

OPTIMASI EKSTRAKSI SENYAWA FENOLIK DARI KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*) BERBANTU GELOMBANG MIKRO

Optimization Phenolic Microwave Extraction of Roselle Calyx (Hibiscus Sabdariffa)

Ali Maksum* dan Ike Sitoresmi Mulyo Purbowati

Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman

Jl. Dr. Soeparno, Purwokerto Utara

*Alamat Korespondensi: alimaksum40@gmail.com

ABSTRAK

Kelopak bunga rosella adalah sumber senyawa fenolik yang baik. Dalam penelitian ini ekstraksi dibantu gelombang mikro digunakan untuk mengekstrak senyawa fenolik dari kelopak bunga Rosella. Dengan menggunakan metode respon permukaan, efek daya gelombang mikro, konsentrasi etanol, dan waktu ekstraksi pada hasil total fenol yang diselidiki dan kondisi optimal ditentukan sebagai berikut: daya gelombang mikro 250 W, konsentrasi etanol 78,36% dan waktu ekstraksi 4,91 menit. Nilai perkiraan untuk total hasil fenol, 24,61 mg/g diperoleh pada kondisi tersebut. Percobaan verifikasi pada kondisi optimum, terdiri dari 4 putaran, dilakukan dan hasil praktis 23,77 ± 0,25 mg/g jumlah fenol lebih tinggi dari pada metode konvensional 19,84 ± 0,46 mg/g. Dibandingkan dengan metode konvensional, antosianin, vitamin C dan hasil ekstraksi dibantu gelombang mikro adalah 14,80 ± 0,08, 10,74 ± 0,14 mg/g dan 22,09 ± 3,3% yang lebih tinggi dan berbeda secara signifikan dalam tingkat kepercayaan 95% dari pada ekstraksi konvensional, yaitu 9,25 ± 0,04, 9,99 ± 0,16 mg/g dan 16,18 ± 1,9%. Aktivitas antibakteri yang dinyatakan dengan nilai zona hambat adalah 12,6 ± 0,6 mm pada *E. coli* dan 11,6 ± 0,3 mm terhadap *S. aureus*. Nilai IC₅₀ ekstrak adalah 202,47 µL/mL. Dibandingkan dengan metode konvensional, zona hambatan 10,2 ± 0,4 mm pada *E. coli* dan 9,8 ± 0,6 mm pada *S. aureus*. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC₅₀ 293,09 µL/mL

Kata kunci: kelopak bunga Rosella, ekstraksi berbantu gelombang mikro, fenol

ABSTRACT

*Roselle calyx is an excellent source of phenolic compounds. In this study, microwave-assisted extraction was applied to extract the phenolic compounds from Roselle calyx. By using response surface methodology, the effects of microwave output power, ethanol concentration, and extraction time on total phenolic yield were investigated and the optimal conditions were determined as follows: microwave output power 250 W, ethanol concentration 78.36% and extraction time 4.91 min. The estimated values for total phenols yield, 24.61 mg/g was obtained at those conditions. A verification experiment at the optimum condition, consisting of 4 runs, was performed and the practical yield 23.77 ± 0.25 mg/g total phenols higher than using conventional method 19.84 ± 0.46 mg/g was obtained. Compared with conventional method, anthocyanin, vitamin C and yield of microwave assisted extraction were 14.80 ± 0.08, 10.74 ± 0.14 mg/g and 22.09 ± 3.3 % which were higher and significantly different within 95% confidence level than conventional extraction, which were 9.25 ± 0.04, 9.99 ± 0.16 mg/g and 16.18 ± 1.9%, respectively. Antibacterial activity expressed with inhibitory zone value was 12.6 ± 0.6 mm against *E. coli* and 11.6 ± 0.3 mm against *S. aureus*. IC₅₀ value of the extract was 202.47 µL/mL. Compared with conventional method, with inhibitory zone of 10.2 ± 0.4 mm against *E. coli* and 9.8 ± 0.6 mm against *S. aureus*. Antioxidant activity expressed with IC₅₀ value of 293.09 µL/mL.*

Key words: roselle calyx, extraction, microwave, phenols

PENDAHULUAN

Kelopak bunga rosella adalah bagian tanaman yang mengandung senyawa bioaktif. Menurut Purbowati (2014) menyatakan bahwa kelopak bunga rosella mengandung total *phenol*, antosianin,

vitamin C kelopak bunga rosella berturut turut sebagai berikut 19,45 ± 0,32; 13,51 ± 0,03; 20,47 ± 0,34 mg/g pada metode ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%. *Anthocyanin* adalah sumber aktivitas antioksidan utama yang berasal dari

kelopak bunga rosella (Tsai *et al.*, 2002). Pemilihan pelarut merupakan hal yang fundamental guna mencapai proses ekstraksi yang optimal. Kesesuaian polaritas antara pelarut dan komponen bioaktif dalam sel tanaman adalah kunci keberhasilan proses ekstraksi. Dasar pemilihan pelarut pada proses ekstraksi gelombang mikro adalah kelarutan senyawa target proses ekstraksi, interaksi antara pelarut dengan matriks bahan serta sifat atau kemampuan pelarut dalam menyerap energi gelombang mikro.

Pelarut etanol dan air sudah lama digunakan sebagai pelarut dalam industri pangan karena memiliki stabilitas yang tinggi dibandingkan pelarut lain. Etanol 70% dari hasil penelitian terdahulu (Purbowati, 2014) terbukti mampu mengekstraksi senyawa bioaktif rosella lebih banyak dibandingkan etil asetat dan heksan, yaitu dengan rendemen $19,45 \pm 0,32$ mg/g. Hal ini dikarenakan polaritas senyawa bioaktif rosella, sebagai hasil metabolit sekunder, sesuai dengan polaritas etanol 70%. Meskipun demikian penggunaan pelarut etanol untuk bahan yang akan digunakan dalam produk pangan masih menimbulkan pro dan kontra. Di sisi lain, air merupakan pelarut yang banyak digunakan dalam produk pangan. Hal ini dikarenakan air memiliki kelebihan yaitu ketersediaan yang cukup melimpah, aman

bagi lingkungan, dan harga yang relatif murah.

Teknik konvensional seperti pemanasan, perebusan, *reflux* dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa *phenolic*. Kelemahan teknik konvensional ini yaitu waktu ekstraksi yang lama, penanganan dan biaya bahan pelarut yang tinggi. Oleh karena itu, metode lain seperti *Supercritical Carbondioxide Extraction*, *Subcritical Water Extraction*, *Ultrasonic Assisted Extraction* and *Microwave Assisted Extraction* (MAE) menjadi alternatif yang lebih menarik dibandingkan metode konvensional. Diantara metode tersebut, MAE adalah metode yang sederhana dan ekonomis untuk mengekstraksi senyawa-senyawa bioaktif dari tanaman. Rekoveri produk dengan menggunakan MAE ditentukan oleh efek pemanasan yang terjadi karena rotasi dipole dari pelarut dalam *microwave* (Zhang *et al.*, 2005; Hemwimon *et al.*, 2007). Belum ada laporan ekstraksi senyawa phenol dari kelopak bunga rosella berbantu gelombang mikro menggunakan pelarut air.

Keberhasilan teknik MAE, dipengaruhi beberapa faktor yang patut diduga saling berkaitan, yaitu daya gelombang mikro, jumlah bahan yang diekstrak dan waktu. Berdasarkan hal itu maka perlu dilakukan optimasi proses guna mendapatkan kondisi proses ekstraksi terbaik, sehingga tujuan dari proses

ekstraksi itu sendiri dapat dicapai, yaitu rendemen dan aktivitas bahan aktif ekstrak yang tinggi. *Response Surface Method* adalah model matematik dan statistik untuk menginvestigasi suatu masalah proses yang kompleks dimana respon yang diharapkan ditentukan oleh beberapa variabel dengan tujuan untuk maksimasi respon yang telah ditentukan (Montgomery, 2001).

Dalam penelitian ini, telah dikaji ekstraksi phenol dari kelopak bunga rosella berbantu gelombang mikro menggunakan *single factor experiments* untuk menentukan selang variabel yang diujikan dan *Central Composite design* untuk kombinasi variabel. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan kondisi optimasi ekstraksi phenol berbantu gelombang mikro dari kelopak bunga rosella dan karakterisasi ekstrak yang dihasilkan dari kondisi optimum.

METODE PENELITIAN

Bahan utama adalah kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa*), pelarut air, asam galat, larutan DPPH, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* didapat dari Fakultas Biologi Unsoed. Peralatan yang digunakan meliputi: *microwave* electrolux, *rotary evaprator*, timbangan, inkubator, spektrofotometer, mini SEM, autoklaf, peralatan gelas untuk analisis kimia.

Ekstraksi kelopak bunga rosella dilakukan dengan cara serbuk kelopak bunga rosella kering dengan ukuran 80 mesh, kemudian dimasukan pada *microwave* dan dilaksanakan ekstraksi pada berbagai berat bahan ekstraksi (10, 15, 20, 25, 30, dan 35 g), daya (100, 175, 250, 325 dan 400 Watt), dan waktu (1, 3, 5, 7, 9, 11 menit) secara mandiri. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan vakum evaporator 100°C, 40 cmHg dan dihembus N₂. Analisis total fenolik dilakukan menggunakan metode Chew *et al.* (2009).

Desain yang digunakan adalah non faktorial dengan enam ulangan. Data diuji menggunakan analisis ragam pada tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Jika terdapat perbedaan nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT. Persamaan rancangan percobaan

$$\mu_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

μ_{ij} = nilai respon karena perlakuan I pada blok j

μ = efek rata-rata umum

α_i = efek perlakuan i

β_j = efek blok j

ϵ_{ij} = efek kekeliruan acak

Ekstraksi kelopak bunga rosella dilakukan dengan cara serbuk kelopak bunga rosella kering dengan ukuran 80 mesh, kemudian dimasukan pada *microwave* dan dilaksanakan ekstraksi pada berbagai berat bahan ekstraksi, daya, dan

waktu. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan vakum evaporator 100°C, 40 mmHg, dihembus N₂. Analisis total fenolik dilakukan menggunakan metode Chew *et al.* (2009).

Hasil dianalisis dengan menggunakan *Response Surface Method*. Rancangan optimasi dilakukan dengan CCD (*Central Composite Design*) dan dianalisa menggunakan *Response Surface Method*. Persamaan dengan respon tunggal yang diharapkan (Y) adalah:

$$Y = \beta_0 + \beta_i x_i + \beta_{ii} x_i^2 + \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon$$

Keterangan:

β_0 = dari respon yang diharapkan tepat dititik pusat desain yang dikembangkan, yaitu titik (0, 0, 0).

β_i = konstanta linier model regresi.

β_{ii} = konstanta kuadrat model regresi.

β_{ij} = konstanta *cross-product* model regresi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

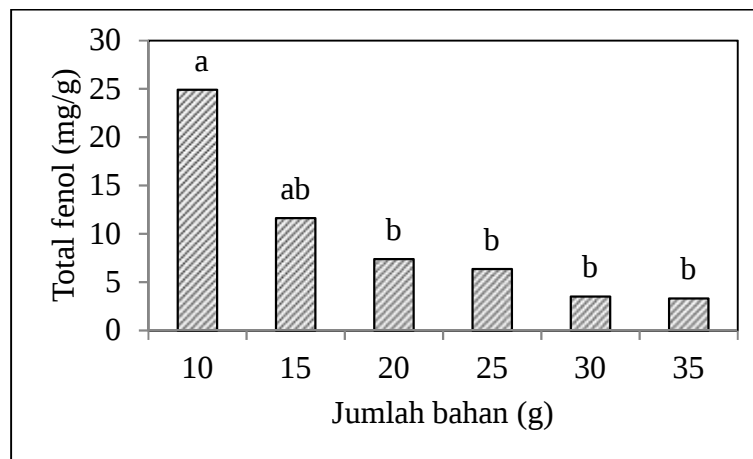
Pengaruh variasi jumlah bahan terhadap total fenol terekstrak

Faktor yang berpengaruh dalam MAE meliputi jumlah bahan, daya gelombang mikro dan waktu ekstraksi. Untuk menentukan selang pada masing-masing variabel terlebih dahulu ditentukan pengaruh dari tiap faktor dikaji secara mandiri (Wang *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2009).

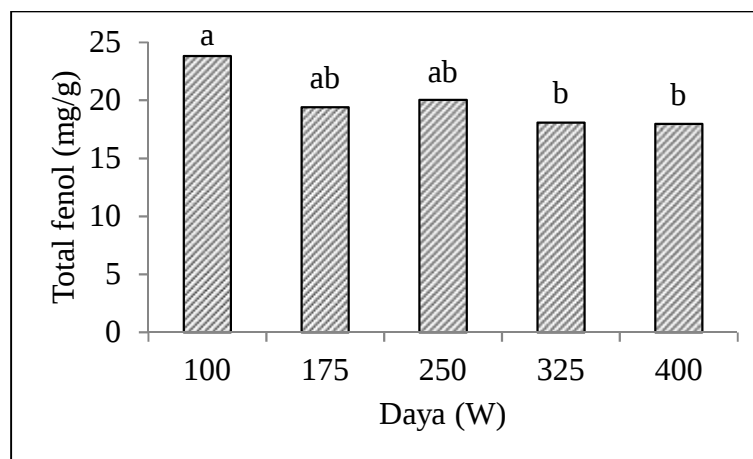
Pemilihan pelarut yang sesuai dengan metode ekstraksi yang digunakan merupakan dasar untuk mengembangkan metode ekstraksi termasuk MAE. Air

digunakan dalam penelitian karena bersifat non toksik dan relatif murah. Methanol tidak digunakan dalam penelitian meski memiliki faktor disipasi yang lebih tinggi yang berarti mampu menyerap energi gelombang mikro dan mengubah ke energi panas lebih baik dibanding pelarut lain, namun methanol memiliki sifat toksik yang tinggi, sehingga tidak *food grade* (Hemwimon *et al.*, 2007).

Hasil seperti yang terlihat pada Gambar 1, terlihat bahwa variasi jumlah bahan berpengaruh nyata terhadap total fenol yang dihasilkan, pada selang kepercayaan 5%. Sebagai akibat kenaikan jumlah bahan, total fenol yang dihasilkan pun menurun. Peningkatan konsentrasi pelarut hingga 90% mengakibatkan penurunan total phenols yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena dalam proses ekstraksi polaritas pelarut memegang peranan yang sangat penting. Polaritas larutan ditentukan oleh konstanta dielektiknya. Markom *et al.* (2007) menyatakan bahwa konstanta dielektrik air dan ethanol berturut turut adalah 80,2 dan 24,30. Menurut Worlsted *et al.* (2005) pada rosella, hampir 80-90% kandungan phenols adalah antosianin. Polaritas dari antosianin diklasifikasikan sebagai semi polar dengan konstanta dielektrik sekitar 30-40 (Richter *et al.*, 2006). Adanya sejumlah kecil air dapat meningkatkan polaritas relatif pelarut sehingga dapat meningkatkan kapasitas



Gambar 1. Pengaruh jumlah bahan terhadap total fenol yang dihasilkan.



Gambar 2. Pengaruh daya gelombang mikro terhadap total fenol yang dihasilkan.

polaritas dan melalui pembengkakan material tanaman akan berakibat terjadinya peningkatan luas permukaan bagi terjadinya interaksi antara pelarut dan salut (Pan *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2010).

Namun demikian bila air berlebih maka akan terjadi pembengkakan berlebih. Pembengkakan berlebih akan menyebabkan terjadinya *thermalstress* yang berlebih akibat timbulnya panas yang cepat pada larutan. Akibatnya pada konsentrasi ethanol yang lebih kecil rendemen cenderung turun karena dengan terjadinya pembengkakan

dan *termalstress* yang berlebih maka akan semakin banyak pula senyawa-senyawa fenolik yang terdekomposisi.

Pengaruh daya gelombang mikro terhadap total fenol yang dihasilkan

Daya gelombang mikro merupakan parameter penting lain dalam prosedur ekstraksi berbantu gelombang mikro. Variasi daya yang digunakan adalah 100, 175, 250, 325 dan 400 W. Gambar 2 menunjukkan bahwa daya 250 W merupakan daya yang cukup untuk eksperimen berikutnya. Penggunaan daya hingga 250 W meningkatkan total fenols yang dihasilkan.

Hal ini disebabkan karena daya yang tinggi akan menghasilkan panas yang lebih tinggi pula. Meningkatnya daya gelombang mikro akan berakibat pada energi gelombang mikro terhadap biomolekul, dengan konduksi ionik dan rotasi dipole yang berakibat disipasi daya didalam bahan tanaman (serbuk rosela) dan pelarut yang berakibat pada pergerakan molekul dan pemanasan (Chen *et al.*, 2008) yang mengakibatkan perpindahan senyawa aktif dari sel tanaman ke dalam pelarut. Namun, senyawa fenol sangat sensitif terhadap panas. Menurut Gao *et al.* (2006) pada daya gelombang mikro yang lebih besar (400-1200W), variasi daya yang diberikan tidak berpengaruh pada hasil ekstraksi. Diputuskan untuk menggunakan 250 W sebagai titik tengah pada penelitian berikutnya.

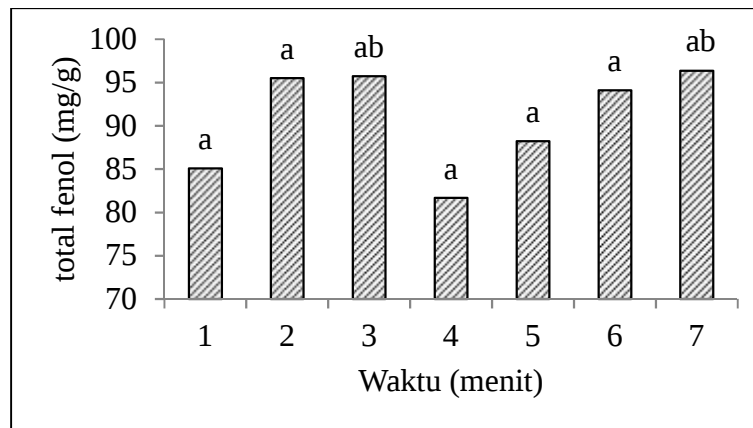
Menurut Fernandes *et al.* (2001), energi gelombang mikro mempengaruhi laju ekstraksi dan juga berpengaruh terhadap penguapan senyawa analit. Semakin besar daya yang digunakan maka perolehan ekstrak mengalami penurunan.

Pengaruh variasi lama ekstraksi terhadap total phenols terekstrak

Waktu ekstraksi adalah faktor yang harus dipelajari untuk meningkatkan efektivitas ekstraksi tanpa mengakibatkan

kerusakan bahan terekstrak. Penelitian dilakukan pada variasi waktu 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 menit. Gambar 3. terlihat bahwa total fenol yang dihasilkan meningkat hingga mencapai 5 menit waktu ekstraksi. Waktu ekstraksi yang lebih lama dari 5 menit tidak meningkatkan total fenol yang terekstrak bahkan menurunkan total fenol yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan waktu yang lebih lama dari 5 menit menimbulkan kerusakan pada senyawa fenol yang terekstrak, dikarenakan waktu kontak antara panas dan hasil ekstraksi lebih lama. Waktu ekstraksi gelombang mikro yang lama akan mengakibatkan turunnya rendemen dan mengakibatkan terjadinya dekomposisi senyawa fitokimia juga dilaporkan beberapa peneliti diantaranya Chen *et al.* (2007) dan Pan *et al.* (2001).

Chen *et al.* (2007) menyatakan bahwa ekstraksi triterpenoid saponin dengan durasi ekstraksi melebihi waktu operasi optimumnya yakni melewati waktu 20 menit, rendemen triterpenoid saponin turun seiring dengan semakin meningkatnya waktu ekstraksi. Pan *et al.* (2001) menyatakan bahwa waktu ekstraksi lebih dari dua menit persentase ekstraksi transchionones cenderung turun karena transchionones mudah terdekomposisi pada suhu tinggi dan waktu paparan yang lama.



Gambar 3. Pengaruh lama waktu ekstraksi terhadap total phenol yang dihasilkan.

Penentuan waktu ekstraksi dilakukan untuk menentukan waktu yang diperlukan untuk desorpsi. Dalam hal ini pelaksanaan penelitian lebih lama dari 5 menit sia-sia untuk dilakukan. Karena itu, 5 menit digunakan sebagai titik tengah pada penelitian optimasi berikutnya.

Optimasi ekstraksi phenol menggunakan ekstraksi berbantu gelombang mikro

Pada penelitian ini dievaluasi tiga parameter (A) jumlah bahan, (B) daya ekstraksi, dan (C) lama waktu ekstraksi. Berdasarkan penelitian sebelumnya ditentukan tiga taraf dari tiap variabel untuk menentukan kondisi ekstraksi yang sesuai, seperti terlihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Respon tunggal yang diukur adalah total fenol. Total fenol (Y) yang dihasilkan didefinisikan sebagai rasio dari total fenol dalam ekstrak terhadap total bahan (serbuk

rosela) yang diekspresikan sebagai GAE milligrams per gram serbuk rosela. Tiap variabel yang akan dioptimasi terkode pada tiga taraf/level -1, 0, dan 1. Tabel 5 menunjukkan variabel, simbol variable dan taraf/level. Seleksi dari level variabel didasarkan pada kajian sebelumnya.

Central Composit Desain (CCD) terlihat pada Tabel 2, dilakukan untuk menyesuaikan dengan model ordo 2 RSM. Model yang digunakan untuk respon (Y) adalah:

$$Y = \beta_0 + \beta_i x_i + \beta_{ii} x_i^2 + \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon$$

Keterangan:

- 0 = nilai respon yang sesuai pada titik tengah desain, yang mana point (0, 0, 0).
- 0 = konstanta
- i = linier
- ii = kuadratik
- ij = bentuk regresi.

Tabel 1. Kode dan variabel desain eksperimen

Variabel	Kode	-1	0	1
Daya mikrowave (Watt)	A	175	250	325
Konsentrasi ethanol (%)	B	70	80	90
Waktu ekstraksi (min)	C	3	5	7

Sumber: Data yang diolah (2017).

Tabel 2. *Central Composit Desain* (CCD) pada RSM

Std	Run	Faktor 1 A: Proporsi gram	Faktor 2 B: Daya watt	Faktor 3 C: Waktu menit	Respon 1 Total fenol mg/100g
18	1	15,00	325,00	6,00	21,7255
1	2	10,00	250,00	5,00	27,6502
17	3	15,00	325,00	6,00	27,5288
11	4	15,00	198,87	6,00	25,1812
2	5	20,00	250,00	5,00	21,5264
14	6	15,00	325,00	7,68	21,2134
8	7	20,00	400,00	7,00	26,7926
9	8	6,59	325,00	6,00	36,6411
10	9	23,41	325,00	6,00	12,7972
15	10	15,00	325,00	6,00	22,7180
6	11	20,00	250,00	7,00	19,6003
5	12	10,00	250,00	7,00	27,6502
20	13	15,00	325,00	6,00	17,2633
7	14	10,00	400,00	7,00	35,6480
13	15	15,00	325,00	4,32	20,9477
3	16	10,00	400,00	5,00	28,0554
19	17	15,00	325,00	6,00	29,7669
4	18	20,00	400,00	5,00	13,6969
12	19	15,00	451,13	6,00	23,5470
16	20	15,00	325,00	6,00	25,5453

Sumber: Data yang diolah (2017).

Diagnosa kesesuaian model

Response surface method (RSM) adalah alat yang efektif untuk optimasi proses dengan banyak faktor dan interaksi yang mempengaruhi hasil yang diinginkan. Prinsip dasar analisa RSM adalah menghubungkan variabel tidak bebas dengan parameter proses (variabel bebas) menggunakan metode statistik, yang akan menghasilkan persamaan regresi multivariate. RSM memperhatikan interaksi antar variabel dan optimasi parameter proses dalam selang tertentu yang masuk akal. Keuntungan penggunaan metode ini

adalah sedikitnya unit kombinasi, replikasi dan waktu yang diperlukan.

RSM menggunakan desain eksperimen seperti *Central Composite Design* (CCD) untuk menyesuaikan dengan model dengan teknik Kuadrat Terkecil. Jika model yang diajukan sudah cukup, yang dianalisa dengan menggunakan teknik yang tersedia dalam analisis varian maka persamaan analisis multi regresi yang digunakan (Tabel 3) adalah:

$$Y = 24.50 + 1.76A - 2.32B - 0.63C - 0.89AB + 0.18AC + 0.48BC - 2.05A^2 - 3.03B^2 - 1.39C^2 - 0.45ABC + 2.00A^2B + 0.93A^2C - 1.35AB^2$$

Tabel 3. Hasil analisis varian multi regresi

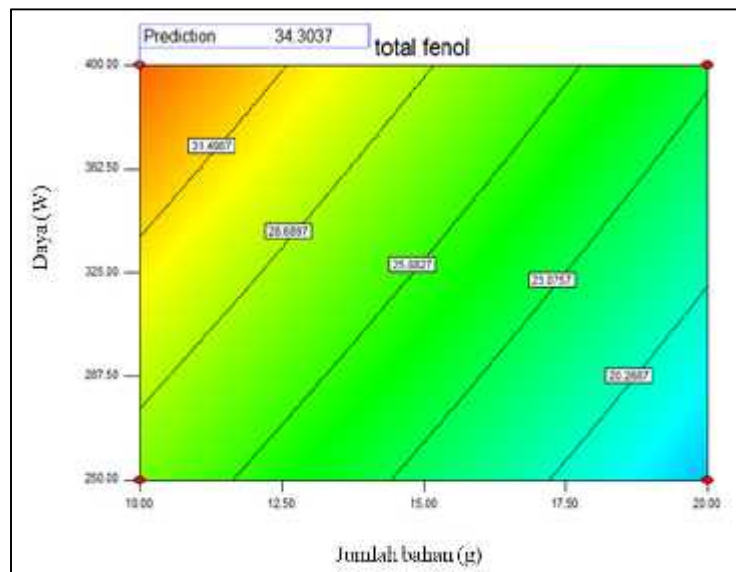
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob>F	
Model	551,16	7	78,74	5,56	0,0049	Significant
A-Poporsi	439,66	1	439,66	31,07	0,0001	
B-Daya	1,84	1	1,84	0,13	0,7244	
C-Waktu	27,02	1	27,02	1,91	0,1922	
AB	10,22	1	10,22	0,72	0,4121	
AC	1,60	1	1,60	0,11	0,7425	
BC	63,93	1	63,93	4,52	0,0550	
ABC	6,90	1	6,90	0,49	0,4983	
Residual	169,80	12	14,15			not significant
Lack of Fit	69,56	7	9,94	0,50	0,8072	
Pure Error	100,25	5	20,05			
Cor Total	720,97	19				

Sumber: Data yang diolah (2017).

Dari hasil penelitian juga diketahui bahwa efek daya gelombang mikro, jumlah bahan, dan interaksi antara daya gelombang mikro dengan jumlah bahan, berpengaruh secara signifikan terhadap total fenol yang dihasilkan. Pada Gambar 4 terlihat hubungan variabel daya gelombang mikro, dan jumlah bahan dengan mengamati satu respon yang diharapkan yaitu total fenol, yang mengindikasikan perubahan total phenol yang dihasilkan pada kondisi MAE yang berbeda. Senyawa fenol seperti halnya antosianin bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti ethanol, acetone dan air. Namun bila dilihat derajat polaritasnya, antara senyawa fenol sebagai zat terlarut dan ethanol sebagai pelarut tidak seimbang. Polaritas ethanol menurut Richter *et al.* (2006) adalah 24, sedangkan polaritas

senyawa phenol dan antosianin 30-40. Untuk itulah perlu dilakukan penambahan air untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi. Disisi lain menurut Kinget *al.* (2009) peningkatan suhu akan menurunkan polaritas air. Hal inilah yang membuat interaksi antara jumlah bahan dan daya gelombang mikro memiliki pengaruh yang signifikan terhadap total fenol yang dihasilkan. Kesesuaian polaritas pelarut dan zat terlarut sangat menentukan efisiensi proses ekstraksi berbantu gelombang mikro yang dilakukan.

Peningkatan daya gelombang mikro, dapat meningkatkan total fenol yang dihasilkan. Peningkatan ini disebabkan efek langsung dari energi gelombang mikro terhadap biomolekul oleh konduksi ionik dan rotasi dipol sehingga menghasilkan gerakan molekul dan pemanasan.



Gambar 4. Hubungan antara daya gelombang mikro dan jumlah bahan terhadap total phenol yang dihasilkan.

Hasil penelitian ini sejalan dengan laporan beberapa peneliti, diantaranya Li *et al.*(2009) melaporkan bahwa pada daya gelombang mikro hingga 560 watt dan konsentrasi ethanol 60% rendemen flavonoid yang dihasilkan dari daun mulberry meningkat. Wang *et al.* (2010) melaporkan bahwa rendemen flavonoid dari *Radix puerariae* meningkat hingga daya gelombang mikro 255 Watt pada konsentrasi ethanol hingga 70%. Pada daya 255-425 Watt, tidak terjadi perubahan yang signifikan terhadap flavonoid yang dihasilkan. Jiangfeng *et al.* (2011) melaporkan bahwa daya *microwave* 150-350 watt dapat meningkatkan komponen

fenolik daun ubi dan akan menurun di atas daya 350 watt.

Optimasi ekstraksi berbantu gelombang mikro

Kondisi optimum ditentukan dengan menjalankan program CCD. Kondisi optimum dicapai pada waktu ekstraksi 7 menit, jumlah bahan 10 g dan 400 W daya gelombang mikro. Estimasi total fenol yang dihasilkan pada kondisi optimasi adalah 34,3037 mg/100g. Penelitian untuk memverifikasi pada kondisi optimum, dilaksanakan dengan 4 replikasi menghasilkan total fenol 28,1764 mg/100g, dengan rendemen sebesar lebih tinggi dibandingkan menggunakan metode konvensional yaitu 12,1099 mg/100g.

Tabel 4. Perbandingan karakterisasi ekstrak kondisi optimum MAE dan konvensional

Parameter	MAE	Konvensional
Total antosianin (mg/100g)	0,7440	0,4217
Total fenol (mg/100g)	28,1764	12,1099
Vitamin C (mg/100g)	74,8000	61,6000

Sumber: Data yang diolah (2017).

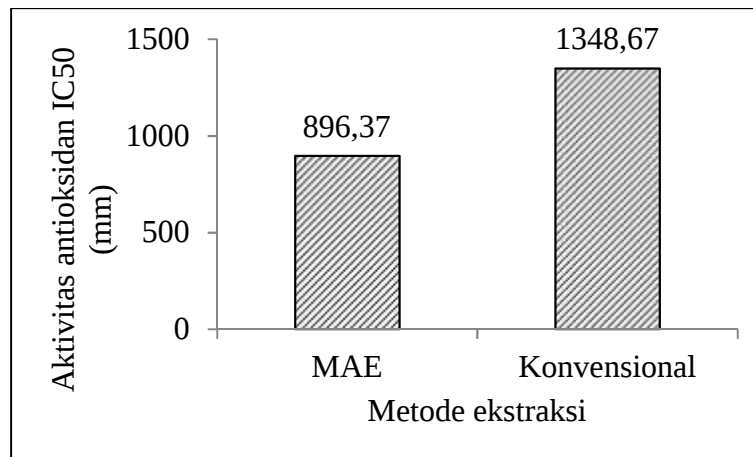
Pada penelitian ini ekstraksi berbantu gelombang mikro dibandingkan dengan ekstraksi konvensional menggunakan pemanasan. Kondisi operasi pada proses ekstraksi dengan pemanasan listrik adalah suhu 92 °C, waktu ekstraksi 7 menit dan jumlah bahan 10 g.

Dari Tabel 4, dibandingkan metode ekstraksi konvensional, total fenol, antosianin, dan vitamin C, ekstraksi berbantu gelombang mikro yaitu 28,1764; 0,74401; 74,8 mg/ 100g lebih tinggi dibandingkan ekstraksi konvensional 12,1099; 0,42178; 61,6 mg/100g. Peningkatan total fenol, antosianin dan vitamin C yang dihasilkan karena induksi ionik dan rotasi dipole memaksa peningkatan pergerakan molekul dan panas. Selain itu tingginya perolehan ekstrak pada ekstraksi berbantu gelombang mikro juga disebabkan oleh adanya aktivitas-aktivitas molekul air yang memicu terjadinya pembengkakan material tanaman akibat adanya pemanasan dielektrik (Pan *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2010). Hal ini dikarenakan energi pada proses ekstraksi dengan metode MAE langsung menuju sampel target yang spesifik, sehingga tidak ada panas yang hilang ke lingkungan dan senyawa bioaktif yang ada didalam bahan lebih mudah untuk terlarut, karena proses pemanasan berlangsung pada sistem tertutup (Silva *et al.*, 2015). Penelitian ini sejalan dengan Amir *et al.* (2016) pada

proses pemanasan metode konvensional sebagian besar panas hilang ke lingkungan dan pemanasan hanya terjadi pada permukaan sampel. Sehingga proses ekstraksi membutuhkan waktu yang lama untuk menghasilkan rendemen yang optimal.

Lebih tingginya jumlah total fenol yang dihasilkan dengan metode ekstraksi berbantu gelombang mikro. Hal ini berarti kemampuan penghambatan terhadap *E. coli* dan *S. aureus* lebih baik dibandingkan ekstraksi konvensional seperti terlihat pada Tabel 5. Aktivitas antibakteri ekstrak sangat dipengaruhi jenis dan jumlah komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak. Metode MAE menghasilkan zona hambat yang lebih besar. Metode MAE menghasilkan jumlah total fenol maupun antosianin yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode konvensional. Hasil ini juga menunjukkan ekstrak rosella mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang dicobakan dengan efek yang beragam, tergantung species bakteri yang digunakan.

Aktivitas anti bakteri disebabkan kandungan fitokimia dalam ekstrak. Senyawa fenols dihasilkan pada tanaman sebagai respon infeksi yang disebabkan mikroorganisme sehingga tidaklah mengherankan bila secara invitro ekstrak rosella yang mengandung senyawa fenol, mampu menghambat pertumbuhan bakteri.



Gambar 5. Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak optimasi MAE dan konvensional.

Tabel 5. Perbandingan aktivitas antibakteri MAE dan konvensional

Total Fenol (µg/ml)	Total Antosianin (µg/ml)	Metode	Zona hambat (mm)	
			<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
71,458	0,235	MAE	0,64	0,64
68,202	0,228	Konvensional	0,65	0,65

Sumber: Data yang diolah (2017).

Aktivitas anti bakteri ini karena kemampuan dari total fenol untuk membentuk kompleks dengan ekstraseluler dan protein terlarut dan membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri. Hal ini sesuai dengan pendapat Al-Hashimi, (2012) dan Alonso *et al.* (2006) yang menyatakan bahwa polyphenol dari tanaman mampu berfungsi sebagai zat antibakteri.

Perbedaan jumlah total phenols, anthosianin dan vitamin C juga mengakibatkan perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak yang dihasilkan. Ekstrak yang dihasilkan menggunakan MAE memiliki nilai IC₅₀ lebih rendah dibandingkan ekstrak hasil metode konvensional (Gambar 5).

Senyawa DPPH (dalam ethanol) berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar 517 nm. DPPH bersifat peka terhadap cahaya, oksigen, dan pH. Radikal bebas DPPH dapat menangkap atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang dicampurkan, kemudian bereaksi menjadi bentuk tereduksinya yang ditandai dengan berkurangnya intensitas warna ungu larutan DPPH menjadi kuning. Senyawa antioksidan akan mendonorkan atom hidrogen kepada DPPH dan selanjutnya akan terbentuk radikal baru yang bersifat stabil atau tidak reaktif (1,1-difenil-2-pikrilhidrazi) (Wikanta *et al.*, 2005).

KESIMPULAN

Hasil verifikasi penelitian total phenol yang diperoleh pada kondisi optimum adalah $23,77 \pm 0,25$ mg/g, lebih rendah dari estimasi optimasi proses, yaitu 24,61 mg/g. Kandungan anthosianin, vitamin C dan rendemen MAE berturut turut $14,80 \pm 0,08$, $10,74 \pm 0,14$ mg/g dan $2,09 \pm 3,3$ %. Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan zona hambat yang terbentuk $12,6 \pm 0,6$ mm terhadap *E coli* and $11,6 \pm 0,3$ mm terhadap *S aureus*. Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC_{50} 202.47 μ L/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Hashimi, AG. 2012. Antioxidant and antibacterial activities of *Hibiscus sabdariffa* L extract. *African J of Food Sci* 6(21):506-511
- Alonso, J.G., G. Ros, L. V. Guevara, and M.J. Perigo. 2006. Acute intake of fenolick rich juice improves antioxidant status in healthy subject. *J. Nutr. Res.* 26:330-339.
- Amir, A., A. Wiraningtyas, Ruslan, dan N. Annafi. 2016. Perbandingan metode ekstraksi natrium alginat: metode konvensional dan *microwave assisted extraction* (MAE). *Jurnal Food Technology* 1(2): 9-10.
- Chen, Y.H., J.P. Wang, and H.Q. Jiang. 2008. Optimization of extraction technology of total flavonoids from mulberry leaves by orthogonal design. *Food and Drug.*, 3: 17-18.
- Chew, Y.L., J.K. Goh, and Y.Y. Lim. 2009. Assessment of *in vitro* antioxidant capacity and polyfenolick composition of selected medicinal herbs from Leguminosae family in Peninsular Malaysia. *Food Chem.* 116: 13-18.
- Fernandes, A.E., Z.S. Ferrera, dan J.J.S. Rodriquez. 2001. MAE of organochlorine compounds in marine sediments with organized molecular systems. *Journal Chromatographya.* 53:357-379.
- Gao, M., B. Song, and C. Lin. 2006. Dynamic Microwave Assisted Extraction of Flavonoids from *Saussurea Medusa* Maxim. Cultured Cells. *Biochemical Engineering Journal*, 332: 79-83.
- Hemwimon, S., P. Pavant, and A. Shotipru. 2007. Microwave assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Separat. Puri. Technol*, 54:44-50.
- Jiangfeng, S., L. Dajing, L. Chungquan and Z. Ying. 2011. Optimized microwave assisted extraction of total phenolics from Ipomea batatas leaves and its antioxidant activity. *Innovative Food Science and Engineering Technologis*, 12: 282-287
- King, J.W., R.D. Gabriel. and J.D. Wightman. 2009. *Subcritical water extraction of antosianin from fruit berry substrates. Supercritical Fluid Facility.* Los Alamos National Laboratory C.ACT Group Chemistry Division, Los Alamos, USA.
- Li, W., T. Li, and K. Tang. 2009. Flavonoids from Mulberry leaves by microwave-assisted extract and anti-fatigue activity. *African Journal of Agricultural Research*, 4(9): 898-902.
- Markom. 2007. Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllantus niruri* Linn: Effect of solvents and extraction methods. *J. Separation and Purification Technology*, 52:487-496.
- Montgomery, DC. 2001. *Design and Analysis of Experiment*, John Wiley & Sons, Inc., 5th Edition. pp 427-500.

- Pan, X., G. Niu, and H. Liu. 2001. Microwave assisted extraction of Tranchiones from *Salvia miltiorrhiza* with analysis by HPLC. *Journal of Chromatography*, 922: 371-375.
- Purbowati, I.S. 2014. Nanoenkapsulasi ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* l) hasil optimasi ekstraksi berbantu gelombang sebagai bahan antibakteri dan antioksidan. *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana. IPB, Bogor
- Richter, P., M.I. Total, and C. Toledo. 2006. Subcritical Water Extraction and Determination of Nifedine in Pharmacheutical Formulation Drug, Cosmetics, Forensic Science. *Journal of AOAC International*, (89)2.
- Silva, M., F. Gomes., F. Oliveira., S. Morais, and C.D. Matos. 2015. Microwave-assisted alginate extraction from portuguese saccorhiza polyschides - influence of acid pretreatmen. *International Journal of Chemical, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering*, 9(1): 30-33.
- Tsai, P.J., J. Mcintosh, P. Pearse, B. Camden, and T.B. Jordan. 2002. Antosianin and antioxidant capacity in Roselle *Hibiscus sabdariffa* Lextract. *Food Res.International* 35: 351-356.
- Wang, Y.L., G.S. Xi, Y.C. Zheng, and F.S. Miao. 2010. Microwave assisted extraction from chinese herb *Radix puerariae*. *Journal of Medicinal Plant Research*, 4(4): 304-308.
- Wikanta, T., H.D. Januar, dan M. Nursed. 2005. Uji aktivitas antioksidan, toksisitas dan sitotoksitas ekstrak alga merah *Rhodymenia palmate*. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 11(4): 12-25.
- Wrolstad, R.E., R.W. Durst, dan J. Lee. 2005. Tracking color - Tracking color and pigment changes in anthocyanin product. *Trends in Food Science & Technology*, 16: 423-428.
- Zhang, F., B. Chen, S. Xiao, and S. Yao. 2005. Optimization and comparison of different extraction techniques for sanguinarine and chelerythrine in fruits of *Macleaya cordata* (Wild) R.Br. *Separat Purif.Technol*, (2): 283-290.