

Color Stability and Antioxidant Activity of Red Roselle (*Hibiscus Sabdariffa L.*) Calyx Infuse

Stabilitas Warna dan Aktivitas Antioksidan Infusa Kelopak Bunga Rosela Merah (*Hibiscus sabdariffa L.*)

Trisiyana Sholika Sari¹⁾, Idha Kusumawati^{2)*}, Isnaeni Isnaeni³⁾

¹Study Program of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

²Department of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

³Study Program of Pharmacy, Faculty of Health Science, Universitas Muhammadiyah Surabaya, Surabaya, Indonesia

*Corresponding author

E-mail: idha-k@ff.unair.ac.id

Article History:

Received: November 17, 2023; Revised: November 21, 2023; Accepted: November 30, 2023; Online: November 30, 2023

ABSTRACT

The roselle flower (*Hibiscus sabdariffa L.*), was known as a potential functional food source because of its antioxidant and antibacterial properties. Apart from that, it was also used as a natural dye because of its red color. Antioxidant compounds in roselle flowers included neo-chlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, rutin, and isoquercitrin. The high content of these antioxidant compounds often causes color instability. For this reason, this research would analyze the effect of temperature and long storage on color changes and the antioxidant activity of a red roselle flower infusion. Storage conditions were carried out with three temperature variations, namely cold temperature (2–8°C), cool temperature (8–15°C), and room temperature (15–30°C), with a long storage of 8 days. The stability parameters used were color changes and activity as an antioxidant. Color changes were measured using a chromameter, while the antioxidant activity was measured by the IC₅₀ value using the DPPH method. The principle of this method was based on a purple color change reaction, which faded, and then the inhibitory intensity against DPPH was measured using UV-Vis spectrophotometer. It was found that the color values had significant differences visible from the first day storage at the room temperature (30°C), cool temperature (11°C), and cold temperature (6°C). Thus, there was an influence of temperature and long storage on the color change of boiled red roselle flower calyx. A significant decrease in activity was seen on the first day storage at room temperature (30°C) and third day storage at cool temperature (11°C). Meanwhile, at cold temperatures (6°C), there was no significant effect on the reduction in activity from boiling red roselle flower calyx for up to 8 days of storage.

Keywords: Red Rosela, Stability, Infuse, Color, Antioxidant

ABSTRAK

Bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa L.*) memiliki potensi sebagai sumber bahan pangan fungsional, karena berkhasiat sebagai antioksidan dan antibakteri. Selain itu, kelopak bunga rosela merah juga dimanfaatkan sebagai zat pewarna alami, karena warnanya yang merah. Senyawa antioksidan dari bunga rosela antara lain asam neo klorogenat, asam klorogenat, asam kriptoklorogenat, rutin, dan isoquercitrin. Tingginya kandungan senyawa antioksidan ini seringkali menyebabkan ketidakstabilan pada warna. Penelitian ini akan menganalisis pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap perubahan warna dan aktivitas antioksidan infusa kelopak bunga rosela merah. Kondisi penyimpanan dilakukan dengan tiga variasi suhu yaitu suhu dingin (2-8°C), sejuk (8-15°C), dan kamar (15-30°C) dengan lama penyimpanan 8 hari. Parameter stabilitas yang digunakan adalah perubahan warna dan aktivitasnya sebagai antioksidan. Perubahan warna diukur menggunakan chromameter sedangkan aktivitas antioksidan menggunakan nilai IC₅₀ dengan metode DPPH. Prinsip metode ini adalah terjadinya reaksi yang ditandai dengan perubahan warna ungu, kemudian diukur daya inhibisi terhadap DPPH yang terukur menggunakan data absorbansi pada spektrofotometer UV-Vis. Dari penelitian ini diketahui bahwa nilai warna memiliki perbedaan bermakna terlihat sejak hari pertama penyimpanan di suhu ruang (30°C), suhu sejuk (11°C), dan suhu dingin (6°C). Ditemukan ada pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap perubahan warna infusa kelopak bunga rosela merah. Penurunan aktivitas secara bermakna terlihat pada hari ke-1 penyimpanan di suhu ruang (30°C), dan hari ke-3 penyimpanan di suhu sejuk (11°C). Pada suhu dingin (6°C), penyimpanan tidak menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan infusa kelopak bunga rosela merah yang bermakna dari infusa kelopak bunga rosela merah hingga 8 hari.

Kata kunci: Bunga Rosela Merah, Stabilitas, Infusa, Warna, Antioksidan

Cite this Sari, T.S., Kusumawati, I. and Isnaeni, I. (2023) 'Color Stability and Antioxidant Activity of Red Roselle (*Hibiscus Sabdariffa L.*) Calyx Infuse', *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 10(2), pp. 36-41. DOI: 10.20473/bikfar.v10i2.51706.



Copyright: ©2023 by the authors. Submitted for possible open-access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA) license

PENDAHULUAN

Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) adalah tumbuhan yang termasuk dalam famili *Malvaceae*, dibudidayakan secara luas di seluruh negara tropis dan sub tropis seperti Sudan, Cina, Thailand, Mesir, Meksiko, India, Indonesia, dan Malaysia (Dhar *et al.*, 2015). Tingginya nilai kemanfaatan tanaman rosela disebabkan karena kandungan senyawa fitokimia alami yang potensial di seluruh bagian tanaman, utamanya pada kelopak bunga rosela. Komponen fitokimia potensial tersebut meliputi fenol, alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, asam organik, antosianin, dan polisakarida (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

Kelopak bunga rosela mengandung antosianin dalam jumlah tinggi, terutama delphinidin 3-O-sambubiosida dan cyanidin 3-O-sambubiosida (Juliani *et al.*, 2009). Studi penelitian telah menunjukkan adanya aktivitas antosianin kelopak bunga rosela sebagai antioksidan (Mozaffari-Khosravi *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2010), antibakteri, antiinflamasi, dan aktivitas lain yang terkait (Christian *et al.*, 2006; Kouakou *et al.*, 2010; Dhar *et al.*, 2015; Zhen *et al.*, 2015). Rosela di masyarakat lebih sering digunakan sebagai minuman seperti teh, dan dipasarkan dalam bentuk kering kemudian diseduh atau dalam bentuk minuman siap konsumsi.

Penjaminan stabilitas sediaan penting untuk menjaga persyaratan mutu, keamanan dan efektivitas. Stabilitas merupakan kunci efektivitas dan toksisitas suatu produk. Stabilitas didefinisikan sebagai jaminan obat yang telah dipasarkan, disimpan dan digunakan dengan cara tertentu, namun memiliki sifat dan karakteristik yang sama saat sediaan tersebut dibuat (FDA, 2016).

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi stabilitas antosianin, di antaranya faktor eksternal seperti pH, suhu, cahaya, oksigen, ion logam dan faktor internal seperti reaksi enzimatis (Sharara, 2017). Antosianin yang terdegradasi menjadi tidak stabil secara fisika, secara organoleptik perubahan dapat diamati seperti warna, secara kimia terjadi penurunan kadar senyawa yang berdampak pada penurunan efektivitas produk. Menurut penelitian diketahui adanya degradasi termal terhadap senyawa antosianin dari rosela pada suhu 100°C (Djaeni, 2017).

Kondisi penyimpanan menjadi salah satu faktor penting untuk mempertahankan kualitas kandungan senyawa aktif dalam ekstrak selama umur simpan. Umur simpan suatu produk dapat didefinisikan sebagai periode penyimpanan pada kondisi yang ditetapkan dalam kondisi stabil terkait dengan stabilitas kimia, fisik, dan mikrobiologi. Tanggal kedaluwarsa biasanya ditunjukkan pada produk untuk menunjukkan akhir masa simpan. Kondisi dan waktu penyimpanan yang direkomendasikan oleh produsen berdasarkan studi pengujian stabilitas dapat menjamin bertahannya kualitas, keamanan, dan khasiat selama umur simpan sediaan.

Pengujian stabilitas melibatkan serangkaian pengujian yang didesain untuk menyediakan bukti kualitas obat di bawah pengaruh lingkungan yang bervariasi (ASEAN Guidelines, 2017). Tujuan pengujian stabilitas adalah untuk mendapatkan dasar penentuan kualitas produk herbal berdasarkan perbedaan waktu terhadap paparan suhu, cahaya, oksigen, kelembaban terhadap produk tersebut, yang dapat memengaruhi perubahan ukuran partikel, kontaminasi mikroba, logam,

sehingga dapat diputuskan *shelf-life* dalam jangka waktu tertentu (Sachan & Kumar, 2015).

Infusa memiliki kandungan air tinggi yang merupakan pelarut utama, sehingga menjadi faktor utama untuk kecepatan degradasi di penyimpanan selama 8 hari. Reaksi kimia yang terjadi akibat adanya air adalah reaksi hidrolisis, yang merupakan salah satu reaksi utama dalam degradasi produk.

Dengan alasan tersebut, penting dilakukan pengujian pengaruh suhu dan lama penyimpanan supaya menjaga kualitas, keamanan, dan efektivitas ekstrak rosela. Pada penelitian ini, parameter pengukuran di dasarkan pada perubahan warna yang diukur menggunakan chromameter dan aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ berdasarkan metode penangkapan radikal bebas 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penyimpanan ekstrak kelopak bunga rosela yang dilakukan selama 8 hari penyimpanan dengan pengujian penyimpanan pada suhu dingin (2-8°C), suhu sejuk (8-15°C), dan suhu kamar (15-30°C) terhadap perubahan warna dan aktivitas antioksidan.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengevaluasi pengaruh penyimpanan infusa kelopak bunga rosela merah (*Hibiscus sabdariffa* L.) selama 8 hari pada suhu dingin (2-8°C), sejuk (8-15°C), dan kamar (15-30°C) terhadap warna. Kemudian untuk mengevaluasi pengaruh penyimpanan infusa kelopak bunga rosela merah (*Hibiscus sabdariffa* L.) selama 8 hari pada suhu dingin (2-8°C) dan sejuk (8-15°C).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini adalah panci infusa, Spektrofotometer *UV-Vis Shimadzu, Chroma meter*.

Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini bunga rosela merah yang diperoleh dan telah diidentifikasi dari Matera Medika Batu Malang. Bahan lain seperti Metanol *p.a.*, air suling, DPPH (Merck).

Pembuatan Infusa 10%

Simplisia kering kelopak bunga rosela ditimbang sebanyak 50 g. Kemudian dipotong menjadi bagian yang lebih kecil dimasukkan ke dalam panci infus dan ditambahkan dengan air 500 ml. Panci infus dipanaskan hingga suhu mencapai 90°C. Pemanasan dilanjutkan selama 15 menit sambil sekali-sekali diaduk. Infus disaring selagi panas dengan kain flanel. Air panas ditambahkan secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infus yang dikehendaki yaitu 500 ml.

Kondisi Penyimpanan

Infusa Rosela disimpan dengan interval waktu penyimpanan (0 hari, 1 hari, 2 hari, 3 hari, 4 hari, 7 hari, 8 hari) pada suhu dingin (2-8°C), sejuk (8-15°C), dan kamar (25-30°C).

Uji Aktivitas Antiradikal Bebas DPPH

Dipipet 0,15 ml larutan infusa dari berbagai konsentrasi yaitu 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm dan masing-masing ditambahkan 1,35 ml

larutan DPPH 40 ppm dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah terbungkus aluminium foil kemudian campuran di vortex dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 517 nm. Pengujian ini dilakukan dengan replikasi tiga kali. Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase (%) inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus.

Pengukuran Warna

Uji warna dilakukan dengan sistem ruang warna. *Chroma meter* terlebih dahulu dikalibrasi dengan standar warna putih. Hasil analisis derajat warna yang dihasilkan berupa nilai total perbedaan warna *Red Green Blue* (RGB).

Analisa Data

Untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna antara aktivitas antioksidan, perubahan warna dengan durasi penyimpanan serbuk ekstrak rosela, dilakukan analisis statistik dengan metode *Multivariate Analysis of Variance* (MANOVA) dan uji *Post Hoc Bonferroni* dengan derajat kepercayaan 0,95 ($\alpha = 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bunga Rosela merah yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dan telah diidentifikasi di Matera Medika Batu, Malang. Dari hasil pembuatan infusa 10% diketahui berat jenisnya sebesar 26,0 mg/mL.

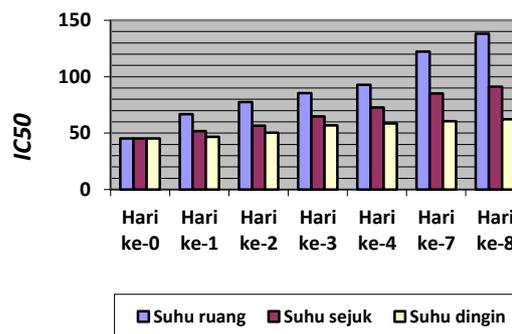
Hasil Uji Aktifitas Antioksidan dari Infusa Rosela Merah

Penyimpanan menjadi salah satu parameter yang digunakan untuk melihat kestabilan produk. Faktor lingkungan seperti suhu mempengaruhi reaksi oksidasi zat aktif dan proses hidrolisis secara enzimatis menyebabkan kerusakan infusa rosela yang berakibat sediaan tidak bertahan lama.

Parameter kestabilan untuk melihat pengaruh penyimpanan adalah dilihat dari potensi aktivitas antioksidan dan warna dari infusa kelopak bunga rosela. Aktivitas antioksidan dari infusa kelopak bunga rosela dinyatakan dalam nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} didapatkan dari persamaan regresi kurva persentase inhibisi DPPH. Persentase inhibisi merupakan persentase penangkalan radikal bebas yang dihitung menggunakan rumus antara absorbansi DPPH dengan absorbansi sampel yang diukur, sedangkan nilai IC_{50} menyatakan besarnya konsentrasi efektif ekstrak yang diuji yang dapat menangkal radikal bebas sebanyak 50%. Suatu senyawa dinyatakan sebagai antiradikal bebas sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$ dan bila nilai IC_{50} berkisar antara 201-1000 $\mu\text{g/mL}$ maka zat tersebut kurang aktif namun masih memiliki potensi sebagai antioksidan (Molyneux, 2004).

Padapengamatan profil spektra metode spektrofotometri UV-Vis yang diamati pada panjang gelombang 400-800 nm didapatkan panjang gelombang maksimum pada 516 nm yang kemudian didapatkan nilai absorbansi untuk masing-masing sampel penyimpanan. Dari data absorbansi tersebut, selanjutnya dihitung persentase peredaman radikal bebas DPPH (% inhibisi). Hasil % inhibisi kemudian dibuat kurva persamaan regresi sehingga dapat dihitung nilai IC_{50} sampel. Hasil IC_{50} infusa kelopak bunga rosela pada kondisi awal hari

ke-0 sebesar 45,381 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat. Warna yang dihasilkan pada kondisi awal hari ke-0 menunjukkan warna merah cerah.



Gambar 1. IC_{50} dari Masing-Masing Infusa Rosela yang disimpan dalam Berbagai Suhu

Hasil uji aktivitas selama penyimpanan suhu ruang (Gambar 1) menunjukkan nilai penghambatan IC_{50} DPPH yang dihasilkan pada uji aktivitas hari ke-0 sampai hari ke-8 diketahui adanya penurunan nilai aktivitas antioksidan dibuktikan dengan semakin besarnya nilai IC_{50} yang signifikan pada penyimpanan suhu ruang. Pada hari ke-0 nilai IC_{50} sebesar $45,381 \pm 2,256$ mengalami penurunan aktivitas hampir 50% pada hari ke-1 dengan nilai IC_{50} menjadi $66,738 \pm 3,191$. Penyimpanan hingga hari ke-8 nilai IC_{50} menjadi $138,103 \pm 6,769$ dengan penurunan aktivitas antioksidan sebesar 204,32% dibanding kondisi awal penyimpanan.

Penyimpanan suhu sejuk (*refrigerator*) nilai penghambatan IC_{50} DPPH yang dihasilkan pada uji aktivitas hari ke-0 sampai hari ke-8 juga menunjukkan penurunan aktivitas antioksidan. Pada hari ke-0 nilai IC_{50} sebesar $45,381 \pm 2,256$ mengalami penurunan aktivitas 14,25% pada hari ke-1 dengan nilai IC_{50} menjadi $51,846 \pm 2,702$. Penyimpanan hingga hari ke-8 nilai IC_{50} menjadi $90,995 \pm 4,693$ dengan penurunan aktivitas antioksidan sebesar 90% dibanding kondisi awal penyimpanan.

Penyimpanan suhu dingin (*freezer*) pada Tabel 1 menunjukkan nilai penghambatan (nilai IC_{50}) DPPH hari ke-0 sampai hari ke-8. Pada hari ke-0 nilai IC_{50} sebesar $45,381 \pm 2,256$ mengalami penurunan aktivitas 14,25%. Penurunan yang tidak signifikan terlihat pada hari ke-1 sebesar 2,97% dengan nilai $46,730 \pm 2,129$, artinya infusa rosela ini masih dapat dinyatakan stabil sebab aktivitas yang dihasilkan masih memiliki potensi >90% sebagai antioksidan. Penyimpanan hingga hari ke-8 nilai IC_{50} menjadi $62,293 \pm 2,661$ yang secara teori masih memiliki aktivitas antioksidan yang sedang.

Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 10 \text{ ppm}$, kuat apabila nilai IC_{50} antara 10-50 ppm, sedang apabila nilai IC_{50} antara 50-100 ppm, lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 100-250 ppm dan dinyatakan tidak aktif apabila nilai IC_{50} diatas 250 ppm. Sehingga, selama 8 hari penyimpanan infusa kelopak bunga rosela ini memiliki penurunan aktivitas menjadi lemah sebagai antioksidan saat disimpan di suhu ruang dan menjadi sedang saat penyimpanan di suhu sejuk dan dingin. Berdasarkan hasil tersebut, diketahui bahwa infusa kelopak bunga rosela merah 10% selama penyimpanan mempunyai nilai aktivitas IC_{50} paling besar pada penyimpanan selama 8 hari di suhu kamar.

Hasil Pengamatan Warna Infusa Rosela selama Penyimpanan

Warna merupakan parameter penting dari sebuah produk pangan karena secara visual faktor ini terlihat perubahannya jika terjadi penurunan stabilitas. Pengukuran warna secara objektif sering dilakukan untuk mengukur warna pada produk. Analisis warna infusa kelopak bunga rosela dilihat berdasarkan tingkat warna merah (R), hijau (G) dan biru (B) dapat dilihat pada [Tabel 1](#).

Hasil pengujian menunjukkan bahwa penyimpanan dan hari ke-0 sampai hari ke-8 intensitas warna infusa rosela memberikan nilai R (merah) semakin menurun. Hal tersebut menunjukkan terjadi penurunan intensitas warna merah infusa seiring lama waktu penyimpanan. Nilai G (hijau) dan B (biru) kurang dominan apabila dibandingkan dengan nilai R (merah) yang dihasilkan rosela merah. Hal tersebut menunjukkan bahwa warna merah pada infusa kelopak bunga rosela lebih dominan dibandingkan warna hijau dan biru. Namun, intensitas nilai G dan B selama waktu penyimpanan infusa rosela juga menunjukkan penurunan yang nyata.

Tabel 1. Nilai Warna Chromameter Infusa Kelopak Bunga Rosela Merah selama Penyimpanan

Kondisi	Penyimpanan Lama	R	G	B	Intensitas Warna
Suhu Ruang	Hari ke-0	255	24	33	Cheey red
	Hari ke-1	231	4	0	Red
	Hari ke-2	222	0	0	Red
	Hari ke-3	206	0	0	Red
	Hari ke-4	198	0	0	Red
	Hari ke-7	189	0	0	Dark red
	Hari ke-8	181	0	0	Dark red
	Suhu sejuk	Hari ke-0	255	24	33
Hari ke-1		239	4	0	Red
Hari ke-2		239	0	0	Red
Hari ke-3		222	0	0	Red
Hari ke-4		214	0	0	Red
Hari ke-7		206	0	0	Red
Hari ke-8		198	0	0	Red
Suhu dingin		Hari ke-0	255	24	33
	Hari ke-1	255	4	0	Red
	Hari ke-2	247	0	0	Red
	Hari ke-3	239	8	0	Red
	Hari ke-4	239	4	0	Red
	Hari ke-7	231	4	0	Red
	Hari ke-8	222	0	0	Red

Setelah dilakukan penyimpanan, hasil penurunan aktivitas yang paling besar terjadi pada penyimpanan suhu ruang (30°C) hari ke-7 telah menunjukkan aktivitas antioksidan yang lemah dan perubahan warna infusa menjadi merah gelap. Hasil aktivitas maupun warna di suhu ruang berbeda makna secara signifikan selama 0-8 hari penyimpanan. Sehingga infusa kelopak bunga rosela merah tidak stabil sampai 1 hari jika disimpan pada suhu ruang 30°C. Pada suhu sejuk (11°C), aktivitas antioksidan yang berbeda makna terlihat pada hari ke-3 penyimpanan dengan perubahan warna menjadi merah. Sehingga dilihat dari parameter aktivitas dan warna, infusa kelopak bunga rosela tidak stabil selama 3 hari penyimpanan suhu sejuk. Meskipun sebenarnya pada penyimpanan suhu sejuk hingga di akhir hari ke-8 masih menunjukkan aktivitas antioksidan yang sedang, akan tetapi penurunan sebesar 43,03% dari kondisi awal penyimpanan terlihat di hari ke-3 masa simpan. Sehingga hampir setengah dari aktivitas

telah hilang di hari ke-3 penyimpanan suhu sejuk meskipun secara potensi masih menunjukkan aktivitas antioksidan yang sedang.

Berbeda dengan suhu ruang dan sejuk, pada penyimpanan suhu dingin (6°C) terlihat kestabilan yang baik selama penyimpanan 0-8 hari. Di akhir masa simpan, hari ke-8, aktivitas menunjukkan potensi sedang sebagai antioksidan sedangkan potensi aktivitas yang kuat masih terlihat di hari ke-2 penyimpanan. Hasil ini menurut analisis statistik tidak berbeda makna secara signifikan antara kondisi awal penyimpanan hari ke-0 dengan hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3, hari ke-4, hari ke-7, dan hari ke-8. Penyimpanan suhu dingin pada penelitian ini dilakukan pada lemari *freezer* yang secara teori memiliki suhu <0°C. Sampel sediaan dari infusa rosela yang beku perlu dilakukan proses *thawing* dengan cara merendam sampel di dalam air dingin hingga mencair. Suhu dingin peneliti menggunakan 6°C merupakan hasil pengukuran sampel rosela yang telah mencair. Proses *thawing* ini dibutuhkan sekitar 60 menit, sehingga perlu diperhatikan supaya *thawing* ini tidak memengaruhi kestabilan sampel infusa kelopak bunga rosela.

Infusa yang memiliki kandungan air tinggi sebagai pelarut utama menjadi faktor utama cepatnya mengalami degradasi di penyimpanan selama 8 hari. Reaksi kimia yang terjadi akibat adanya air adalah reaksi hidrolisis, yang merupakan salah satu reaksi utama dalam degradasi produk. Terjadinya hidrolisis pada ikatan gula antara gugus aglikon dengan gugus glikon menyebabkan degradasi antosianin membentuk senyawa *carbinol* dan *chalcone* yang tidak berwarna (Sharara, 2017). Perubahan struktur senyawa antosianin akibat adanya degradasi menyebabkan penurunan kandungan total antosianin pada infusa rosela sehingga terjadi penurunan aktivitas antioksidan selama penyimpanan.

Bentuk senyawa hasil degradasi dari reaksi hidrolisis membentuk gugus *carbinol* dan *chalcone* yang menyebabkan terjadinya perubahan warna (Mehran *et al.*, 2020). Ketidakstabilan antosianin cenderung meningkat selama proses penyimpanan yang diiringi dengan kenaikan suhu. Suhu berpengaruh terhadap kestabilan warna ekstrak rosela. Semakin meningkatnya suhu dapat menyebabkan hilangnya glikosil pada antosianin dengan reaksi hidrolisis pada ikatan glikosidik (van Boekel *et al.*, 2010). Aglikon yang dihasilkan kurang stabil dan menyebabkan hilangnya warna pada antosianin (Hayati *et al.*, 2012). Suhu yang relatif tinggi dapat menyebabkan sebagian antosianin mengalami degradasi akibat terjadinya hidrolisis pada ikatan glikosidik antosianin, sehingga menghasilkan aglikon yang bersifat tidak stabil dan membuka cincin aglikon, kemudian membentuk gugus *carbinol* dan *chalcone* yang tidak berwarna (Inggrid *et al.*, 2018).

Reaksi hidrolisis karena adanya air menyebabkan sensitivitas senyawa terhadap suatu suhu meningkat sehingga menyebabkan degradasi produk semakin cepat. Kadar air yang tinggi secara signifikan memperpendek umur simpan karena air bebas memfasilitasi reaksi degradasi antosianin. Oksigen juga memainkan peran penting dalam proses degradasi antosianin. Kehadiran oksigen dapat mempercepat degradasi dengan mekanisme oksidatif secara langsung dan/atau melalui kerja suatu enzim pengoksidasi oksidasi seperti enzim polifenol oksidase (PPO) membentuk produk kondensasi coklat (Patras *et al.*, 2010). Enzim PPO tersebut memiliki

kondisi optimum sebagai katalis reaksi hidrolisis saat berada pada suhu 40°C. Oleh karena itu, penurunan aktivitas antioksidan terbesar ditunjukkan pada produk yang disimpan pada suhu ruang (30°C) karena suhu yang relatif mendekati 40°C mengalami degradasi antosianin yang semakin meningkat.

Dari penelitian ini diketahui bahwa suhu dan lama penyimpanan berpengaruh terhadap perubahan warna dan aktivitas antioksidan infusa kelopak bunga rosela merah. Data warna juga memberikan hasil yang berbeda secara signifikan dari hari pertama penyimpanan. Dari parameter aktivitas antioksidan, infusa rosela stabil di suhu dingin (6°C) hingga 8 hari penyimpanan, tidak lebih dari 3 hari penyimpanan bila disimpan pada suhu sejuk (11°C), dan tidak stabil sejak hari pertama penyimpanan pada suhu ruang (30°C). Namun, untuk menentukan tanggal kadaluarsa yang tepat atau *shelf life* dari sediaan infusa kelopak bunga rosela ini perlu adanya parameter lain selain dilihat dari perubahan warna dan aktivitas. Penetapan kadar antosianin dan kestabilan terhadap mikroorganisme juga menjadi parameter kestabilan produk. Oleh karena itu, perlu dilakukan analisis kandungan senyawa antosianin dan cemaran mikroba sebagai parameter lain untuk menentukan tanggal kadaluarsa dari produk infusa kelopak bunga rosela merah.

Hasil Pengolahan Data

Dari hasil uji MANOVA dengan derajat kepercayaan 0,95 ($\alpha = 0,05$) didapatkan hasil sig < 0,05 di kelompok faktor suhu penyimpanan dan faktor lama penyimpanan, maka ada perbedaan yang bermakna antara aktivitas antioksidan dengan suhu dan lama penyimpanan. Hal yang sama terlihat pada variabel warna infusa rosela dengan suhu dan lama penyimpanan didapatkan hasil sig < 0,05, maka ada perbedaan bermakna antara nilai warna infusa rosela dengan suhu dan lama penyimpanan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap perubahan warna infusa kelopak bunga rosela merah. Hasil warna memiliki perbedaan bermakna terlihat sejak hari pertama penyimpanan di suhu ruang (30°C), sejuk (11°C), dan dingin (6°C). Kemudian terdapat pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan infusa kelopak bunga rosela merah. Penurunan aktivitas secara bermakna terlihat pada hari ke-1 penyimpanan di suhu ruang (30°C), dan hari ke-3 penyimpanan di suhu sejuk (11°C). Tidak ada pengaruh penurunan aktivitas antioksidan yang bermakna dari infusa rosela merah di suhu dingin (6°C) hingga 8 hari penyimpanan.

DAFTAR PUSTAKA

- ASEAN Guidelines (2017) 'Annex V Asean Guidelines on Stability Study and Shelf-Life of Traditional medicine', pp. 0–21.
- Christian, K.R., Nair, M.G. and Jackson, J.C. (2006) 'Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory activity of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*)', *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(8), pp.

778-783. doi: 10.1016/j.jfca.2006.04.004.

- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I. and Heinrich, M. (2014) '*Hibiscus sabdariffa* L. - A phytochemical and pharmacological review', *Journal of Food Chemistry*, 165, pp. 424-443. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.002.
- Dhar, P., Kar, C.S., Ojha, D., Pandey, S.K. and Mitra, J. (2015) 'Chemistry, phytotechnology, pharmacology and nutraceutical functions of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) and roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seed oil: An overview', *Industrial Crops and Products*, 77, pp. 323-332.
- Djaeni, M. (2017) 'Ekstraksi Antosianin dari Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Berbantu Ultrasonik: Tinjauan Aktivitas Antioksidan', *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(3), pp. 50-62. doi: 10.17728/jatp.236.
- European Medicines Agency (2003) 'ICH Topic Q1A (R2): Stability Testing of New Drug Substances and Products'. London: European Medicines Agency.
- FDA (2016) 'USP 39 Published General Chapter <1132> Residual Host Cell Protein Measurement in Biopharmaceuticals', *Usp 39*, pp. 173–182.
- Hayati, E., Budi, U. and Hermawan, R. (2012) 'Konsentrasi Total Senyawa Antosianin Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.): Pengaruh Temperatur dan pH', *Jurnal Kimia*, 6(2), pp. 138-147.
- Inggrid, M., Hartanto, Y. and Widjaja, J.F. (2018) 'Karakteristik Antioksidan pada Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.)', *Jurnal Rekayasa Hijau*, 2(3), pp. 62-72. doi: 10.26760/jrh.v2i3.2517.
- Juliani, H.R., Welch, C.R., Wu, Q., Diouf, B., Malainy, D. and Simon, J.E. (2009) 'Chemistry and quality of hibiscus (*Hibiscus sabdariffa*) for developing the natural-product industry in Senegal', *Journal of Food Science*, 74(2), pp. 524-543. doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01076.
- Kouakou, H.T., Kouakou, L.K., Decendit, A., Badoc, A., Da-Costa, G., Merillon, J.-M. and Teguo, P.W. (2010) 'Preparative Purification of Delphinidin 3-O-sambubioside from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Petals by fast Centrifugation Partition Chromatography', *Journal of Advances in Chemistry*, 6(2), pp. 999-1004. doi: 10.24297/jac.v6i2.2628.
- Mehran, M., Masoum, S. and Memarzadeh, M. (2020) 'Improvement of thermal stability and antioxidant activity of anthocyanins of *Echium amoenum* petal using maltodextrin/modified starch combination as wall material', *International Journal of Biological Macromolecules*, 148, pp.

768-776. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.197.

- Mozaffari-Khosravi, H., Jalali-Khanabadi, B.A., Afkhami-Ardekani, M. and Fatehi, F. (2009) 'Effects of sour tea (*Hibiscus sabdariffa*) on lipid profile and lipoproteins in patients with type II diabetes', *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 15(8), pp. 899–903. doi: 10.1089/acm.2008.0540.
- Molyneux, P. (2004) 'The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity', *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 50(June 2003), pp. 211–219.
- Patras, A., Brunton, N.P., O'Donnell, C. and Tiwari, B.K. (2010) 'Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation', *Journal of Trends in Food Science and Technology*, 21, pp. 3-11. doi: 10.1016/j.tifs.2009.07.004.
- Sachan, A.K. and Kumar, A. (2015) 'Stability Testing of Herbal Products', *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(12), pp. 511–514.
- Sharara, M.S. (2017) 'Copigmentation Effect of Some Phenolic Acids on Stabilization of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) Anthocyanin Extract', *American Journal of Food Science and Technology*, 5(2), pp. 45-52.
- Van-Boekel, M., Vincenzo, F. and Nicoletta, P. (2010) 'A review on the beneficial aspects of food processing', *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(9), pp. 1215-1247. doi: 10.1002/mnfr.200900608.
- Yang, M.Y., Peng, C.H., Chan, K.C., Yang, Y.I., Huang, C.N. and Wang, C.J. (2010) 'The hypolipidemic effect of *Hibiscus sabdariffa* polyphenols via inhibiting lipogenesis and promoting hepatic lipid clearance', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2), pp. 850-859.
- Zhen, J., Villani, T.S., Guo, Y., Qi, Y., Chin, K., Pan, M.H. and Wu, Q. (2015) 'Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of *Hibiscus sabdariffa* leaves', *Journal of Food Chemistry*, 190, pp. 673-680. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.06.006.