BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Pepaya Jepang

1. Definisi Tanaman Pepaya Jepang

Tanaman chaya (*Cnidoscolus aconitifolius* Mill.), yang dikenal sebagai pepaya jepang, sebenarnya berasal dari Meksiko, bukan dari Jepang. Penamaan „pepaya‟ merujuk pada kemiripan bentuk dan tekstur daunnya dengan daun pepaya, termasuk cara pengolahannya. Namun, secara taksonomi, tanaman ini lebih berkerabat dekat dengan singkong. Tanaman pepaya jepang (*Cnidoscolus aconitifolius* Mill.) dikenal memiliki berbagai manfaat, baik sebagai bahan pangan maupun sebagai obat tradisional. Secara medis, tanaman ini berkhasiat untuk memperkuat kuku, menghitamkan rambut yang mulai beruban, serta membantu mengatasi berbagai gangguan kesehatan seperti alkoholisme, insomnia, masalah kulit, diabetes, asam urat, sengatan kalajengking, penyakit kelamin, dan juga berperan dalam meningkatkan fungsi otak serta daya ingat (Grubben & Denton, 2004).

Daun pepaya jepang memiliki kandungan vitamin C, β-karoten, dan protein yang tinggi, serta kaya akan kalsium, fosfor, zat besi, thiamin, riboflavin, dan niasin (Ross-Ibarra & Molina-Cruz, 2002). Senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun pepaya jepang meliputi flavonoid, fenolik, saponin, tanin, dan juga steroid (Purnamasari dkk., 2024). Potensi farmakologis yang dimiliki daun pepaya jepang menjadikannya sebagai salah satu tanaman yang layak untuk dikembangkan dalam dunia farmasi.

Kemenkes Poltekkes Bengkulu

2. Morfologi Tanaman Pepaya Jepang

Tanaman pepaya jepang (*Cnidoscolus aconitifolius* Mill.) merupakan tanaman semak yang dapat tumbuh hingga mencapai tinggi sekitar 6 meter. Tanaman ini memiliki bunga uniseksual, yaitu bunga jantan dan betina terpisah. Bunga betina dilengkapi dengan tiga putik sebagai alat reproduksi, sementara bunga jantan memiliki sepuluh benang sari. Bijinya berukuran antara 6 hingga 8 mm dan tidak bertangkai, memiliki 5 bagian mahkota bunga, dengan kelopak bunga berwarna putih (Grubben & Denton, 2004).

Pepaya jepang merupakan tanaman hijau abadi (*evergreen*) yang memiliki daun berbentuk palatum, bunga berukuran kecil berwarna putih, serta mengandung getah berwarna putih seperti susu. Daunnya berukuran besar dan ringan, dengan panjang mencapai 32 cm dan lebar hingga 30 cm. Tangkai daunnya dapat mencapai panjang 28 cm. Selain itu, daun tanaman ini juga memiliki rasa yang enak dan banyak digemari (Ross-Ibarra & Molina-Cruz, 2002).

3. Klasifikasi Tanaman Pepaya Jepang

Berdasarkan data dari *Integrated Taxonomic Information System* (ITIS), klasifikasi tanaman pepaya jepang adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*

Subkingdom : *Viridiplantae*

Infrakingdom : *Sterptophyta*

Superphylum : *Embryophyta*

Phylum : *Tracheophyta*

Subphylum : *Spermatophytina*

Class : *Magnoliopsida*

Superordo : *Rosanae*

Ordo : *Malpighiales*

Family : *Euphorbiaceae*

Genus : *Cnidoscolus Pohl*

Spesies : *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M.Johnst.



Gambar 2. 1 Daun Pepaya Jepang (*Cnidoscolus aconitifolius* Mill.)
Sumber : Mutakin dkk., 2022

4. Kandungan Daun Pepaya Jepang

Seperti daun herbal lainnya, daun pepaya jepang (Cnidoscolus aconitifolius Mill.) memiliki sejumlah senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan sebagai agen terapeutik berbagai penyakit. Beberapa senyawa aktif yang ada pada daun pepaya jepang diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid/terpenoid dan fenolik.

Alkaloid termasuk dalam golongan metabolit sekunder yang jumlahnya paling banyak ditemukan dan mengandung atom nitrogen, ditemukan dalam jaringan tumbuhan maupun hewan. Mayoritas

alkaloid berasal dari tumbuhan, khususnya kelompok angiospermae. Senyawa ini memiliki berbagai aktivitas biologis, diantaranya sebagai antidiare, antihiperglikemia, antimikroba, serta antimalaria. Namun demikian, beberapa jenis alkaloid juga bersifat toksik. Alkaloid dapat ditemukan pada berbagai bagian tanaman, seperti akar, batang, daun, serta biji. Dalam tanaman, alkaloid berperan sebagai zat pertahanan terhadap serangan hama dan hewan pemakan tumbuhan, mengatur proses pertumbuhan, serta berperan sebagai penyimpan nitrogen dan unsur hara lainnya (Ningrum dkk., 2016).

Flavonoid merupakan senyawa alami yang banyak ditemukan pada tanaman hijau, sehingga hampir seluruh ekstrak tumbuhan mengandung flavonoid. Substansi ini terlibat dalam pembentukan warna kuning, merah, oranye, biru, hingga ungu pada daun, bunga, dan buah. Flavonoid diketahui memiliki potensi terapeutik yang luas, antara lain sebagai agen antikanker, antibakteri, antiinflamasi, serta dalam pengobatan gangguan kardiovaskular. Selain itu, flavonoid juga memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, yang memiliki kemampuan untuk mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas. Aktivitas biologis tersebut diperkuat oleh kemampuan flavonoid untuk mengalami proses metilasi, yang meningkatkan efektivitasnya dalam bidang farmasi dan pengobatan (Arifin & Ibrahim, 2018).

Saponin dikenal sebagai metabolit sekunder yang tergolong dalam kelompok glikosida dengan aglikon berupa steroid atau triterpenoid. Senyawa ini umumnya dihasilkan dari tanaman, hewan

laut tingkat rendah, serta beberapa jenis bakteri. Dalam tumbuhan, saponin tersebar luas di berbagai bagian seperti akar, batang, umbi, daun, biji, dan buah. Berdasarkan struktur kimianya, saponin dibedakan menjadi dua jenis, yaitu steroid saponin yang banyak ditemukan pada tumbuhan famili rumput-rumputan, serta triterpenoid saponin yang umum dijumpai dalam kedelai. Saponin memiliki cita rasa yang sangat khas, dengan rentang rasa mulai dari sangat pahit hingga sangat manis (Anggraeni Putri dkk., 2023).

Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder aktif dari golongan polifenol yang disintesis oleh tanaman. Senyawa ini terdiri atas gugus hidroksil dan gugus lainnya yang berkaitan, seperti karboksil. Tanin memiliki struktur kimia yang bervariasi dan umumnya memiliki berat molekul tinggi. Berdasarkan sifat kimianya, tanin diklasifikasikan menjadi dua kelompok utama, yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin banyak ditemukan di berbagai bagian tanaman, terutama pada daun, serta berfungsi sebagai mekanisme pertahanan alami terhadap patogen khususnya jamur karena mekanisme kerjanya yang dapat merusak dinding sel jamur (Hersila dkk., 2023).

Steroid dan triterpenoid merupakan senyawa dengan struktur siklik yang kompleks, dan umumnya memiliki gugus fungsi berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat. Kedua golongan senyawa ini diketahui mempunyai beberapa aktivitas farmakologi, diantaranya sebagai antibakteri, antiinflamasi, penghambat sintesis kolesterol,

antikanker, antitumor, serta menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel pankreatik (Elisa dkk., 2018).

Fenolik dikenal sebagai kelompok terbesar yang berkontribusi signifikan dalam aktivitas antioksidan alami. Secara struktural, senyawa ini memiliki satu unit cincin fenol, yang disebut fenol, atau lebih dari satu, yang dikenal dengan istilah polifenol, dengan gugus hidroksi yang terikat bersamaa cincin aromatik. Hal ini mempermudah senyawa fenolik mengalami reaksi oksidasi dengan mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas. Potensi dalam membentuk radikal fenoksi yang stabil menjadikan senyawa ini sangat efektif sebagai antioksidan (Dhurhania & Novianto, 2018).

B. Flavonoid

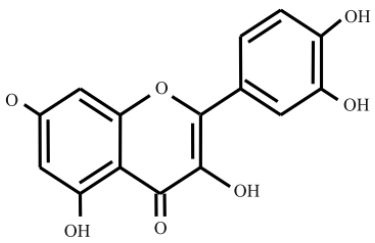
Flavonoid adalah salah satu bahan kimia penting dalam pepaya jepang yang memiliki efek farmakologis. Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder dari golongan fenolik. Struktur dasar flavonoid adalah C6-C3-C6, dengan dua cincin aromatik (cincin A dan cincin B) yang dihubungkan oleh cincin tengah heterosiklik yang mengandung oksigen. Bentuk teroksidasi cincin ini menentukan bagaimana flavonoid dibagi menjadi subkelompok (Redha, 2010).

Flavonoid merupakan kelompok metabolit sekunder yang paling umum ditemukan dalam jaringan tumbuhan. Senyawa ini terdapat di kulit kayu, akar, batang, buah, sayur, biji, dan bunga. Aktivitas fotosintesis mempengaruhi kadar flavonoid pada daun. Daun yang lebih tua biasanya memiliki kadar flavonoid yang lebih tinggi dari pada daun muda.

Flavonoid dikenal memiliki berbagai manfaat bagi kesehatan dan banyak dimanfaatkan dalam bidang nutrasetikal, farmasi, pengobatan, serta industri kosmetik (Khoirunnisa & Sumiwi, 2019).

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder penting pada tumbuhan. Secara umum klasifikasi flavo noid terdiri dari flavon, flavonol, flavanol, flavanone, anso tianidin, dan kalkon. Klasifikasi flavonoid ini tergantung pada perbedaan substitusi struktur flavonoid dan perbe₅daan ini menyebabkan aktivitas farmakologi yang beragam. Sebagaimana ditunjukkan oleh review jurnal Alfaridz & Amalia tahun 2019, flavonoid memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antioksidan, antidiabetes, dan antibakteri.

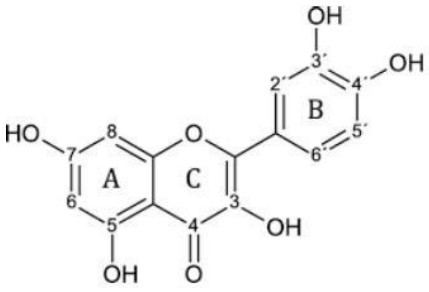
Kelompok senyawa flavonoid banyak dijumpai di alam dan secara umum ditemukan pada hampir seluruh tanaman hijau., sehingga dapat dijumpai pada hampir setiap ekstrak tanaman. Hingga kini, telah teridentifikasi lebih dari 9.000 jenis flavonoid. Kebutuhan harian flavonoid pada manusia bervariasi antara 20 hingga 500 mg. Flavonoid ditemukan pada tanaman, yang berkontribusi memproduksi pigmen berwarna kuning, merah, oranye, biru, dan warna ungu dari buah, bunga, dan daun (Arifin & Ibrahim, 2018).



Gambar 2. 2 Kerangka C6 – C3 – C6 Flavonoid
Sumber : Redha, 2010

C. Kuersetin

Kuersetin adalah salah satu flavonoid dimana merupakan metabolit sekunder esensial yang disintesis dihampir semua bagian tanaman dibawah keadaan lingkungan tanaman yang berbeda. Pada penentuan kadar kuersetin, beberapa faktor yang mempengaruhi tinggi rendahnya kadar kuersetin yaitu ketersediaan nutrisi dan air serta salinitas pada tanaman (Melanie dkk., 2023). Flavonoid yang paling umum ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan adalah kuersetin, yang merupakan senyawa terbesar dalam kelompok flavonoid. Kuersetin dan glikosidanya berjumlah sekitar 60 sampai 75% dari flavonoid (Rivai dkk., 2011). Kuersetin termasuk salah satu flavonol paling potensial. Struktur cincin aromatik dan konfigurasi aglikonnya yang kaya akan gugus hidroksil menjadikan senyawa ini sebagai salah satu flavonoid dengan aktivitas antioksidan yang sangat tinggi (Arifin & Ibrahim, 2018). Selain sebagai antioksidan kuat, kuersetin juga menunjukkan berbagai aktivitas biologis lainnya, seperti sebagai agen antivirus, antibakteri, antiinflamasi, dan antikanker. Senyawa ini terbukti dapat menghentikan pertumbuhan berbagai jenis sel kanker, termasuk kanker prostat, kolon, payudara, dan paru-paru (Widyasari dkk., 2019).



Gambar 2. 3 Struktur Kimia Kuersetin
Sumber : Widyasari dkk., 2019

D. Ekstraksi

1. Definisi Ekstraksi

Ekstraksi dikenal sebagai metode pemisahan senyawa kimia aktif dari bahan alam (simplisia) melalui penggunaan pelarut cair yang sesuai, di mana senyawa yang larut akan terpisah dari komponen yang tidak larut. Senyawa aktif yang dapat diperoleh melalui proses ini antara lain termasuk golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan senyawa lainnya (Endah, 2017).

Secara umum, efektivitas proses ekstraksi meningkat seiring dengan semakin luasnya permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan langsung dengan pelarut sehingga penggunaan serbuk yang lebih halus akan memberikan hasil ekstraksi yang lebih optimal. Terdapat berbagai metode ekstraksi yang masing-masing memiliki keunggulan dan keterbatasannya. Pemilihan metode ekstraksi dilakukan dengan mempertimbangkan karakteristik senyawa yang diekstraksi, jenis pelarut yang digunakan, serta ketersediaan peralatan. Selain itu, keberhasilan proses ekstraksi juga dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti struktur kimia senyawa, suhu, dan tekanan (Hujjatusnaini dkk., 2021).

2. Macam-macam Metode Ekstraksi

Secara teknis metode ekstraksi dibagi menjadi dua, yakni metode ekstraksi dingin dan metode ekstraksi panas. Metode ekstraksi dingin meliputi maserasi dan perkolasi. Sedangkan metode ekstraksi panas meliputi sokletasi, refluks, digesti, dekokta, dan infusa.

a. Ekstraksi Dingin

1) Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana. Dalam metode ini, serbuk simplisia direndam dalam pelarut yang sesuai di dalam wadah tertutup dan inert pada kondisi suhu ruang, disertai pengadukan secara berkala. Perendaman biasanya berlangsung selama 24 jam, setelah itu dilakukan penggantian pelarut dengan pelarut baru untuk meningkatkan efisiensi penarikan senyawa aktif. Proses ini dianggap selesai apabila tercapai kesetimbangan konsentrasi antara pelarut dan senyawa aktif dalam jaringan tanaman. Setelah ekstraksi selesai, larutan disaring untuk memisahkan pelarut dari ampas simplisia. Meskipun metode ini memiliki keunggulan dalam menjaga stabilitas senyawa termolabil, kekurangannya adalah proses yang memakan waktu lama, membutuhkan pelarut yang banyak, serta potensi kehilangan senyawa aktif atau kurang efektifnya ekstraksi terhadap senyawa yang tidak mudah larut pada suhu kamar (Mukhriani, 2014).

Salah satu faktor yang memengaruhi hasil akhir dari proses ekstraksi adalah lamanya waktu maserasi. Semakin lama waktu maserasi, semakin lama pula simplisia berada dalam kontak dengan pelarut. Hal ini mengakibatkan pecahnya dinding sel pada bahan dan mengeluarkan zat terlarut (*solute*) ke dalam pelarut (*solvent*). Waktu maserasi yang melebihi waktu optimal dapat

merusak zat terlarut dalam bahan dan meningkatkan kemungkinan kehilangan senyawa dalam larutan akibat penguapan (Widodo dkk., 2021).

Maserasi termasuk metode ekstraksi yang umum digunakan untuk simplisia yang bersifat termolabil atau tidak tahan terhadap suhu tinggi. Dalam teknik ini, simplisia direndam ke dalam pelarut yang kompatibel selama waktu tertentu. Proses maserasi sebaiknya dilakukan pada suhu antara 20 hingga 30°C guna menghindari penguapan pelarut yang berlebihan. Selama proses perendaman, dilakukan pengadukan selama kurang lebih 15 menit untuk memastikan tercampurnya antara pelarut dan simplisia (Yennie dkk., 2013).

2) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Pro ses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1- 5 kali bahan (Depkes, 2000). Kelebihan dari metode perkolasi adalah adanya aliran pelarut segar secara kontinu yang memungkinkan senyawa aktif lebih mudah terekstraksi. Namun, kelemahannya adalah apabila distribusi serbuk simplisia dalam perkolator tidak merata, maka proses ekstraksi menjadi kurang efisien karena

pelarut tidak mampu menjangkau seluruh permukaan bahan secara optimal. Selain itu, metode ini cenderung membutuhkan volume pelarut yang besar serta waktu yang relatif lama dalam pelaksanaannya (Mukhriani, 2014).

b. Maserasi Panas

1) Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes, 2000). Kelebihan metode ini terletak pada proses ekstraksi yang berlangsung secara kontinyu, dimana sampel diekstrak menggunakan pelarut murni hasil kondensasi, sehingga penggunaan pelarut menjadi efisien dan waktu yang dibutuhkan relatif singkat. Sedangkan kekurangannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014).

2) Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Biasanya, proses ekstraksi diulang pada residu pertama sebanyak 3 hingga 5

kali untuk memastikan bahwa ekstraksi berlangsung secara sempurna (Depkes, 2000).

3) Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40 hingga 50°C (Depkes, 2000).

4) Dekokta

Dekokta adalah metode infus yang dilkukan pada waktu yang lebih lama (30 menit) pada suhu 90°C (Depkes, 2000).

5) Infusa

Infusa merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut berupa air, di mana bejana infus direndam dalam penangas air mendidih dengan suhu terukur sekitar 96–98°C, dan proses ini berlangsung selama 15 hingga 20 menit (Depkes, 2000).

3. Pelarut

Pelarut adalah substansi yang umumnya berada dalam fase cair pada suhu ruangan, yang berfungsi untuk melarutkan zat lain hingga terbentuk larutan homogen. Dalam aktivitas sehari-hari, air adalah jenis pelarut yang paling umum digunakan. Selain air, pelarut yang umum digunakan adalah senyawa kimia organik yang mengandung karbon, yang dikenal sebagai pelarut organik. Dalam proses ekstraksi, dapat digunakan tiga jenis pelarut berdasarkan tingkat polaritasnya, yaitu pelarut polar seperti etanol atau metanol dan air, pelarut semi-

polar seperti etil asetat, serta pelarut non-polar seperti n-heksana (Hidayah dkk., 2016).

a. Etanol

Etanol atau etil alkohol merupakan pelarut volatil yang biasa digunakan untuk melarutkan senyawa organik. Etanol memiliki sifat semipolar karena mampu melarutkan senyawa polar maupun nonpolar. Hal ini disebabkan oleh keberadaan gugus hidroksil (–OH) yang bersifat polar dan gugus etil ($CH_3CH_2^-$) yang bersifat nonpolar, menjadikan etanol kompatibel dengan air dan berbagai pelarut organik lainnya (Utomo, 2016).

b. Metanol

Metanol atau metil alkohol (CH_3OH), merupakan alkohol dengan struktur paling sederhana namun memiliki tingkat toksisitas yang tinggi bagi manusia. Paparan metanol, baik secara tidak disengaja maupun disengaja dalam jumlah berlebih, dapat menyebabkan keracunan yang ditandai dengan gangguan metabolisme berupa asidosis metabolik (Nabila & Santosa, 2011).

c. Aquadest

Aquadest merupakan pelarut yang baik dan paling umum digunakan. Aquadest adalah air murni yang diperoleh melalui proses penyulingan, di mana seluruh zat pengotor telah dihilangkan sehingga cocok digunakan dalam lingkungan laboratorium. Ciri fisik aquadest meliputi warna yang bening, tidak berbau, serta tidak berasa. Aquadest umumnya digunakan untuk membilas peralatan

laboratorium guna menghilangkan sisa-sisa zat pengotor. Senyawa yang larut di dalam aquadest mencakup berbagai senyawa organik netral yang mempunyai gugus fungsional polar seperti gula, alkohol, aldehida, dan keton. Kelarutannya disebabkan oleh kecenderungan molekul aquadest untuk membentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil gula dan alkohol atau gugus karbo nil aldehida dan keton (Khotimah dkk., 2017).

d. Etil Asetat

Etil asetat berbentuk cairan jernih yang tidak berwarna dan memiliki bau khas, serta banyak dimanfaatkan sebagai pelarut tinta, lem, dan resin. Selain dari penggunaannya sebagai pelarut, etil asetat dapat berfungsi sebagai bahan aditif untuk meningkatkan bilangan oktan pada bensin serta dapat berguna sebagai bahan baku kimia serba guna (Azura dkk., 2015).

e. n-Heksana

n-Heksana merupakan suatu hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14}. Heksana merupakan hasil dari proses pemurnian (*refining*) minyak bumi. Komposisi serta fraksi isomer heksana bergantung pada sumber minyak mentahnya. Umumnya, isomer heksana menyumbang sekitar 50% dari total berat, dengan titik didih berkisar antara 60 hingga 70 °C. Seluruh isomer heksana kerap dimanfaatkan sebagai pelarut organik yang bersifat inert karena karakteristiknya yang non-polar (Utomo, 2016).

E. Spektrofotometri UV-Vis

Metode yang digunakan untuk mengukur kadar flavonoid dalam sampel herbal adalah menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Ultra Violet-*Visible*) dengan prinsip kerja yang berdasar pada serapan cahaya, dimana atom dan molekul berinteraksi dengan cahaya. Menurut hukum Lambert-Beer, bila cahaya monokromatik jatuh pada suatu medium homogen, sebagian dari sinar masuk akan dipantulkan dan sebagian akan diserap dalam medium tersebut serta sisanya akan diteruskan. Intensitas cahaya yang diteruskan ini dapat diukur dan dinyatakan dalam bentuk absorbansi, yang secara proporsional berkaitan dengan konsentrasi larutan dan panjang lintasan cahaya melalui medium tersebut (Kahar, 2022). Dalam spektrofotometri UV-Vis, analisis dilakukan dengan memanfaatkan cahaya pada panjang gelombang 200 - 400 nm untuk daerah UV dan 400 - 800 nm untuk daerah *visible* (Afandi & Purwanto, 2018).

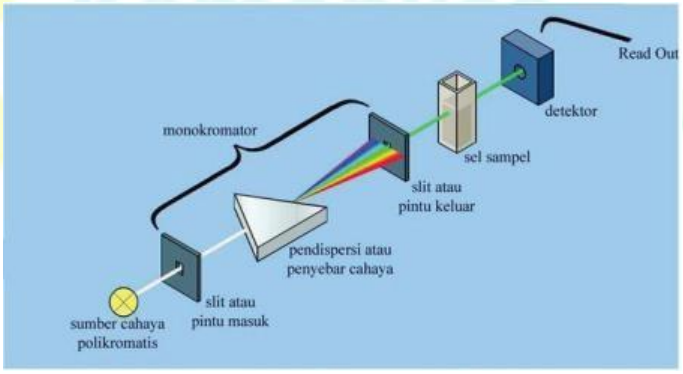
Spektrofotometer memiliki beberapa komponen utama, antara lain sumber cahaya seperti lampu tungsten, deuterium, atau wolfram; kolimator untuk mengarahkan dan merapatkan berkas cahaya; serta sistem pemisah spektrum seperti prisma atau kisi (*grating*) yang berfungsi untuk memilah panjang gelombang cahaya. Cahaya yang telah dipisahkan kemudian diarahkan ke kuvet yang berisi sampel dan blanko sebagai pembanding. Detektor (fotometer) berfungsi menangkap cahaya yang telah melewati sampel dan blanko, lalu mengubahnya menjadi sinyal intensitas cahaya. Rasio antara intensitas cahaya yang melewati sampel terhadap blanko dikenal sebagai transmitans (Afandi & Purwanto, 2018).

Pada spektrofotometri UV-Vis ada beberapa istilah yang digunakan terkait dengan molekul, yaitu kromofor, auksokrom, efek batokromik atau pergeseran merah, efek hipokromik atau pergeseran biru, hipsokromik, dan hipokromik. Kromofor adalah molekul atau bagian molekul yang mengabsorbsi sinar dengan kuat di daerah UV-Vis, misalnya heksana, aseton, asetilen, benzena, karbonil, karbon dioksida, karbon monoksida, gas nitrogen. Auksokrom merupakan gugus fungsi dengan pasangan elektron bebas yang berikatan kovalen tunggal dan terikat pada kromofor, sehingga dapat meningkatkan absorbansi kromofor terhadap sinar UV-Vis, baik dari segi panjang gelombang maupun intensitasnya. Contohnya adalah gugus hidroksi, amina, halida, dan alkoksi (Suhartati, 2017).

Metode spektrofotometri UV-Vis dapat diaplikasikan pada berbagai bentuk sampel, termasuk larutan, gas, dan uap. Namun, secara umum, sampel harus terlebih dahulu diubah menjadi larutan yang bening. Sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain harus melarutkan sampel dengan baik, pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna, tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis dan kemurniannya harus baik. Beberapa pelarut yang umum digunakan antara lain air, etanol, metanol, dan n-heksana, karena pelarut ini tidak menunjukkan warna yang signifikan di wilayah UV. Untuk memperoleh spektrum UV-Vis yang optimal, konsentrasi sampel juga perlu diperhatikan. Hubungan antara nilai

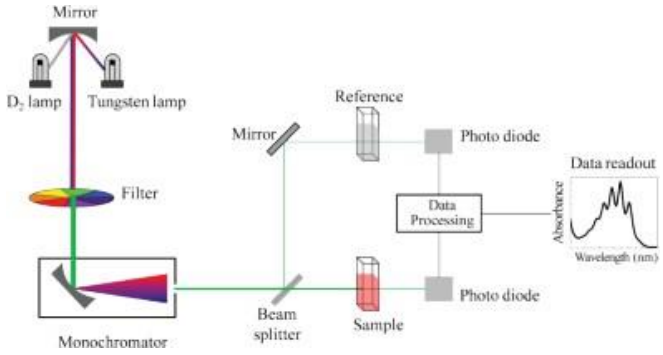
absorbansi dan konsentrasi akan menunjukkan grafik linier apabila absorbansi berada dalam kisaran 0,2 hingga 0,8 (Suhartati, 2017). Jika hasil absorbansi yang diperoleh terlalu tinggi, larutan sampel perlu diencerkan. Sebaliknya jika absorbansi terlalu rendah, maka massa sampel perlu ditambahkan untuk mendapatkan hasil yang lebih optimal.

Pada umumnya terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer, yaitu *single-beam* dan *double-beam*. *Single-beam* dapat digunakan untuk analisis kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Alat ini dirancang untuk menganalisis cahaya pada spektrum ultraviolet dan tampak, dengan rentang panjang gelombang mulai dari sekitar 190 – 210 nm hingga maksimum 800 – 1000 nm.



Gambar 2. 4 Diagram Alat Spektrofotometer UV-Vis (*Single Beam*)
Sumber : Suhartati, 2017

Instrumen double-beam memiliki dua berkas sinar yang dihasilkan oleh sebuah cermin berbentuk huruf V, yang berfungsi sebagai pemecah sinar. Salah satu berkas sinar diarahkan melalui larutan blanko, sementara berkas lainnya secara bersamaan melewati sampel. Instrumen jenis ini dirancang untuk digunakan pada rentang panjang gelombang antara 190 hingga 750 nm (Suhartati, 2017).



Gambar 2. 5 Diagram Alat Spektrofotometer UV-Vis (*Double Beam*)
Sumber : Suhartati, 2017

Adapun perbedaan keduanya adalah pada spektrofotometri *double-beam* pengukuran dilakukan secara bersamaan antara kuvet yang berisi larutan standar dan kuvet yang berisi blanko dalam satu ruang sehingga pembacaan serapan zat tidak dipengaruhi oleh perubahan tegangan listrik karena blanko dan zat diukur pada saat yang bersamaan. Secara umum sistem spektrofotometri terdiri atas sumber radiasi, monokromator, sel, fotosel, detektor, dan tampilan (*display*) (Warono & Syamsudin, 2013).

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode yang relatif sederhana dan efektif untuk menentukan kuantitas zat dalam jumlah sangat kecil. Nilai absorbansi dibaca langsung oleh detektor dan ditampilkan dalam bentuk angka digital maupun grafik. Dalam proses analisis, dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum guna mengetahui titik serapan tertinggi suatu senyawa. Selain itu, dilakukan pula pengujian waktu operasi (*operating time*) untuk mengetahui berapa lama larutan mencapai absorbansi stabil, yang menunjukkan reaksi telah berlangsung sempurna dan terbentuk kompleks. Kurva baku juga disusun dalam metode

ini untuk mendapatkan persamaan regresi linier sebagai dasar perhitungan kadar zat (Puspa Yani dkk., 2023).

Dibandingkan dengan metode analisis lainnya, pengujian menggunakan spektrofotometri UV-Vis relatif lebih cepat. Salah satu metode terbaik untuk mengidentifikasi struktur flavonoid adalah melalui spektrum serapan UV dan *visible*. Hal ini disebabkan oleh keberadaan sistem aromatik terkonjugasi dalam struktur flavonoid, yang memungkinkan munculnya pita serapan yang kuat di wilayah spektrum UV dan *visible* (Ahriani dkk., 2021).

Kemenkes
Poltekkes Bengkulu