

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) merupakan salah satu tanaman leguminosae yang berasal dari Asia Tropis dan sekarang penyebarannya telah sampai Amerika Selatan Amerika Utara, Brazil Pasifik Utara, dan Afrika (Alifiya, 2022). Daerah penyebarannya di Indonesia adalah di Jawa, Sumatera, Maluku, dan Sulawesi (Khoirunnisa et al., 2023).



Gambar 2.1 Tanaman Bunga Telang

Sumber : (Dokumentasi Pribadi, 2023)

1. Klasifikasi tanaman bunga telang (*Clitoria ternatea* L.)

Kingdom : Plantae
Divisi : Tracheophyta
Infrodivisi : Angiospermae
Kelas : Mangnoliopsida
Ordo : Fabales

Familia : Fabacea
Genus : *Clitoria*
Spesies : *Clitoria ternatea* L.

2. Morfologi Tanaman Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Bunga telang memiliki kelopak berwarna ungu, merupakan jenis bunga majemuk, dan dapat ditemukan pada tanaman merambat yang umum seperti di pekarangan atau di perkebunan. Bunga telang dapat ditanam sebagai tanaman hias dan digunakan sebagai pewarna makanan atau sebagai obat mata tradisional. Bunga telang juga menghasilkan kacang hijau, yang mengklasifikasikannya sebagai polong-polongan. Bunga telang memiliki daun bunga yang tidak lengkap, helaian dan tangkai daun, serta akar tunggang yang terdiri dari empat bagian: batang/pokok, serabut akar, leher, dan ujung. Berwarna hijau saat muda, hitam saat tua (Budiasih, 2022).

Bunga telang selain berwarna ungu, juga dapat ditemukan dalam warna merah dan biru karena adanya senyawa antosianin yang cukup stabil untuk digunakan sebagai pewarna alami dalam industri makanan. Bunga telang juga mengandung fitokimia lain, seperti senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan salah satu jenis senyawa yang terdapat pada bunga telang yang dapat berperan sebagai antioksidan. Bunga telang dapat bermanfaat bagi kesehatan sekaligus meningkatkan kualitas warna (Arifin dan Ibrahim, 2018).

3. Kandungan Kimia Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.)

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) memiliki aktivitas antioksidan karena mengandung antosianin. Antosianin adalah metabolit sekunder dari familia flavonoid, dalam jumlah besar ditemukan dalam buah-buahan dan sayur-sayuran. Kandungan kimia yang terdapat dalam bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terdapat dalam tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kadar senyawa aktif bunga telang

Senyawa	Konsentrasi (mmol/kg)
Flavonoid	20,07 ± 0,55
Antosianin	5,40 ± 0,23
Flavonol glikosida	14,66 ± 0,33
Kaempferol glikosida	12,71 ± 0,46
Quarsetin glikosida	1,92 ± 0,12
Mirisetin glikosida	0,04 ± 0,01

Sumber : (Angriani, 2019)

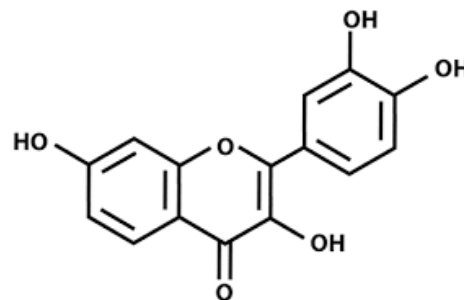
4. Efek Farmakologis Tumbuhan Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Tanaman bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) memiliki berbagai macam aplikasi farmakologi, diantaranya sebagai antioksidan, antibakteri, antiradang, analgesik, antidiabetes, antikanker, dan antihistamin. Aktivitas antioksidan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) telah ditentukan dengan menggunakan metode DPPH. Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) mengandung beberapa fenol dan flavonoid yang menunjukkan penghambatan yang signifikan jika dibandingkan dengan standar alami galat dan kuersetin. Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) memiliki sifat antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas seperti DPPH.

2.1.2 Flavonoid

Flavonoid adalah kelompok fenolik yang paling banyak ditemukan di alam. Flavonoid ditemukan di berbagai tanaman dan didistribusikan ke seluruh tubuh, termasuk buah, daun, biji, akar, kulit kayu, batang, dan bunga. Banyak senyawa flavonoid yang berperan penting dalam memberikan warna cerah pada bunga, buah-buahan, dan daun. Senyawa flavonoid merupakan zat pemberi warna kuning, merah, biru, dan ungu pada tanaman. Flavonoid telah dikenal sebagai produk alami yang memiliki efek menguntungkan bagi kesehatan sebelum adanya senyawa yang efektif. Sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi, dan antikanker (Nugraha et al., 2017).

Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol dengan 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, yang berarti kerangka karbon terdiri dari dua gugus C6 (cincin benzena tersubstitusi) yang dihubungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Arifin dan Ibrahim, 2018).



Gambar 2.2 Struktur dasar flavonoid

Sumber : (Pambudi et al., 2014)

2.1.3 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Syarif et al., 2015). Antioksidan atau reduktor mencegah reaksi oksidasi atau menetralkan senyawa teroksidasi dengan menyumbangkan hidrogen dan/atau elektron.

Metabolit sekunder dapat berfungsi sebagai antioksidan, menghambat reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Metabolit sekunder pada tanaman meliputi fenolat, alkaloid, dan flavonoid. Antioksidan, baik yang terdapat di dalam tubuh maupun yang diperoleh dari sumber luar, berperan sebagai penghambat oksidasi

dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif untuk membentuk radikal bebas tidak reaktif yang lebih stabil, sehingga melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas.

Reaksi tanpa adanya antioksidan :

Reaktan \rightarrow produk + OH + (DNA, protein, lipid) \rightarrow Produk + radikal bebas yang lain

Reaksi dengan adanya antioksidan :

Reaktan \rightarrow Produk + OH + Antioksidan \rightarrow Produk yang stabil

(Khaira, 2018).

Antioksidan bereaksi dengan radikal bebas terlebih dahulu karena lebih mudah teroksidasi atau reduktor dibandingkan molekul lainnya. Akibatnya, antioksidan harus digunakan untuk mencegah radikal bebas berikatan dengan elektron dari molekul lain dan membentuk senyawa abnormal baru yang akan memulai reaksi berantai.

Tokoferol, vitamin C, betakaroten, flavonoid, dan senyawa fenolik merupakan contoh antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan atau hewan. Antioksidan alami dari tumbuhan umumnya berupa senyawa fenolik atau polifenol, seperti flavonoid, kumarin, tokoferol, dan asam-asam organik. Senyawa polifenol dapat bertindak sebagai agen pereduksi, menangkap radikal bebas.

2.1.4 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dapat dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman (Afifudin, 2021).

2.1.5 Pelarut

Pelarut adalah zat yang muncul dengan jumlah besar dalam larutan namun, zat lain juga dianggap sebagai pelarut. Untuk memisahkan zat aktif dari simplisia dan senyawa lainnya, pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi haruslah yang paling sesuai dengan zat aktif yang terkandung pada sampel atau simplisia. Ekstraksi ini menghasilkan ekstrak yang sebagian besar mengandung bahan aktif yang diinginkan (Kusumawardani et al., 2020).

Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi memiliki beberapa sifat penting, diantaranya :

1. Kemampuan melarutkan (*solubility*)
2. Kecepatan menguap
3. Trayek didih
4. Berat jenis (*specific gravity*)
5. *Flashpoint*.

Dalam penelitian ini, menggunakan metode fraksinasi untuk mendapatkan fraksi dengan memakai tiga pelarut dengan fase kepolaran yang berbeda, diantaranya fase nonpolar adalah n-heksana, fase semi-polar adalah etil asetat, dan fase polar adalah etanol 96%. Selain itu, etanol 96% digunakan dalam ekstraksi maserasi untuk menghasilkan ekstrak kental (murni) untuk membantu proses identifikasi. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi menentukan komponen bioaktif mana yang diekstraksi. Pelarut ekstraksi yang baik haruslah tidak beracun, mudah menguap, memiliki tingkat penyerapan yang tinggi, dan mencegah ekstrak membentuk kompleks dengan pelarut.

1. N-Heksana

N-Heksana adalah pelarut non-polar yang biasa digunakan saat mengekstraksi ekstrak. N-Heksana adalah bahan kimia yang berasal dari minyak mentah. N-Heksana murni adalah cairan tidak berwarna dengan bau yang agak tidak sedap. Ini sangat mudah terbakar dan mengeluarkan uap yang mudah meledak. N-heksana murni biasanya digunakan di laboratorium. Mayoritas n-heksana yang digunakan dalam industri dicampur dengan bahan kimia serupa yang dikenal sebagai pelarut.

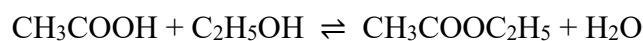
N-Heksana adalah konstituen dalam fraksi parafin dari minyak mentah dan gas alam dan juga digunakan sebagai reagen dalam industri kimia dan laboratorium. Heksana adalah produk industri yang terdiri dari campuran hidrokarbon dengan 6 atom karbon dan

memiliki 19 isomer 2-metil pentana dan 3-metil pentana. N-Heksana adalah jenis pelarut non-polar. Ekstraksi menggunakan n-heksana sebagai pelarut dapat menarik senyawa-senyawa non polar yang ada di dalam tanaman.

2. Etil Asetat

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus empiris $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$. Senyawa ini adalah ester asam etanol-asetat. Senyawa ini merupakan cairan tak berwarna dengan aroma yang khas. Etil asetat adalah pelarut polar menengah yang mudah menguap, tidak beracun, dan tidak higroskopis. Etil asetat diproduksi melalui reaksi esterifikasi Fischer antara asam asetat dan etanol. Reaksi esterifikasi Fischer melibatkan reflus asam karboksilat dan etanol dengan adanya katalis asam untuk menghasilkan ester. Reaksi esterifikasi adalah reaksi yang dapat dibalik dan lambat namun, ketika katalis digunakan kesetimbangan reaksi tercapai lebih cepat. Asam sulfat, asam klorida, dan asam fosfat dapat digunakan sebagai katalis. Bahan baku utama etil asetat adalah asam asetat (Sulistyowati, 2019).

Asam asetat dan etanol adalah bahan baku utama dalam fase cair. Katalis asam digunakan sebagai bahan pendukung selama proses produksi etil asetat. Reaksinya adalah sebagai berikut:



Asam asetat Etanol Etil asetat Air

(Sulistiyowati, 2019).

3. Etanol

Etil alkohol atau etanol adalah turunan dari senyawa hidroksil atau gugus OH dengan rumus kimia $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. Senyawa ini biasa disebut sebagai alkohol. Etanol tidak berwarna, mudah menguap, mudah larut dalam air, memiliki berat molekul 46,1, titik didih 78,3 °C, titik beku -117,3 °C, densitas 0,789 pada 20 °C, nilai kalori 7077 kal/gram, panas laten penguapan 204 kal/gram, dan angka oktan 91-105 (Febriana & Tamrin, Faradillah, n.d.). Etanol adalah pelarut polar yang digunakan untuk mengekstrak komponen polar dari bahan alami. Etanol juga dikenal sebagai pelarut universal. Komponen polar dari bahan alami dalam ekstrak etanol dapat diekstraksi menggunakan proses pemisahan (Labagu et al., 2022).

2.1.6 Maserasi

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang dilakukan secara dingin atau dalam suhu ruang tanpa ada peningkatan suhu atau pemanasan. Dengan demikian teknik maserasi membutuhkan bantuan ekstraksi dengan cara pengocokan atau pengadukan yang berulang agar

dapat mempercepat waktu larutan penyari dalam mengekstraksi sampel. Hal tersebut dimanfaatkan bagi simplisia atau bahan alam yang tidak tahan panas untuk menghindari rusaknya atau terurai beberapa komponen kimia aktif. Pemilihan pelarut berdasarkan kelarutan dan polaritasnya memudahkan pemisahan komponen senyawa aktif dalam sampel. Banyaknya senyawa yang dapat terekstraksi bila disertai lamanya waktu perendaman simplisia (Djarot et al., 2020).

2.1.7 Ekstrak dan Ekstraksi

1. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstrak zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua diuapkan dan masa atau serbuk yang terisi diperlukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Putri, 2019).

2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat dikelompokkan ke dalam kelompok minyak atsiri, alkaloida, dan flavonoida, dengan diketahuinya golongan

senyawa aktif yang dikandung simplisia maka akan memudahkan pemisahan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Tambun et al., 2016). Hal yang mempengaruhi ekstraksi berkaitan erat dengan laju perpindahan massa. Faktor-faktor yang mempengaruhi laju perpindahan massa meliputi : penyiapan bahan sebelum ekstraksi, ukuran partikel, pelarut, perlakuan hidrodinamik (pengadukan) dan waktu operasi.

2.1.8 Fraksinasi

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan n-heksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan metanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. Dari proses ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga (Mursyid et al., 2014).

2.1.9 Spektrofotometri UV-Vis

1. Definisi Spektrofotometri Uv-Vis

Spektrofotometri adalah metode kimia analitik yang menggunakan interaksi materi dan cahaya untuk menentukan komposisi kuantitatif dan kualitatif sampel. Cahaya dapat berupa cahaya tampak, ultraviolet, atau inframerah, sedangkan materi dapat berupa atom atau molekul, tetapi elektron valensi adalah yang paling penting. Instrumen yang digunakan dalam spektrofotometri dikenal sebagai spektrofotometer (Dharma, 2017).



Gambar 2.3 Spektrofotometer UV-Vis

Sumber : (Dokumentasi Pribadi, 2023)

2. Prinsip Kerja Spektrofotometri Uv-Vis

Prinsip kerja spektrofotometri didasarkan pada hukum Lambert Beer. Apabila jejak cahaya bergerak melalui suatu larutan, sebagian diserap, sebagian lagi dipantulkan, dan sisanya ditransmisikan melalui efek intensitas murni. Transmisi didefinisikan sebagai rasio

intensitas cahaya yang ditransmisikan melalui sampel dengan intensitas cahaya awal sebelum melewatinya (Neldawati, 2013).

3. Instrumen Spektrofotometri Uv-Vis

Spektrometer atau spektrofotometer adalah instrumen yang mengukur penyerapan atau pancaran radiasi elektromagnetik sebagai fungsi panjang gelombang. Berikut ini adalah diagram dasar spektrofotometer :

a. Sumber tenaga radiasi

Lampu deuterium digunakan untuk mendeteksi senyawa yang menyerap cahaya di wilayah spektrum ultraviolet. Deuterium adalah isotop hidrogen. Lampu *deuterium* adalah sumber energi listrik yang memancarkan cahaya pada panjang gelombang mulai dari 200 hingga 370 nm. Lampu ini digunakan untuk semua spektroskopi ultraviolet.

b. Monokromator

Monokromator adalah jenis perangkat optik yang mengubah radiasi polikromatik menjadi jalur efektif atau panjang gelombang yang sangat sempit.

c. Tempat cuplikan

Cuplikan yang akan diteliti di daerah ultraviolet atau daerah tampak biasanya gas atau larutan, ditempatkan dalam sel atau kuvet. Sel yang digunakan untuk sampel gas memiliki panjang jalur mulai dari 1 hingga 10 cm.

d. Detektor

Detektor biasanya berupa komponen elektronik yang dikenal sebagai tabung pengganda foton, yang mengubah intensitas sinar menjadi sinyal listrik yang mudah diukur dan juga berfungsi sebagai penguat untuk meningkatkan kekuatan sinyal.

e. Pencatat

Membaca spektum yang diperoleh dan menampilkan data yang diinginkan (Afifudin, 2021).

4. Hal-hal yang harus di perhatikan dalam analisis secara spektrofotometri UV-Vis:

a. Pembentukan molekul yang mampu menyerap sinar UV-Vis

Hal ini diperlukan jika senyawa yang sedang dipelajari tidak menyerap pada daerah tersebut. Proses pengubahan satu senyawa menjadi senyawa lain atau mereaksikannya dengan pereaksi tertentu. Pereaksi yang digunakan harus memenuhi beberapa persyaratan, antara lain:

1. Reaksi selektif dan sensitif
2. Reaksinya cepat kuantitatif dan *reproduksibel* (tetap)
3. Hasil reaksi stabil dalam jangka waktu lama.

b. Waktu operasional

Cara ini digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Tujuannya untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan.

c. Pemilihan Panjang gelombang

Panjang gelombang dengan absorbansi tertinggi dipilih untuk analisis kuantitatif. Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dan panjang gelombang larutan pada konsentrasi tertentu.

d. Pembuatan kurva baku

Kurva larutan standar adalah serangkaian larutan standar zat yang akan dianalisis pada konsentrasi yang berbeda. Setiap larutan diukur absorbansinya pada berbagai konsentrasi dan kurva yang mewakili hubungan antara absorbansi dan konsentrasi dibuat (Hanifah, 2019).

2.2 Hipotesis

1. Terdapat salah satu fraksi yang menghasilkan kandungan flavonoid total yang paling besar.
2. Terdapat salah satu fraksi yang menghasilkan nilai IC_{50} yang lebih tinggi.