

LAMPIRAN



Lampiran 1. Hasil uji taksonomi tumbuhan rosella



DIREKTORAT PENGELOLAAN LABORATORIUM, FASILITAS RISET, DAN KAWASAN SAINS TEKNOLOGI

Gedung B.J. Habibie Jalan M.H. Thamrin Nomor 8,
Jakarta Pusat 10340

Telepon/WA: 0811 8612 392; E-mail: diti-plfrkst@brin.go.id
www.brin.go.id

<u>No. ID ELSA</u> <i>Transaction Number</i>	: 40746
<u>Metode</u> <i>Method</i>	: Identifikasi secara langsung dan membandingkan dengan literatur.
<u>Nama Laboratorium</u> <i>Name of Laboratory</i>	: Laboratorium Karakterisasi Kebun Raya "Eka Karya" Bali - BRIN
<u>Alamat Laboratorium</u> <i>Laboratory Address</i>	: Kebun Raya Eka Karya Bali Candikuning, Baturiti, Tabanan -Bali 82191 Email : layanana@mail.lipi.go.id ; 08118612378

Kondisi Pengukuran/Parameter Pengujian *Measurement Conditions/Testing Parameters:*

-

Hasil Pengujian *Testing Results :*

No.	No. Kol.	Jenis	Suku	Identifikator/ Determinator
1.	-	<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Malvaceae	I Made Sumerta, S. P., I Nyoman Sudiatna

Catatan *Note:*

Data hasil pengujian yang autentik adalah data yang berada di Repositori Ilmiah Nasional (RIN) BRIN yang dapat diakses melalui *link url* yang tertera pada hasil pengujian pada lembar ini. *Link url* bersifat unik dan, hanya dibagikan untuk pengguna pada hasil uji transaksi pada Laporan Hasil Uji ini.

Daftar sampel yang dilakukan pengujian terdapat di lembar pengesahan.
Penamaan hasil identifikasi tanaman terdapat dalam **Lampiran**.

Terima kasih sudah melakukan pengujian/ penyewaan alat/ proses riset dengan fasilitas yang tersedia di Laboratorium Karakterisasi Kebun Raya Eka Karya Bali. Jika dikemudian hari, hasil pengujian atau analisis ini akan dipublikasikan, mohon kiranya bisa menambahkan dalam Ucapan Terima Kasih atau Acknowledgement di dalam publikasi Anda,

seperti dalam contoh format berikut:

Dalam bahasa Indonesia : "Penelitian ini didukung oleh fasilitas riset, dan dukungan ilmiah serta teknis dari Laboratorium Karakterisasi Kebun Raya "Eka Karya" Bali di Badan Riset dan Inovasi Nasional".

Dalam bahasa Inggris : "The authors acknowledge the facilities, scientific and technical support from "Eka Karya" Botanical Garden Characterization Laboratories, National Research and Innovation Agency through E- Layanan Sains, Badan Riset dan Inovasi Nasional.



**DIREKTORAT PENGELOLAAN LABORATORIUM,
FASILITAS RISET, DAN KAWASAN SAINS TEKNOLOGI**

Gedung B.J. Habibie Jalan M.H. Thamrin Nomor 8,
Jakarta Pusat 10340

Telepon/WA: 0811 8612 392; E-mail: dit-plfrkst@brin.go.id
www.brin.go.id

Klasifikasi Tanaman Rosella

Kingdom: *Plantae* (Tumbuhan)
 Subkingdom: *Tracheobionta* (Tumbuhan berpembuluh)
 Superdivisi: *Spermatophyta* (Menghasilkan biji)
 Divisi: *Magnoliophyta* (Tumbuhan berbunga)
 Kelas: *Magnoliopsida* (berkeping dua/dikotil)
 Subkelas: *Rosidae*
 Ordo: *Malvales*
 Suku: *Malvaceae*
 Marga: *Hibiscus*
 Jenis: *Hibiscus sabdariffa* L.

Sinonim:

Abelmoschus cruentus (Bertol.) Walp.
Furcaria sabdariffa Ulbr.
Hibiscus cruentus Bertol.
Hibiscus fraternus L.
Hibiscus palmatilobus Baill.
Sabdariffa rubra Kostel.

Reference:

1. <https://bioportal.naturalis.nl>, diakses tanggal 20 Mei 2022
2. <http://www.worldfloraonline.org>, diakses tanggal 20 Mei 2022
3. Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2016.
4. Cole, Theodor C H; Hilger, Hartmut H.; Stevens, Peter (May 2019), "Angiosperm Phylogeny Poster - Flowering Plant Systematics"

Lampiran 2. Perhitungan nilai rendemen ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella

- Nilai rendemen ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar

Berat kelopak bunga rosella yang digunakan per 1 kali pengulangan : 50 gram

- Rendemen I

$$= \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat bahan yang digunakan}} \times 100\%$$

$$= \frac{4,8344 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 9,67\%$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan untuk rendemen II, dan III ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar. Adapun hasil perhitungan rendemen I, II, dan III ditampilkan dalam tabel berikut :

No	Ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar	Berat (gr)	Berat Ekstrak (gr)	Rendemen (%)	X±SD
1	Botol kosong	1,6768			
	Botol kosong + ekstrak (I)	6,5112	4,83	9,67	
2	Botol kosong	1,687			
	Botol kosong + ekstrak (II)	7,512	5,83	11,65	11,78±2,17
3	Botol kosong	1,6839			
	Botol kosong + ekstrak (III)	8,6895	7,01	14,01	

- Nilai rendemen ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven

Berat kelopak bunga rosella yang digunakan per 1 kali pengulangan : 50 gram

- Rendemen I

$$= \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat bahan yang digunakan}} \times 100\%$$

$$= \frac{20,7048 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 41,41\%$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan untuk rendemen II, dan III ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven. Adapun hasil perhitungan rendemen I, II, dan III ditampilkan dalam tabel berikut :

No	Ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven	Berat (gr)	Berat Ekstrak (gr)	Rendemen (%)	X±SD
1	Botol kosong	1,8315	20,70	41,41	
	Botol kosong + ekstrak (I)	22,5363			
2	Botol kosong	1,8310	19,81	39,62	39,82±1,50
	Botol kosong + ekstrak (II)	21,6434			
3	Botol kosong	1,8311	19,21	38,42	
	Botol kosong + ekstrak (III)	21,0417			

- Nilai rendemen ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering *freeze dried*
Berat kelopak bunga rosella yang digunakan per 1 kali pengulangan : 50 gram
- Rendemen I

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat bahan yang digunakan}} \times 100\% \\
 &= \frac{24,1893 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 48,38\%
 \end{aligned}$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan untuk rendemen II, dan III ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering *freeze dried*. Adapun hasil perhitungan rendemen I, II, dan III ditampilkan dalam tabel berikut :

No	Ekstrak etanol- air kelopak bunga rosella kering <i>freeze dried</i>	Berat (gr)	Berat Ekstrak (gr)	Rendemen (%)	X±SD
	Botol kosong	1,8122			
1	Botol kosong + ekstrak (I)	26,0015	24,19	48,38	
	Botol kosong	1,7293			
2	Botol kosong + ekstrak (II)	24,519	22,79	45,58	48,69±3,28
	Botol kosong	1,7298			
3	Botol kosong + ekstrak (III)	27,7922	26,06	52,12	



Lampiran 3. Perhitungan kadar air kelopak bunga rosella

- Nilai kadar air yang hilang pada sampel kelopak bunga rosella kering oven

$$= \frac{\text{berat sampel sebelum dikeringkan} - \text{berat sampel setelah dikeringkan}}{\text{berat sampel sebelum dikeringkan}} \times 100\%$$

$$= \frac{2043,3311 - 198,4121}{2043,3311}$$

$$= 90,29\%$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan nilai kadar air yang hilang pada sampel kelopak bunga rosella kering *freeze dried*. Adapun hasil perhitungannya ditampilkan dalam tabel berikut :

No	Sampel	Berat Awal (g)	Berat Kering (g)	Water loss (%)
1	SE	50	-	-
2	KO	2043,3311	198,4121	90,29
3	FD	2153,3043	180,62267	91,61

Keterangan :

SE = Kelopak Bunga Rosella Segar

KO = Kelopak Bunga Rosella Kering Oven

FD = Kelopak Bunga Rosella Kering *Freeze dried*

Lampiran 4. Perhitungan total antosianin

- Pembuatan larutan buffer pH 1

KCl ditimbang sebanyak :

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1000}{V \text{ (mL)}}$$

$$0.2 \text{ M} = \frac{m}{74,5} \times \frac{1000}{100} = 1,49 \text{ gram}$$

Jadi, 1,49 gram KCl dilarutkan dengan aquades menggunakan labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

- Pembuatan larutan buffer pH 4,5

Na-asetat ditimbang sebanyak :

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1000}{V \text{ (mL)}}$$

$$0.2 \text{ M} = \frac{m}{82} \times \frac{1000}{100} = 1,64 \text{ gram}$$

Jadi, 1,64 gram Natrium asetat dilarutkan dengan aquades menggunakan labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

- Perhitungan Absorbansi

- Absorbansi ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar

Ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar 1

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

$$A = (0,371 - 0,030)_{\text{pH } 1,0} - (0,162 - 0,036)_{\text{pH } 4,5} = 0,216$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan absorbansi ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar 2 dan 3. Adapun hasil perhitungan absorbansi ditampilkan dalam tabel berikut :

Sampel	Pengulangan	Absorbansi			
		pH 1		pH 4,5	
		510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
SE 1	I	0,367	0,03	0,163	0,037
	II	0,368	0,029	0,165	0,037
	III	0,379	0,03	0,158	0,034
SE 2	I	0,337	0,023	0,173	0,027
	II	0,340	0,018	0,134	0,025
	III	0,342	0,022	0,132	0,026
SE 3	I	0,382	0,052	0,202	0,051
	II	0,384	0,054	0,236	0,05
	III	0,389	0,053	0,183	0,058

Sampel	Absorbansi				Absorbansi
	Rata-Rata pH 1		Rata-Rata pH 4,5		
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm	
SE 1	0,371	0,030	0,162	0,036	0,216
SE 2	0,340	0,021	0,146	0,026	0,198
SE 3	0,385	0,053	0,207	0,053	0,178

- Absorbansi ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven Ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven 1

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{pH 4,5}$$

$$A = (0,587 - 0,037)_{pH 1,0} - (0,187 - 0,034)_{pH 4,5} = 0,397$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan absorbansi ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven 2 dan 3. Adapun hasil perhitungan absorbansi ditampilkan dalam tabel berikut :

Sampel	Pengulangan	Absorbansi			
		pH 1		pH 4,5	
		510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
KO 1	I	0,584	0,036	0,19	0,036
	II	0,588	0,038	0,185	0,034
	III	0,590	0,038	0,186	0,033
KO 2	I	0,611	0,028	0,211	0,05
	II	0,613	0,031	0,209	0,051
	III	0,618	0,036	0,205	0,054
KO 3	I	0,588	0,027	0,169	0,031
	II	0,589	0,029	0,169	0,033
	III	0,591	0,029	0,169	0,034

Sampel	Absorbansi				Absorbansi
	Rata-Rata pH 1		Rata-Rata pH 4.5		
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm	
KO 1	0,587	0,037	0,187	0,034	0,397
KO 2	0,614	0,032	0,208	0,052	0,426
KO 3	0,589	0,028	0,169	0,033	0,425

- Absorbansi ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering *freeze dried*
Ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering *freeze dried* 1

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

$$A = (0,758 - 0,035)_{\text{pH } 1,0} - (0,192 - 0,045)_{\text{pH } 4,5} = 0,576$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan absorbansi ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering *freeze dried* 2 dan 3. Adapun hasil perhitungan absorbansi ditampilkan dalam tabel berikut :

Sampel	Pengulangan	Absorbansi			
		pH 1		pH 4,5	
		510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
FD 1	I	0,757	0,036	0,187	0,041
	II	0,758	0,035	0,191	0,048
	III	0,759	0,035	0,197	0,045
FD 2	I	0,746	0,034	0,21	0,05
	II	0,746	0,036	0,208	0,059
	III	0,747	0,035	0,209	0,055
FD 3	I	0,807	0,04	0,195	0,062
	II	0,808	0,039	0,196	0,046
	III	0,81	0,039	0,194	0,049

Sampel	Absorbansi				Absorbansi
	Rata-Rata pH 1		Rata-Rata pH 4.5		
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm	
FD 1	0,758	0,035	0,192	0,045	0,576
FD 2	0,746	0,035	0,209	0,055	0,557
FD 3	0,808	0,039	0,195	0,052	0,626

- Perhitungan total antosianin
 - Total antosianin ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar
 1. Ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar 1

$$\text{Total antosianin} = \frac{A \times MW \times DF \times V \times 100}{\epsilon \times l \times W}$$

$$\text{Total antosianin} = \frac{0,216 \times 449,2 \times 10 \times 5 \times 100}{26,900 \times 1 \times 0,1010} = 178,29 \text{ mg/100g}$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan total antosianin ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar 2 dan 3. Adapun hasil perhitungan total antosianin ditampilkan dalam tabel berikut :

Sampel	Antosianin (mg/100g)	Rata-rata antosianin (mg/100g)
SE 1	178,29	163,33
SE 2	164,12	

- Total antosianin ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven

1. Ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven 1

$$\text{Total antosianin} = \frac{A \times MW \times DF \times V \times 100}{\epsilon \times l \times W}$$

$$\text{Total antosianin} = \frac{0,397 \times 449,2 \times 10 \times 5 \times 100}{26,900 \times 1 \times 0,1013} = 327,49 \text{ mg/100g}$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan total antosianin ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven 2 dan 3, Adapun hasil perhitungan total antosianin ditampilkan dalam tabel berikut :

Sampel	Antosianin (mg/100g)	Rata-rata antosianin (mg/100g)
SE 1	327,49	
SE 2	349,47	341,41
SE 3	347,28	

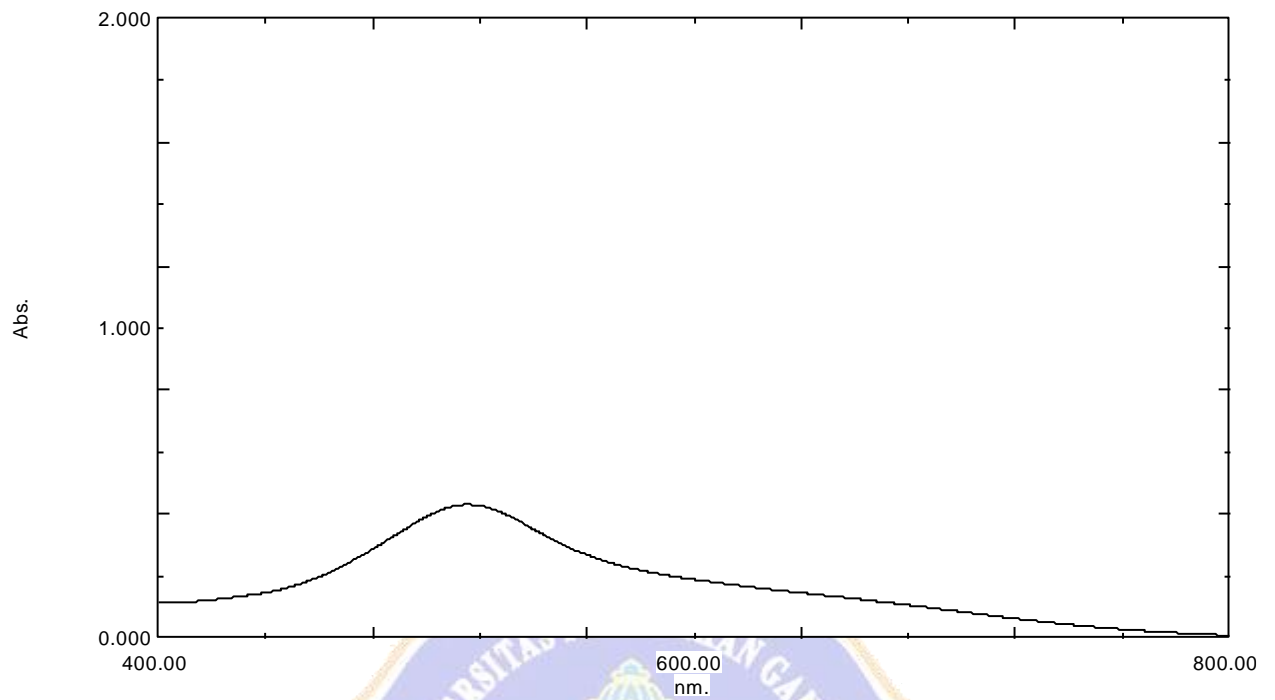
- Total antosianin ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering *freeze dried*1. Ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering *freeze dried* 1

$$\text{Total antosianin} = \frac{A \times MW \times DF \times V \times 100}{\epsilon \times l \times W}$$

$$\text{Total antosianin} = \frac{0,576 \times 449,2 \times 10 \times 5 \times 100}{26,900 \times 1 \times 0,1017} = 472,62 \text{ mg/100g}$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan total antosianin ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering *freeze dried* 2 dan 3. Adapun hasil perhitungan total antosianin ditampilkan dalam tabel berikut :

Sampel	Antosianin (mg/100g)	Rata-rata antosianin (mg/100g)
FD 1	472,62	
FD 2	456,39	482,26
FD 3	517,78	

Lampiran 5. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

No.	P/V Wavelength nm.	Abs.
1	514,5	0,430
2	403,00	0,114

Lampiran 6. Perhitungan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella

- Pembuatan larutan DPPH 40 ppm (0,1 mM)

$$0,1 \text{ mM} = \frac{m}{M_r} \times \frac{1000}{V \text{ (mL)}}$$

$$0,1 \text{ mM} = \frac{m}{394,32} \times \frac{1000}{100}$$

$$x = 3,9432 \text{ mg}$$

Jadi, 3,9432 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dengan menggunakan pelarut methanol pro analisa 95% sebanyak 100 mL.

- Pembuatan larutan induk vitamin C

Untuk membuat larutan induk vitamin C sebanyak 25 mL dengan konsentrasi 10 ppm dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,25 mg vitamin C yang kemudian volumenya dicukupkan sampai tanda batas hingga 25 mL. Adapun perhitungannya sebagai berikut :

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{ekstrak (mg)}}{\text{pelarut (mL)}}$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{0,25 \text{ mg}}{25 \text{ mL}}$$

- Pembuatan larutan induk ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar, kering oven dan kering *freeze dried*

Untuk membuat larutan uji ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar, kering oven dan kering *freeze dried* sebanyak 25 mL dengan konsentrasi 1000 ppm dilakukan dengan menimbang sebanyak 25 mg ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar, kering oven dan kering *freeze dried* yang kemudian volumenya dicukupkan sampai tanda batas hingga 25 mL. Adapun perhitungannya sebagai berikut:

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{ekstrak (mg)}}{\text{pelarut (mL)}}$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ mL}}$$

- Perhitungan larutan seri uji ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar, kering oven dan kering *freeze dried* (12,5; 25; 50; 75; 100; 125; dan 200 ppm)
Larutan seri uji ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar, kering oven dan kering *freeze dried* dapat dibuat dari larutan induk 1000 ppm dengan menggunakan labu ukur 10 mL. adapun perhitungannya sebagai berikut:

- Konsentrasi 12,5 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \times V_1 = 12,5 \times 10$$

$$V_1 = 0,125 \text{ mL atau } 125 \text{ } \mu\text{L (jumlah yang dipipet dari larutan induk 1000 ppm)}$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan larutan seri uji ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar, kering oven dan kering *freeze dried* pada konsentrasi 12,5; 25; 50; 75; 100; 125; dan 200 ppm. Adapun hasil perhitungannya ditampilkan dalam tabel berikut:

M ₁ (ppm)	M ₂ (ppm)	V ₂ (mL)	V ₁ (mL)	V ₁ (μL)
1000	12,5	10	0,125	125
1000	25	10	0,25	250
1000	50	10	0,5	500
1000	75	10	0,75	750
1000	100	10	1	1000
1000	125	10	1,25	1250
1000	200	10	2	2000

Keterangan :

M₁ = Konsentrasi larutan induk ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar, kering oven dan kering *freeze dried*

M₂ = Konsentrasi larutan seri ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar, kering oven dan kering *freeze dried* yang akan diuji

V₁ = Volume larutan induk yang diambil

V₂ = Volume pengenceran

- Perhitungan larutan pembanding vitamin C (0,1; 0,2 ;0,3; 0,4; dan 0,5 ppm)
Larutan pembanding (kontrol positif) vitamin C dapat dibuat dari larutan induk 10 ppm dengan menggunakan labu ukur 10 mL. adapun perhitungannya sebagai berikut:

- Konsentrasi 0,1 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$10 \times V_1 = 0,1 \times 10$$

$$V_1 = 0,1 \text{ mL atau } 100 \text{ } \mu\text{L (jumlah yang dipipet dari larutan induk 10 ppm)}$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan larutan seri vitamin C pada konsentrasi 0,2 ;0,3; 0,4; dan 0,5 ppm. Adapun hasil perhitungannya ditampilkan dalam tabel berikut :

M ₁ (ppm)	M ₂ (ppm)	V ₂ (mL)	V ₁ (mL)	V ₁ (μL)
10	0,1	10	0,1	100
10	0,2	10	0,2	200
10	0,3	10	0,3	300
10	0,4	10	0,4	400
10	0,5	10	0,5	500

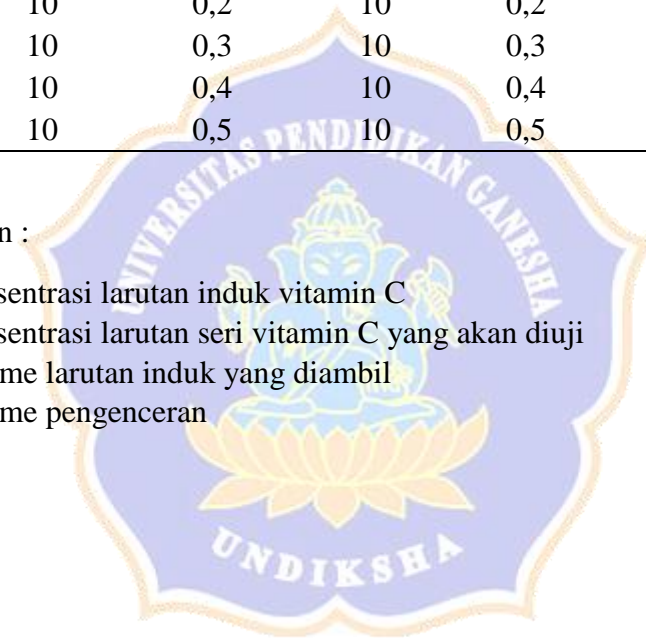
Keterangan :

M₁ = Konsentrasi larutan induk vitamin C

M₂ = Konsentrasi larutan seri vitamin C yang akan diuji

V₁ = Volume larutan induk yang diambil

V₂ = Volume pengenceran



Lampiran 7. Perhitungan %inhibisi dan nilai IC₅₀ ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella

- Perhitungan %inhibisi ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar

- Ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar 1

Konsentrasi 12,5 ppm

$$\% \text{inhibisi} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Sampel}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100\%$$

$$\% \text{inhibisi} = \frac{0,426 - 0,327}{0,426} \times 100\%$$

$$\% \text{inhibisi} = 23,24\%$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan %inhibisi ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar 1,2, dan 3 pada konsentrasi 12,5; 25; 100; dan 200 ppm. Adapun hasil perhitungannya ditampilkan dalam tabel berikut :

Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi rata-rata	% Inhibisi
SE 1	12,5	0,426	0,327	23,24
	25	0,426	0,314	26,29
	100	0,426	0,256	39,91
	200	0,426	0,151	64,55
SE 2	12,5	0,426	0,329	22,77
	25	0,426	0,319	25,12
	100	0,426	0,257	39,67
	200	0,426	0,155	63,62
SE 3	12,5	0,426	0,337	20,89
	25	0,426	0,324	23,94
	100	0,426	0,26	38,97
	200	0,426	0,167	60,80

- Perhitungan %inhibisi ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven

- Ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven 1

Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{inhibisi} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Sampel}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100\%$$

$$\% \text{inhibisi} = \frac{0,426 - 0,31}{0,426} \times 100\%$$

$$\% \text{inhibisi} = 27,23\%$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan %inhibisi ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven 1,2, dan 3 pada konsentrasi 25; 50; 75; dan 100 ppm. Adapun hasil perhitungannya ditampilkan dalam tabel berikut :

Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi rata-rata	%Inhibisi
KO 1	25	0,426	0,31	27,23
	50	0,426	0,273	35,92
	75	0,426	0,222	47,89
	100	0,426	0,166	61,03
KO 2	25	0,426	0,308	27,70
	50	0,426	0,274	35,68
	75	0,426	0,223	47,65
	100	0,426	0,167	60,80
KO 3	25	0,426	0,316	25,82
	50	0,426	0,262	38,50
	75	0,426	0,199	53,29
	100	0,426	0,168	60,56

- Perhitungan %inhibisi ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering *freeze dried*

- Ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering *freeze dried* 1

Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{inhibisi} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Sampel}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100\%$$

$$\% \text{inhibisi} = \frac{0,426 - 0,282}{0,426} \times 100\%$$

$$\% \text{inhibisi} = 33,80\%$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan %inhibisi ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering *freeze dried* 1,2, dan 3 pada konsentrasi 25; 75; dan 125 ppm. Adapun hasil perhitungannya ditampilkan dalam tabel berikut :

Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi rata-rata
FD 1	25	0,426	0,282
	75	0,426	0,186
	125	0,426	0,116
FD 2	25	0,426	0,283
	75	0,426	0,19
	125	0,426	0,116
FD 3	25	0,426	0,29
	75	0,426	0,199
	125	0,426	0,118

- Perhitungan %inhibisi vitamin C (Kontrol positif)

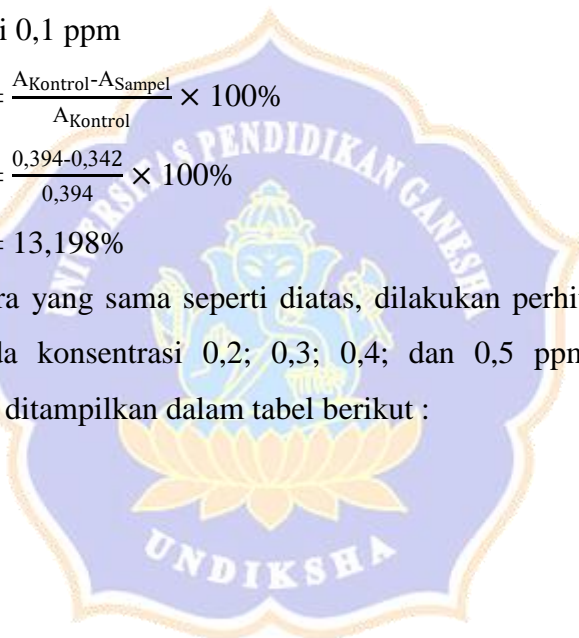
- Konsentrasi 0,1 ppm

$$\% \text{inhibisi} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Sampel}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100\%$$

$$\% \text{inhibisi} = \frac{0,394 - 0,342}{0,394} \times 100\%$$

$$\% \text{inhibisi} = 13,198\%$$

Dengan cara yang sama seperti diatas, dilakukan perhitungan %inhibisi vitamin C pada konsentrasi 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 ppm. Adapun hasil perhitungannya ditampilkan dalam tabel berikut :

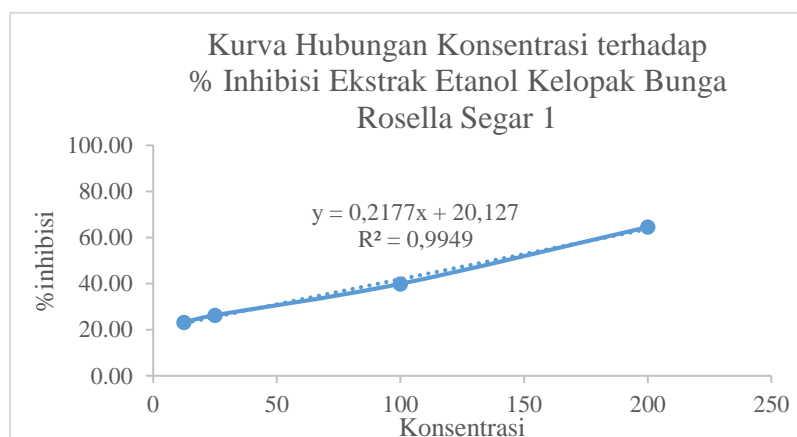


Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi	%Inhibisi	Rata- rata %inhibisi
Kontrol Positif	0,1	0,394	0,342	13.20	12,27
		0,394	0,343	12.94	
		0,394	0,352	10.66	
		0,394	0,304	22.84	
	0,2	0,394	0,306	22.34	22,42
		0,394	0,307	22.08	
		0,394	0,263	33.25	
		0,394	0,259	34.26	
	0,3	0,394	0,268	31.98	33,16
		0,394	0,224	43.15	
		0,394	0,223	43.40	
		0,394	0,228	42.13	
	0,4	0,394	0,181	54.06	42,89
		0,394	0,183	53.55	
		0,394	0,205	47.97	
		0,394	0,205	47.97	

- Perhitungan IC_{50} ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella

- Perhitungan IC_{50} ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar 1

Untuk menghitung nilai IC_{50} , maka harus dibuat terlebih dahulu persamaan refers linier dengan menggunakan aplikasi pengolahan data Microsoft excel 2013, sehingga diperoleh kurva dengan persamaan sebagai berikut :



$$y = 0,2177x + 20,127$$

$$R^2 = 0,9949$$

Perhitungan nilai IC_{50} :

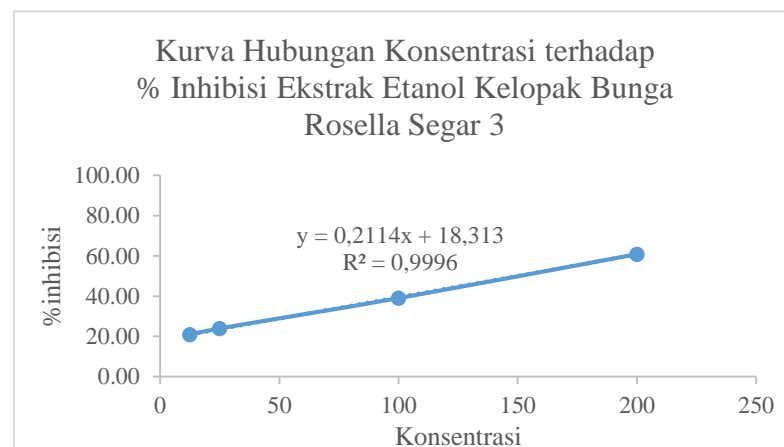
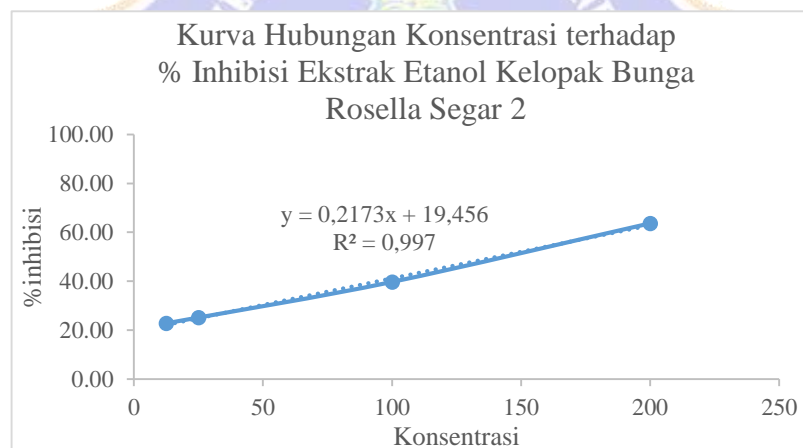
$$y = 0,2177x + 20,127$$

$$50 = 0,2177x + 20,127$$

$$x = \frac{50-20,127}{0,2177}$$

$$x = 137,22 \mu\text{g/mL}$$

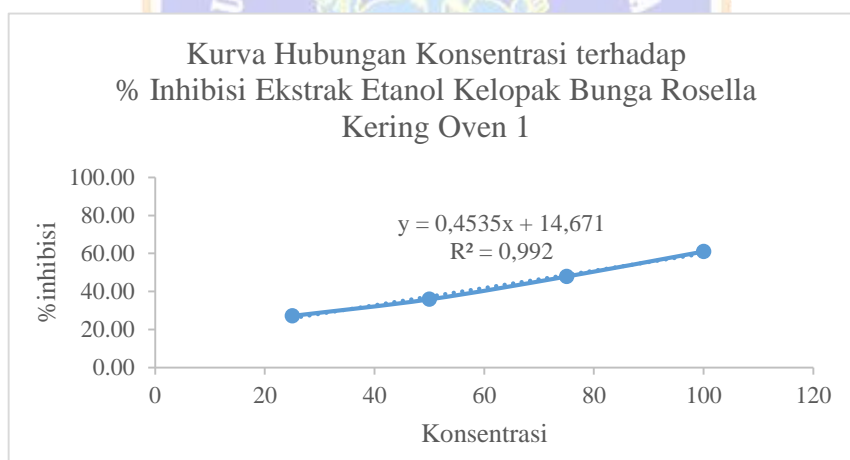
Dengan cara yang sama, kurva ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar 2 dan 3 harus dibuat terlebih dahulu untuk memperoleh persamaan refers linier dengan menggunakan aplikasi pengolahan data Microsoft excel 2013. Adapun kurva yang diperoleh sebagai berikut :



Kemudian dilakukan perhitungan IC_{50} ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar 2,3, dan rata-rata IC_{50} ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar seperti cara diatas. Adapun hasil perhitungannya ditampilkan dalam tabel berikut :

Ekstrak	Persamaan Regresi	IC_{50} (ppm)	Rata-rata IC_{50} (ppm)
SE 1	$y = 0,2177x + 20,127$	137,22	
SE 2	$y = 0,2173x + 19,456$	140,56	142,56
SE 3	$y = 0,2114x + 18,313$	149,89	

- Perhitungan IC_{50} ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven 1
Untuk menghitung nilai IC_{50} , maka harus dibuat terlebih dahulu persamaan refers linier dengan menggunakan aplikasi pengolahan data Microsoft excel 2013, sehingga diperoleh kurva dengan persamaan sebagai berikut :



$$y = 0,4535x + 14,671$$

$$R^2 = 0,992$$

Perhitungan nilai IC_{50} :

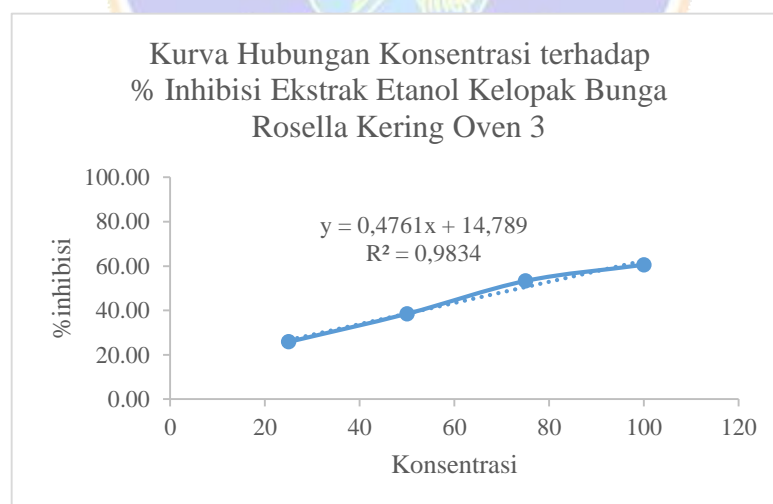
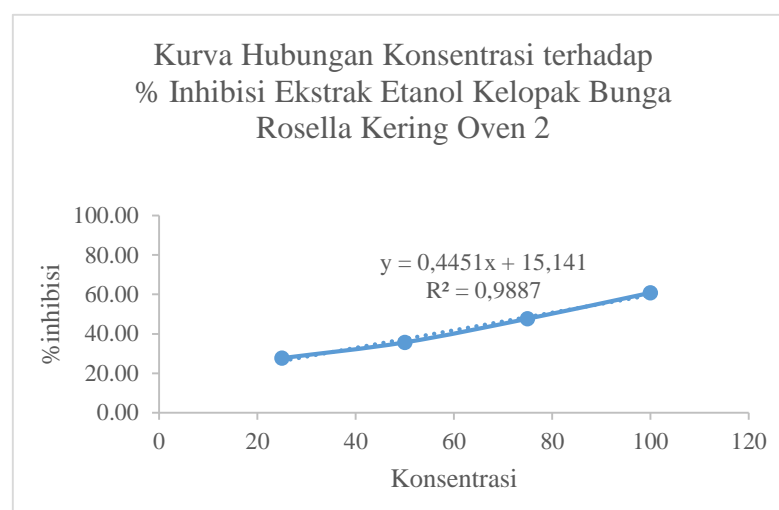
$$y = 0,4535x + 14,671$$

$$50 = 0.4535x + 14,671$$

$$x = \frac{50-14,671}{0,4535}$$

$$x = 77,90 \mu\text{g/mL}$$

Dengan cara yang sama, kurva ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven 2 dan 3 harus dibuat terlebih dahulu untuk memperoleh persamaan refers linier dengan menggunakan aplikasi pengolahan data Microsoft excel 2013. Adapun kurva yang diperoleh sebagai berikut :

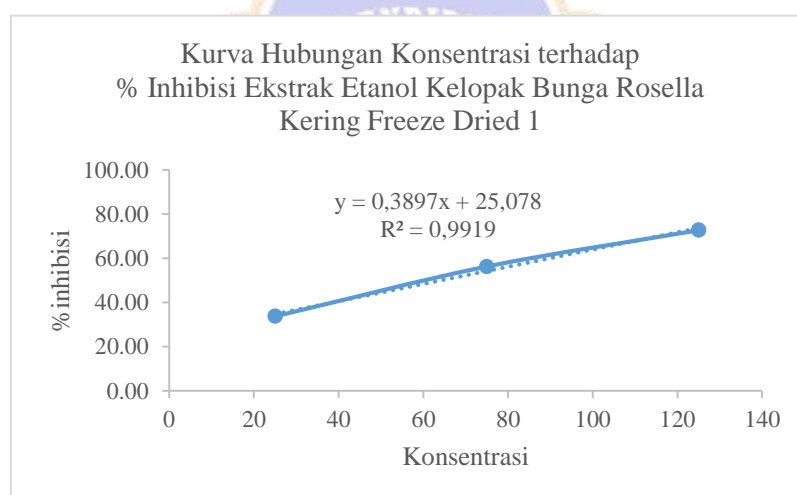


Kemudian dilakukan perhitungan IC_{50} ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven 2,3, dan rata-rata IC_{50} ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering oven seperti cara diatas. Adapun hasil perhitungannya ditampilkan dalam tabel berikut :

Ekstrak	Persamaan Regresi	IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata IC ₅₀ (ppm)
KO 1	$y = 0,4535x + 14,671$	77,9	
KO 2	$y = 0,4451x + 15,141$	78,32	76,73
KO 3	$y = 0,4761x + 14,789$	73,96	

- Perhitungan IC₅₀ ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering *freeze dried* 1

Untuk menghitung nilai IC₅₀, maka harus dibuat terlebih dahulu persamaan refers linier dengan menggunakan aplikasi pengolahan data Microsoft excel 2013, sehingga diperoleh kurva dengan persamaan sebagai berikut :



$$y = 0,3897x + 25,078$$

$$R^2 = 0,9919$$

Perhitungan nilai IC₅₀ :

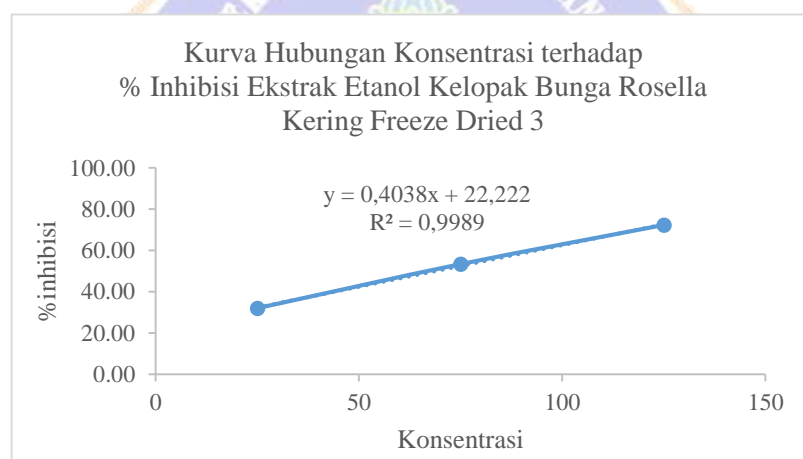
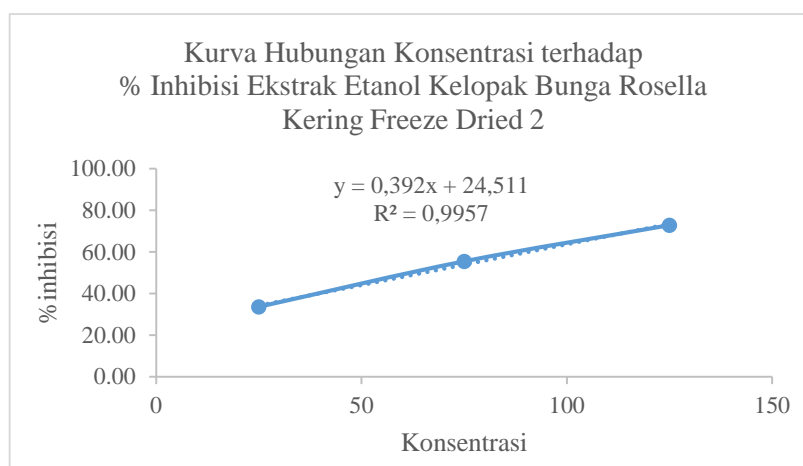
$$y = 0,3897x + 25,078$$

$$50 = 0,3897x + 25,078$$

$$x = \frac{50 - 25,078}{0,3897}$$

$$x = 63,95 \mu\text{g/mL}$$

Dengan cara yang sama, kurva ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering *freeze dried* 2 dan 3, harus dibuat terlebih dahulu untuk memperoleh persamaan refers linier dengan menggunakan aplikasi pengolahan data Microsoft excel 2013. Adapun kurva yang diperoleh sebagai berikut :

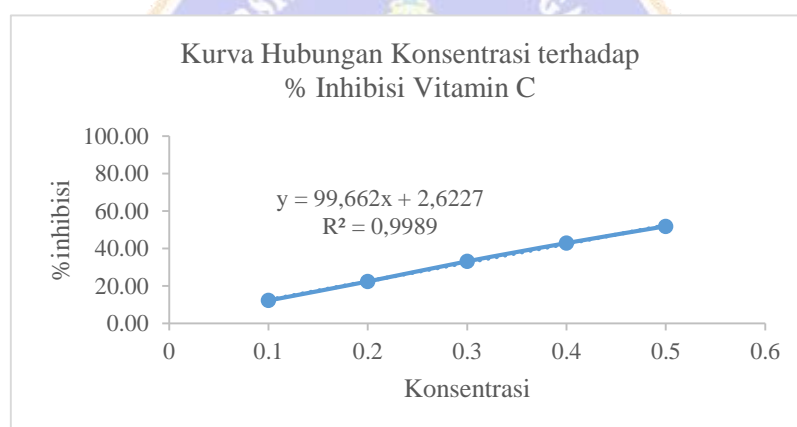


Kemudian dilakukan perhitungan IC_{50} ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella kering *freeze dried* 2 dan 3 seperti cara diatas. Adapun hasil perhitungannya ditampilkan dalam tabel berikut :

Ekstrak	Persamaan Regresi	IC_{50} (ppm)	Rata-rata IC_{50} (ppm)
FD 1	$y = 0,3897x + 25,078$	63,95	
FD 2	$y = 0,392x + 24,511$	65,02	65, 92
FD 3	$y = 0,4038x + 22,222$	68,79	

- Perhitungan IC_{50} vitamin C (Kontrol positif)

Untuk menghitung nilai IC_{50} , maka harus dibuat terlebih dahulu persamaan refers linier dengan menggunakan aplikasi pengolahan data Microsoft excel 2013, sehingga diperoleh kurva dengan persamaan sebagai berikut :



$$y = 99,662x + 2,6227$$

$$R^2 = 0,9989$$

Perhitungan nilai IC_{50} :

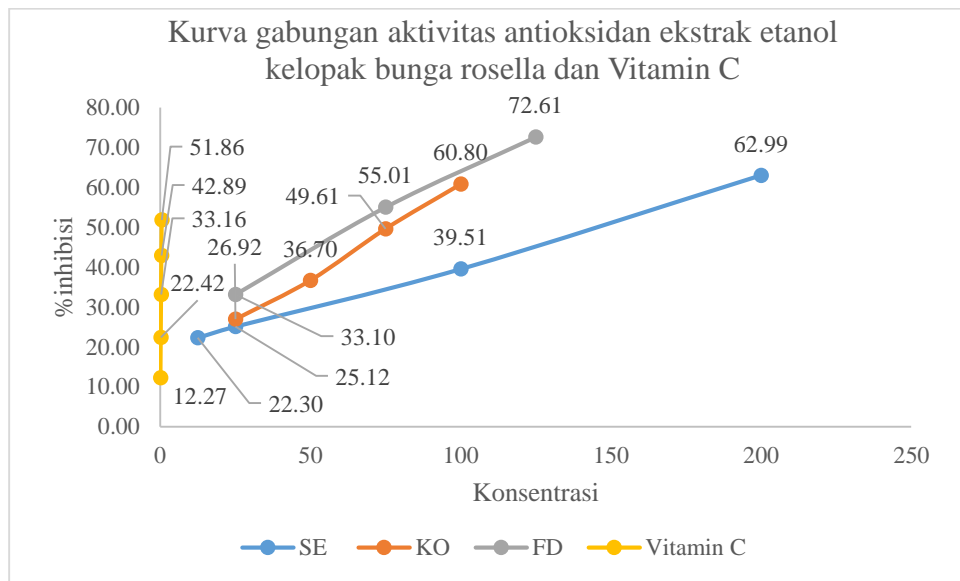
$$y = 99,662x + 2,6227$$

$$50 = 99,662x + 2,6227$$

$$x = \frac{50-2,6227}{99,662}$$

$$x = 0,48 \mu\text{g/mL}$$

- Kurva gabungan aktivitas antioksidan ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella dan Vitamin C



Keterangan :

SE = Kelopak Bunga Rosella Segar

KO = Kelopak Bunga Rosella Kering Oven

FD = Kelopak Bunga Rosella Kering *Freeze dried*



Lampiran 8. Analisis data antosianin dan aktivitas antioksidan

- **Total antosianin ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella**

- Uji normalitas dengan teknik statistik Shapiro-Wilk

	Ekstrak	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Total_Antosianin	Kelopak Bunga Rosella Segar	.998	3	.915
	Kelopak Bunga Rosella Kering Oven	.818	3	.157
	Kelopak Bunga Rosella Kering Freeze Dried	.931	3	.493

Berdasarkan data diatas, nilai Sig. untuk ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar, kering oven, dan kering *freeze dried* secara berturut-turut yaitu 0,915; 0,157; dan 0,493. Nilai Sig. tersebut lebih besar daripada 0.05, yang berarti bahwa nilai total antosianin ketiga kelompok tersebut sudah terdistribusi normal.

- Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
Total_Antosianin			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.206	2	6	.191

Berdasarkan hasil analisis data diatas diperoleh Nilai Sig. yaitu 0,191, dimana nilai tersebut lebih besar daripada 0.05, yang berarti bahwa nilai total antosianin ketiga kelompok tersebut sudah bersifat homogen.

- Uji Hipotesis *one way* ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	153272.278	2	76636.139	164.722	.000
Within Groups	2791.470	6	465.245		
Total	156063.748	8			

Berdasarkan tabel diatas, diperoleh Nilai Sig. yaitu 0.000. Nilai Sig. tersebut lebih kecil daripada 0.05, sehingga H_0 ditolak dan H_a diterima yang berarti bahwa terdapat perbedaan total antosianin ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dari sampel segar, kering oven 50°C, dan kering *freeze dryer*.

- Uji *post hoc*

LSD				
(I) Ekstrak	(J) Ekstrak	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Kelopak Bunga Rosella Segar	Kelopak Bunga Rosella Kering Oven	-178.14333*	17.61146	.000
	Kelopak Bunga Rosella Kering Freeze Dried	-318.93000*	17.61146	.000
Kelopak Bunga Rosella Kering Oven	Kelopak Bunga Rosella Segar	178.14333*	17.61146	.000
	Kelopak Bunga Rosella Kering Freeze Dried	-140.78667*	17.61146	.000
Kelopak Bunga Rosella Kering Freeze Dried	Kelopak Bunga Rosella Segar	318.93000*	17.61146	.000
	Kelopak Bunga Rosella Kering Oven	140.78667*	17.61146	.000

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(I) Ekstrak	(J) Ekstrak	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
Kelopak Bunga Rosella Segar	Kelopak Bunga Rosella Kering Oven	-221.2370	-135.0497
	Kelopak Bunga Rosella Kering Freeze Dried	-362.0237	-275.8363
Kelopak Bunga Rosella Kering Oven	Kelopak Bunga Rosella Segar	135.0497	221.2370
	Kelopak Bunga Rosella Kering Freeze Dried	-183.8803	-97.6930
Kelopak Bunga Rosella Kering Freeze Dried	Kelopak Bunga Rosella Segar	275.8363	362.0237
	Kelopak Bunga Rosella Kering Oven	97.6930	183.8803

Berdasarkan uji *post hoc* diatas, diperoleh Nilai Sig. yaitu 0.000. Nilai Sig. tersebut lebih kecil daripada 0.05, yang berarti bahwa terdapat perbedaan antosianin pada masing-masing ekstrak yaitu ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar, kering oven, dan kering *freeze dried* dan terdapat pengaruh yang signifikan antara ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar, kering oven, dan kering *freeze dried* terhadap total antosianin.

- **Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kelopak Bunga Rosella**

- Uji normalitas dengan teknik statistik Shapiro-Wilk

	Ekstrak	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Aktivitas Antioksidan	Kelopak Bunga Rosella Segar	.931	3	.491
	Kelopak Bunga Rosella Kering Oven	.822	3	.167
	Kelopak Bunga Rosella Kering Freeze Dried	.906	3	.405

Berdasarkan data diatas, nilai Sig. untuk ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar, kering oven, dan kering *freeze dried* secara berturut-turut yaitu 0,491; 0,167; dan 0,405. Nilai Sig. tersebut lebih besar daripada 0.05, yang berarti bahwa nilai aktivitas antioksidan ketiga kelompok tersebut sudah terdistribusi normal.

- Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
Aktiivitas Antioksidan			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.047	2	6	.122

Berdasarkan hasil analisis data diatas diperoleh Nilai Sig. yaitu 0,122, dimana nilai tersebut lebih besar daripada 0.05, yang berarti bahwa nilai aktivitas antioksidan ketiga kelompok tersebut sudah bersifat homogen.

- Uji Hipotesis *one way* ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10323.552	2	5161.776	279.665	.000
Within Groups	110.742	6	18.457		
Total	10434.294	8			

Berdasarkan tabel diatas, diperoleh Nilai Sig. yaitu 0.000. Nilai Sig. tersebut lebih kecil daripada 0.05, sehingga H_0 ditolak dan H_a diterima yang berarti bahwa terdapat perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dari sampel segar, kering oven 50°C, dan kering *freeze dryer*.

- Uji *post hoc*

(I) Ekstrak	(J) Ekstrak	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Kelopak Bunga Rosella Segar	Kelopak Bunga Rosella Kering Oven	65.83000*	3.50780	.000
	Kelopak Bunga Rosella Kering Freeze Dried	76.63667*	3.50780	.000
Kelopak Bunga Rosella Kering Oven	Kelopak Bunga Rosella Segar	-65.83000*	3.50780	.000
	Kelopak Bunga Rosella Kering Freeze Dried	10.80667*	3.50780	.022
Kelopak Bunga Rosella Kering Freeze Dried	Kelopak Bunga Rosella Segar	-76.63667*	3.50780	.000
	Kelopak Bunga Rosella Kering Oven	-10.80667*	3.50780	.022

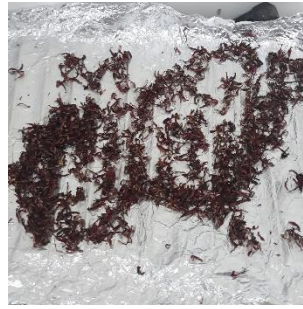
(I) Ekstrak	(J) Ekstrak	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
Kelopak Bunga Rosella Segar	Kelopak Bunga Rosella Kering Oven	57.2467	74.4133
	Kelopak Bunga Rosella Kering Freeze Dried	68.0534	85.2200
Kelopak Bunga Rosella Kering Oven	Kelopak Bunga Rosella Segar	-74.4133	-57.2467
	Kelopak Bunga Rosella Kering Freeze Dried	2.2234	19.3900
Kelopak Bunga Rosella Kering Freeze Dried	Kelopak Bunga Rosella Segar	-85.2200	-68.0534
	Kelopak Bunga Rosella Kering Oven	-19.3900	-2.2234

Berdasarkan uji *post hoc* diatas, diperoleh Nilai Sig. yaitu 0.000 dan 0.022. Nilai Sig. tersebut lebih kecil daripada 0.05, yang berarti bahwa terdapat perbedaan aktivitas antioksidan pada masing-masing ekstrak yaitu ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar, kering oven, dan kering *freeze dried* serta terdapat pengaruh yang signifikan antara ekstrak etanol-air kelopak bunga rosella segar, kering oven, dan kering *freeze dried* terhadap aktivitas antioksidan.

Lampiran 9. Dokumentasi penelitian



Kelopak bunga rosella segar



Kelopak bunga rosella kering oven



Kelopak bunga rosella kering *freeze dried*



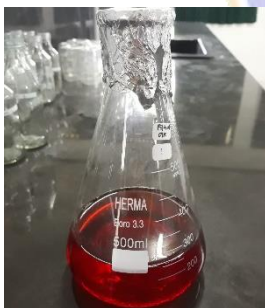
Maserasi kelopak bunga rosella segar



Maserasi kelopak bunga rosella kering oven



Maserasi kelopak bunga rosella kering *freeze dried*



Hasil maserasi kelopak bunga rosella segar



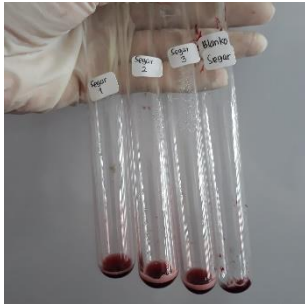
Hasil maserasi kelopak bunga rosella kering oven



Hasil kelopak bunga rosella kering *freeze dried*



Ekstrak kental kelopak bunga rosella segar



Uji flavonoid ekstrak kelopak bunga rosella segar



Uji antosianin (+HCl) ekstrak kelopak bunga rosella segar



Uji antosianin (+NaOH) ekstrak kelopak bunga rosella segar, kering oven, dan kering *freeze dried*

Ekstrak kental kelopak bunga rosella kering oven



Uji flavonoid ekstrak kelopak bunga rosella kering oven

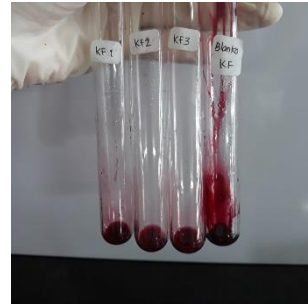


Uji antosianin (+HCl) ekstrak kelopak bunga rosella kering oven

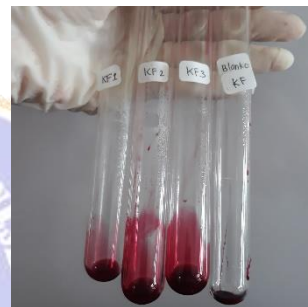


Larutan induk uji aktivitas antioksidan ekstrak kelopak bunga rosella segar, kering oven, dan kering *freeze dried*

Ekstrak kental kelopak bunga rosella kering *freeze dried*



Uji flavonoid ekstrak kelopak bunga rosella kering *freeze dried*



Uji antosianin (+HCl) ekstrak kelopak bunga rosella kering *freeze dried*



Proses *freeze drying*



Proses evaporasi



Proses oven pada suhu
50°C



Larutan induk uji
antosianin



Ekstrak etanol-air
kelopak bunga rosella
segar pH 1



Ekstrak etanol-air
kelopak bunga rosella
kering oven pH 1



Ekstrak etanol-air
kelopak bunga rosella
kering *freeze dried* pH 1



Ekstrak etanol-air
kelopak bunga rosella
segar pH 4,5



Ekstrak etanol-air
kelopak bunga rosella
kering oven pH 4,5



Ekstrak etanol-air
kelopak bunga rosella
kering *freeze dried* pH
4,5