

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi Tanaman

Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) yang diambil dari perkebunan warga Desa majaksingi, Kecamatan Borobudur, Kabupaten Magelang. Determinasi dilakukan di Laboratorium pembelajaran Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta pada tanggal 26 April 2022 dengan nomor pendaftaran 161/Lab.Bio/B/IV/2022. Kriteria tanaman rosella yang diambil untuk dilakukan determinasi yaitu usia panen tanaman 7-8 bulan, daun yang berwarna hijau muda dengan lebar 5-8 cm dan panjang 6-15 cm, diambil pada bagian ke-2 sampai 4 dari pucuk tanaman karena pada bagian tersebut kandungan flavonoid lebih banyak (Suwadi *et al.*, 2021). Berdasarkan hasil determinasi tanaman bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian yaitu tanaman rosella (*Hibiscus sabdariffa* L). (lampiran 1).

2. Pembuatan sampel

Daun rosella sebanyak \pm 3 kg yang digunakan diperoleh dari perkebunan Desa majaksingi, Kecamatan Borobudur, Kabupaten Magelang Jawa Tengah. Diambil pada pagi hari jam 06.30 - 08.05 saat daun masih segar karena cahaya langsung berpengaruh terhadap pertumbuhan melalui intensitas dan kualitas (Fatonah *et al.*, 2013). Daun rosella dibersihkan dengan air mengalir agar terhindar dari kotoran (tanah) yang melekat pada daun, kemudian dilakukan perajangan untuk mempercepat proses pengeringan, lalu dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 24 jam hingga menjadi simplisia kering (rapuh saat digenggam) (Huriawati *et al.*, 2016) digunakan suhu 40°C karena senyawa yang mengandung flavonoid bisa rusak pada suhu diatas 50°C (Yuliantari *et al.*, 2017).

Sampel yang telah kering dihaluskan menggunakan grinder untuk mempermudah pengestrakan dan diayak dengan ayakan 40 mesh untuk mendapatkan derajat halus serbuk yang diinginkan (Windyaswari *et al.*, 2018). Digunakan ayakan 40 mesh karena akan lebih mudah kontak dengan pelarut, kontak simplisia dengan pelarut akan memberi kesempatan yang lebih besar dalam pengestrakan (Amaliah *et al.*, 2019).

3. Ekstraksi daun rosella

Hasil serbuk sampel daun rosella sebanyak 500 g diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% dengan perbandingan (1:10). Ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan maserasi karena caranya mudah dan tidak perlu pemanasan sehingga bahan alam tidak menjadi rusak dan terurai (Dwi Puspitasari *et al.*, 2017). Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk tanaman dan pelarut etanol 70% kedalam toples kaca yang tertutup rapat dan terhindar dari sinar matahari dengan cara toples kaca dilapisi dengan lakban hitam (Handoyo, 2020). Pemilihan etanol 70% dikarenakan etanol 70% adalah pelarut yang lebih polar dari etanol 96%, sehingga senyawa flavonoid yang polar lebih larut dalam etanol 70% (Riwanti *et al.*, 2020). Daun rosella sebanyak 500 g dimasukkan dalam toples kaca dan ditambahkan 5 L etanol 70%. Sampel dimaserasi selama 3 hari dan setiap 12 jam sekali dilakukan pengadukan untuk meratakan distribusi cairan penyari sehingga konsentrasi akan tetap terjaga (Handoyo, 2020). Filtrat disaring lalu diremaserasi dengan pelarut yang sama (etanol 70%) sebanyak 2,5 L selama 24 jam. Tujuan diremaserasi yaitu untuk memaksimalkan proses ekstraksi yang sudah dilakukan (Anjaswati *et al.*, 2021). Hasil ekstraksi dipekatan menggunakan kompor listrik yang telah diatur pada suhu $\leq 60^{\circ}\text{C}$ agar meminimalisir adanya kerusakan senyawa bioaktif flavonoid yang tidak tahan panas (Puspitasari, 2019).

Tabel 3. Nilai Rendemen Ekstrak Etanol Daun Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L)

| Sampel | Berat Sampel (gram) | Volume Pelarut (Liter) | Bobot Ekstrak (gram) | Rendemen (%) | Literatur (FHI, 2017) |
|--|----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|---------------------|------------------------------|
| Daun rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L) | 500 | 5 | 96,83 | 19,366 | ≥ 10% |

Pada (Tabel 3) menunjukkan ekstrak etanol daun rosella dengan pelarut etanol 70% didapatkan hasil nilai rendemen sebesar 19,366 % (g/g) dan sudah memenuhi syarat.

4. Uji organoleptis

Ekstrak daun rosella yang sudah dikentalkan lalu di uji organoleptis. Uji organoleptik bertujuan memberikan pengenalan awal ekstrak berupa bentuk, warna, bau dan rasa. Berdasarkan hasil uji organoleptis, ekstrak daun rosella memiliki spesifikasi seperti pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Organoleptis Ekstrak Etanol Daun Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L)

| Identifikasi | Hasil | Literatur (Dahlia et al., 2012) |
|---------------------|----------------|--|
| Bentuk | Ekstrak Kental | ekstrak kental |
| Bau | Aromatik | Aromatik |
| Warna | Coklat | Coklat |
| Rasa | Asam | Asam |

Berdasarkan hasil uji organoleptis pada (Tabel 4), diketahui bahwa hasil sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Dahlia et al (2012).

5. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia yaitu untuk mengidentifikasi adanya suatu kandungan senyawa metabolit sekunder suatu bahan alam (Vifta et al., 2018). Adapun analisis senyawa kandungan yang diuji adalah

flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Berikut hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun rosella, dapat dilihat pada (Tabel 5):

Tabel 5. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L)

| Senyawa | Hasil | Literatur (Nurnasari <i>et al.</i> , 2018) | Keterangan | Gambar |
|--------------|---------------------------------------|--|------------|---|
| Flavonoid | Merah | Merah, kuning dan jingga | Positif |  |
| Alkaloid | | | | |
| -Mayer | - endapan putih | - endapan putih | Positif |  |
| -Wagner | - endapan coklat | - endapan coklat | | |
| -dragendroff | - endapan jingga | - endapan jingga | | |
| Saponin | Terbentuk busa setinggi 2 cm | Terbentuk busa setinggi 1- 10 cm | Positif |  |
| Tanin | Kehijauan | Kehijauan atau biru tua | Positif |  |

Berikut hasil pengujian skrining fitokimia yang dapat dilihat pada (Tabel 5), diketahui bahwa penelitian tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Nurnasari *et al* (2018) bahwa pengujian fitokimia ekstrak etanol daun rosella mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin.

6. Identifikasi senyawa flavonoid dengan kromatografi lapis tipis

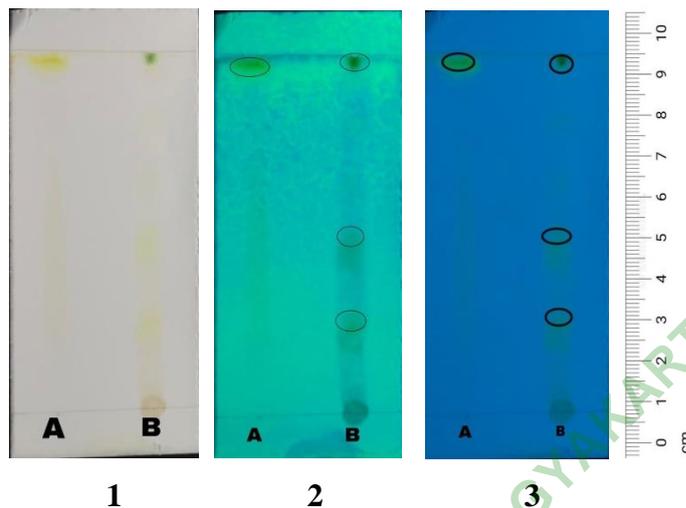
Hasil skrining fitokimia sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun rosella mengandung senyawa flavonoid. Selanjutnya, dilakukan identifikasi senyawa flavonoid menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis. Pada penelitian ini dilakukan

orientasi fase gerak untuk mengetahui tingkat kepolaran yang cocok dalam memisahkan senyawa flavonoid. Berikut hasil orientasi fase gerak, dapat dilihat pada (Tabel 6). Analisis ini menggunakan fase diam plat silika gel GF₂₅₄ bersifat polar dengan ukuran 10 cm x 4 cm, fase gerak yang digunakan kloroform : metanol : asam asetat (14 : 2 : 1) serta standar pembanding kuersetin. Konsentrasi ekstrak dan standar yang digunakan yaitu sebesar 0,5 mg/5 mL dan 2 mg/ 2 mL. Ekstrak etanol daun rosella dan standar pembanding kuersetin ditotolkan menggunakan *white tip* pada plat silika gel GF₂₅₄. Penotolan sampel dilakukan sebanyak 3 kali agar tidak terlalu pekat. Dimasukkan plat kedalam bejana yang sudah jenuh. bejana jenuh dilihat dari kertas saring yang terbasahi oleh fase gerak. Bercak dapat diamati pada sinar tampak dan dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

Tabel 6. Orientasi Fase Gerak

| No | Fase gerak | Hasil |
|----|--|--|
| 1 | Toluene:Aseton:Asam Format (4:4:2 v/v/v) | Fase gerak tidak jenuh dan tidak terjadi pemisahan pada sampel |
| 2 | Toluene:Aseton:Asam Format (6:6:3 v/v/v) | Fase gerak lama jenuh dan terjadi <i>tailing</i> |
| 3 | Toluene:Aseton:Asam Format (8:8:4 v/v/v) | Fase gerak naik, tetapi bercak sampel tidak terlihat jelas, terjadi <i>tailing</i> |
| 4 | Kloroform:metanol:asam asetat (9:1:0,5 v/v/v) | Fase gerak naik, tetapi terjadi <i>tailing</i> pada ekstrak |
| 5 | Kloroform:metanol:asam asetat (14:2:1 v/v/v) | Terjadi pemisahan yang baik ditandai dengan bercak sampel yang sejajar dengan bercak kuersetin |

Berdasarkan (Tabel 6) hasil KLT ekstrak etanol daun rosella dengan fase gerak Kloroform : metanol : asam asetat (14:2:1 v/v/v) dapat dilihat pada (Gambar 10) berikut.



Gambar 10. Hasil Uji KLT Ekstrak Etanol Daun Rosella

Keterangan: 1. Deteksi sinar tampak setelah disemprot AlCl_3 ; 2. Deteksi sinar UV 254 nm setelah disemprot AlCl_3 ; 3. Deteksi sinar UV 366 nm setelah disemprot AlCl_3 . (A) kuersetin; (B) ekstrak etanol daun rosella. Fase diam = silika gel GF_{254} . Fase gerak = kloroform:metanol:asam asetat (14:2:1 v/v/v).

Hasil pengamatan bercak diamati dibawah sinar tampak, sinar UV 254 nm, dan 366 nm yang telah disemprot AlCl_3 terlihat bercak pada ekstrak berwarna coklat sedangkan standar kuersetin berwarna kuning. Uji KLT menggunakan nilai Rf (*Retardation Factor*), hasil nilai Rf kuersetin dan sampel dapat dilihat pada (Tabel 7) dimana diperoleh nilai Rf pada kuersetin sebesar 0,962 cm dan pada ekstrak spot 1 sebesar 0,362 cm, spot 2 0,562 cm dan spot 3 0,975. Nilai Rf telah memenuhi ketentuan yaitu berkisar antara 0,2-0,8 (T. M. Dewi *et al.*, 2015). Pada penelitian ini, diduga ada senyawa hibisetin pada ekstrak etanol yakni pada spot 1 dengan nilai Rf 0,362 cm. Berdasarkan hasil pengamatan KLT yang dibandingkan dengan standar kuersetin, diduga ekstrak etanol daun rosella mengandung senyawa kuersetin.

Tabel 7. Hasil Perhitungan Nilai Rf Ekstrak Etanol Daun Rosella

| Ekstrak sampel | | Standar kuersetin | Literatur (T. M. Dewi <i>et al.</i> , 2015) | Literatur Standar Kuersetin (Fitri <i>et al.</i> , 2021) | Literatur Standar Hibisetin (Carolin <i>et al.</i> , 2019) |
|----------------|-------|-------------------|---|--|--|
| Spot | Rf | Rf | | | |
| 1 | 0,362 | 0,962 | 0,2 – 0,8 | 0,69 – 0,81 | 0,2 – 0,4 |

| | |
|---|-------|
| 2 | 0,562 |
| 3 | 0,975 |

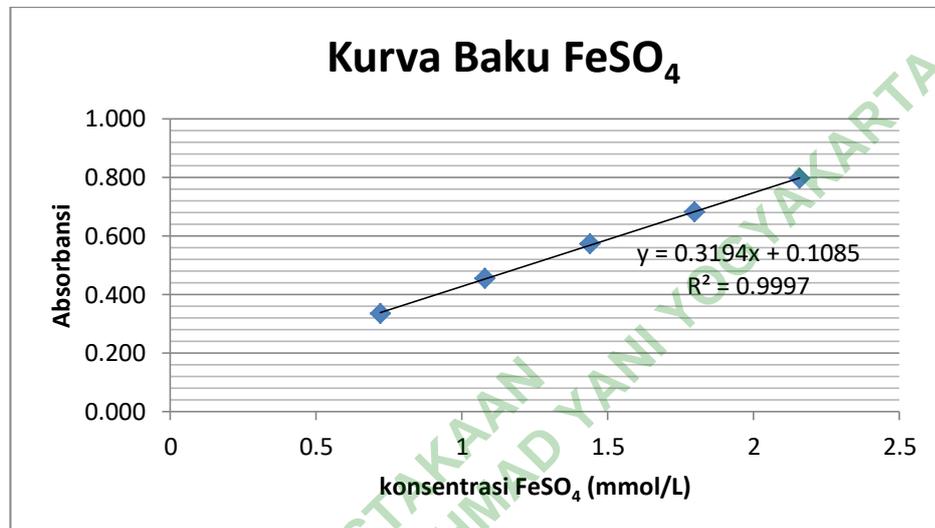
7. Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode FRAP

Penentuan aktivitas antioksidan pada penelitian ini terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang untuk mengetahui daerah serapan yang dapat dihasilkan berupa nilai absorbansi. Panjang gelombang yang diukur pada rentang 588 – 610 nm, dan hasilnya 596 nm. Setelah itu, penentuan *operating time* untuk menentukan waktu yang dibutuhkan suatu senyawa agar bereaksi dengan optimal dan stabil, yang ditunjukkan dengan hasil absorbansi yang stabil. Penentuan *operating time* bertujuan untuk menentukan waktu stabilnya reaksi yang ditunjukkan dengan tidak adanya penurunan absorbansi (Amalia *et al.*, 2011), diukur pada interval 5 menit dan didapatkan hasil *operating time* yaitu selama 15 menit dapat dilihat pada (Tabel 8).

Tabel 8. Hasil *Operating Time*

| Menit | Absorbansi |
|-------|------------|
| 0 | 0,660 |
| 5 | 0,662 |
| 10 | 0,662 |
| 15 | 0,662 |
| 20 | 0,663 |
| 25 | 0,664 |
| 30 | 0,664 |
| 35 | 0,665 |
| 40 | 0,665 |
| 45 | 0,666 |
| 50 | 0,667 |
| 55 | 0,667 |
| 60 | 0,668 |

a. Penentuan kurva baku $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$



Gambar 11. Kurva Baku FeSO_4

Penelitian ini digunakan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebagai standar baku untuk menentukan kurva baku yang berperan dalam perhitungan kapasitas antioksidan. Larutan standar FeSO_4 dibuat dalam konsentrasi 1000 ppm, kemudian dilakukan orientasi dalam 5 seri konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, dan 1000 ppm. Pada konsentrasi tersebut didapatkan nilai absorbansi yang tinggi sekitar 1,0, sehingga digunakan konsentrasi 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, dan 600 ppm menghasilkan persamaan $Y = 0,3194 x + 0,1085$ dengan nilai $r = 0,9998$, sehingga data absorbansi sampel dimasukkan ke persamaan tersebut.

b. Penentuan aktivitas antioksidan pada vitamin C

Aktivitas antioksidan dalam vitamin C ditentukan dalam konsentrasi 100 ppm. Kemudian dilakukan orientasi dalam lima seri konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Pada konsentrasi tersebut didapatkan nilai absorbansi yang tidak stabil, sehingga digunakan konsentrasi 30 ppm, 35 ppm, 40 ppm, 45 ppm dan 50

ppm hasilnya diplotkan dalam persamaan regresi linear dari larutan standar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Dilakukan perhitungan FRAP *value*, dimana berdasarkan hasil penentuan aktivitas antioksidan pada vitamin C pada konsentrasi 50 ppm didapat FRAP *value* yang tinggi sebesar 4,261 mmol/mg Vit C. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel vitamin C maka semakin tinggi pula kompleks Fe_{2+} yang terbentuk, hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi kandungan antioksidan yang terkandung dalam sampel (Yulianti, 2021).

c. Penentuan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun rosella

Aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol daun rosella ditentukan dalam konsentrasi 1000 ppm. Dilakukan orientasi dalam lima seri konsentrasi yaitu 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm dan 125 ppm. Pada konsentrasi tersebut didapatkan nilai absorbansi yang tidak stabil, sehingga digunakan konsentrasi 150 ppm, 175 ppm, 200 ppm, 225 ppm dan 250 ppm, hasilnya diplotkan dalam persamaan regresi linear dari larutan standar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Dilakukan perhitungan FRAP *value* dimana berdasarkan hasil penentuan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun rosella pada konsentrasi 250 ppm didapat FRAP *value* yang tinggi sebesar 1,749 mmol/mg ekstrak. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel ekstrak etanol daun rosella maka semakin tinggi pula kompleks Fe_{2+} yang terbentuk, hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi kandungan antioksidan yang terkandung dalam sampel (Yulianti, 2021).

8. Analisis hasil uji peredaman radikal bebas dengan FRAP

Dilakukan uji statistik menggunakan *SPSS Software* dari nilai FRAP *value* yang diperoleh dari ekstrak etanol daun rosella dan Vitamin C. Pengujian pertama yaitu uji normalitas data dilakukan untuk mengetahui apakah data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak, selanjutnya uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui apakah data bersifat homogen (seragam) atau tidak. Hasil yang diperoleh pada uji

normalitas data dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil Vitamin C 0,827 dan ekstrak etanol daun rosella 0,842 kedua sampel tersebut menunjukkan data terdistribusi normal dengan hasil nilai signifikan ($p > 0,05$). Untuk uji homogenitas dengan *Levenes Test* hasil yang diperoleh homogen yang ditandai dengan hasil nilai signifikan ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji statistik dengan menggunakan uji *Independent T-test* untuk membandingkan apakah terdapat perbedaan yang signifikan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun rosella dengan vitamin C. Hasil yang diperoleh 0,001 yang menandakan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun rosella dengan vitamin C terdapat perbedaan yang signifikan yang ditandai dengan nilai signifikan ($p < 0,05$).

B. Pembahasan

Penelitian ini diawali dengan determinasi tanaman untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman yang akan digunakan saat penelitian. Bagian yang akan diteliti yaitu daun rosella. Berdasarkan hasil determinasi tanaman bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian yaitu daun rosella (*Hibiscus sabdariffa* L). Dilakukan ekstraksi daun rosella dengan metode maserasi, hasil yang diperoleh nilai rendemen pada ekstrak etanol daun rosella sebesar 19,366 %. Dilakukan skrining fitokimia, skrining fitokimia adalah cara untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder suatu bahan alam. Berdasarkan pengujian skrining fitokimia yang telah dilakukan, hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Nurnasari *et al* (2018) yang menyatakan bahwa daun rosella mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin. Flavonoid sebagai antioksidan dapat menangkap radikal bebas yang dapat merusak sel tubuh (S. R. Dewi *et al.*, 2018). Identifikasi senyawa flavonoid dengan kromatografi lapis tipis, didapatkan nilai Rf pada kuersetin sebesar 0,962 cm dan pada ekstrak spot 1 sebesar 0,362 cm, spot 2 0,562 cm dan spot 3 0,975. Berdasarkan penelitian T. M. Dewi *et al* (2015) nilai Rf yang baik yaitu berkisar antara 0,2 – 0,8. Pada penelitian ini, diduga ada senyawa hibisetin pada ekstrak etanol yakni pada spot 1

dengan nilai Rf 0,362 cm, dikarenakan pada spot 1 nilai Rf memenuhi literatur standar hibisetin yakni 0,2 – 0,4. Didapat nilai Rf yang hampir setara pada ekstrak spot 3 dengan nilai Rf 0,975, maka dapat dikatakan bahwa diduga sampel tersebut mengandung senyawa kuersetin. Kuersetin digunakan sebagai standar karena yang ingin dilihat senyawa penanda flavonoid, kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol (Ipandi *et al.*, 2016). Pada ekstrak etanol daun rosella memiliki 3 spot karena etanol 70% bersifat polar sehingga banyak yang tertahan difase diam yang memiliki sifat polar juga (Noer *et al.*, 2019). Pemisahan yang baik yaitu pemisahan yang memiliki banyak senyawa terpisah, tidak berekor, dan noda terlihat jelas (Fitri *et al.*, 2021).

Uji peredaman radikal bebas ekstrak etanol daun rosella dengan metode FRAP. Metode FRAP adalah metode untuk menguji aktivitas antioksidan dengan mekanisme menginaktivasi radikal bebas dengan cara mentransfer elektron. Prinsip dari metode ini adalah untuk mengetahui kemampuan senyawa antioksidan mereduksi Fe^{3+} -TPTZ menjadi Fe^{2+} -TPTZ, yang ditandai dengan terbentuknya warna biru kuat yang terbentuk oleh antioksidan dalam suasana asam. Metode ini dipilih karena cepat, menggunakan reagen yang sederhana, menggunakan volume sampel yang sedikit dan memiliki mekanisme kerja seperti didalam tubuh (Munandika *et al.*, 2021). Dalam penelitian ini, vitamin C digunakan sebagai pembanding karena merupakan antioksidan yang efektif dalam menghambat radikal bebas dan paling umum digunakan. Ekstrak etanol daun rosella sebagai sampel yang diduga mengandung antioksidan. Pada penelitian ini digunakan larutan buffer asetat karena memiliki pH efektif dari 3,6 – 5,6. Diketahui bahwa kompleks ini stabil pada pH asam, maka digunakan pH 3,6, penggunaan pH rendah dikarenakan untuk memudahkan proses reduksi Fe^{3+} . Penambahan TPTZ yaitu untuk mengendapkan kompleks dari kalium ferosianida. FeCl_3 ditambahkan kedalam reagen untuk membentuk senyawa kompleks Fe^{3+} dan memperlambat reaksi reduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} yang terjadi sangat cepat

dibawah pengaruh cahaya (Syarif *et al.*, 2015). Digunakan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebagai standar baku untuk menentukan kurva baku yang berperan dalam menghitung kapasitas antioksidan dalam sampel (Safitri *et al.*, 2020).

Aktivitas antioksidan pada vitamin C dan ekstrak etanol daun rosella ditentukan dengan mengukur absorbansi dalam lima seri konsentrasi dengan tiga kali pembacaan absorbansi untuk setiap seri konsentrasi. Parameter pada penelitian ini adalah FRAP *value*. Pada penelitian ini didapatkan hasil FRAP *value* vitamin C sebesar 4,261 mmol FeSO_4/mg Vit C dan hasil FRAP *value* pada sampel ekstrak etanol daun rosella sebesar 1,749 mmol FeSO_4/mg ekstrak. Hasil uji aktivitas antioksidan berdasarkan metode FRAP menunjukkan bahwa semakin besar kemampuan antioksidan mereduksi berkorelasi dengan meningkatnya konsentrasi (Yulianti, 2021).

Pada hasil analisis statistik menggunakan uji *Independent T-test* pada Vitamin C dan ekstrak etanol daun rosella. Tujuan dilakukan uji *Independent T-test* adalah untuk membandingkan rata-rata dua sampel yang tidak berhubungan satu sama lain. Sebelum dilakukan uji *Independent T-test* dilakukan uji normalitas dan homogenitas, tujuan dilakukan uji normalitas yaitu agar mengetahui data tersebut terdistribusi normal atau tidak, sedangkan uji homogenitas untuk mengetahui data tersebut homogen atau tidak. Hasil dikatakan terdistribusi normal apabila nilai signifikan $>0,05$. Pada penelitian ini nilai normalitas Vitamin C dan ekstrak etanol daun rosella $>0,05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal. Hasil dikatakan homogen apabila nilai signifikan $>0,05$. Pada penelitian ini nilai homogenitas yang diperoleh pada Vitamin C dan pada ekstrak etanol daun rosella $>0,05$ yang artinya data tersebut homogen. Kemudian dilakukan uji *Independent T-test*, apabila nilai yang diperoleh $<0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan. Pada penelitian ini hasil uji *Independent T-test* memiliki nilai signifikan $<0,05$ yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara vitamin C dengan ekstrak etanol daun rosella.

Berdasarkan penelitian Dahlia *et al* (2012) bagian daun rosella memiliki banyak senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan, seperti flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin, dan tanin. Tanaman rosella berfungsi sebagai antioksidan karena mengandung asam askorbat dan beberapa golongan flavonol dan pigmen antosianin. Berdasarkan penelitian Nurnasari *et al* (2018) daun rosella mengandung beberapa senyawa fitokimia yang berfungsi sebagai antioksidan, antara lain asam neoklorogenat, asam klorogenat, asam kriptoklorogenat, rutin, dan *isoquercitrin*. Berdasarkan penelitian Wu *et al* (2018) ekstrak rosella kaya akan antosianin dan memiliki kapasitas antioksidan yang baik (DPPH $IC_{50}=4,06$ mg/mL, ABTS $IC_{50}=3,7$ mg/mL). Berdasarkan penelitian Zhen *et al* (2016) aktivitas antioksidan yang diukur dengan uji radikal ABTS menunjukkan bahwa daun rosella memiliki aktivitas antioksidan berkisar antara $101,5 \pm 17,5$ hingga $152,5 \pm 18,8$ μ mol Trolox/g.