

Bab VI Hasil Dan Pembahasan

VI.1 Penyiapan bahan

Penyiapan bahan dimulai dengan pengambilan bahan yaitu rosela segar dan sediaan yang ada dimasyarakat, determinasi sampai dengan pengolahan bahan. Pembelian rosela segar didapat dari perkebunan Bumi Herbal Dago Bandung dan sediaan teh rosela didapat di Toko Swalayan di Bandung. Hasil determinasi dilakukan di SITH ITB Jatinangor, diperoleh informasi bahwa rosela merupakan spesies *Hibiscus sabdariffa* L.

Pada penelitian ini telah dilakukan analisis untuk penetapan antosianin total dalam rosela segar dan sediaan teh yang dikonsumsi masyarakat. Proses pertama yang dilakukan adalah maserasi rosela segar dan sediaan dengan pelarut aquades dengan menggunakan 4 kuncup (sesuai dengan intruksi yang ada dikemasan) selama 30 menit pada suhu ruang, 50 °C, dan 80 °C., dan saat dididihkan. Selanjutnya dilakukan pembuatan larutan pH diferensial, untuk pH 1,0 mencampurkan sekitar 0,470 gram KCL yang dilarutkan dalam tabung volumetrik 250 ml dan tambahkan HCL sampai pH mencapai $1,0 \pm 0,1$. Pembuatan pH 4,5 dengan cara mencampurkan sekitar 14,2 gram natrium asetat yang dilarutkan dalam tabung volumetrik 250 ml dan tambahkan HCL sampai pH mencapai $4,5 \pm 0,1$.

Antosianin bersifat polar sehingga lebih larut dalam pelarut polar. Air bersifat polar dan digunakan sebagai pelarut, karena menyesuaikan dengan pelarut yang digunakan oleh masyarakat untuk menyeduh teh.

VI.2 Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan pada simplisia untuk menentukan golongan senyawa yang terkandung dalam bunga rosela, yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Penapisan fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna yang terdiri dari uji alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid, uji kuinon, saponin, dan tanin.

Tabel VI.1
Hasil Penapisan Fitokimia dalam Ekstrak

Golongan Senyawa		Kelopak Bunga Rosela
Alkaloid		+
Flavonoid		+
Saponin		-
Tanin	Tanin (FeCl ₃)	+
	Tanin (Gelatin)	-
Kuinon		-
Steroid		+

Keterangan : + : mengandung golongan senyawa yang diuji
- : tidak mengandung golongan senyawa yang diuji

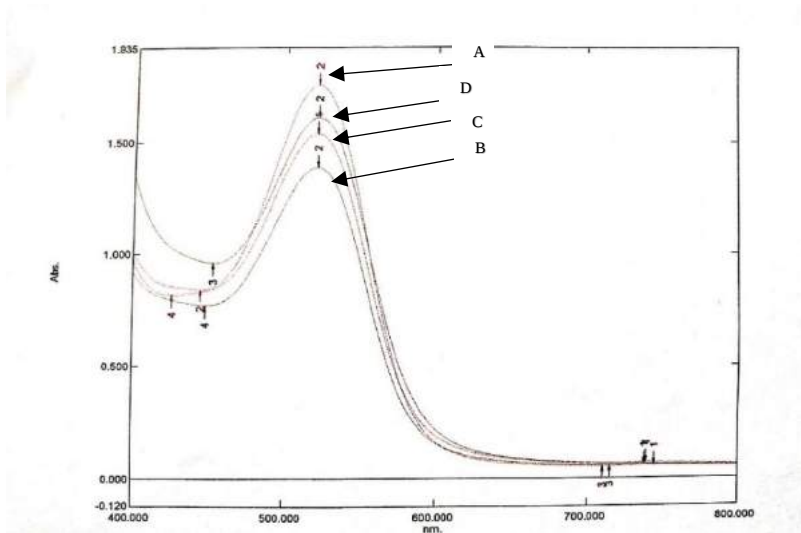
Berdasarkan tabel diatas, kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L) mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan steroid.

VI.3 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut yang digunakan ialah air. Metode maserasi dipilih karena struktur kimia antosianin cenderung kurang stabil dan mudah mengalami degradasi. Antosianin lebih stabil pada larutan asam dengan nilai pH yang rendah dibanding larutan basa dengan pH yang tinggi. (Suzery dkk, 2010). Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan air, karena media yang digunakan masyarakat untuk menyeduh teh rosela adalah air, dengan cara menyeduh selama 30 menit dengan suhu ruang, 50 °C, 80 °C dan saat dididihkan yang selanjutnya akan dilakukan pengujian. Tujuan utama ekstraksi kelopak rosela adalah untuk mendapatkan antosianin semaksimal mungkin secara efektif berdasarkan perbedaan suhunya. Pada penelitian ini dilakukan berbagai variasi suhu untuk mendapatkan antosianin dan hasilnya dibandingkan untuk mengetahui suhu yang paling efektif.

VI. 4 Uji Spektrum Tampak Hasil Ekstraksi

Penentuan λ maksimum ekstrak kelopak rosela dilakukan menggunakan Spektrofotometri visible. Sampel yang telah dimaserasi selama 30 menit dengan variasi suhu yang berbeda menggunakan pelarut air, diukur absorbansinya dan λ maksimumnya pada rentang panjang gelombang 400-800 nm. Hasil uji spektrum tampak dengan pelarut aquades diperoleh panjang gelombang serapan maksimal untuk rosela segar ialah 520.5 nm; rosela kering 520 nm; rosela kering pasar 521 nm; rosela kering serbuk pasar 520 nm. Pada panjang gelombang tersebut masuk dalam rentang panjang gelombang serapan maksimum teoritis antosianin 505-535 nm (Harborne, 1987).

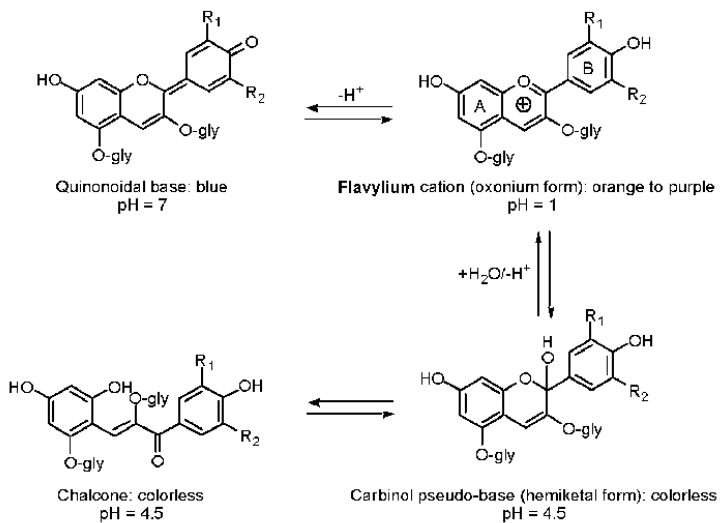


Gambar VI. 1 Overlay spektrum tampak ekstrak sediaan bunga rosela menggunakan pelarut air. (A) λ maksimum ekstrak rosela segar 520.5 nm (B) λ maksimum ekstrak rosela kering 520 nm (C) λ maksimum ekstrak rosela kering pasar 521 nm (D) λ maksimum ekstrak rosela kering serbuk pasar 520 nm.

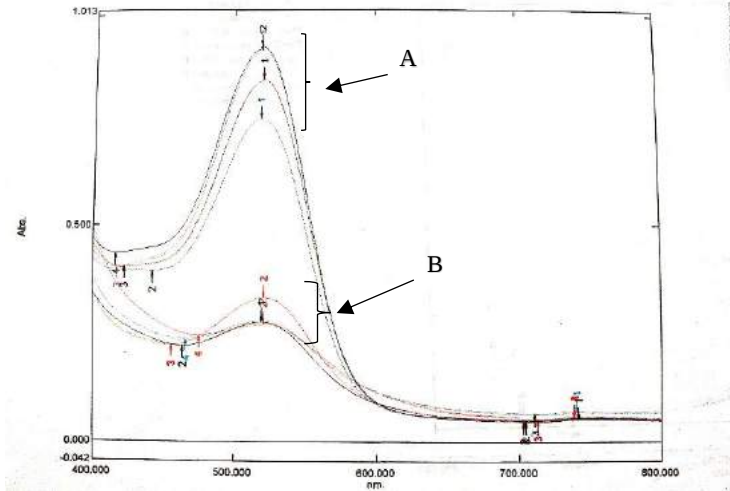
Berdasarkan gambar diatas, diperoleh sampel rosela segar memiliki nilai absorbansi tertinggi jika dibandingkan dengan rosela kering, rosela kering pasar, dan rosela serbuk. Hal tersebut dikarenakan sampel rosela masih dalam kondisi segar dan tidak mengalami proses pengeringan. Panjang gelombang rata-rata yang diperoleh menunjukkan bahwa λ maksimum untuk ekstrak rosela berada pada panjang gelombang 520 nm, yang selanjutnya akan dilakukan pengukuran dengan mencampurkan ekstrak rosela kedalam larutan pH diferensial dengan perbandingan 1 ml ekstrak dan 4 ml larutan pH 1,0 dan 4,5.

VI. 5 Kadar Total Antosianin

Pada larutan asam kuat (di bawah pH 2) kation flavilium lebih dominan dan memberikan larutan antosianin berwarna merah. Penetapan kadar antosianin total dilakukan dengan metode pH differensial yaitu pada pH 1,0 dan pH 4,5. Pada pH 1,0 antosianin berbentuk senyawa oxonium dan pada pH 4,5 yakni pada asam lemah kation flavilium berubah ke bentuk yang lebih stabil hemiketal yang tak berwarna dan bentuk kalton (Wrolstad dan Giusti, 2001). Penjelasan tersebut dapat dijelaskan dengan reaksi sebagai berikut :



Gambar VI.2 Struktur antosianin pada kondisi pH yang berbeda (Wrolstad dan Giusti, 2001).



Gambar VI. 3 Overlay spektrum tampak ekstrak sediaan bunga rosela pada pH 1,0 (A); dan pada pH 4,5 (B).

Perbedaan absorbansi antara dua larutan pada pH 1,0 dan 4,5 sepadan dengan kadar pigmen antosianin yang terkandung dalam sampel (Jungmin *et al*, 2005). Kondisi inilah yang akan dijadikan acuan untuk menentukan absorbansi dengan menggunakan spektrofotometri visible dari masing-masing ekstrak yang dihasilkan. Sampel diukur pada panjang gelombang 520 dan 700 nm.

Pada panjang gelombang 520 nm masuk dalam rentang panjang gelombang maksimum untuk sianidin-3-glikosida sedangkan panjang gelombang 700 nm untuk faktor pengoreksi yang masih terdapat dalam sampel. Jika sampel benar-benar jernih maka absorbansi pada 700 nm adalah 0. Tetapi, pada penelitian ini nilai absorbansi pada panjang gelombang 700 nm tidak memberikan nilai 0, hal ini

disebabkan masih adanya faktor pengoreksi dalam sampel ekstrak sediaan bunga rosela.

Kadar antosianin total dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

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

$$\text{Antosianin Total} = \frac{\text{Absorbansi} \times \text{MW} \times \text{DF}}{\varepsilon \times L}$$

Keterangan :

ε = absorptivitas molar Sianidin-3-glukosida = 26900 L/(mol.cm)

L = lebar kuvet = 1 cm

MW = berat molekul Sianidin-3-glukosida (449,2 g/mol)

DF = Faktor Pengenceran

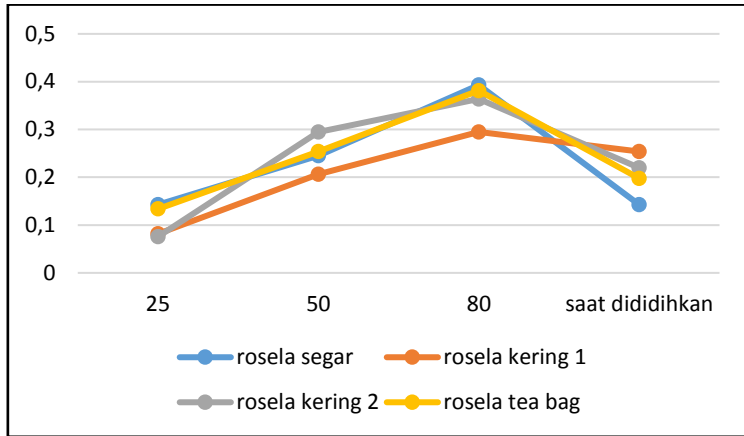
Dari hasil perhitungan dengan rumus diatas, didapatkan kadar total antosianin pada 4 sampel dengan 4 suhu berbeda sebagai berikut.

Tabel VI.2
Kadar Antosianin Total pada Sampel

No.	Jenis Sampel	Kadar Antosianin Total (n=6)							
		Suhu ruang		50 °C		80 °C		Didihkan	
1	Rosela segar	0,1428	±	0,2448	±	0,3930	±	0,1425	±
		0,04		0,02		0,03		0,01	
2	Rosela	0,0817	±	0,2065	±	0,3117	±	0,1017	±
	Kering 1	0,02		0,05		0,07		0,02	
3	Rosela	0,0757	±	0,2948	±	0,3639	±	0,2196	±
	Kering 2	0,01		0,03		0,04		0,02	
4	Rosela tea	0,1337	±	0,2540	±	0,3814	±	0,1974	±
	bag	0,01		0,01		0,06		0,05	

Dilihat berdasarkan tabel diatas menunjukkan peningkatan kadar antosianin yang signifikan berdasarkan kenaikan suhu terhadap semua sampel yang berbeda. Pada sampel rosela segar menunjukkan kadar antosianin total paling tinggi pada suhu ruang dan suhu 80 °C hal ini dikarenakan rosela yang digunakan masih dalam kondisi segar dan belum mengalami proses pengeringan, jika dibandingkan dengan sampel rosela yang lain yaitu rosela kering 1, kering 2, dan tea bag yang sudah mengalami proses pengeringan. Rosela tea bag menunjukkan rata-rata hasil yang paling tinggi diantara sampel rosela kering yang lain, karena sediaan tea bag memiliki partikel yang lebih kecil (serbuk) dibandingkan kering 1 dan 2 yang masih utuh (kuncup), sehingga bidang sentuh yang dimiliki rosela tea bag lebih besar dan menghasilkan kadar antosianin yang lebih tinggi.

Pada suhu saat dididihkan dapat dilihat mengalami penurunan absorbansi yang sangat signifikan, Berdasarkan penelitian Amperawati (2019) mengatakan bahwa suhu merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kestabilan antosianin, berdasarkan data diatas memperlihatkan bahwa dalam penelitian ini, kandungan antosianin menurun seiring dengan peningkatan suhu. Suhu selama pemrosesan dan penyimpanan dapat merusak pigmen antosianin walaupun degradasinya tidak terlalu terpengaruh oleh O₂ tetapi sangat dipengaruhi oleh akumulasi panas. Pembukaan cincin dapat degradasi antosianin menjadi faktor utama yang menyebabkan perubahan warna pada suhu tinggi (He, 2015).



Grafik VI.4 Perbedaan Kadar Antosianin Total pada Berbagai Suhu Sampel Rosela

Berdasarkan grafik diatas menunjukkan bahwa terjadi kenaikan nilai absorbansi sampai suhu 80 °C peningkatan suhu dapat meningkatkan kadar antosianin total yang terekstraksi. Terjadi penurunan nilai absorbansi pada saat dididihkan, hal tersebut sesuai dengan teori yang ada. Suhu mempengaruhi kestabilan antosianin, suhu yang panas dapat menyebabkan kerusakan struktur antosianin (Harborne,1987) Data tersebut merupakan kadar antosianin total dimana nilai $\bar{x}$ rata-rata $\pm$ nilai sd, data tersebut sebagai faktor koreksi. Peningkatan suhu pada proses maserasi mempengaruhi nilai $\bar{x}$ rata-rata pada data diatas. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jenis sediaan dan peningkatan suhu berpengaruh terhadap kandungan total antosianin hasil maserasi.