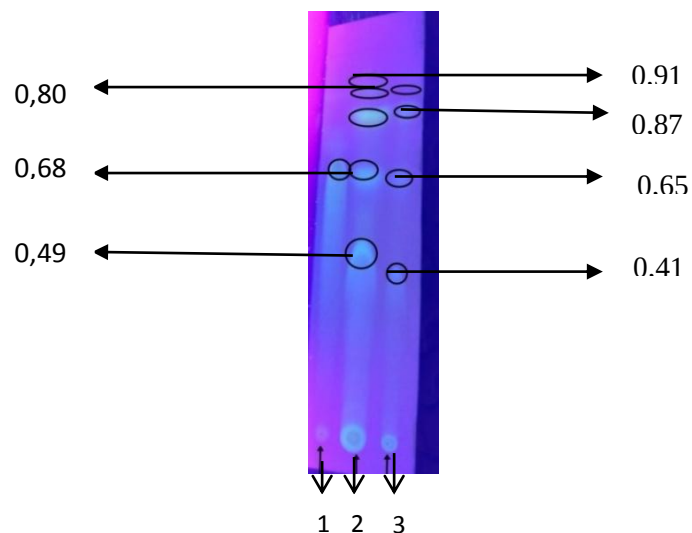
Hasil identifikasi senyawa flavonoid dan fenolik ekstrak bunga rosella dapat di lihat pada tabel 4.5. Ekstrak poisitif mengandung flavonoid jika

terdapat bercak warna kuning. Kemudian identifikasi senyawa fenolik positif mengandung fenolik jika bercak berwarna merah, biru, ungu (Harbone,1987).

4.5 Hasil Uji Klt Flavonoid dan Fenolik Ekstrak Bunga Rosella Merah

Senyawa Metabolit Sekunder	Semprot	Hasil Positif	Hasil	Hasil Uji		Referensi
				Sampel A	Smpel B	
Fenol	FeCl3	merah, ungu,dan biru	Biru	Positif (+)	Positif (+)	(Harbone, 1987)
Flavonoid	Sitoborat	Kuning	Kuning	Positif (+)	Positif (+)	(Harbone, 1996)

Keterangan : + = Positif mengandung senyawa metabolite sekunder
- = negatif mengandung senyawa metabolit sekunder



Gambar 4.2 Pola Kromatogram Metabolit Skunder flavonoid Ekstrak Bunga Rosella Merah dengan sinar UV 366

Keterangan :

Spot 1 : Standar kuersetin

Spot 2 : Ekstrak Asal Kabupaten Bengkulu Tengah

Spot 3 : Ekstrak Asal Kabupaten Semarang

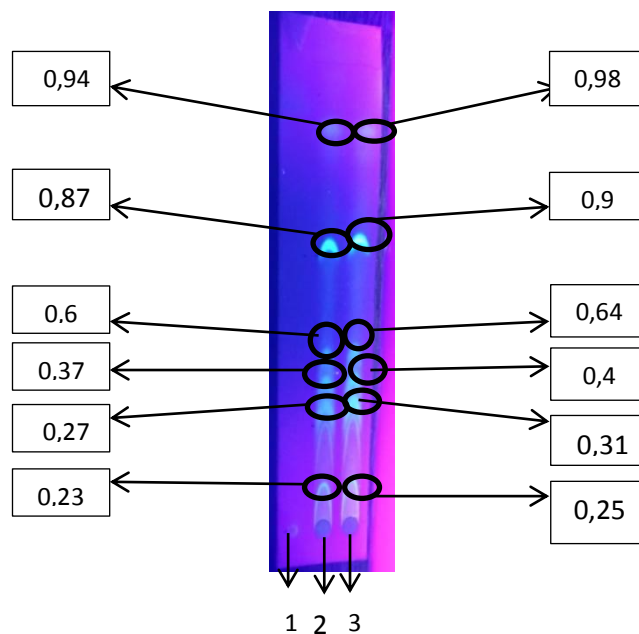
Tabel 4.6 Nilai Rf flavonoid Ekstrak Bunga Rosella Merah

Sampel	Hasil 366 nm	Rf	Warna	Dugaan senyawa	Referensi
Sampel A	Ungu	0,41	Kuning	Azaletin	(Harbone, 1987)
		0,65	Kuning cerah	Kersetin	
		0,80	Kuning-hijau	Kemferol	
		0,87	Biru	Apigenin	
		0,91	merah	Kayaflavon	
Sampel B	Ungu	0,49	Kuning	Viteksin	(Harbone, 1987)
		0,68	Kuning cerah	Kuersetin	
		0,80	Kuning-hijau	Kemferol	
		0,87	Biru	Apigenin	
		0,91	Merah	kayaflavon	

Keterangan:

1. Sampel A : asal daerah kabupaten bengkulu tengah
2. Sampel B : asal daerah kabupaten semarang

Hasil Identifikasi kualitatif Flavonoid pada sampel ekstrak bunga rosella merah dengan Pereaksi Semprot Sitroborat, positif mengandung flavonoid dengan adanya bercak warna kuning. Bercak warna kuning yang terdeteksi pada ekstrak bunga rosella merah yaitu diduga merupakan flavonoid jenis flavonol dan flavon yang terdapat pada bunga rosella merah Harborne (1987). Flavonoid menghasilkan peredaman fluorosensi pada sinar UV 366 nm dan menunjukkan fluorosensi kuning, hijau, atau biru (Santosa dan perdana, 2015)



Gambar 4.3 Pola Kromatogram Metabolit Skunder flavonoid Ekstrak Bunga Rosella Merah dengan sinar UV 366

Keterangan :

Spot 1 : Standar

Spot 2 : Ekstrak Asal Kabupaten Bengkulu Tengah

Spot 3 : Ekstrak Asal Kabupaten Semarang

Tabel 4.7 Nilai Rf Uji Fenolik Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah

Sampel	Hasil 366 Nm	Rf	Warna	Dugaan senyawa	Referensi
Sampel A	Ungu	0,23	biru	Protokatekuat	(Harbone, 1987)
		0,27	biru cerah	Protokatekuat	
		0,37	biru	Asam galat	
		0,6	biru	<i>p</i> -Hidroksibenzoat	
		0,87	biru cerah	vanilat	
		0,94	merah	salisilat	
Sampel B	Ungu	0,25	biru	Protokatekuat	(Harbone, 1987)
		0,31	biru	gentisat	
		0,4	biru cerah	asam galat	
		0,64	biru	<i>p</i> -Hidroksibenzoat	
		0,9	biru cerah	salisilat	
		0,98	merah	salisilat	

Keterangan:

1. Sampel A : asal daerah kabupaten bengkulu tengah

2. Sampel B : asal daerah kabupaten semarang

Ekstrak mengandung senyawa fenol apabila bercak yang terlihat berwarna biru, hitam, hijau atau biru ke-hijauan setelah disemprot dengan pereaksi FeCl_3 . Reagen FeCl_3 merupakan pereaksi khas untuk deteksi senyawa fenolik (Vermerris da Nicholson, 2006)..

Dari hasil uji kualitatif fenolik, positif fenolik ditunjukkan dengan perubahan warna bercak menjadi biru atau hitam kuat. Setelah penyemprotan, terlihat bercak berwarna biru. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak bunga rosella merah mengandung komponen senyawa golongan fenol. Reaksi perubahan warna pada polifenol ini terjadi akibat terbentuknya kompleks ion Fe^{3+} dengan gugus $-\text{OH}$ dari senyawa fenol.

F. Uji Kuantitatif Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah

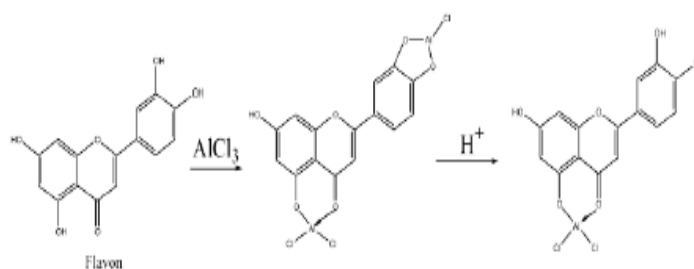
1. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Analisis kadar flavonoid menggunakan metode spektrofotometri. Spektrofotometri UV-Vis merupakan analisis yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dengan panjang gelombang (λ) 190-380 nm dan sinar tampak pada panjang gelombang (λ) 380-780 nm. Prinsip kerja spektrofotometri UV-Vis yaitu adanya interaksi antara materi dengan cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu (Hardjono, 1991).

Penentuan jumlah flavonoid dari ekstrak bunga rosella merah dilakukan dengan spektrofotometri yang mempunyai prinsip pengukuran berdasarkan pembentukan warna. Prinsip penetapan flavonoid dengan

metode spektrofotometri direaksikan dengan reagen AlCl_3 adalah pembentukan kompleks antara AlCl_3 dengan gugus keto pada atom C-4 dan juga dengan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-4 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Dalam penambahannya, aluminium klorida membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus orthohidroksil pada cincin A- atau B- dari senyawa-senyawa flavonoid.

Pada sampel yang diuji menunjukkan perubahan warna menjadi kuning. Hal ini menunjukkan uji positif adanya senyawa flavonoid dalam sampel. Suatu sampel yang mengandung flavonoid, bila direaksikan dengan AlCl_3 akan terbentuk warna kuning, hal ini terjadi karena terbentuknya senyawa kompleks antara flavonoid dengan AlCl_3 (Harborne, 1987).



Gambar 4.4 Reaksi Pembentukan Kompleks Flavonoid- AlCl_3 (Indrayani, 2008)

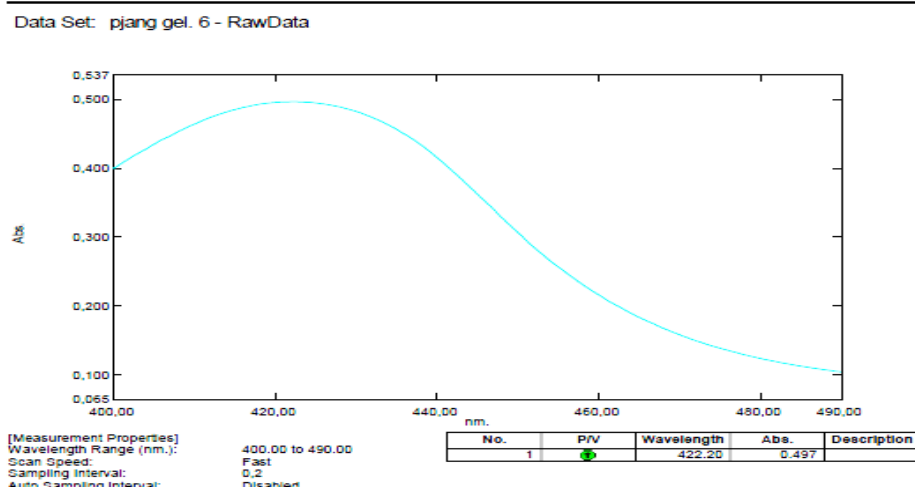
Senyawa yang digunakan sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid ini adalah kuersetin. Pemilihan kuersetin sebagai larutan standar karena kuersetin merupakan senyawa yang paling luas penyebarannya yang terdapat pada tumbuhan. Kuersetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-75% dari flavonoid. Kuersetin juga merupakan salah

satu senyawa golongan flavonoid yang dapat bereaksi dengan AlCl_3 membentuk kompleks (Kelly, 2011). Penambahan AlCl_3 dalam penelitian ini yaitu bertujuan untuk mendeteksi adanya gugus 7-hidroksil, sedangkan perlakuan inkubasi selama 16 menit yang dilakukan sebelum pengukuran dimaksudkan agar reaksi berjalan sempurna, sehingga memberikan intensitas warna yang maksimal (Sari dan Noverda, 2017).

Pada pengukuran senyawa flavonoid total, larutan sampel ditambahkan AlCl_3 yang dapat membentuk warna kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visible (tampak) yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning. Penambahan kalium asetat bertujuan untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visible (tampak) (Chang *et al*, 2002).

2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Penetapan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk menentukan panjang gelombang pengukuran kompleks antara kuersetin dengan AlCl_3 memberikan absorbansi optimum. Penetapan panjang gelombang maksimum merupakan faktor penting dalam analisis kimia dengan metode spektrofotometri. Pengukuran pada panjang gelombang maksimum akan memberikan perubahan absorbansi paling besar untuk setiap satuan kadar. Selain itu, kurva absorbansi pada sekitar panjang gelombang maksimum relatif datar sehingga jika akan dilakukan pengukuran ulang dan replikasi akan meminimalkan terjadinya kesalahan pengukuran.



Gambar 4.5 Panjang Gelombang Kuersetin

Panjang gelombang maksimum yang diperoleh pada penelitian ini yaitu 422,20 nm, artinya absorbansi kompleks antara kuersetin dengan AlCl_3 terbaca secara maksimum pada panjang gelombang tersebut. Hal ini sedikit berbeda dengan penelitian panjang gelombang maksimum yang dilakukan oleh kumalasari (2018), yang memperoleh panjang gelombang maksimum kuersetin berada pada 420 nm, dan sedikit berbeda dengan penelitian yang dilakukan Alifni (2017) yang memperoleh hasil 416 nm pada pengukuran panjang gelombang maksimum kompleks yang terbentuk antara kuersetin dengan AlCl_3 . Namun semua hasil tersebut yaitu sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa panjang gelombang maksimum kuersetin yaitu antara 400-500 nm.

3. Penentuan Operating Time Kuersetin

Operating time biasanya digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Waktu operasional atau *operating time* merupakan waktu yang dibutuhkan suatu senyawa untuk bereaksi dengan

senyawa lain hingga terbentuk senyawa produk yang stabil. Kestabilan senyawa produk diketahui dengan mengamati absorbansi mulai dari saat direaksikan hingga tercapai serapan yang stabil.

Senyawa yang akan diukur absorbansinya dalam penelitian ini merupakan suatu senyawa kompleks antara kuersetin dengan AlCl_3 . Senyawa kompleks ini membutuhkan waktu agar reaksi yang terbentuk stabil. Oleh sebab itu, diperlukan penentuan *operating time* sehingga diperoleh rentang waktu pada saat absorbansi kompleks kuersetin dengan AlCl_3 yang telah stabil. Bila pengukuran dilakukan setelah *operating time*, terdapat kemungkinan bahwa senyawa kompleks antara kuersetin dan AlCl_3 menjadi rusak (Indrayani, 2008).

Penentuan *operating time* kuersetin dengan menggunakan larutan kadar 40 ppm kemudian diukur pada spektrofotometer pada menit ke 0-30 dan dihitung absorbansinya tiap menit. Dari hasil pengukuran *operating time* didapatkan absorbansi stabil pada menit ke 16 dapat dilihat pada lampiran 5. Hasil tersebut sama dengan penelitian (Indrayani, 2008) yang menentukan *operating time* stabil pada menit ke 16. Kestabilan absorbansi ini menandakan bahwa reaksi pembentukan kompleks sudah optimum.

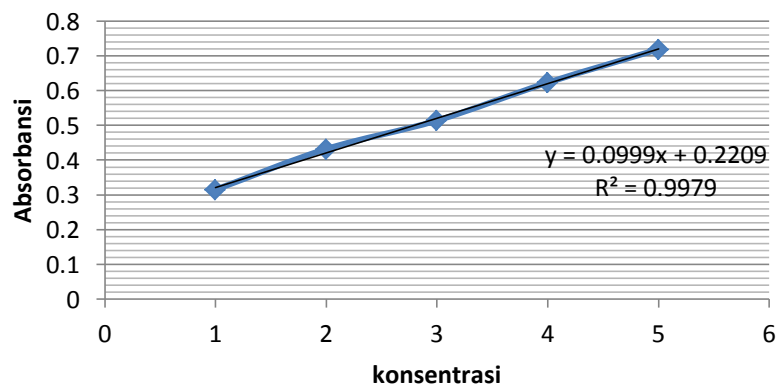
4. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Kurva standar merupakan standar dari sampel yang dapat digunakan sebagai acuan untuk sampel tersebut pada percobaan. Pembuatan kurva standar bertujuan mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansinya sehingga konsentrasi

sampel dapat diketahui. Nilai r yang mendekati satu menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang baik antara kadar kuersetin dan absorbansi (Indrayani, 2008).

Penentuan kurva baku pada penelitian ini menggunakan kuersetin dengan konsentrasi 1000 ppm, kemudian didiamkan selama *operating time*. Hasil dari absorbansi kurva baku kuersetin dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 422,20 nm adalah sebagai berikut :

Tabel 4.8 Hasil Absorbansi Kurva Baku Kuersetin	
Konsentrasi (Ppm)	Absorbansi Kuersetin
20	0,315
40	0,432
60	0,514
80	0,623
100	0,719



Gambar 4.6 Grafik Hasil Absorbansi Kurva Baku Kuersetin

Nilai koefisien korelasi (r) menunjukkan hubungan linearitas antara dua variabel. Nilai r 0,9979 menunjukkan bahwa terdapat hubungan linearitas yang baik antar variabel tersebut (Christian, 2004). Linearitas, merupakan kemampuan metode analisis untuk menghasilkan nilai yang

proporsional terhadap kadar analite dalam sampel pada rentang kadar tertentu.

Data dikumpulkan melalui pengukuran nilai absorbansi dari rangkaian lautan standar. Menurut Neldawati (2013) absorbansi dengan kadar flavonoid memiliki hubungan yang linear yaitu semakin tinggi absorbansi yang terukur maka kadar flavonoid yang terkandung di dalamnya juga semakin tinggi. Data absorbansi larutan standar tersebut selanjutnya akan dihitung kadar flavonoid dengan cara kurva standar diperoleh dari hubungan antara konsentrasi kuersetin (mg/L) dengan absorbansi sampel.

5. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total ditentukan dengan metode spektrofotometri oleh (Chang *et al.*, 2002). Pada penetapan kadar flavonoid total, ekstrak bunga rosella merah dari dua daerah yang berdeda direaksikan dengan AlCl_3 dan asam asetat menghasilkan larutan berwarna kuning. Warna kuning larutan disebabkan karena terbentuknya kompleks asam yang stabil dengan gugus keton pada C-4 atau gugus hidroksil pada C-3 atau C-5 dari flavon dan flavonol dapat dilihat pada gambar 4.4 (Chang *et al.*, 2002).

Tabel 4.9 Hasil Perhitungan Kadar Flavonoid Total

Sampel	Absorbansi		$\bar{x}$ Absorbansi $\pm$ SD	Flavonoid total (mgQE/g sampel)	$\bar{x}$ Flavonoid total (mgQE/g sampel) $\pm$ SD
	Replikasi	Nilai absorban			
Sampel A	1	0,324	0,328 $\pm$ 0,004	10,50	10,90 $\pm$ 0,040
	2	0,328		10,90	
	3	0,332		11,31	
Sampel B	1	0,492	0,494 $\pm$ 0,002	27,47	27,70 $\pm$ 0,025
	2	0,494		27,67	
	3	0,497		27,97	

Keterangan:

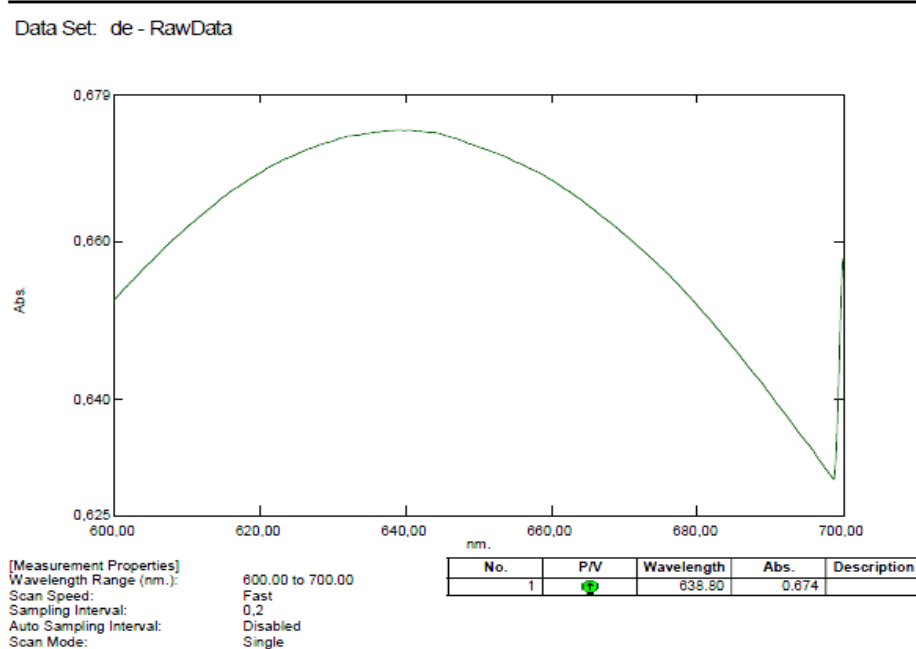
1. Sampel A : asal daerah Bengkulu Tengah
2. Sampel B : asal daerah kabupaten Semarang

Hasil perhitungan flavonoid total pada tabel 4.9 dari nilai serapan yang diperoleh, kadar flavonoid total dari kedua sampel dapat dihitung dengan menggunakan regresi linier standar kuersetin yang didapat sebelumnya, sehingga didapatkan hasil untuk kadar flavonoid ekstrak bunga rosella merah asal Daerah Kabupaten Bengkulu Tengah yaitu sebesar 10,90 mgQE/g dan kadar flavonoid ekstrak bunga rosella merah asal Daerah Kabupaten Semarang yaitu sebesar 27,70 mgQE/g, Kadar flavonoid ekstrak bunga rosella merah asal Daerah Kabupaten Semarang lebih tinggi dibandingkan dengan kadar flavonoid asal Daerah Kabupaten Bengkulu Tengah.

G. Uji Kuantitatif Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah

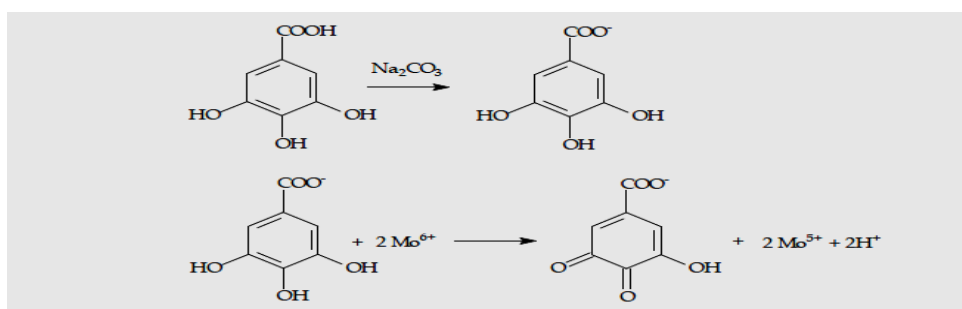
1. Penetapan kadar fenolik total

Analisis kadar fenolik juga menggunakan metode yang sama seperti analisis flavonoid yaitu menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis. Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan untuk melihat panjang gelombang maksimum suatu larutan dimana larutan tersebut memberikan serapan terbesar. Penentuan panjang gelombang maksimum larutan dengan konsentrasi 100 ppm ditambahkan reagen Folin-Ciocalteu dan Na_2CO_3 7,5% dan didiamkan selama 17 menit (*operating time*). Kemudian larutan dibaca serapannya pada rentang 600-850 nm dan serapan terbesar pada panjang gelombang tertentu tersebut yang digunakan sebagai panjang gelombang maksimum.



Gambar 4.7 Panjang Gelombang Asam Galat

Hasil yang diperoleh panjang gelombang maksimum yang didapat pada larutan asam galat adalah 638,80 nm. Hal ini sedikit berbeda dengan penelitian panjang gelombang maksimum yang dilakukan oleh Susanti dan Reza (2015), yang memperoleh panjang gelombang maksimum kuersetin berada pada 765 nm, dan sedikit berbeda dengan penelitian yang dilakukan Masdiana *et al* (2013) yang memperoleh hasil 662,85 nm dengan rentang panjang yang digunakan gelombang 400-800. pada pengukuran panjang gelombang maksimum terbentuk kompleks antara reaksi asam galat dengan natrium karbonat dan reaksi asam galat dengan reagen follin-ciocalteu. Namun semua hasil tersebut sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa panjang gelombang maksimum asam galat yaitu antara 600-850 nm.



Gambar 4.8 Reaksi Asam Galat Dengan Natrium Karbonat Dan Reagen Follin-Ciocalteu (Nunes, *et al.*, 2012)

Ion fenolat dibentuk melalui disosiasi proton senyawa fenolik, reaksi ini hanya dapat terjadi dalam kondisi basa, sehingga pada penelitian ini digunakan natrium karbonat sebagai basa. Warna biru yang dihasilkan menggambarkan jumlah kompleks warna yang terbentuk. Sehingga

semakin tinggi kandungan fenolik dalam suatu ekstrak semakin pekat warna biru yang dihasilkan (Apsari dan Susanti, 2011)

2. Penentuan *operating time*

Penentuan *operating time*, pada tahap ini dicari hubungan antara serapan dengan waktu. Pengukuran pada *operating time*, akan diperoleh hasil pembacaan serapan yang stabil karena dimungkinkan setelah *operating time* kompleks warna terbentuk atau larutan berwarna yang terbentuk telah stabil. Diharapkan dari analisis dapat diperoleh waktu yang pasti untuk pembacaan serapan dari larutan yang diperiksa. Penentuan *operating time* akan mempengaruhi hasil pengukuran secara keseluruhan.

Dalam penetapan kadar fenolik total, larutan asam galat dengan konsentrasi 100 ppm yang telah dipersiapkan direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu dalam suasana basa dan diukur serapannya pada panjang gelombang 638,80 nm dan dilakukan pembacaan absorbansi setiap menit selama 30 menit untuk menentukan waktu optimum pengukuran.

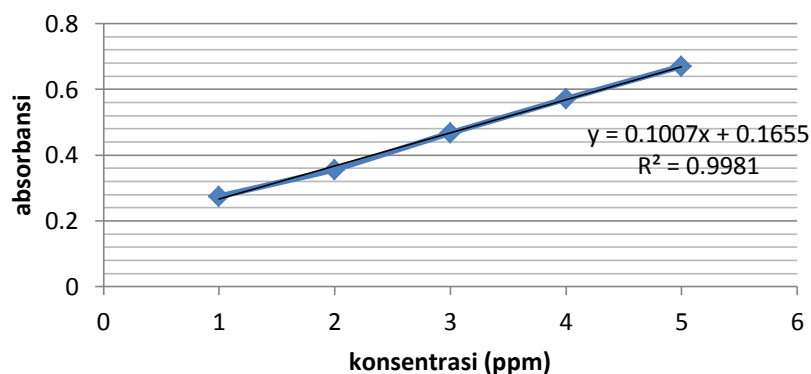
Hasilnya diketahui bahwa waktu optimum untuk pengukuran kadar fenol pada penelitian ini adalah pada menit ke 17 dapat dilihat pada lampiran 9, nilai serapan yang stabil atau dilihat dari selisih nilai absorbansi yang relatif dekat (kecil). Berdasarkan penelitian sebelumnya ada beberapa *operating time* larutan asam galat, antara lain dengan *operating time* antara 20-30 menit Fracilia (2015), Anna *et al* (2017). Serta ada beberapa *operating time* larutan asam galat berkisar antara 60-120 menit (Dede, 2010).

3. Penentuan Kurva Baku Asam Galat

Penentuan kurva baku pada penelitian ini untuk larutan asam galat dibuat seri konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm yang dibaca serapannya pada saat *operating time* selama 17 menit dengan panjang gelombang maksimum 638,80 nm. Hasil dari absorbansi kurva baku Asam Galat dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 638,80 nm adalah sebagai berikut :

Tabel 4.10 Hasil Absorbansi Kurva Asam Galat

Kurva kalibrasi (Ppm)	Absorbansi
20	0,274
40	0,356
60	0,467
80	0,571
100	0,670



Gambar 4.9 Grafik Hasil Absorbansi Kurva Baku Asam Galat

Hasil yang didapat kurva baku asam galat dengan persamaan regresi linier $y = 0,1007x + 0,1655$ dengan nilai $r = 0,9981$. Nilai koefisien korelasi (r) yang mendekati 1 menyatakan hubungan yang linier antara konsentrasi dengan serapan yang dihasilkan, dengan kata lain peningkatan nilai absorbansi berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi yang

sesuai dengan kriteria penerimaan koefisien korelasi (r) yang telah memenuhi persyaratan koefisien korelasi.

4. Penentuan Kadar Fenol Ekstrak Bunga Rosella Merah

Penetapan kadar fenolik total dilakukan dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. 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 638,80 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 molybdenum-tungsten. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi senyawa fenolat, untuk membuat kondisi basa digunakan Na_2CO_3 7,5% (Riza *et al.*, 2012).

Gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu membentuk kompleks molybdenum-tungsten berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli menjadi kompleks molybdenum-tungsten sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Riza *et al.*, 2012).

Tabel 4.11 Hasil Perhitungan Kadar Fenolik Total

Sampel	Absorbansi		$\bar{x}$ Absorbansi $\pm$ SD	Fenolik total (mg GAE / g samples)	$\bar{x}$ Fenolik total (mg GAE / g samples) $\pm$ SD
	Replikasi	Nilai absorban			
Sampel A	1	0,281	0,279 $\pm$ 0,002	11,46	11,33 $\pm$ 0,0225
	2	0,281		11,46	
	3	0,277		11,07	
Sampel B	1	0,414	0,415 $\pm$ 0,001	24,67	24,80 $\pm$ 0,0152
	2	0,415		24,77	
	3	0,417		24,97	

Keterangan:

1. Sampel A : asal daerah Bengkulu tengah
2. Sampel B : asal daerah kabupaten Semarang

Hasil perhitungan kadar fenolik total pada tabel 4.11 dari nilai serapan yang diperoleh, kadar fenolik total dari kedua sampel dapat dihitung dengan menggunakan regresi linier standar asam galat yang didapat sebelumnya, sehingga didapatkan hasil untuk kadar fenolik total ekstrak bunga rosella merah asal Daerah Kabupaten Bengkulu Tengah sebesar 1,133 mgGAE/g sampel dan ekstrak bunga rosella merah asal Daerah Kabupaten Semarang sebesar 2,480 mg GAE/g sampel. Menurut Kahkonen (1999) bahwa jumlah total fenol pada tanaman bervariasi sangat besar antara 0,2-155,3 mg GAE/g sampel.

Hasil analisis kuantitatif flavonoid total dan fenolik total yang telah dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis,

diketahui bahwa ekstrak bunga rosella merah asal Daerah Kabupaten Semarang memiliki kandungan kadar flavonoid total dan fenolik total lebih tinggi dibandingkan dengan kadar flavonoid total dan fenolik total ekstrak bunga rosella merah asal Daerah Kabupaten Bengkulu Tengah.

Hal ini didukung oleh hasil uji terhadap kandungan zat dalam bunga Rosella dari berbagai tempat tumbuh. Uji konsentrasi larutan ekstrak yang sama, larutan ekstrak bunga Rosella merah dari daerah Kabupaten Semarang membentuk kompleks berwarna merah yang paling pekat dibanding dengan larutan ekstrak bunga Rosella merah dari Kabupaten Bengkulu Tengah.

Wilayah pegunungan, memiliki curah hujan lebih tinggi dengan suhu lebih rendah, kecepatan penguraian bahan organik dan pelapukan mineral berjalan lambat. Sebaliknya di dataran rendah penguraian bahan organik dan pelapukan mineral berlangsung cepat. Di daerah pegunungan keadaan tanahnya relatif lebih subur, kaya bahan organik dan unsur hara jika dibandingkan dengan tanah di dataran rendah. Tinggi tempat berpengaruh terhadap suhu udara dan intensitas cahaya. Suhu dan intensitas cahaya akan semakin kecil dengan semakin tingginya tempat tumbuh. Cahaya berpengaruh langsung pada ketersediaan makanan. Klorofil dibentuk dari hasil fotosintesis dan berpengaruh secara langsung terhadap pertumbuhan setiap organ atau terhadap keseluruhan tumbuhan (Susanti *et al*, 2012).

Sebagian besar tumbuhan membentuk pigmen antosianin dan flavonoid lainnya yang merupakan senyawa fenolik dalam beberapa sel terspesialisasi di salah satu atau beberapa organnya, dan proses ini sering terpacu oleh cahaya. Akan tetapi matahari di wilayah Indonesia yang merupakan daerah tropis selalu bersinar hampir sepanjang tahun. Produksi flavonoid yang merupakan senyawa fenolik memerlukan gula sebagai sumber fosfoenol piruvat dan eritrosa-4-fosfat yang menyediakan beberapa atom karbon yang diperlukan bagi cincin-B flavonoid, serta sebagai sumber unit asetat untuk cincin-A flavonoid. Gula, khususnya sukrosa, dapat diperoleh dari proses peruraian pati atau lemak di organ penyimpanan saat perkembangan kecambah, atau dari fotosintesis di sel yang mengandung klorofil (Salisbury & Ross, 1992).

Ditinjau dari segi tanah, tanah pada daerah Kabupaten Bengkulu Tengah merupakan jenis tanah aluvial, tanah ini memiliki tekstur yang cenderung kasar dengan kandungan senyawa organik dan unsur hara yang lebih rendah dibandingkan dengan tanah dengan tekstur halus tanah pada daerah Kabupaten Semarang merupakan tanah mediteran yang merupakan tanah kapur dan batuan sedimen dengan tekstur halus.

Umumnya Rosella sendiri dapat tumbuh pada semua jenis tanah selama tanah tersebut kaya akan humus, gembur dan memiliki drainase yang baik (Widyanto & Nelistya, 2009). Perbedaan kondisi tanah pada dua daerah tersebut menyebabkan terjadinya perbedaan kandungan senyawa

flavonoid dan fenolik dari tanaman Rosella yang tumbuh di daerah tersebut.

Pertumbuhan tanaman bunga rosella merah dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya adalah suhu, kelembaban, curah hujan dan ketinggian tempat tumbuh. Ketinggian tempat merupakan faktor yang menentukan kelangngan suatu habitat. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar flavonoid total dan fenolik total terhadap ketinggian tempat tumbuh yang berbeda.

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya oleh suradji *et al* (2012) kadar flavonoid total pada daerah Kediri yaitu 0,2816 mgRE/g sampel dan untuk kadar flavonoid total asal luwu utara yaitu 2,075 mgRE/g sampel, kadar flavonoid total asal daerah luwu utara lebih tinggi dikarenakan daerah luwu utara merupakan dataran tinggi sedangkan kediri merupakan dataran rendah.

Pada penelitian ini kadar flavonoid total ekstrak bunga rosella merah asal Daerah Kabupaten Bengkulu Tengah sebesar 10,90 mgQE/g dan kadar flavonoid ekstrak bunga rosella merah asal Daerah Kabupaten Semarang yaitu sebesar 27,70 mgQE/g, Kadar flavonoid total ekstrak bunga rosella asal Daerah Kabupaten Semarang lebih besar dibandingkan dengan kadar flavonoid asal Daerah Kabupaten Bengkulu Tengah. Kemudian untuk kadar fenolik total ekstrak bunga rosella merah asal Daerah Kabupaten Bengkulu Tengah sebesar 11,33 mgGAE/g sampel dan ekstrak bunga rosella merah asal Daerah Kabupaeten Semarang sebesar

24,80 mg GAE/g sampel. Kadar fenolik total ekstrak bunga rosella asal Daerah Kabupaten Semarang lebih besar dibandingkan dengan kadar flavonoid asal Daerah Kabupaten Bengkulu Tengah.

Berdasarkan uji statistika kadar flavonoid total dan fenolik total dengan menggunakan bantuan SPSS (*Statistical Package for Social Science*) version 21.0 for windows terdapat perbedaan dari kedua sampel ekstrak bunga rosella merah.

Kemudian dilakukan Uji independent t-Test untuk mengetahui adakah perbedaan yang signifikan terhadap kadar flavonoid total dan fenolik total ekstrak bunga rosella merah yang berasal dari kedua daerah yang berbeda, serta untuk mengetahui apakah perbedaan tempat tumbuh tanaman bunga rosella merah dapat memiliki pengaruh terhadap kadar flavonoid total dan fenolik total tanaman tersebut.

Tabel 4.12 Hasil Kadar Flavonoid total Spss *Independent Sampel T-Test* Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah

Sampel	Levene's tes for equality of variances Sig.	t-Test for quality of means Sig.	keterangan
Flavonoid Sampel A	0,573	0,00	Berbeda signifikan
Flavonoid Sampel B	0,573	0,00	Berbeda signifikan

Keterangan :

- Jika nilai sig Levene's tes for equality of variances $>0,05$ data homogen
- Jika nilai sig Levene's tes for equality of variances $<0,05$ data tidak homogen
- Jika nilai sig t-Test for quality of means $>0,05$ tidak berbeda signifikan
- Jika nilai sig t-Test for quality of means $<0,05$ berbeda signifikan

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada uji flavonoid total ekstrak bunga rosella merah dapat dilihat pada tabel 4.12. Diketahui nilai sig.

Levene's Test for quality of variances kadar flavonoid pada sampel A dan B sebesar $0,573 > 0,05$ maka dapat diartikan bahwa data sampel A dan sampel B homogen. Kemudian berdasarkan hasil kadar flavonoid *t-Test for equality of means* (sig. 2-tailed) pada sampel A dan sampel B adalah $0,00 < 0,05$ yang berarti ada perbedaan yang signifikan dari hasil kadar flavonoid total dan fenolik total ekstrak bunga rosella merah dari asal dua daerah yang berbeda .

Tabel 4.13 Hasil kadar fenolik total Spss *Independent SampeL t-Test* Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah

Sampel	Levene's tes for equality of variances Sig.	t-Test for quality of means Sig.	keterangan
Fenolik sampel A	0,405	0,00	Berbeda signifikan
Fenolik Sampel B	0,405	0,00	Berbeda signifikan

Keterangan :

- Jika nilai sig Levene's tes for equality of variances $> 0,05$ data homogen
- Jika nilai sig Levene's tes for equality of variances $< 0,05$ data tidak homogen
- Jika nilai sig t-Test for quality of means $> 0,05$ tidak berbeda signifikan
- Jika nilai sig t-Test for quality of means $< 0,05$ berbeda signifikan

Berdasarkan hasil pada uji fenolik total ekstrak bunga rosella merah dapat dilihat pada tabel 4.13 diketahui nilai sig. *Levene's Test for quality of variances* adalah sebesar $0,405 > 0,05$ maka dapat diartikan bahwa data sampel A dan sampel B homogen. Kemudian berdasarkan hasil kadar fenolik total *t-Test for equality of means* (sig. 2-tailed) adalah $0,00 < 0,05$ yang berarti ada perbedaan yang signifikan dari hasil kadar

fenolik total ekstrak bunga rosella merah dari asal dua daerah yang berbeda .

kadar flavonoid total dan fenolik total bunga rosella merah asal Kabupaten Semarang lebih tinggi dibanding dengan kadar flavonoid total dan fenolik total bunga rosella merah asal Kabupaten Bengkulu Tengah diduga hal ini terjadi karena perbedaan tempat tumbuh dan iklim asal bunga rosella yang berbeda. Dimana bunga rosella merah yang digunakan sebagai sampel dari kabupaten semarang merupakan dataran tinggi, sedangkan bunga rosella merah asal Kabupaten Bengkulu Tengah merupakan dataran rendah.

Tabel 4.14 Hubungan Kadar Flavonoid Total Dan Fenolik Total

Sampel	Flavonoid (mgQE/g)	Fenolik (mgGAE/g)
Sampel A	105,0	11,33
Sampel B	27,70	24,80

Keterangan:

1. Sampel A : asal daerah kabupaten Bengkulu Tengah
2. Sampel B : asal daerah kabupaten Semarang

Senyawa fenol di alam terdapat sangat luas mempunyai variasi struktur sangat luas, mudah ditemukan disemua tanaman, daun, bunga dan buah. Ribuan senyawa fenolik di alam telah diketahui strukturnya antara lain flavonoid, fenol monosiklik sederhana, fenil propanoid, polifenol (lignin, tanin, melanin), dan kuinon fenolik (Fauziah, 2008)

Pada penelitian ini hasil kadar fenolik total ekstrak bunga rosella merah asal Kabupaten Bengkulu Tengah lebih besar dibandingkan kadar flavonoid totalnya, sedangkan kadar flavonoid total ekstrak bunga rosella

merah asal kabupaten semarang lebih besar dibandingkan dengan kadar fenolik total, yang dimana seharusnya kadar fenolik lebih tinggi dibandingkan kadar flavonoid karena flavonoid merupakan golongan dari senyawa fenol (Zuraidah, 2015). Hal ini bisa terjadi dikarenakan sifat asam galat yang tidak stabil, dan dapat dipengaruhi juga oleh *operating time* dan panjang gelombang yang didapat sehingga hasil yang didapatkan berbeda.

H. Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini telah diusahakan sesuai dengan prosedur ilmiah, namun demikian masih memiliki keterbatasan sehingga berpengaruh terhadap hasil penelitian adalah sebagai berikut :

Hasil kadar fenolik yang didapatkan tidak sesuai, kadar flavonoid total ekstrak bunga rosella merah asal Kabupaten Semarang lebih besar dibandingkan dengan kadar fenoliknya, seharusnya kadar fenolik lebih tinggi dibandingkan kadar flavonoid, karena flavonoid merupakan golongan dari senyawa fenol. Hal ini bisa disebabkan oleh beberapa faktor yaitu penentuan *operatinng time* dan panjang gelombangmaksimumlarutan asam galat. Sehingga untuk penelitian kadar fenol, diperlukan optimasi preparasi sampel,OT, dan λ maks untuk mendapatkan kadar yang sesuai.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian penentuan kadar flavonoid total dan fenolik total ekstrak etanol bunga rosella merah merrah asal Kabupaten Bengkulu tengah dan Kabupaten semarang dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Kadar Flavonoid total untuk ekstrak bunga Rosella Merah asal Kabupaten Bengkulu Tengah dan Kabupaten Semarang berturut-turut sebesar 10,90 mgQE/g dan 27,70 mgQE/g.
2. Kadar fenolik total ekstrak etanol bunga rosella merah asal Kabupaten Bengkulu Tengah dan Kabupaten Semarang berturut-turut sebesar 11,33 mgGAE/g dan 24,80 mgGAE/g.

B. Saran

Dilakukan Penelitian lebih lanjut untuk kadar flavonoid dan fenolik asal daerah Kabupaten Semarang dengan menggunakan metode standarisasi ekstrak, optimasi pelarut, dan optimasi *operating time* dan panjang gelombang untuk fenolik, agar hasil yang didapatkan lebih maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina D, P. & Suwijiyo, P. (2015). Perbandingan Metode Pembuatan Ekstrak Terpurifikasi Bee Propolis Dari Lebah Madu (*Apis mellifera*) Berdasarkan Kadar Flavonoid total Dihitung Sebagai Rutin. *Traditional Medicine Journal*, 20(2).
- Agoes, G. (2007). *Teknologi Bahan Alam*. Bandung: Penerbit ITB.
- Ahmad, A. R., Juwita, S. D. R., & Malik, A., (2015). Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Eclipta alata* (Jack) R.M.SM). *Pharm Sci Res ISSN 2407-2354*, 2(1).
- Alfiansyah. (2017). Penetapan Kadar Flavonoid Dari Ekstrak Metanol Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible. *Tulis Ilmiah*, Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin.
- Anna, K. S. & Noverda, A. (2017). Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L) dari Kalimantan Selatan. *Journal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(2), 327-335.
- Apsari, P. D. & Susanti, H. (2011). Perbandingan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Merah dan Ungu Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Secara Spektrofotometri. *Prosiding Seminar Nasional Home Care*, Fakultas Farmasi Dan Kesehatan Masyarakat UAD, Yogyakarta
- Arifianti, L., Oktarina, R. D., & Kusumawati, I., (2014). Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth. In *Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi E-Journal Planta Husada* (Vol. 2).
- Bobby, D. (2009). *Aktivitas Antioksidan dan Kandunga Fenolik Total pada Eksktrak Rosella dan Aplikasinya Sebagai Bahan Pembuat Selai*.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H dan Chern, J. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, *Journal of Food and Drugs Analysis*. 10(3) : 178–182.
- Chief, E. I., Megawati, A., Board, E., Palupi, D. A., Hastuti, E. D., Pujiastuti, E., dan Musdalifah, S. (2018). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Dengan Spektrofotometri Uv Vis. *Cendikia Journal of Pharmacy*, volume 2 N.
- Christian, G. D. 2004. *Analytical Chemistry*, 6th Ed, John Wiley & Sons, Inc., USA, 457-468

- Ciz, M., Hana Č., Petko D., Maria, K., Anton, S., & Antonin, L., (2010). *Different methods for control and comparison of the antioxidant properties of vegetables, Food Control*
- Dede Sugiyat. 2010. Penetapan Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Dedak Beberapa Varietas Padi (*Oryza sativa* L.). *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia. Depok.
- Depkes RI. (2006). *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia* (jilid 2). jakarta: Direktorat Standarisasi Obat Tradisional, Kosmetik dan Produk Komplemen.
- Dian A.S. dan Tukiran. (2017). Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Klampok Watu(*Syzygium Litorale*). *UNESA Journal of Chemistry*, Vol. 6, No. 3,
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Emilan, T., Kurnia, A., Utami, B., Diyani, L.N., Maulana, A. (2011). *Konsep Herbal Indonesia : Pemastian Mutu Produk Herbal*. jakarta: UI.
- Endarini, L. H. (2016). *Farmakognosi-Fitokimia*. jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Fauzana, D. L. (2010). Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi,Perkolasi Dan Reperkolasi Terhadap Rendemen Ekstrak Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.). *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian. ITB
- Gamse. (2002). *Liquid-liquid Extraction and Solid-Liquid Extraction*. Graz University of Technology.
- Gandjar, I., dan Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Harborne, J., 1996. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB, Bandung
- Harbone, J. (1987). *Comparative Biochemistry of Flavonoids*. London: Academic Press.
- Haryastuti, D. A. (2012). *Inhibisi Ekstrak Biji Pinang (Areca Catechu L.) Terhadap Pelepasan Kalsium Pada Proses Demineralisasi Gigi yang Distimulasi Streptococcus Mutans* (Universitas Jember). Retrieved from <https://repository.unej.ac.id/bitstream/handle/123456789/3479/Skripsi.pdf?sequence=1>

- Hayani, E. 2007. Pemisahan Komponen Rimpang Temu Kunci Secara Kromatografi Kolom. *Jurnal Teknik Pertanian Universitas Negeri Malang*. 12(3) : 35–37.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S. (2008). *Farmakognosi dan Fitoterapi* (et al Terjemahan Winny R. Syarief, Ed.). Jakarta: EGC.
- Herlinda, A., Malik, A., dan Najib, A. (2013). *Penetapan Kadar Fenolik Total Dari Ekstrak Etanol Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis*. 3(1), 119–123.
- Hodgson, J. M., and Kevin D. C., 2006, Review Dietary flavonoids: effects on endothelial function and blood pressure, *J Sci Food Agric*
- Indrayani, S. 2008. Validasi Penetapan Kadar Kuersetin dalam Sediaan Krim Secara Kolorimetri dengan Pereaksi AlCl₃. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Ishak, A. (2018). *Analisa fitokimia dan uji aktivitas anti oksidan biskut biji labu kuning (curcubita sp.) sebagai snack sehat*. Makasar: Universitas Hasanuddin.
- Islamiyati, R., dan Saputri, I. N. (2018). Uji Perbedaan Aktivitas Antioksidan dengan Variasi Konsentrasi Pelarut Etanol 70% dan 96% Pada Ekstrak Etanol Daun Salam Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas Dpph. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 2(2).
- Karadeniz, F., Burdurlu, H. S., Koca, N., & Soyer, Y. (2005). Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29(4), 297–303. <https://doi.org/10.3906/tar-0409-12>
- Kelly, S. G. 2011. Alternative Medicine Review. *Journal Quersetin*. 16(2).
- Kowalska, T. (2003). *Encyclopedia of Chromatography*. New York: Marcell Dekker Inc.
- Kumalasari, E., Nazir, M. A., dan Putra, A. M. P. (2018). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Daun Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 1(November 2018), 18–24.
- Kyky H., Yuvianti D.P., Etty Sulistyowati. 2014. *Pengaruh Kombinasi Ekstrak Terpurifikasi Herba Artemisia (Artemisia annua (L.)) dan Herba Sambiloto (Andrigraphis paniculata (Burm.f) Nees) Terhadap Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Diabetes Mellitus Tipe 2 Resisten Insulin*. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi “Yayasan Farmasi”. Semarang

- Lade, B. D., Patil, A. S., Paikrao, H. M., Kale, A. S., dan Hire, K. K. (2014). *Research Journal of Pharmaceutical , Biological and Chemical Sciences A Comprehensive Working , Principles and Applications of Thin Layer*. 5(486), 486–503.
- Latifah. 2015. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dengan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur *Kaempferia galanga* L. dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil). *Skripsi*. Fakultas SAINS dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulan Malik Ibrahim, Malang.
- Mahadevan, N., Shivali, K., dan Kamboj, P. (2009). Hibiscus sabdariffa Linn: an overview. *Natural Product Radiance*, 8(1), 77–83. <https://doi.org/ISSN:0972-592X>
- Maknunah, Z. (2015). *karakterisasi profil protein gelatin komersial menggunakan sds-page (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis dan analisis kadar protein menggunakan spektrofotometer uv-vis*.
- Mardiah, Amalia, L., dan Sulaeman, A. (2010). *EKSTRAKSI KULIT Batang Rosella (Hibiscus sabdariffa L .)*. 1, 1–8.
- Markham. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid* (K. Padmawinata, Ed.). Bandung: Penerbit ITB.
- Muhammad Nurdin A., F. M Titin Supriyanti, Zackiyah. 2010. *Penentuan Pelarut terbaik dalam Mengekstraksi Senyawa Bioaktif Dari Kulit Batang Artocarpus heterophyllus*. Jurusan Pendidikan Kimia. Universitas Pendidikan Indonesia
- Mulja, M dan Suharman, A., 1995. *Instrumental Analisis*. Airlangga Universitas Press. Surabaya.
- Neldawati, Gusnedi, R., dan Gusnedi. (2013). Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Journal Pillar of Physics*, 2, 76–83. <https://doi.org/10.24036/756171074>
- Nishanthini, A., Agnel, R., dan Mohan, V. R., (2012). Total phenolic, flavonoid contents and in vitro antioxidant activity of leaf of Suaeda monoica Forssk ex. Gmel (Chenopodiaceae). *International Journal of Advanced Life Sciences*, 5(1).
- Nunes, X. P., *et al.*, (2012). Biologocal Oxidation and Antioxidant Activity of Natural Product, *University Federal Sao Fransisco*, Brazil, pp.1-20
- Palupi, D. N. (2018). uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol total dan ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis)

terhadap staphylococcus aureus resisten. *Efisiensi Pelayanan Rawat Inap*, 2, 7.

Purbowati, I. S. M. (2014). *Nanoenkapsulasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa) Hasil Optimasi Ekstraksi Berbantu Gelombang Mikro Sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan*. [Disertasi tidak dipublikasikan. Institut Pertanian Bogor].

Rahayu, F., Jose, C., dan Haryani, Y., (2015). Total Fenolik, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Dari Produk Teh Hijau dan Teh Hitam Tanaman Bangun-Bangun (*Coleus Amboinicus*) dengan Perlakuan Ett Rumput Paitan. *JOM FMIPA*, 2(1).

Rikhana, I. L. (2018). Uji Antioksidan Ekstrak Daging Buah Labu Kuning (*Cucurbita maxima* D.) Dengan Metode Metal Ion Chelating dan ABTS (2,2 Azinobis (3-Etilbenzotiazolin)-6-Asam Sulfonat). *Skripsi Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo, Semarang*.

Riza, A. & Hari, S. (2012). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, Vol. 2, No. 1, 2012 : 73–80

Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Edisi VI, oleh Kosasih Padmawinata, ITB press, Bandung, Hal 57, 73, 199.

Rohyami, Y. (2016). Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff Boerl). *Logika*, 58(1), 1–16. <https://doi.org/10.20885/logika.vol5.iss1.art2>

Rusli, R. (2009). *penetapan kadar boraks pada mie basah yang beredar di pasar ciputat dengan menggunakan metode spektrofotometri uv-vis menggunakan pereaksi kurkumin*. 1–5.

Salisbury, B, F. & Ross, W, C., 1992, *Plant Physiologi*, 4th edition. Wadsworth Publishing Co., Adivision of wadsworth, Inc, Jilid III, diterjemahkan oleh Dian R Lukman dan Sumaryono, ITB, Bandung.

Sari, F., & Aryantini, D. (2018). Karakter Spesifik Dan Pengaruh Pemberian Oral Ekstrak Terpurifikasi Kelopak Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Terhadap Makroskopis Organ Hepar Tikus Wistar Specific Character And Effect Oral Administration Of Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Calyx Puri. *Jurnal Wiyata*, 5(1), 1–9.

Sastrohamidjojo, H. (2007). *Dasar-Dasar Spektrofotokopi* (Edisi Kedu). Jogjakarta: Liberty.

- Sudjadi, 1986. *Metode Pemisahan*, 167 – 177, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Suradji, S. I., Najib, A., & Ahmad, A. R. (2019). Studi Komparasi Kadar Flavonoid Total Pada Bunga Rosella Merah (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Asal Kabupaten Luwu Utara Provinsi Sulawesi Selatan Dan Kabupaten Kediri Provinsi Jawa Timur. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), 175–181. <https://doi.org/10.33096/jffi.v3i2.219>
- Suryani, Andi Eka P. P., & Putri A. (2017). *Formulasi dan Uji Stabilitas Sediaan Gel Ekstrak Terpurifikasi Daun Paliasa (Kleinhovia hospita L.) Yang Berefek Antioksidan*. Fakultas Farmasi Universitas halu Oleo. Kendari : Sulawesi Tenggara
- Suzery, M., Lestari, S., & Cahyono, B. (2010). Penentuan Total Antosiainin (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Metode Maserasi dan Sokshletasi. *Jurnal Sains Dan Matematika*, 18(1), 1–6.
- Urip, N.R., Herawati, I.E dan Saptarini, N.M. 2012. Analisis Kadar Flavonoid Total Pada Rimpang, Batang, dan Daun Bangle (*Zingiber purpureum* Roscoe). *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas AL-Ghifari
- Vermeris, W., dan Nicholson, R. L. (2006). *Phenolic compound biochemistry*. University of Florida, Gainesville, FL, U.S.A. and: Springer.
- Voight, R. (1994). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi* (Edisi V). Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Wasito, H. (2011). *Obat Tradisional Kekayaan Indonesia* (Edisi Pert). Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Widyanto, S dan Nelisya A., 2008, *Rosela Aneka Olahan Khasiat & Ramuan*, Penebar Swadaya, Hal. 1, 25.

Lampiran 1. Determinasi tanaman

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA
LAB. EKOLOGI & BIOSISTEMATIKA DEPARTEMEN BOLOGI
Jl. Prof. H. Soedarto, SH. Tembalang, Semarang. 024 7474754, 024 76480923

SURAT KETERANGAN

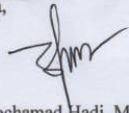
Yang bertanda tangan dibawah ini, menyatakan bahwa mahasiswa sbb :

Nama	: Anjani Chintya Pratiwi
NIM	: 050217A107
Prodi	: Farmasi
Perguruan Tinggi	: UNIVERSITAS NGUDI WALUYO Semarang
Judul Tugas Akhir	: Perbandingan Kadar Flavonoif Total dan Fenolik Total Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L) Asal Kabupaten Bengkulu Tengah dan Kabupaten Semarang dengan Metode Spektrofotometer UV-Vis

Telah mendeterminasikan/mengidentifikasi sampel tumbuhan (satu jenis) di Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Jurusan Biologi FSM UNDIP. Hasil determinasi/identifikasi terlampir.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Semarang, 13 Mei 2019
Laboratorium Ekologi & Biosistematik
Kepala,


Dr. Mochamad Hadi, M.Si.
NIP. 196001081987031002



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA
LAB. EKOLOGI & BIOSISTEMATIKA DEPARTEMEN BOLOGI
Jl. Prof. H. Soedarto, SH. Tembalang, Semarang. 024 7474754, 024 76480923

HASIL DETERMINASI

Klasifikasi:

Kingdom	: Plantae
Sunkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dilleniidae
Ordo	: Malvales
Famili	: Malvaceae
Genus	: Hibiscus
Species	: <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.
Nama daerah	: Rosella

Kunci Determinasi:

1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-Gol 8, Daun Tunggal tersebar-119b109b-120b-128b-129b-135b-136b-139b-140b-142b-143a-144a-Fam 75. Malvaceae -1a-2b-3b-5b-Hibiscus-1b-2b-4a(*Hibiscus sabdariffa* L)

Deskripsi:

Tanaman berupa semak, annual, bercabang, tinggi mencapai 0,5-3m. Akar tunggang, batang bulat, tegak, berkayu dan berwarna merah. Daun: daun tunggal, duduk tersebar, berbentuk bulat telur, bertulang menjari, ujung tumpul, tepi bergerigi dan pangkal berlekuk, Panjang daun 6-15 cm dan lebar 5- 8 cm. Tangkai daun bulat berwarna hijau dengan panjang 4-7 cm. Bunga tunggal, aksiler, Kelopak bunga atau kaliknya berwarna merah gelap dan lebih tebal jika dibandingkan dengan bunga raya/sepatu. Bunga ini mempunyai 8-11 daun kelopak yang berbulu, panjangnya 1 cm, bagian pangkalnya saling berlekatan dan berwarna merah. Bagian inilah yang sering dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan minuman. Mahkota bunga berbentuk corong, terdiri dari 5 helaian, panjangnya 3-5 cm. Tangkai sari yang merupakan tempat melekatnya kumpulan benangsari berukuran pendek dan tebal, panjang dan lebarbya sekitar 5 mm. Putiknya berbentuk tabung, berwarna kuning atau merah Buahnya berbentuk kerucut, berambut, terbagi menjadi 5 ruang dan berwarna merah. Bentuk giji menyerupai ginjal, berbulu dengan panjang 5 mm dan lebar 4 mm. Biji berwarna putih saat masih muda dan berwarna abu-abu setelah tua



Gambar 1: Tanaman dan bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Pustaka:

1. Backer, C.A & Backuizen van den Brink. 1968. Flora of Java. Vol. 1& Vol.II. Noordhof N.V. Gronigen. The Netherland
2. Bhattacharyya, B & B.M. Johri. 1999. Flowering Plants Taxonomy and Phyllogeny. Naresa, Publishing House. New Delhi
3. MBG [Missouri Botanical Garden]. 2010. The Plant List. [http ://www. theplantlist. org/tpl/record/kew-327980](http://www.theplantlist.org/tpl/record/kew-327980) (10 Mei 2019)
4. STEENIS, CGGJ VAN. 1981. *Flora, untuk sekolah di Indonesia*. PT Pradnya Paramita, Jakarta.
5. Hibiscus classification. 2019
<https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=Hibiscus>
 (10 mei2019)



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BENGKULU
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LABORATORIUM BIOLOGI

Jl. WR Supratman Kandang Limun Bengkulu Telp. (0736) 20199 ex. 205

Surat Keterangan

Nomor : 187/UN30.12.LAB.BIOLOGI/PM/2019

Telah dilakukan verifikasi taksonomi tumbuhan :

Kingdom	: Plantarum
Unranked	: Eudicots
Unranked	: Core eudicots
Unranked	: Super rosid
Unranked	: Rosids
Unranked	: Malvids
Ordo	: Malvales
Famili	: Malvaceae
Genus	: <i>Hibiscus</i>
Spesies	: <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.

Nama Daerah : Rosela

Pelaksana : Dra. Rochmah Supriati, M.Sc.

Pengguna : Anjani Chintya Pratiwi/050217A107

1 Juli 2019

Ka. Lab. Biologi



Dr. Supriyadi, MSc.

198409222008121004

Lampiran 2. Perhitungan Rendemen

1. Rendemen Ekstrak bunga rosella merah

a. Daerah A

Berat Simplisia = 500 gram

Berat Ekstrak = 208,66 gram

$$\begin{aligned}\text{Penyelesaian} &= \frac{\text{berat ekstrak kasar}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{208,66 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 41,73\%\end{aligned}$$

b. Daerah B

Berat Simplisia = 500 gram

Berat Ekstrak = 281,91 gram

$$\begin{aligned}\text{Penyelesaian} &= \frac{\text{berat ekstrak kasar}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{281,91 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 56,38\%\end{aligned}$$

2. Rendemen purifikasi n-heksan bunga rosella merah

a. Daerah A

Berat Ekstrak Kasar = 20 gram

Berat Fraksi = 16,49 gram

$$\begin{aligned}\text{Penyelesaian} &= \frac{\text{berat fraksi}}{\text{berat ekstrak kasar}} \times 100\% \\ &= \frac{16,49 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 82,45\%\end{aligned}$$

b. Daerah B

Berat Ekstrak = 20 gram

Berat Fraksi = 17,89gram

$$\begin{aligned}\text{Penyelesaian} &= \frac{\text{berat fraksi}}{\text{berat ekstrak kasar}} \times 100\% \\ &= \frac{17,89 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 89,46\%\end{aligned}$$

Lampiran 3. Perhitungan harga Rf pada UV 366 nm

$$\text{Rumus } R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh zat}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

1. Uji Flavonoid Dengan KLT Dengan Menggunakan N-heksan : Etil Asetat (1:4)

a. Rf Ekstrak asal daerah A

$$\text{Bercak 1} = \frac{5 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,41$$

$$\text{Bercak 2} = \frac{7,8 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,65$$

$$\text{Bercak 3} = \frac{9,7 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,80$$

$$\text{Bercak 4} = \frac{10,5 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,87$$

b. Rf sampel ekstrak B

$$\text{Bercak 1} = \frac{5,9 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,49$$

$$\text{Bercak 2} = \frac{8,2 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,68$$

$$\text{Bercak 3} = \frac{9,7 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,80$$

$$\text{Bercak 4} = \frac{10,5 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,87$$

$$\text{Bercak 5} = \frac{11 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,91$$

2. Uji Fenolik Dengan Klt Dengan Menggunakan N-Butanol : Etil Asetat : Aquades (4:1:5)

a. Rf Ekstrak asal daerah A

$$\text{Bercak 1} = \frac{2,8 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,23$$

$$\text{Bercak 2} = \frac{3,3 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,27$$

$$\text{Bercak 3} = \frac{4,5 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,37$$

$$\text{Bercak 4} = \frac{7,3 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,6$$

$$\text{Bercak 5} = \frac{10,3 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,87$$

$$\text{Bercak 6} = \frac{11,3 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,94$$

b. Rf sampel ekstrak B

$$\text{Bercak 1} = \frac{3,1 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,25$$

$$\text{Bercak 2} = \frac{3,8 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,31$$

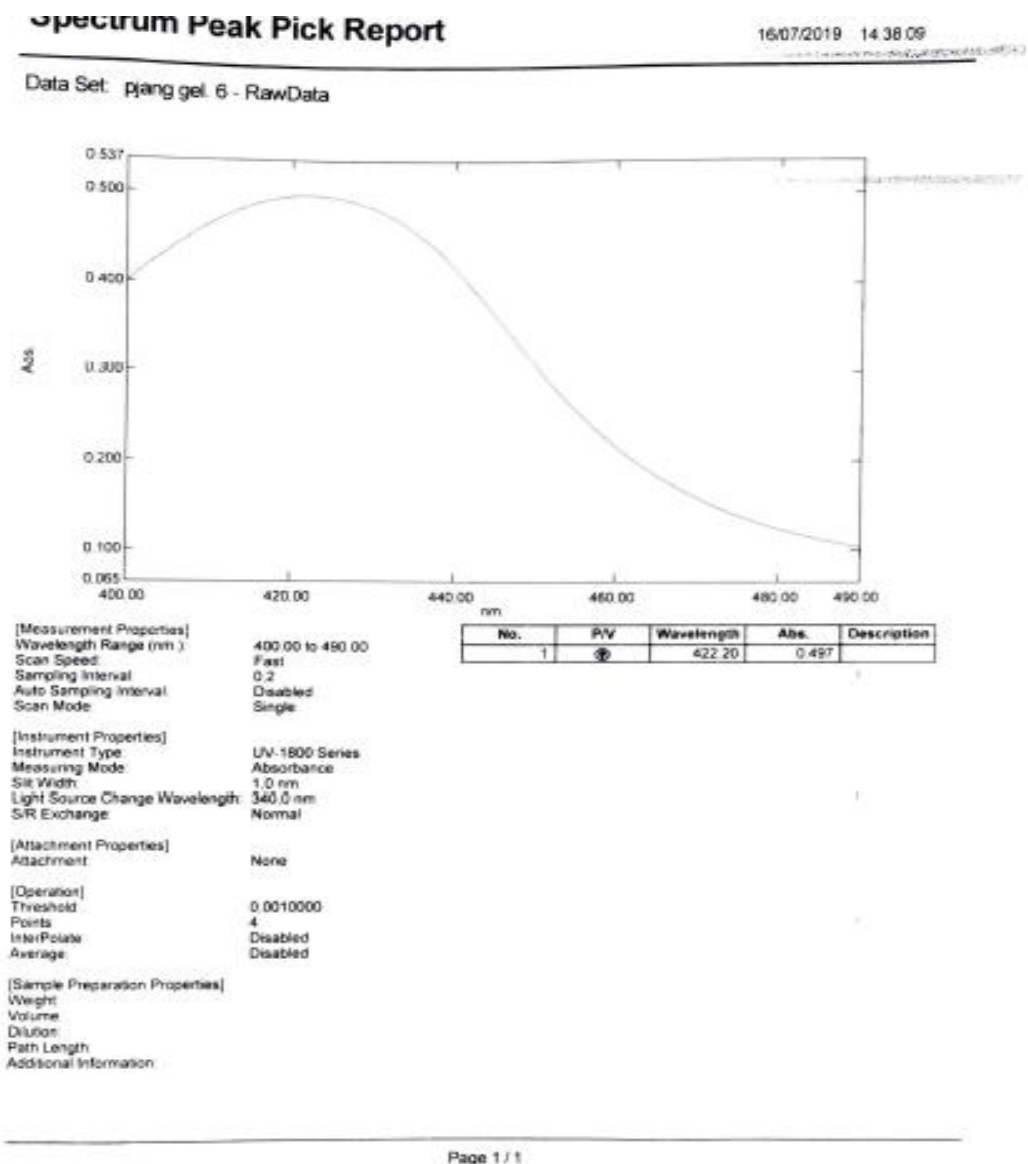
$$\text{Bercak 3} = \frac{4,8 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,4$$

$$\text{Bercak 4} = \frac{7,7 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,64$$

$$\text{Bercak 5} = \frac{10,8 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,9$$

$$\text{Bercak 6} = \frac{11,8 \text{ cm}}{12 \text{ cm}} = 0,98$$

Lampiran 4. Hasil Spektrofotometri Panjang Gelombang Kuersetin



Lampiran 5. Hasil Spektrofotometri *Operating Time* Kuersetin

Kinetics Data Print Report

17/07/2019 10:14:21

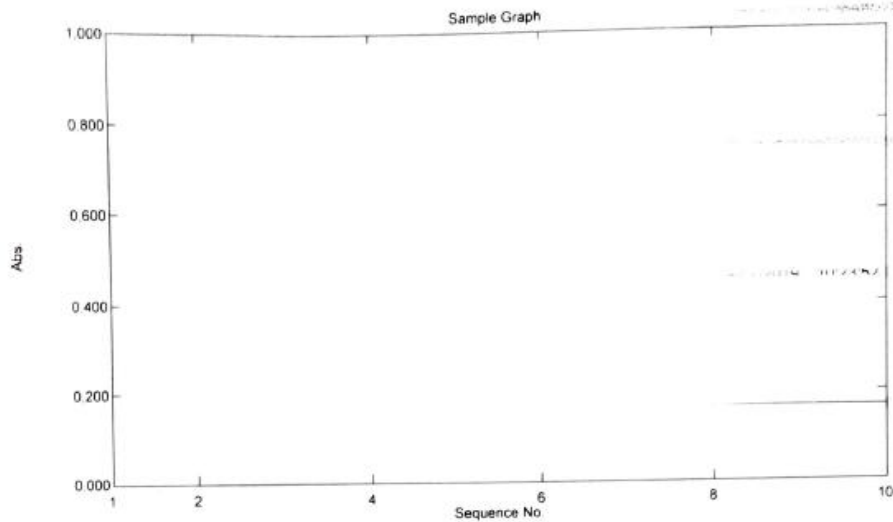
Time (Minute)	RawData ...
0.0000	0.450
1.0000	0.449
2.0000	0.449
3.0000	0.448
4.0000	0.447
5.0000	0.447
6.0000	0.447
7.0000	0.446
8.0000	0.446
9.0000	0.445
10.0000	0.445
11.0000	0.445
12.0000	0.445
13.0000	0.444
14.0000	0.444
15.0000	0.444
16.0000	0.443
17.0000	0.443
18.0000	0.443
19.0000	0.443
20.0000	0.443
21.0000	0.443
22.0000	0.443
23.0000	0.443
24.0000	0.443
25.0000	0.443
26.0000	0.443
27.0000	0.443
28.0000	0.443
29.0000	0.443
30.0000	0.443
31.0000	
32.0000	
33.0000	
34.0000	
35.0000	
36.0000	
37.0000	
38.0000	
39.0000	
40.0000	

Lampiran 6. Hasil Spektrofotometri Kurva Baku kuersetin

Sample Table Report

19/07/2019 10:23:52

File Name: D:\anjani chintya\kurva kalibrasi 7 pho



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL422.2	Comments
1	20ppm	Unknown		*****	0.315	
2	40ppm	Unknown		*****	0.432	
3	60ppm	Unknown		*****	0.514	
4	80ppm	Unknown		*****	0.623	
5	100ppm	Unknown		*****	0.719	
6						

Lampiran 7. Perhitungan kadar flavonoid total ekstrak sampel Asal

Kabupaten Bengkulu Tengah

Sampel	Absorbansi		$\bar{x}$ Absorbansi sampel $\pm$ SD	Flavonoid total (g/mg kuersetin)	$\bar{x}$ Flavonoid total (g/mg kuersetin) $\pm$ SD
	Replikasi 1	Nilai absorban			
Sampel A	1	0,324	0,328 $\pm$ 0,004	10,50	10,50 $\pm$ 0,040
	2	0,328		10,90	
	3	0,332		11,31	
Sampel B	1	0,492	0,494 $\pm$ 0,002	27,47	27,70 $\pm$ 0,025
	2	0,494		27,67	
	3	0,497		27,97	

A. Perhitungan sampel A

1. Replikasi 1

$$Y = a + bx$$

$$0,324 = 0,220 + 0,099 x$$

$$0,324 - 0,220 = 0,099 x$$

$$X = \frac{0,104}{0,099} = 1,050 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kandungan flavonoid total} =$$

$$\frac{1,050 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,025 \text{ L} \times 10}{0,025 \text{ g}}$$

$$= 10,50 \text{ mg/gram}$$

2. Replikasi 2

$$Y = a + bx$$

$$0,328 = 0,220 + 0,099 x$$

$$0,328 - 0,220 = 0,099 x$$

$$X = \frac{0,108}{0,099} = 1,090 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kandungan flavonoid total} =$$

$$\frac{1,090 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \times 10}{0,025 \text{ g}}$$

$$= 10,90 \text{ mg/gram}$$

B. Perhitungan sampel B

1. Replikasi 1

$$Y = a + bx$$

$$0,492 = 0,220 + 0,099 x$$

$$0,492 - 0,220 = 0,099 x$$

$$X = \frac{0,272}{0,099} = 2,747 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kandungan flavonoid total} =$$

$$\frac{2,747 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \times 10}{0,025 \text{ g}}$$

$$= 27,47 \text{ mg/gram}$$

2. Replikasi 2

$$Y = a + bx$$

$$0,494 = 0,220 + 0,099 x$$

$$0,494 - 0,220 = 0,099 x$$

$$X = \frac{0,274}{0,099} = 2,767 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kandungan flavonoid total} =$$

$$\frac{2,767 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \times 10}{0,025 \text{ g}}$$

$$= 27,67 \text{ mg/gram}$$

3. Replikasi 3

$$Y = a + bx$$

$$0,332 = 0,220 + 0,099 x$$

$$0,332 - 0,220 = 0,099 x$$

$$X = \frac{0,112}{0,099} = 1,131 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kandungan flavonoid total} =$$

$$\frac{1,131 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \times 10}{0,025 \text{ g}}$$

$$= 11,31 \text{ mg/gram}$$

3. Replikasi 3

$$Y = a + bx$$

$$0,497 = 0,220 + 0,099 x$$

$$0,497 - 0,220 = 0,099 x$$

$$X = \frac{0,277}{0,099} = 2,797 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kandungan flavonoid total} =$$

$$\frac{2,797 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \times 10}{0,025 \text{ g}}$$

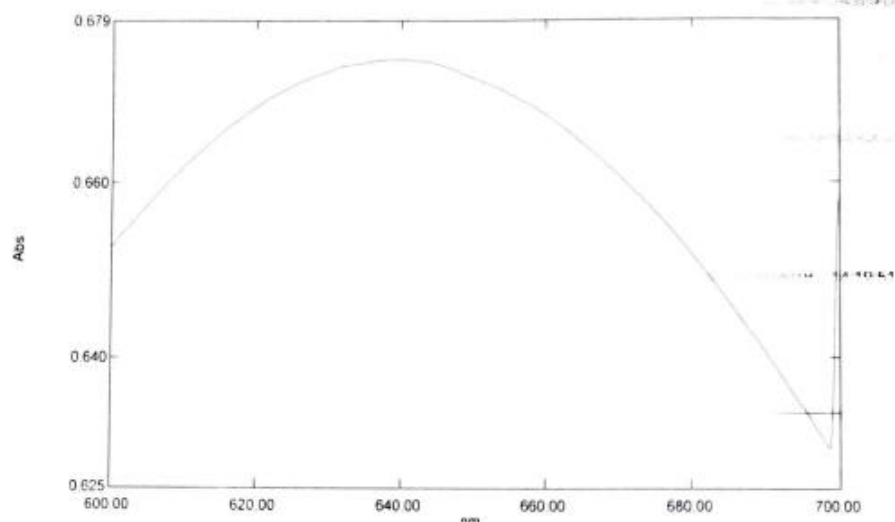
$$= 27,97 \text{ mg/gram}$$

Lampiran 8. Hasil Spektrofotometri Panjang Gelombang asam galat

Spectrum Peak Pick Report

31/07/2019 14:19:51

Data Set: de - RawData



[Measurement Properties]
Wavelength Range (nm) 600.00 to 700.00
Scan Speed Fast
Sampling Interval 0.2
Auto Sampling Interval Disabled
Scan Mode Single

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⊕	638.80	0.674	

[Instrument Properties]
Instrument Type UV-1600 Series
Measuring Mode Absorbance
Slit Width 1.0 nm
Light Source Change Wavelength 340.0 nm
Slit Exchange Normal

[Attachment Properties]
Attachment None

[Operation]
Threshold 0.0010000
Points 4
Interpolate Disabled
Average Disabled

[Sample Preparation Properties]
Weight
Volume
Dilution
Path Length
Additional Information:

Lampiran 9. Hasil Spektrofotometri *Operating Time* Asam Galat

Kinetics Data Print Report

02/08/2019 11:01:45

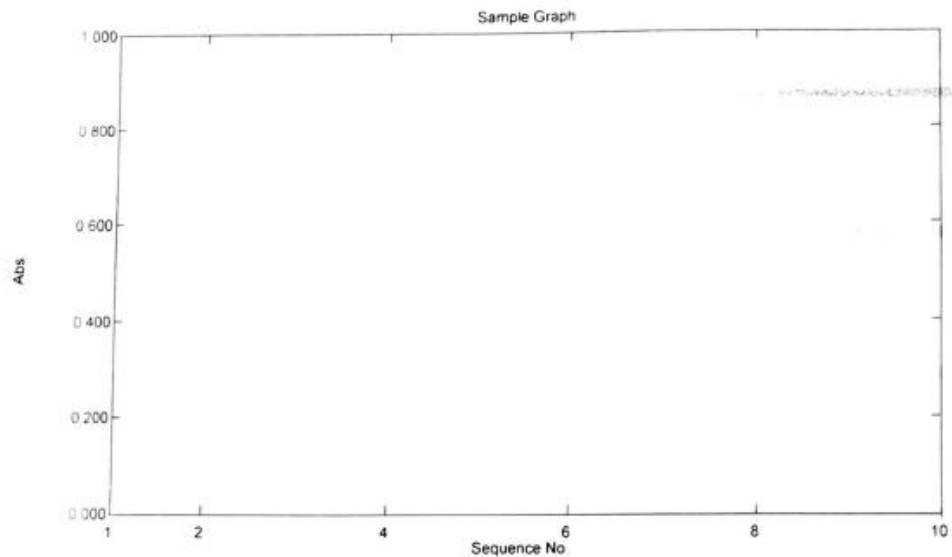
Time (Minute)	RawData ...
0 0000	0 644
1 0000	0 647
2 0000	0 649
3 0000	0 651
4 0000	0 652
5 0000	0 654
6 0000	0 655
7 0000	0 655
8 0000	0 656
9 0000	0 658
10 0000	0 659
11 0000	0 659
12 0000	0 659
13 0000	0 660
14 0000	0 658
15 0000	0 659
16 0000	0 658
17 0000	0 661
18 0000	0 661
19 0000	0 661
20 0000	0 661
21 0000	0 653
22 0000	0 653
23 0000	0 652
24 0000	0 652
25 0000	0 660
26 0000	0 659
27 0000	0 658
28 0000	0 658
29 0000	0 657
30 0000	0 658

Lampiran 10. Hasil Spektrofotometri Kurva Baku Asam Galat

Sample Table Report

05/08/2019 12:16:42

File Name: D:\lanjani\kurva baku fenol.pho



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL638,8	Comments
1	20ppm	Unknown		*****	0.274	
2	40ppm	Unknown		*****	0.356	
3	60ppm	Unknown		*****	0.467	
4	80ppm	Unknown		*****	0.571	
5	100ppm	Unknown		*****	0.670	
6						

Lampiran 11. Perhitungan Kadar Fenolik Total Ekstrak Bunga Rosella Merah

Sampel	Absorbansi		$\bar{x}$ Absorbansi sampel $\pm$ SD	Fenolik total (mgGAE/g sampel)	$\bar{x}$ Flavonoid total (mgGAE/g sampel) $\pm$ SD
	Replikasi	Nilai absorban			
Sampel A	1	0,281	0,279 $\pm$ 0,002	11,46	11,33 $\pm$ 0,022
	2	0,281		11,46	
	3	0,277		11,07	
Sampel B	1	0,414	0,415 $\pm$ 0,001	24,67	24,80 $\pm$ 0,015
	2	0,415		24,77	
	3	0,417		24,97	

B. Perhitungan sampel A

1. Replikasi 1

$$Y = a + bx$$

$$0,281 = 0,1655 + 0,1007x$$

$$0,281 - 0,1655 = 0,1007x$$

$$X = \frac{0,1155}{0,1007} = 1,146 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kandungan flavonoid total} = \frac{1,146 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \times 10}{0,025 \text{ g}}$$

$$= 11,46 \text{ mg/gram}$$

2. Replikasi 2

$$Y = a + bx$$

$$0,281 = 0,1655 + 0,1007x$$

$$0,281 - 0,1655 = 0,1007x$$

$$X = \frac{0,1155}{0,1007} = 1,146$$

$$\text{Kandungan flavonoid total} = \frac{1,146 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \times 10}{0,025 \text{ g}}$$

$$= 11,46 \text{ mg/gram}$$

C. Perhitungan sampel B

1. Replikasi 1

$$Y = a + bx$$

$$0,414 = 0,1655 + 0,1007x$$

$$0,414 - 0,1655 = 0,1007x$$

$$X = \frac{0,2485}{0,1007} = 24,67$$

$$\text{Kandungan flavonoid total} = \frac{2,467 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \times 10}{0,025 \text{ g}}$$

$$= 24,67 \text{ mg/gram}$$

2. Replikasi 2

$$Y = a + bx$$

$$0,415 = 0,1655 + 0,1007x$$

$$0,415 - 0,1655 = 0,1007x$$

$$X = \frac{0,2495}{0,1007} = 2,477$$

$$\text{Kandungan flavonoid total} = \frac{2,477 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \times 10}{0,025 \text{ g}}$$

$$= 24,77 \text{ mg/gram}$$

3. Replikasi 3

$$Y = a + bx$$

$$0,277 = 0,1655 + 0,1007 x$$

$$0,277 - 0,1655 = 0,1007x$$

$$X = \frac{0,1115}{0,1007} = 1,107 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kandungan flavonoid total} =$$

$$\frac{1,107 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \times 10}{0,025 \text{ g}}$$

$$= 11,07 \text{ mg/gram}$$

3. Replikasi 3

$$Y = a + bx$$

$$0,417 = 0,1655 + 0,1007x$$

$$0,417 - 0,1655 = 0,1007 x$$

$$X = \frac{0,2515}{0,1007} = 2,497 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kandungan flavonoid total} =$$

$$\frac{2,497 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \times 10}{0,025 \text{ g}}$$

$$= 24,77 \text{ mg/gram}$$

Lampiran 12. Hasil Data SPSS Windows 16 Flavonoid Ekstrak Bunga Rosella Merah

Independent Samples Test									
	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Kadar flavonoid	Equal variances assumed	,375	,573	-61,025	4	,000	-16,80000	,27530	-17,56435 -16,03565
	Equal variances not assumed			-61,025	3,344	,000	-16,80000	,27530	-17,62727 -15,97273

Independent Samples Test									
	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Kadar Fenolik	Equal variances assumed	,865	,405	-84,251	4	,000	-13,45667	,15972	-13,90013 -13,01321
	Equal variances not assumed			-84,251	3,618	,000	-13,45667	,15972	-13,91921 -12,99412

Lampiran 13. Proses pembuatan simplisia



Sortasi kering



Penimbangan rosella basah



Penjemuran Bunga Rosella



Penimbangan rosella kering

Lampiran 14. Pembuatan Ekstrak



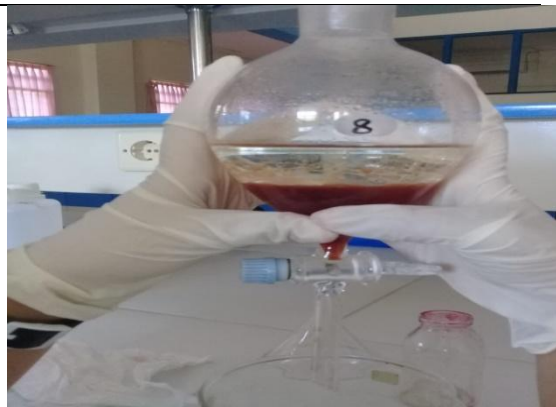
Penghalusan simplisia



Serbuk simplisia



Hasil Maserasi



Purifikasi n-heksana

Lampiran 15. Identifikasi Metabolit Sekunder

1. Uji Warna Identifikasi Flavonoid dan Fenolik

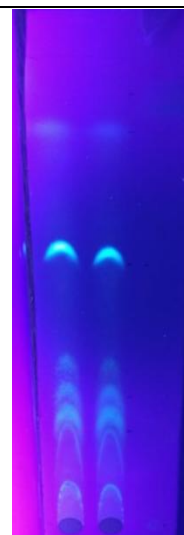


Hasil uji warna flavonoid dan fenolik

2. Identifikasi senyawa flavonoid dan fenolik dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dilihat dari lampu uv 366



flavonoid



fenolik

Lampiran 16. Penentuan Kadar Flavonoid total dan fenolik total



Penyiapan Sampel Flavonoid



Pembacaan Pada Spektrofotometri
UV-Vis

A. Penentuan Kadar Fenolik



Penyiapan Sampel Fenolik



Pembacaan Pada Spektrofotometri
UV-Vis