

Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Kadar Antosianin Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Yeni Nurhayati *, Kiki Mulkiya Yuliawati, Livia Syafnir

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

yeninrh123@gmail.com, qqmulkiya@gmail.com, livia.syafnir@gmail.com

Abstract. The use of antioxidants is increasingly important as cases of degenerative diseases increase. Antioxidants function to stop free radical chain reactions, preventing oxidative damage. This study aims to determine the antioxidant activity and anthocyanin levels of roselle flower extract (*Hibiscus sabdariffa* L.) obtained through the maceration method. Extraction was carried out with a solvent and the addition of tartaric acid to pH 1–2. Anthocyanin levels were determined using the pH difference method using pH 1.0 buffer and pH 4.5 buffer with UV-Vis spectrophotometry. Antioxidant activity testing was carried out using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) method with vitamin C as a comparison. The test results showed an average IC_{50} value of $83.594 \text{ ppm} \pm 1.120$, which indicates a strong potential for antioxidant activity. The results of the determination of anthocyanin levels obtained were an average of $42.14 \text{ mg/L} \pm 0.141$.

Keywords: *Roselle flowers, Antioxidants, Anthocyanins*

Abstrak. Penggunaan antioksidan semakin penting seiring meningkatnya kasus penyakit degeneratif. Antioksidan berfungsi menghentikan reaksi berantai radikal bebas, mencegah kerusakan oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan kadar antosianin dari ekstrak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang diperoleh melalui metode maserasi. Ekstraksi dilakukan dengan pelarut serta penambahan asam tartrat hingga pH 1–2. Kadar antosianin ditentukan menggunakan metode perbedaan pH menggunakan buffer pH 1,0 dan buffer pH 4,5 dengan spektrofotometri UV-Vis. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazil) dengan vitamin C sebagai pembanding. Hasil pengujian menunjukkan nilai IC_{50} rata – rata $83,594 \text{ ppm} \pm 1,120$, yang menunjukkan potensi aktivitas antioksidan yang kuat. Hasil penentuan kadar antosianin yang diperoleh rata-rata $42,14 \text{ mg/L} \pm 0,141$.

Kata Kunci: Bunga rosela, Antioksidan, Antosianin

A. Pendahuluan

Radikal bebas merupakan molekul tidak stabil dengan satu atau lebih elektron tidak berpasangan yang sangat reaktif. Keberadaan radikal bebas dalam tubuh dapat memicu stres oksidatif, yaitu ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan kemampuan sistem antioksidan tubuh untuk menetralkannya. Kondisi ini diketahui berkontribusi terhadap berbagai penyakit degeneratif, seperti kanker, aterosklerosis, dan penuaan dini (Putu & Satriyani, 2021). Salah satu strategi pencegahan kerusakan akibat radikal bebas adalah dengan mengonsumsi senyawa antioksidan. Antioksidan bekerja dengan menghambat reaksi berantai radikal bebas dan mencegah kerusakan oksidatif pada sel dan jaringan tubuh (Rodiattullah *et al.*, 2023).

Pengujian aktivitas antioksidan menjadi penting untuk mengetahui potensi senyawa alami dalam menangkalkan radikal bebas. Salah satu metode yang umum digunakan adalah metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil), yang mengukur kemampuan senyawa dalam mereduksi radikal bebas secara *in vitro* berdasarkan perubahan warna larutan (Mohamed *et al.*, 2016). Antioksidan dapat diperoleh secara sintetik maupun alami. Meskipun antioksidan sintetik seperti BHA (*Butylated Hydroxyanisole*) dan BHT (*Butylated Hydroxytoluene*) efektif, penggunaannya dalam jangka panjang dikhawatirkan dapat menimbulkan efek toksik terhadap organ seperti hati dan paru-paru (Panagan, 2011). Oleh karena itu, antioksidan alami dari bahan tumbuhan menjadi alternatif yang lebih aman.

Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami adalah bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.), yang kaya akan senyawa bioaktif seperti polifenol dan antosianin (Sapian *et al.*, 2023). Antosianin adalah pigmen flavonoid larut air yang memberikan warna merah hingga ungu pada tanaman. Senyawa ini berperan sebagai antioksidan alami yang dapat menangkalkan radikal bebas, mendukung fungsi endotel, dan mengurangi inflamasi (Prenesti *et al.*, 2007).

Kandungan antosianin dalam tanaman dapat dipengaruhi oleh metode ekstraksi yang digunakan. Metode maserasi merupakan teknik ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan merendam sampel dalam pelarut selama waktu tertentu tanpa pemanasan, sehingga cocok untuk senyawa yang tidak stabil terhadap panas seperti antosianin (Indrayani, 2016).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan kadar antosianin dari ekstrak bunga rosela yang diperoleh menggunakan metode maserasi. Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai efektivitas metode maserasi dalam mengekstraksi senyawa bioaktif dari bahan alam, serta mendukung pengembangan sumber antioksidan alami yang aman dan potensial untuk digunakan dalam bidang kesehatan dan pangan (Shelsa Berliana Yudita & Ratu Choersina, 2022).

B. Metode

Bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) diperoleh dari Bumi Herbal Dago, Kabupaten Bandung, Jawa Barat, dan telah melalui proses determinasi di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung (ITB).

Proses pembuatan simplisia meliputi sortasi basah, pencucian, perajangan, sortasi kering, pengeringan pada suhu 45°C, dan penghalusan. Ekstraksi simplisia bunga rosela dilakukan dengan metode maserasi dengan cara merendam 500 gram simplisia dalam campuran pelarut etanol 96% dan aquadest (1:1) yang pH nya telah disesuaikan menjadi pH 2 menggunakan larutan asam tartrat. Proses maserasi dilakukan selama 6 jam dalam wadah tertutup pada suhu ruang, kemudian disaring dan diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak kental.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH dengan vitamin C sebagai pembanding. Larutan stok vitamin C dibuat dari larutan stok 100 ppm, kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm menggunakan metanol p.a. Sedangkan larutan uji dari ekstrak bunga rosela dibuat dari konsentrasi 1000 ppm, dan diencerkan menjadi konsentrasi 10, 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm dengan pelarut metanol p.a. Prosedur pengujian dilakukan dengan mereaksikan 2 mL larutan stok dan larutan uji dengan 4 mL larutan DPPH 60 ppm, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada kondisi gelap. Pengujian sampel diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang DPPH (Douw & Wardani, 2023).

Aktivitas penghambatan radikal bebas oleh ekstrak bunga rosela dan vitamin C sebagai pembanding diperoleh dari data absorbansi hasil pengujian menggunakan spektrofotometer UV-Visible, dan dihitung menggunakan rumus (Mailandari, 2012):

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

Kemudian, dilakukan perhitungan nilai IC₅₀ berdasarkan persamaan regresi linear dengan rumus (Mailandari, 2012):

$$\text{IC}_{50} = \frac{50-a}{b}$$

Sebelum dilakukan pengujian kadar antosianin, dibuat fraksi dari ekstrak maserasi dengan melarutkan 20 gram ekstrak dalam pelarut HCl 1% dalam metanol, kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1. Filtrat yang diperoleh dipartisi dalam corong pisah menggunakan dietil eter untuk memisahkan komponen non-antosianin (Ferreira Ozela *et al.*, 2007). Dilakukan penambahan aquadest untuk meningkatkan kepolaran larutan dan efisiensi pemisahan, dengan rasio volume filtrat, dietil eter, dan akuades sebesar 1:2:1. Lapisan bawah berwarna merah ditampung dan diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 35°C untuk memperoleh ekstrak pekat (Lestario *et al.*, 2011). Identifikasi keberadaan antosianin dilakukan secara kualitatif menggunakan HCl 2 M yang menghasilkan warna merah tetap setelah pemanasan, serta NaOH 2 M yang menunjukkan perubahan warna merah menjadi hijau-biru hingga memudar (Trinovani Elvi *et al.*, 2022).

Penetapan kadar antosianin dilakukan dengan melarutkan 250 mg fraksi bunga rosela dalam 50 mL aquadest untuk memperoleh larutan dengan konsentrasi 5000 ppm. Larutan ini kemudian dicampurkan masing-masing dengan larutan buffer pH 1 dan pH 4,5 menggunakan perbandingan volume 1:5 (v/v), diaduk merata, dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang (Zahra *et al.*, n.d.). Setelah inkubasi, absorbansi masing-masing larutan diukur pada panjang gelombang maksimum dan 700 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Lee *et al.*, 2005).

Nilai absorbansi dihitung menggunakan rumus :

$$A = [(A_{\lambda_{\text{maks}}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{\lambda_{\text{maks}}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5}]$$

Kemudian, dihitung kandungan total antosianin (mg/L) dengan rumus (Lee *et al.*, 2005) :

$$\frac{A \times BM \times DF \times 1000}{\epsilon \times l}$$

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pembuatan Ekstrak Bunga Rosela

Simplisia bunga rosela diekstraksi menggunakan metode maserasi selama 6 jam dengan campuran pelarut etanol 96%:aquadest (1:1) yang pH nya telah disesuaikan menjadi pH 2 menggunakan larutan asam tartrat. Pengadukan dilakukan selama satu jam pertama untuk mempercepat difusi senyawa bioaktif dan mencegah tercapainya kesetimbangan konsentrasi antar sel (Alviola *et al.*, 2023). Penggunaan kombinasi etanol dan air terbukti menghasilkan kadar antosianin dan aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan pelarut tunggal, karena keduanya bersifat polar dan mampu menembus serta memecah membran sel bunga rosela, sehingga meningkatkan perolehan senyawa aktif (Boeing *et al.*, 2014; Zhang & Jing, 2020). Penambahan asam tartrat bertujuan menjaga kestabilan antosianin, terutama pada pH 1, di mana antosianin berada dalam bentuk *flavylium* yang stabil dan berwarna merah cerah (Hunaefi *et al.*, 2013). Stabilitas ini penting untuk mempertahankan aktivitas antioksidan, karena bentuk *flavylium* diketahui lebih aktif dibandingkan bentuk kuinoidal dan kalkon yang terbentuk pada pH lebih tinggi (Wahyuningsih *et al.*, 2016; Tien Le *et al.*, 2019).

Pengujian Aktivitas Antioksidan Bunga Rosela

Pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak maserasi bunga rosela dilakukan menggunakan metode DPPH. Metode ini stabil dan efisien dalam menilai kemampuan senyawa bahan alam dalam menangkal radikal bebas. Reaksi antara DPPH dan senyawa antioksidan terjadi melalui mekanisme donor atom hidrogen atau elektron, yang ditandai dengan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning (Falah, 2016). Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration* 50) yaitu konsentrasi yang mampu menghambat 50% aktivitas radikal bebas. Semakin rendah nilai IC₅₀, maka potensi aktivitas antioksidan semakin tinggi. IC₅₀ dapat diperoleh dari persamaan regresi linier antara konsentrasi dan %inhibisi diplotkan sebagai fungsi dari x dan y (Shafirany M *et al.*, 2021). Hasil nilai IC₅₀ dari vitamin C dan ekstrak bunga rosela dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil perhitungan IC_{50} vitamin C dan ekstrak bunga rosela

Sampel	IC_{50} (ppm)			Rata-rata (ppm)
	1	2	3	
Vitamin C	7,575	7,789	7,760	7,708 $\pm$ 0,095
Ekstrak Maserasi	84,086	84,652	82,044	83,594 $\pm$ 1,120

Tabel 2. Kategori nilai IC_{50} (Molyneux, 2004)

No	Kategori	Konsentrasi (ppm)
1	Sangat kuat	< 50
2	Kuat	50 - 100
3	Sedang	101 - 150
4	Lemah	151 - 200
5	Sangat lemah	> 200

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak maserasi bunga rosela memiliki nilai IC_{50} rata-rata sebesar 83,594 $\pm$ 1,120 ppm, yang tergolong dalam kategori aktivitas antioksidan kuat menurut klasifikasi Molyneux (2004) (**Tabel 2**). Nilai IC_{50} yang relatif rendah ini menunjukkan bahwa ekstrak mampu meredam 50% radikal bebas DPPH pada konsentrasi rendah. Selain itu, nilai standar deviasi yang kecil mengindikasikan bahwa hasil yang diperoleh bersifat konsisten dan memiliki variabilitas data yang rendah (Filzah *et al.*, 2024).

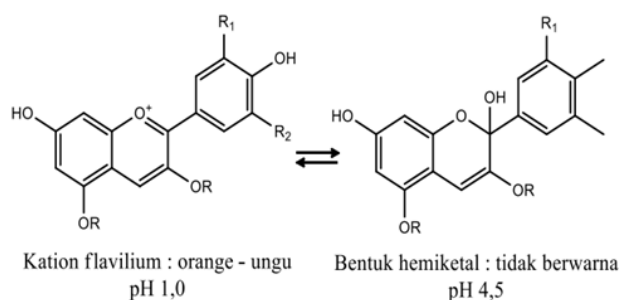
Hasil ini juga sejalan dengan penelitian sebelumnya, yaitu Inggrid *et al* (2018) melaporkan bahwa maserasi bunga rosela dengan pelarut etanol-air (50:50) selama 3 $\times$ 24 jam menghasilkan IC_{50} sebesar 67,3 ppm yang termasuk kategori antioksidan kuat (Molyneux, 2004). Sementara itu, Rodiatullah *et al* (2023) melaporkan bahwa ekstraksi menggunakan etanol 96% selama 5 $\times$ 24 jam menghasilkan nilai IC_{50} lebih rendah, yaitu 45,67 ppm, yang termasuk kategori antioksidan sangat kuat (<50 ppm) (Molyneux, 2004). Perbedaan ini menunjukkan bahwa lama waktu ekstraksi, jenis pelarut, dan kondisi ekstraksi sangat mempengaruhi efektivitas senyawa antioksidan yang terekstrak.

Kemampuan antioksidan dari ekstrak bunga rosela sangat dipengaruhi oleh kandungan senyawa bioaktif di dalamnya, seperti antosianin, flavonoid, dan polifenol. Antosianin merupakan pigmen alami yang mampu menetralkan radikal bebas melalui mekanisme donasi elektron, selain berperan sebagai pewarna alami. Flavonoid dan polifenol juga berkontribusi besar terhadap aktivitas antioksidan melalui mekanisme serupa (Rodiatullah *et al.*, 2023). Stabilitas senyawa bioaktif dalam ekstrak juga dipertahankan melalui penggunaan pelarut etanol:aquadest (1:1) dengan penyesuaian pH menjadi pH 2 menggunakan larutan asam tartrat. Lingkungan asam ini memungkinkan antosianin tetap berada dalam bentuk *flavylium*, yaitu bentuk paling stabil dan aktif dalam menjalankan fungsi antioksidan (Hunaefi *et al.*, 2013; Wahyuningsih *et al.*, 2016).

Vitamin C digunakan sebagai pembanding atau kontrol positif karena vitamin C ini merupakan antioksidan alami murni yang sangat efektif dalam menangkalkan radikal bebas. Vitamin C memiliki empat gugus hidroksi bebas yang berperan dalam aktivitas antioksidan, serta gugus polihidroksi yang memperkuat kemampuannya dalam mendonorkan elektron kepada radikal bebas (Melinda *et al.*, 2024). Berdasarkan data yang diperoleh, vitamin C menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 7,708 $\pm$ 0,095 ppm, yang termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan sangat kuat (<50 ppm) (Molyneux, 2004).

Penetapan Kadar Antosianin Ekstrak Bunga Rosela

Penetapan kadar total antosianin dilakukan dengan metode pH diferensial yang didasarkan pada perubahan struktur kimia antosianin akibat perbedaan pH, yaitu pada pH 1,0 antosianin berada dalam bentuk kation *flavylium* berwarna, sedangkan pada pH 4,5 berubah menjadi bentuk hemiketal yang tidak berwarna (Almajid *et al.*, 2021). Perbedaan warna ini menyebabkan perbedaan nilai absorbansi yang diukur, dan selisihnya digunakan untuk menghitung kadar antosianin berdasarkan Hukum Lambert-Beer. Metode ini telah diakui secara resmi oleh *AOAC International* sebagai standar untuk penetapan total antosianin monomerik (Giusti & Wrolstad, 2005; Lee *et al.*, 2005).



Gambar 1. Perbedaan struktur antosianin akibat perubahan pH 1,0 dan 4,5 (Wahyuningsih *et al.*, 2016).

Sebelum dilakukan penetapan kadar antosianin, ekstrak bunga rosela dipisahkan untuk memperoleh fraksi antosianin yang lebih murni dengan menghilangkan senyawa pengganggu (Fitri Mellyna Cantika & Sani Ega Priani, 2023). Pemisahan dilakukan dengan melarutkan ekstrak kental ke dalam pelarut metanol yang diasamkan menggunakan HCl 1%, bertujuan untuk melarutkan senyawa polar seperti flavonoid, fenolat, dan terutama antosianin, serta menjaga stabilitas antosianin selama proses pelarutan (Lestari Pratiwi *et al.*, 2014). Proses fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut dietil eter dan aquadest dengan perbandingan 1:1 dalam corong pisah. Penambahan dietil eter bertujuan untuk memisahkan komponen non antosianin (Ferreira Ozela *et al.*, 2007). Sementara penambahan aquadest bertujuan untuk meningkatkan kepolaran pelarut, sehingga meningkatkan efisiensi ekstraksi antosianin yang bersifat polar (Lestario *et al.*, 2011).

Identifikasi keberadaan antosianin dilakukan secara kualitatif yaitu dengan uji reaksi warna yang bertujuan untuk memastikan bahwa fraksi bunga rosela yang diperoleh mengandung senyawa antosianin. Uji identifikasi antosianin dilakukan menggunakan larutan HCl 2M (asam) dan NaOH 2M (basa). Antosianin menunjukkan warna merah setelah dipanaskan dengan HCl 2M, dan berubah menjadi hijau kebiruan serta memudar perlahan setelah ditetesi NaOH 2M (Harborne, 1996).

Fraksi yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan metode pH diferensial dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimum 514 nm dan 700 nm sebagai koreksi terhadap kemungkinan adanya endapan (Lee *et al.*, 2005). Menurut Suzery *et al.* (2010), apabila sampel jernih, maka absorbansi pada 700 nm mendekati nol. Nilai absorbansi yang lebih tinggi menunjukkan konsentrasi antosianin yang lebih besar, karena nilai absorbansi berbanding lurus dengan jumlah senyawa dalam sampel berdasarkan prinsip Hukum Lambert-Beer. Hasil penetapan kadar antosianin bunga rosela dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar antosianin ekstrak bunga rosela

Replikasi	Absorbansi (514 nm) pH 1	Absorbansi (700 nm) pH 1	Absorbansi (514 nm) pH 4,5	Absorbansi (700 nm) pH 4,5	Absorbansi sampel	Kadar antosianin (mg/L)	Rata- rata ± SD
1	0,813	0,039	0,268	0,001	0,507	42,332	42,14
2	0,810	0,039	0,269	0,002	0,504	42,081	±
3	0,813	0,039	0,272	0,001	0,503	41,998	0,141

Berdasarkan hasil pengujian, diperoleh kadar total antosianin ekstrak bunga rosela rata-rata sebesar 42,14 ± 0,141 mg/L. Nilai ini menunjukkan bahwa metode maserasi cukup efektif dalam mengekstraksi senyawa antosianin dari bunga rosela, hal tersebut ditunjukkan oleh tingginya kadar antosianin yang dihasilkan, serta proses ekstraksi yang dilakukan tanpa pemanasan sehingga mampu menjaga kestabilan senyawa antosianin yang tidak stabil terhadap panas. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Inggrid *et al.* (2018) didapatkan kadar antosianin bunga rosela yang diekstraksi dengan metode maserasi pada suhu evaporasi 45°C, dengan campuran pelarut etanol 96% : air (1:1) selama 3 × 24 jam yaitu sebesar 88,9 mg/L. Perbedaan kadar antosianin ini dapat disebabkan oleh adanya

tahapan fraksinasi dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair (ECC) dalam penelitian ini, serta waktu ekstraksi maserasi yang relatif singkat yaitu selama 6 jam, sehingga dapat mempengaruhi jumlah senyawa antosianin yang terekstraksi. Metode ECC ini bertujuan untuk memisahkan dan memurnikan senyawa, namun pada prosesnya melibatkan kondisi yang memungkinkan terjadinya paparan terhadap oksigen, perubahan pH, dan suhu, sehingga dapat mempercepat terjadinya degradasi dan menyebabkan penurunan kadar antosianin. Penurunan kadar antosianin akibat proses fraksinasi juga dilaporkan oleh Anggista M *et al* (2016), dimana kadar antosianin hasil fraksinasi menggunakan kromatografi kolom dengan fase gerak methanol:air (1:1) hanya mencapai 40,29 mg/L.

Pada penelitian Almajid *et al* (2021) melaporkan bahwa terdapat penurunan absorbansi signifikan pada suhu 50°C, hal ini menunjukkan bahwa antosianin kurang stabil pada suhu tinggi. Antosianin ini lebih stabil pada pH rendah (pH 1-3) dengan penurunan absorbansi yang tidak terlalu signifikan, namun antosianin menjadi tidak stabil pada pH diatas 4, yang ditandai dengan penurunan absorbansi yang sangat signifikan. Menurut Markakis (1982), antosianin dapat terdekomposisi dari bentuk aglikon menjadi bentuk kalkon tidak berwarna. Selain pH dan suhu, antosianin juga rentan terhadap cahaya, antosianin diketahui memiliki stabilitas yang lebih baik apabila disimpan pada suhu antara 4-25°C dalam kondisi yang minim cahaya, hal ini merupakan faktor penting yang mempengaruhi stabilitas dan kandungan antosianin selama proses ekstraksi (Vargas M. L *et al.*, 2015).

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, bunga rosela yang diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 96%:aquadest (1:1), serta penambahan larutan asam tartrat hingga mencapai pH 2, menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀ rata-rata sebesar 83,594 ± 1,120 ppm. Selain itu, kadar total antosianin dari fraksi ekstrak maserasi diperoleh sebesar 42,14 ± 0,141 mg/L. Hal ini menunjukkan bahwa metode maserasi efektif dalam mengekstraksi senyawa bioaktif dari bunga rosela, sehingga memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami.

Ucapan Terimakasih

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing atas segala arahan, bimbingan, serta motivasi yang diberikan secara konsisten selama proses penyusunan dan pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada para dosen serta laboran di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Islam Bandung atas bantuan, izin, dan dukungan yang telah diberikan sehingga pelaksanaan penelitian dapat berjalan dengan lancar.

Daftar Pustaka

- Putu, D., & Satriyani, P. (2021). *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera Lam.)* (Vol. 4, Issue 1).
- Rodiatullah, Roshandy Asri Fardani, Idham Halid, & Bustanul Atfal. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Rosela (*Hibiscus Sabdariffa*) Menggunakan Metode 1,1-difenil-2- pikrilhidrazyl (DPPH). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Rosela (Hibiscus Sabdariffa) Menggunakan Metode 1,1-Difenil-2- Pikrilhidrazyl (DPPH)*, 1(4).
- Mohamed, R. K., Gibriel, A. Y., Rasmy, N. M. H., & Abu-Salem, F. M. (2016). *Extraction of Anthocyanin Pigments from Hibiscus sabdariffa L. and Evaluation of their Antioxidant Activity*.
- Panagan AT. (2011). Pengaruh Penambahan Tepung Wortel (*Daucus carota L.*) terhadap Bilangan Peroksida dan Asam Lemak Bebas pada Minyak Goreng Curah. *Jurnal Penelitian Sains*
- Sapian, S., Ibrahim Mze, A. A., Jubaidi, F. F., Mohd Nor, N. A., Taib, I. S., Abd Hamid, Z., Zainalabidin, S., Mohamad Anuar, N. N., Katas, H., Latip, J., Jalil, J., Abu Bakar, N. F., & Budin, S. B. (2023). Therapeutic Potential of *Hibiscus sabdariffa* Linn. in Attenuating Cardiovascular Risk Factors. *Pharmaceuticals*, 16(6), 807. <https://doi.org/10.3390/ph16060807>
- Prenesti, E., Berto, S., Daniele, P. G., & Toso, S. (2007). Antioxidant Power Quantification of Decoction and Cold Infusions of *Hibiscus Sabdariffa* Flowers. *Food Chemistry*.

- Indrayani, Y., & Sirait, S. M. (2016). The Level of Tannin Areca Nut Seed (*Areca Catechu* L) Based on The Heating Length and Dust Size (Vol. 4, Issue 1).
- Douw, D., & Wardani, T. S. (2023). Uji Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Dan Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.) Metode DPPH Dan FRAP. 12(1), 93–104. *Jurnal Penelitian*.
- Ferreira Ozela, E., Stringheta, P. C., & Cano Chauca, M. (2007). *Stability Of Anthocyanin In Spinach Vine (Basella Rubra) Fruits*. *Ciencia e Investigación Agraria*, 16202007000200004 34(2).
- Trinovani Elvi, Kusmiyati M, Sudaryat Y, Rhamadiano M.I., (2022). Penetapan Kadar Antosianin Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air, Methanol, Etanol 70% Tape Ketan Hitam. *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*.
- Mailandari. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Garcinia kydia* Roxb. Dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Kimia Fraksi Yang aktif. *Jurnal Penelitian*. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Ekstensi Farmasi Universitas Indonesia.
- Tutik, T., Putri, G. A. R., & Lisnawati, L. (2022). Perbandingan Metode Maserasi, Perkolasi Dan Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.). *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 9(3). <https://doi.org/10.33024/jikk.v9i3.5634>
- Zuraida, Z., Sulistiyani, S., Sajuthi, D., & Suparto, I. H. (2017). Fenol, Flavonoid, Dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* R. Br). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 35(3), 211–219. <https://doi.org/10.20886/jphh.2017.35.3.211-219>
- Askar, K. A., Alsawad, Z. H., & Khalaf, M. N. (2015). Evaluation Of the pH and Thermal Stabilities Of Rosela Anthocyanin Extracts Under Solar Light. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(3), 262–268. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2015.06.001>
- Inggrid, M., Hartanto, Y., & Widjaja, J. F. (2018). Karakteristik Antioksidan pada Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.). *Jurnal Rekayasa Hijau*, 2(3). <https://doi.org/10.26760/jrh.v2i3.2517>
- Alviola, A. B., Amin, A., Mun'im, A., & Radji, M. (2023). Rasio Nilai Rendamen dan Lama Ekstraksi Maserat Etanol Daging Buah Burahol (*Stelecocharpus burahol*) Berdasarkan Cara Preparasi Simplisia. *Makassar Natural Product Journal*, 1(3), 176–184. <https://journal.farmasi.umi.ac.id/index.php/mnpj>
- Boeing, J. S. *et al.*, (2014). Evaluation Of Solvent Effect On The Extraction Of Phenolic Compounds And Antioxidant Capacities From The Berries: Application Of Principal Component Analysis. *Chemistry Central Journal*, pp. 1-9.
- Zhang, N. dan Jing, P. (2020) ‘Anthocyanins in Brassicaceae: composition, stability, bioavailability, and potential health benefits’, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. doi: 10.1080/10408398.2020.1852170.
- Hunaefi, D., Akumo, D. N., Smetanska. I. (2013). Effect of Fermentation on Antioxidant Properties of Red Cabbages. *Journal of Food Technology*. Vol. 11. No.27. 66-85.
- Wahyuningsih, S., Yunita, I., Sundari, U. Y., Pagalla, D. B., Kalalinggi, S. Y., Alpian, D., Nurmalasari, E., Suryandani, H., Ramlah, & Nasrullah, M. (2024). *Ekstraksi bahan alam*. CV. Gita Lentera Redaksi.
- Tien Le, X., Huyn, N. T., Phan, T. N., Than, V. T., Toan, T. Q., Bach, L. G., Trung, N. Q. 2019. Optimization of Total Anthocyanin Content, Stability and Antioxidant Evaluation of the Anthocyanin Extract from Vietnamese *Carissa carandas* L. Fruits. *Journal of MDPL*. Vol 7. No 468.
- Falah, S. (2016). Ketinggian Tempat Antioxidant Activities of Gmb 7 Variety of Tea at Different Altitude. Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Departemen. 3, 53–60.
- Shafirany M. Z, Indawati I, Singgih I. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Asal Daerah Sukabumi Provinsi Jawa Barat. *Medical Sains. Cirebon : Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah*
- Molyneux, P. (2004). The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. 26, 211-219.
- Melinda Reni, Daulay A.S, Ridwanto, Nasution M.A. (2024). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*. Medan : Fakultas MIPA.

- Almajid, G. A. A., Rusli, R., & Priastomo, M. (2021). Pengaruh Pelarut, Suhu, dan pH Terhadap Pigmen Antosianin dari Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrrhizus*). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 14, 179–185.
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00 (1).
- Lee, Jungmin. (2005). Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal Of AOAC International*. Vol 88, No.5. Oregon State University, Department of Food Science and Technology
- Harborne, J. B. (1996). *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB.
- Vargas, M.L., Cortez, J.A.T., Duch, E.S., Lizama1, A.P. dan Méndez, C.H.H. 2013. Extraction and Stability of Anthocyanins Present in the Skin of the Dragon Fruit (*Hylocereus undatus*). *Food and Nutrition Sciences*, Volume 4. 1221 1228.
- Fitri Mellyna Cantika, & Sani Ega Priani, S. E. P. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Inhibitor Tirosinase Ekstrak Etanol Daun Teh Hijau. *Jurnal Riset Farmasi*, 113–120.
<https://doi.org/10.29313/jrf.v3i2.3262>
- Shelsa Berliana Yudita, & Ratu Choesrina. (2022). Studi Literatur Aktivitas Antidiabetes pada Tiga Tanaman Suku Asteraceae Secara In Vivo. *Jurnal Riset Farmasi*, 133–138.
<https://doi.org/10.29313/jrf.v2i2.1479>
- Zahra, A. S., Maulana, I. T., & Syafnir, L. (n.d.). *Penelusuran Pustaka Potensi Tanaman Magnoliopsida Peningkat Kadar Trombosit dalam Darah di Indonesia*.
<https://journals.sangkuriangpublisher.com/pharmacomedic>