

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.)



Gambar 2. 1 Bunga Telang

1. Klasifikasi Bunga Telang

Tanaman *Clitoria ternatea* yang dikenal dengan nama umum Bunga Telang merupakan tanaman perdu tahunan. *Clitoria ternatea* merupakan tumbuhan monokotil dengan bunga berwarna biru, putih dan coklat. Bunga telang atau *Clitoria ternatea* merupakan tumbuhan polong bernilai tinggi, tumbuhan polong kaya protein yang disebut alfalfa tropis, sering disebut sebagai bank protein, yang dapat ditanam dengan biaya produksi rendah. Tanaman *Clitoria ternatea* merupakan tanaman asli Amerika Selatan Tengah dan telah menyebar ke daerah tropis sejak abad ke-19 khususnya di Asia Tenggara khususnya Indonesia. Tanaman ini

tumbuh di bawah sinar matahari penuh, namun dapat juga tumbuh di tempat teduh, seperti di perkebunan karet dan kelapa. *Clitoria ternatea* merupakan tanaman dari keluarga kacang-kacangan. Fabacea termasuk dalam famili Fabales yang memiliki ciri-ciri buah mirip polong asli Asia Tenggara tropis. Fabaceae mempunyai jumlah jenis tumbuhan obat terbanyak di hutan tropik Indonesia dengan 110 jenis. (Marwanto, 2022).

Berikut ini nama umum dan klasifikasi dari *Clitoria ternatea* (Marwanto, 2022):

Nama umum

Indonesia : Kembang telang

Inggris : *Butterfly pea*

Klasifikasi

Kingdom : *Plantae* (tumbuhan)

Subkingdom : *Tracheobionta* (tumbuhan berpembuluh)

Super Divisi : *Spermatophyta* (menghasilkan biji)

Divisi : *Magnoliophyta* (tumbuhan berbunga)

Kelas : *Magnoliopsida* (berkeping dua / dikotil)

Sub Kelas : *Rosidae Ordo*

Fabales Famili : *Fabaceae* (suku polong – polongan)

Genus : *Clitoria*

Spesie : *Clitoria ternatea*

2. Morfologi

Telang memiliki bunga dengan ciri tersendiri yaitu putik dan benang sari yang tidak tampak atau tidak terlihat dari luar. Bunganya berwarna biru tua dan mekar sepanjang tahun (Ningrum, 2022). Menurut (Adiningsih, 2022) tanaman Bunga Telang dapat di deskripsikan sebagai berikut :

- a) Daun : Daunnya lonjong, majemuk, panjang 2 sampai 5 cm, duri menyirip, tepi daun rata. Jika diperhatikan lebih dekat pada permukaan daun, akan terlihat bulu-bulu halus.
- b) Batang: Batang tanaman ini bisa mencapai ketinggian 5 meter dan merambat melalui sulur ke kiri. Bagian batangnya hijau dan beralur, dan batang tua tampak berkayu di pangkalnya.
- c) Bunga: Berbentuk kupu dan berwarna biru tua hingga ungu. Ketika ketiak daun (flos aksilaris) layu, bunganya mekar satu hari setelah layu. Bunga yang belum dipanen menjadi buah polong. Kelopaknya berbentuk corong dan berwarna hijau muda, agak kekuningan.
- d) Tempat tumbuh : Dapat tumbuh di tanah yang berpasir, liat, atau gembur. menyukai saluran tanam yang tetap lembab. menikmati sinar matahari langsung, tetapi terbatas pada naungan.

- e) Pemanfaatan: Bunganya dapat dikonsumsi sebagai makanan atau sebagai campuran pada makanan atau minuman (*edible Flowers*) dan juga dapat digunakan sebagai pewarna alami. Begitu pula daun dan buah mudanya bisa dijadikan lalapan atau sayur-sayuran.

3. Kandungan Bunga Telang

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yaitu sumber antosianin dan flavonoid. Bunga telang umumnya dimanfaatkan sebagai bahan pewarna baik makanan maupun minuman. Bunga telang berwarna biru dan sudah digunakan dalam makanan untuk menangkal kerusakan serta sebagai suplemen makanan. Komposisi bunga telang menurut (de Morais *et al.*, 2020) yaitu asam fenolik, stilbenes, flavanol, antosianin, flavonol dan flavanon. Senyawa fitokimia yang terdeteksi pada bunga telang yaitu flavonoid glikosida, seperti rutin, delphinidin, kaempferol, quercetin dan malvidin. Penelitian (Iamsaard *et al.*, 2014) membandingkan aktivitas antioksidan metode DPPH antara bunga telang dan vitamin C. Vitamin C memiliki nilai IC_{50} sebesar (5.34 ± 0.09) $\mu\text{g/ml}$ sedangkan ekstrak bunga telang memiliki nilai IC_{50} sebesar (84.15 ± 1.50) $\mu\text{g/ml}$. Pada penelitian juga menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang memiliki efek pengurangan zat besi yang tinggi. Kandungan polifenol, flavonoid, dan flavanon pada bunga telang peran serta pada sifat anti diabetes (Choiriyah, 2020).

2.1.2 Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia merupakan bahan obat alami yang belum dilakukan pengolahan apapun dan merupakan bahan kering kecuali dinyatakan lain (Fitri, 2023).

Simplisia dibedakan menjadi tiga kelompok, yaitu simplisia tumbuhan, simplisia hewan, dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia tumbuhan adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan, atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang keluar secara langsung dari tumbuhan, atau isi sel yang dikeluarkan dari sel dengan cara tertentu, atau zat tumbuhan lain yang dipisahkan dari tumbuhan dengan cara tertentu dan belum merupakan eksudat, melainkan senyawa kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berbentuk hewan utuh, bagian-bagian hewan atau zat-zat bermanfaat yang dihasilkan oleh hewan dan belum merupakan zat kimia murni. Simplisia Pelican (mineral) adalah simplisia yang berupa bahan pelican (mineral) yang belum diolah atau baru diolah dan belum merupakan bahan kimia murni (Fitri, 2023).

2. Pengelolaan Simplisia

Mekanisme pengelolaan Simplisia dimulai dengan pengumpulan bahan baku Simplisia. Menurut (Inorih dan Prasetyo, 2013), tahapan penanganan pasca panen antara lain:

a. Sortasi basah

Penyortiran basah berfungsi untuk memilah pengotor dan zat asing pada bahan baku sederhana.

b. Pencucian

Pencucian berfungsi untuk menghilangkan kotoran dan kontaminan lain yang mengendap pada bahan baku Simplisia.

c. Perajangan

Setelah dipanen, tanaman tidak bisa langsung dipotong, melainkan harus dijemur utuh di bawah sinar matahari selama sehari. Semakin tipis bahan yang dikeringkan maka proses penguapan air semakin cepat sehingga mempersingkat waktu pengeringan.

d. Pengeringan

Pengeringan dimaksudkan untuk mencegah kerusakan simplisia dan dapat memperpanjang umur simpannya. Dengan mengurangi kadar air, reaksi enzimatik dapat dihentikan untuk mencegah degradasi atau kerusakan komponen. Air yang tersisa dalam simplisia dalam jumlah tertentu dapat berfungsi sebagai media pertumbuhan mikroorganisme lainnya.

e. Sortasi kering

Penyortiran simplisia dilakukan sebanyak dua kali. Simplisia yang sudah kering harus dilakukan penyortiran ulang untuk memisahkan benda asing organik, kotoran, dan Simplisia yang rusak karena pengeringan.

f. Pengepakan dan penyimpanan

Bahan kemasan yang terbuat dari kaleng, aluminium atau seng bersifat sedikit berpori dan harus dilapisi dengan plastik, lilin atau bahan sejenisnya. Fitur penyimpanan yang terorganisir dan rapi meminimalkan risiko kontaminasi dan mempermudah pengumpulan, pemeriksaan, dan pemeliharaan. Stiker sederhana disertakan untuk mengidentifikasi identitas, kualitas, kuantitas, kondisi dan tahapan penyimpanan. Simplisia harus disimpan di tempat yang memenuhi persyaratan sebagai berikut: harus tertutup dan bersih, mempunyai penerangan yang cukup bila diperlukan, mempunyai sirkulasi udara yang baik, tidak lembab dan mencegah sinar matahari masuk.

2.1.2 Ekstraksi

1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi melibatkan pemisahan suatu zat dari campuran menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan harus mampu mengekstrak zat yang diinginkan tanpa melarutkan bahan lain.

Secara umum, proses pemisahan ekstraksi melibatkan tiga langkah dasar, yaitu (Putri, 2022).:

- 1) Menambahkan sebagian massa pelarut untuk dikontakan dengan sampel, umumnya melalui metode difusi.
- 2) Zat terlarut dipisahkan dari sampel dan dilarutkan dalam pelarut membentuk fasa yang diekstraksi.
- 3) Pemisahan fase ekstrak melalui sampel.

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya menggunakan pelarut yang sesuai (Zhang *et al.*, 2018). Dengan tujuan untuk menarik keluar zat aktif yang terdapat pada tanaman obat menggunakan cairan penyari (Najib, 2018). Dimana ekstraksi ini terjadi berdasarkan kemampuan pelarut untuk menarik senyawa terlarut dari dalam sel karena adanya perbedaan tekanan didalam dan di luar sel yang terjadi terus menerus hingga terjadi kesetimbangan zat aktif di dalam dan di luar sel (Riska, 2023).

Ekstraksi merupakan senyawa kimia yang dipisahkan dari jaringan tumbuhan ataupun hewan menggunakan filter yang sesuai. Ekstrak adalah suatu sediaan pekat yang didapat dengan mengekstraksi bahan aktif melalui pelarut yang sesuai, kemudian menguapkan seluruh atau hampir seluruh pelarut dan mengolah sisa massa atau serbuk hingga tercapai standar tertentu (Putri, 2022).

Proses ekstraksi adalah proses pengambilan bahan baku obat yang diinginkan dari suatu bahan baku obat dengan menggunakan pelarut terpilih yang mana zat yang diinginkan tersebut akan larut dan bahan baku obat yang diperoleh dari tumbuhan atau hewan tidak memerlukan pengolahan lebih lanjut kecuali dikumpulkan dan dikeringkan. Proses ekstraksi tumbuhan tersebut adalah sebagai berikut :

- a. Bagian tumbuhan dikelompokkan (bunga, daun, batang, dll), kemudian melakukan pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan.
- b. Memilih pelarut.
- c. Pelarut polar : air, etanol, metanol, dan sebagainya.
- d. Pelarut semipolar : etil asetat, diklorometan, dan sebagainya.
- e. Pelarut nonpolar : n-heksan, petroleum eter, klorofom, dan sebagainya.

2. Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, yaitu perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Saputra *et al.*, 2020).

Hal yang perlu diperhatikan dalam ekstraksi menurut Marjoni (2016) :

- a. Banyak simplisia yang akan diekstrak
Semakin banyak simplisia, semakin banyak pula pelarut yang digunakan.
- b. Derajat kehalusan simplisia
Hal ini meningkatkan bidang kontak dengan pelarut sehingga proses ekstraksi dapat berjalan lebih optimal.
- c. Kondisi proses ekstraksi
Sebagian dari proses ekstraksi membutuhkan keadaan dan kondisi tertentu.
- d. Jenis pelarut yang digunakan dalam ekstraksi
Senyawa dengan polaritas yang sama lebih mudah larut dalam pelarut dengan polaritas yang sama (*like dissolves like*).
- e. Metode ekstraksi
Metode ekstraksi digunakan untuk mengetahui sifat-sifat senyawa kimia yang akan diekstraksi dari simplisia.

3. Maserasi

a. Pengertian Maserasi

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi dimana dalam maserasi, bubuk kasar sampel tumbuhan disimpan dan dibiarkan mengalami kontak dengan pelarut dalam wadah tertutup untuk jangka waktu tertentu yang disertai dengan

pengadukan hingga komponen sampel tumbuhan ada yang larut. Metode ini paling cocok untuk digunakan dalam kasus senyawa kimia tumbuhan yang tidak tahan panas (termolabil). (Asriyani, 2022)

Faktor yang perlu diperhatikan dalam proses ekstraksi secara maserasi yaitu (Riska, 2023).

a) Waktu maserasi

Jika semakin lama kontak antara pelarut dengan bahan maka akan memperbanyak jumlah sel yang pecah dan bahan aktif terlarut.

b) Pengaruh suhu

Kelarutan zat aktif yang diekstraksi akan bertambah besar dengan kenaikan suhu. Peningkatan suhu selama proses ekstraksi juga perlu diperhatikan, karena suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada bahan yang sedang diproses (Chairunnisa *et al.*, 2019).

c) Ukuran Partikel

Ukuran partikel merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap ekstraksi karena semakin kecil ukuran partikel maka semakin luas permukaan kontak antara partikel dengan pelarut.

d) Volume pelarut

Semakin tinggi volume pelarut maka semakin besar rendemen yang dihasilkan dalam metode maserasi.

4. Perkolasi

a. Pengertian Perkolasi

Perkolasi adalah suatu metode ekstraksi bahan yang disiapkan secara sempurna dengan menggunakan pelarut yang selalu baru hingga prosesnya sempurna, dan biasanya dilakukan pada suhu kamar. Metode ini melibatkan perendaman bahan dalam suatu pelarut dan kemudian terus menerus mengalirkan pelarut baru sampai pelarut tersebut tidak lagi berwarna atau tetap bening, yaitu tidak ada lagi senyawa yang terlarut. Kelebihan metode ini adalah tidak memerlukan proses tambahan untuk memisahkan padatan dari ekstrak, sedangkan kelemahan metode ini yaitu jumlah pelarut yang dibutuhkan cukup banyak dan prosesnya juga memakan waktu yang cukup lama serta kontak yang diperlukan tidak merata antara padat dengan pelarut. (Putri, 2022)

Metode perkolasi menggunakan serbuk sampel yang dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi kran pada bagian bawahnya). Lalu pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Metode

perkolasi memiliki kelebihan yaitu sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru sedangkan kekurangannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen, maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area (Hasanah, 2023).

2.1.3 Senyawa Flavonoid

Flavonoid merupakan satu diantara yang ada dari beberapa jenis senyawa yang merupakan metabolit sekunder. Dimana senyawa ini banyak terdapat pada jaringan tanaman. Flavonoid juga termasuk dalam kelompok senyawa fenolik yang memiliki struktur kimia C₆-C₃-C₆. Kerangka senyawa ini terdiri dari cincin aromatik A, cincin aromatik B, dan cincin pusat heterosiklik dengan cincin teroksidasi yang mengandung oksigen. Ini adalah alasan mengapa flavonoid dibagi menjadi subkelompok.

Flavonoid juga memiliki sistem penomoran. menggunakan sistem penomoran untuk membedakan posisi atom karbon di sekitar molekul. Pengelompokan flavonoid didasarkan pada tambahan cincin oksigen heterosiklik dan gugus hidroksil yang terdistribusi. Kelompok flavonoid terbesar mempunyai cincin piran yang menghubungkan rantai tiga karbon dengan salah satu cincin benzena. Sistem penomoran flavonoid biasanya dimulai dengan cincin C dan A dengan angka beraturan kemudian dilanjutkan dengan memberi nama pada cincin B dengan angka beraksen. Khusus golongan chalcone, penomorannya

dimulai dari ring B dengan nomor beraturan kemudian dilanjutkan ke ring A dengan nomor beraksen. (Ariyanto *et al.*, 2022)

2.1.4 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah teknik pemisahan diantara dua fase, yaitu fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas). Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu analisis kualitatif dari suatu sampel yang ingin dideteksi dengan memisahkan komponen-komponen sampel berdasarkan perbedaan kepolaran. Fase diam yang digunakan yaitu lapisan yang seragam (uniform) didalam permukaan bidang datar pada lempeng kaca, plat aluminium, atau plat plastik. Fase gerak yaitu pelarut pengembang yang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler baik secara menaik (ascending) atau secara menurun (descending) (Fikriana, 2021).

- a. Fase gerak : Pelarut yang bersirkulasi melalui pembawa berbentuk gas atau cairan.
- b. Fase diam : Pelapisan atau salut penyangga yang kontak langsung dengan analit, padat atau cair, gel pada kolom, salut.

Kromatografi Lapis Tipis adalah salah satu metode pemisahan kromatografi yang fleksibel dan banyak digunakan. Metode analisis kromatografi lapis tipis (KLT) telah menjadi bagian dari teknik analisis rutin pada laboratorium analisis dan pengembangan produk karena memiliki beberapa keuntungan. Keuntungan utama metode analisis kromatografi lapis tipis dibandingkan metode analisis kromatografi cair

kinerja tinggi adalah analisis beberapa sampel dapat dilakukan secara simultan dengan menggunakan fase gerak dalam jumlah kecil sehingga lebih hemat waktu dan biaya analisis serta lebih ramah lingkungan. Teknik pemisahannya sederhana dengan peralatan yang minimal (Wardana, 2021).

Kromatografi lapis tipis adalah teknik praktis yang dikembangkan dari ketertarikan para ahli kimia yang memiliki kemampuan dalam memisahkan campuran senyawa (terutama senyawa organik) dari komponen-komponennya, dengan tujuan akhir yaitu mampu mengidentifikasi komponen individual dalam senyawa yang diuji dan teknik kromatografi lapis tipis ini hemat biaya serta mudah dioperasikan. Prinsip kerja dari kromatografi lapis tipis yakni memisahkan molekul dengan melarutkan campuran dalam fase gerak dan dialirkan melalui fase diam, prinsip ini digunakan untuk memantau kemajuan reaksi organik dan untuk memeriksa kemurnian suatu produk (Irawan, 2023).

Secara umum, KLT lebih umum digunakan untuk tujuan identifikasi karena sederhana, murah, ringan, cepat, dan memberi jangkauan fase gerak yang lebih luas. KLT sendiri mempunyai keuntungan lain, seperti analisis kualitatif dan isolasi fase diam yang umum digunakan, yaitu silika gel, pada skala preparatif, yang ditambahkan kalsium sulfat untuk meningkatkan adhesi fase diam. Sebagian fase diam lain yang dapat digunakan adalah selulosa,

poliamida, alumina, Cefadex dan Celite. Fase gerak dapat menggunakan komponen tunggal atau multi komponen, tetapi tidak boleh lebih dari 4 jenis. Pemilihan fase gerak harus bergantung pada jenis dan polaritas senyawa yang akan dipisahkan (Putri, 2022).

2.1.5 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan alat yang digunakan untuk mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan sinar tampak yang diserap suatu sampel. Sinar ultraviolet pada kulit terluar pada tingkat energi yang cukup untuk meningkatkan elektron kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Panjang gelombang sinar ultraviolet tampak adalah antara 200 dan 400 nm. Sedangkan sinar tampak berbeda pada panjang gelombang antara 400 sampai 800 nm. Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk mendeteksi molekul ionik anorganik atau kompleks dalam larutan. Spektro juga memiliki bentuk yang luas dan berisi berbagai informasi struktur yang biasanya digunakan dalam spektrum ini, namun spektrum ini dapat digunakan untuk pengukuran panjang kuantitatif, dimana konsentrasi analit dalam suatu larutan dapat ditentukan dengan mengukur absorben pada panjang gelombang terutama menggunakan hukum Lambert-Beer (Dakusa, 2023).

Menetapkan suatu larutan secara kuantitatif dapat dilakukan dengan cara mengukur serapan larutan zat dalam pelarut serta panjang gelombang tertentu, panjang gelombang maksimum biasanya dilakukan

pada pengukuran serapan dan umumnya telah dicantumkan pada monografi, akan tetapi letak pada serapan maksimum dapat berbeda. Jika akan melakukan pengukuran panjang gelombang maka sebaiknya menggunakan alat yang berbeda dengan ditentukannya alat yang digunakan, tetapi daerah 240 nm-280 nm yang diperoleh tidak berbeda lebih dari 0,5 nm pada panjang gelombang, pada daerah 280 nm-320 nm diperoleh tidak lebih dari 1 nm, serta pada panjang gelombang daerah 320 nm memperoleh tidak lebih dari 2 nm yang ditentukan. Bagian-bagian terpenting dari spektrofotometer yaitu sumber sinar monokromator, tempat sel untuk diperiksa, detektor, penguat arus, alat ukur atau pencatat.

Pada pengukuran serapan suatu larutan hampir selalu digunakan blanko yang dipakai untuk mengatur spektrofotometer, hingga pada panjang gelombang pengukuran mempunyai serapan nol. Maksud dari blanko tersebut adalah koreksi serapan yang disebabkan oleh pelarut, pereaksi, sel atau pengukuran alat, blanko yang digunakan adalah blanko untuk yang melarutkan zat terhadap larutan zat pembanding kimia yang disiapkan dengan cara yang sama, dalam hal ini pengukuran serapan mula-mula dilakukan terhadap pembanding kemudian terhadap larutan zat yang diperiksa (Dakusa, 2023).

Pelarut yang digunakan dalam spektrofotometri pada daerah ultraviolet dapat digunakan air, etanol, kloroform, eter, amonia encer, larutan natrium hidroksida, asam sulfat, dan asam klorida, harus

dihindari pelarut yang mengandung kotoran yang menyerap sinar pada daerah yang digunakan untuk pengukuran, pelarut yang digunakan sebagai blanko dari nomor batch yang sama dengan pelarut yang digunakan untuk membuat larutan yang diukur (Dakusa, 2023).

1. Prinsip kerja Spektrofotometri UV-Vis

Suatu spectrum elektromagnetik dapat dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Suatu daerah yang akan diabsorpsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang akan diabsorpsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang akan ditelitinya. Spectrum ini meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro. Instrumen spektrofotometri secara sederhana yang disebut spektrofotometri Uv-Vis terdiri dari; sumber cahaya, monokromatis, sel sampel, detector, read out.

Menurut hukum Lambert: Bila suatu cahaya monokromatis masuk kedalam larutan setebal b (tebal medium) maka sebagian energi akan diserap oleh molekul dalam larutan, pengukuran intensitas cahaya berbanding lurus dengan tebal medium, maka dengan bertambahnya tebal sel, maka serapan akan bertambah. Sehingga didapat beberapa persamaan : $A = a \times b$.

Sedangkan menurut hukum Beer intensitas cahaya monokromatis yang masuk kedalam larutan maka sebagian cahaya akan diserap oleh molekul dalam larutan, berkurangnya intensitas

cahaya berbanding lurus dengan pertambahan kadar zat dalam larutan. Jika konsentrasi bertambah, jumlah molekul yang dilalui berkas sinar akan bertambah, maka serapan juga bertambah. Sehingga didapat persamaan: $A = a \times c$. Kedua persamaan ini digabungkan dalam hukum Lambert-Beer, maka diperoleh bahwa serapan berbanding lurus dengan konsentrasi dan ketebalan sel yang dapat ditulis dengan persamaan : $A = a \times b \times c$. Umumnya dapat digunakan dua satuan c (konsentrasi zat yang menyerap) yang berlainan yaitu gram per liter atau mol per liter. Nilai tetapan (k) dalam hukum Lambert-Beer tergantung pada sistem konsentrasi yang digunakan. Bila konsentrasi (c) dalam gram per liter, tetapan disebut dengan absorptivitas (a) dan bila dalam mol per liter, tetapan tersebut adalah absorptivitas molar (ϵ). Jadi hukum Lambert-Beer dapat juga dinyatakan dalam rumus berikut :

$$A = a \times b \times c$$

Keterangan :

A : Absorbansi

a : Absorbtivitas

b : Tebalsel (umumnya 1 cm)

c : Konsentrasi zat (gram/liter)

$$A = \epsilon \times b \times c$$

Keterangan :

A : Absorbansi

ϵ : Absorbtivitas molar

b : Tebal sel (umumnya 1 cm)

c : Konsentrasizat (mol/liter)

Menurut Roth dan Blaschke (1981), absorptivitas spesifik juga sering digunakan untuk menggantikan absorptivitas. Absorptivitas spesifik adalah serapan yang dihasilkan oleh larutan 1 % (b/v) dengan ketebalan sel 1 cm, sehingga satuan c (konsentrasi) bahan yang diukur dalam % (g/100ml), sehingga bila absorbtivitas molar tidak diketahui. Maka absorbtivitas spesifik dapat digunakan sebagai pengganti, sehingga diperoleh persamaan:

$$A = A_{11} \cdot b \cdot c$$

Keterangan :

A : Absorbansi

A_{11} : Absorbtivitas spesifik

b : Tebalsel (umumnya 1 cm)

c : Konsentrasizat (gram/100ml)

Hukum Lambert-Beer menjadi dasar aspek kuantitatif spektrofotometri yaitu konsentrasi dapat dihitung berdasarkan rumus di atas. Absorptivitas (a) merupakan konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Absorptivitas tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi (Dakusa, 2023). Penyimpangan dari hukum Beer dapat disebabkan dari

variabel kimia atau instrumen, dan kegagalan hukum Beer dapat disebabkan oleh perubahan kadar molekul. Apabila sinar mengenai suatu larutan, mungkin terjadi berbagai keadaan, yaitu :

- a) Terjadinya sedikit absorpsi maka hanya sedikit energi yang hilang dari cahayanya
- b) Arah cahaya mengalami perubahan yang dapat berupa refleksi, dibiaskan (refraksi), atau difraksi. Penghamburan bisa juga terjadi jika zat berupa suspensi karena adanya partikel-partikel zat yang tidak larut.
- c) Energi cahaya diserap sebagian atau seluruhnya. Absorpsi ini menyebabkan adanya perubahan, perpindahan tenaga ke medium, dan proses absorpsi adalah fenomena yang spesifik dan berhubungan erat dengan struktur molekul. Jadi dengan adanya absorpsi ini maka intensitas cahaya yang diteruskan (yang keluar) akan berkurang.
- d) Peristiwa-peristiwa yang terjadi ini tergantung dari zat yang terdapat di dalam larutan. Spektrum ultra violet biasanya diambil larutan yang sangat encer, untuk mendapatkan kesalahan sekecil mungkin, maka transmittan (T) harus $20\% < T < 65\%$ Jadi konsentrasi larutan zat yang akan ditentukan diatur agar berada dalam batas-batas pengukuran tersebut.

2.1.6 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dalam analisis kuantitatif, panjang gelombang maksimal bersama dengan nilai absorbansi digunakan. Dicapai dengan membuat kurva hubungan antara panjang gelombang larutan baku dengan absorbansi pada konsentrasi tertentu (Fitri, 2023).

Terdapat sejumlah pertimbangan penggunaan panjang gelombang maksimal, yaitu:

- a. Pada panjang gelombang maksimal, kepekatan larutan uji juga maksimal dikarenakan perubahan nilai absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar.
- b. Di sekitar panjang gelombang maksimal, bentuk kurva absorbansi dasar dan pada kondisi tersebut, hukum Lambert-Beer akan terpenuhi.

2.1.7 Antioksidan

1. Pengertian Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif yang membentuk radikal bebas tidak reaktif yang tidak stabil. Antioksidan merupakan semua bahan yang dapat menunda atau mencegah kerusakan akibat oksidasi pada molekul sasaran. Dalam pengertian kimia antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron, tetapi dalam pengertian biologis lebih luas lagi, yaitu

semua senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam.

Antioksidan dapat diperoleh dalam bentuk sintetis dan alami. Antioksidan sintetis seperti buthylated hydroxytoluene (bht), buthylated hidroxyanisol (bha), dan tert-butylated hydroxyquinone (tbhq) secara efektif dapat menghambat oksidasi. Antioksidan sintetis bersifat karsinogenik dalam jangka tertentu dapat menyebabkan racun dalam tubuh, sehingga dibutuhkan antioksidan alami yang lebih aman. Antioksidan alami dapat ditemukan pada sayur-sayuran yang mengandung fitokimia, seperti flavonoid, isoflavin, flavon, vitamin C dan antosianin.

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya dengan cuma-cuma kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Pangestika, 2020).

A. Macam-macam antioksidan

Terdapat tiga macam antioksidan yaitu (Pangestika, 2020):

1. Antioksidan yang dibuat oleh tubuh kita sendiri yang berupa enzim antara lain superoksida dismutase, glutathione peroxide, perhidasi dan katalase.
2. Antioksidan alami yang dapat diperoleh dari tanaman atau hewan, yaitu tokoferol, vitamin C, betakaroten, flavonoid dan senyawa fenolik.

3. Antioksidan sintetik, yang dibuat dari bahan-bahan kimia yaitu Butylated Hydroxyanisole (bha), Butylated hydroxytoluene (bht), , Tert butil hydroquinon (tbhq), Propiylgallate (pg), dan Nordihydroquairetic acid (ndga).

B. Fungsi Antioksidan

Atas dasar fungsinya antioksidan dapat dibedakan menjadi 5 (lima) seperti berikut (Pangestika, 2020):

1. Antioksidan Primer

Antioksidan ini berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena ia dapat merubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya, yaitu sebelum sempat bereaksi.

Antioksidan primer yang ada dalam tubuh yang sangat terkenal adalah enzim superoksida dismutase. Enzim ini sangat penting sekali karena dapat melindungi hancurnya sel-sel dalam tubuh akibat serangan radikal bebas. Bekerjanya enzim ini sangat dipengaruhi oleh mineral-mineral seperti mangan, seng, tembaga dan selenium yang harus terdapat dalam makanan dan minuman.

2. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar.

Contoh yang populer, antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan.

3. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk kelompok ini adalah jenis enzim misalnya metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim tersebut bermanfaat untuk perbaikan DNA pada penderita kanker.

4. Oxygen Scavager

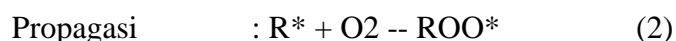
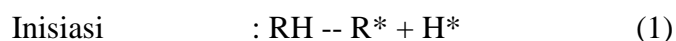
Antioksidan yang termasuk oxygen scavager mengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi, misalnya vitamin C.

5. Chelators atau sequesstrants

Mengikat logam yang mampu mengkatalisasi reaksi oksidasi misalnya asam sitrat dan asam amino. Tubuh dapat menghasilkan antioksidan yang berupa enzim yang aktif bila didukung oleh nutrisi pendukung atau mineral yang disebut juga ko-faktor. Antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh antara lain seperti Superoksida dismutase, glutathione peroksidase, dan katalase.

C. Mekanisme Kerja Antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hidrogen (reaksi 1). Pada tahap selanjutnya, yaitu propagasi, radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (reaksi 2). Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru (reaksi 3) (Pangestika, 2020).



Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bertanggung jawab atas flavor makanan berlemak.

Antioksidan yang baik akan bereaksi dengan radikal asam lemak segera setelah senyawa tersebut terbentuk, dari berbagai antioksidan yang ada, mekanisme kerja serta kemampuannya sebagai antioksidan sangat bervariasi. Kombinasi

beberapa jenis antioksidan memberikan perlindungan yang lebih baik (sinergisme) terhadap oksidasi dibanding dengan satu jenis antioksidan saja. Sebagai contoh asam askorbat seringkali dicampur dengan antioksidan yang merupakan senyawa fenolik untuk mencegah reaksi oksidasi lemak. Dalam proses melumpuhkan radikal bebas, vitamin E menjadi pelopor diikuti oleh vitamin C dan dengan bantuan senyawa glutathion, betakaroten, seng, mangan, dan selenium akan memudahkan pelumpuhan radikal bebas.

D. Kategori aktivitas antioksidan

Suatu senyawa dikatakan mempunyai aktivitas antioksidan sangat kuat jika mampu menghambat perkembangan radikal bebas lebih dari 80%, dikatakan sedang jika mampu menghambat sebesar 50-80%, dan dikatakan lemah jika mempunyai kemampuan pengambatan kurang dari 50%.

E. Metode Uji Aktivitas Antioksidan

Mengukur aktivitas antioksidan total suatu senyawa, dapat menggunakan metode :

a. Uji DPPH

DPPH (*1,1-difenil-2-picrylhydrazyl*) adalah suatu radikal bebas yang dapat menghasilkan warna ungu pada larutan. Ketika larutan DPPH dicampur dengan senyawa

yang dapat mendonorkan atom hydrogen, maka warna ungu dari larutan akan hilang seiring dengan tereduksinya DPPH.

Prinsip pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode ini yaitu berdasarkan tereduksinya DPPH oleh antioksidan sehingga warna ungu pada larutan berubah.

Intensitas warna dari larutan uji diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang tertentu. Intensitas warna dari larutan uji diukur melalui spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang sekitar 520 nm. DPPH mudah larut dalam pelarut methanol sehingga larutan blanko dalam uji antioksidan ini menggunakan methanol.

Aktivitas antioksidan didapat dari nilai absorbansi yang kemudian akan digunakan untuk menghitung presentase inhibisi 50% (IC_{50}). Nilai Konsentrasi Efektif (EC_{50}), juga dikenal sebagai Nilai Konsentrasi Inhibitor (IC_{50}) adalah konsentrasi senyawa antioksidan yang menyebabkan hilangnya 50% dari karakter radikal bebas DPPH. Kadar senyawa antioksidan sampel berbanding terbalik dengan nilai IC_{50} semakin tinggi kadar antioksidan maka semakin rendah nilai IC_{50} . Data yang didapatkan selanjutnya diolah kedalam persamaan regresi linier (Fitri, 2023).

2.2 Hipotesis

1. Terdapat nilai IC_{50} dari ekstrak bunga telang.
2. Terdapat pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap nilai IC_{50} dari hasil maserasi dan perkolasi dari bunga telang (*Clitoria ternatea* L.).