**BAB II**

**TINJAUAN PUSTAKA**

**2.1 Uraian Tanaman**

**2.1.1 Klasifikasi Bayam *(Amaranthus spp* L.*)***

****

**Gambar 2.1** Tumbuhan Bayam (*Amaranthus spp* L.)

Klasifikasi pada tanaman bayam sebagai berikut :

**Tabel 2.1** Klasifikasi TumbuhanBayam (*Amaranthus spps* L.)

|  |
| --- |
| **Klasifikasi Ilmiah** |
| **Kingdom** | **Plantae** |
| Divisi | Spermatophyta |
| Sub divisi | Angiospermae |
| Kelas  | Dicotyledonae |
| Ordo  | Amaranthales |
| Famili  | Amaranthaceae  |
| Genus | Amaranthus |
| Spesies  | *Amaranthus spp L*. |

(Jayanti Kamelia Dwi & Stheven Ponggele Erycx, 2020)

**2.1.2 Morfologi Bayam *(Amaranthus spp* L.*)***

Bayam merupakan tanaman perdu berumur semusim atau lebih dengan tinggi 1,52,0 m. Sistem perakaran bayam adalah tunggang, menyebar dangkal pada kedalaman 20-40 cm. Daun bayam berbentuk bulat telur dengan ujung agak runcing. Bunga bayam berjumlah banyak dengan daun bunga berjumlah 4-5 buah, benang sari 1-5, dan bakal buah. Bunga bayam berukuran kecil, berjumlah banyak, terdiri dari daun bunga 1- 5, dan bakal buah 2- 3 buah. Bunga keluar dari ujung- ujung tanaman ketiak daun yang tersusun seperti malai yang tumbuh tegak. Tanaman dapat berbunga sepanjang musim. perkawinannya bersifat uniseksual yaitu dapat menyerbuk sendiri maupun menyerbuk silang. Penyerbukan berlangsung dengan bantuan angin (Anggraini, 2019).

**2.1.3 Syarat Tumbuh Bayam**

Tanaman bayam dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah, namun untuk tumbuh dengan subur, bayam memerlukan tanah yang gembur dan banyak mengandung bahan organik. pH tanah yang sesuai untuk pertumbuhan tanaman bayam berkisar antara 6-7. Tanaman bayam cocok ditanam pada dataran rendah hingga menengah (5-2000 mdpl). Suhu lingkungan yang sesuai untuk tanaman bayam berkisar antara 20-30 oC. Curah hujan yang cocok untuk tanaman bayam adalah antara 1.000-2.000 mm/tahun dengan kelembaban udara di atas 60%, serta kebutuhan sinar matahari mencapai 400-800 *foot candles* (Anggraini, 2019)*.*

**2.1.4 Bayam**

Bayam *(Amaranthus spp* L.*)* dianggap sebagai raja sayuran karena kandungan gizinya yang tinggi. Bayam banyak mengandung viamin A, B dan C, selain itu bayam banyak mengandung garam-garam mineral yang penting seperti kalsium, fosfor, dan besi. Selain sebagai sayuran yang bergizi tinggi, bayam juga dimanfaatkan sebagai obat berbagai macam penyakit. Kandungan vitamin A dalam bayam berguna untuk meningkatkan daya tahan tubuh dalam menanggulangi penyakit mata, vitamin C dapat membantu menyembuhkan sariawan. Zat besi dapat mencegah penyakit anemia atau anemia gizi besi. Bayam yang telah dimasak mengandung zat besi sebanyak 8,3 mg/100 gram (Qadri et al., 2022)

Sayur bayam dilarang dimasak menggunakan panci alumunium karena alumunium yang bereaksi dengan zat besi dalam bayam bisa menyebabkan terjadinya racun. Untuk mendapatkan manfaat sayur bayam sebaiknya mencuci bayam pada air mengalir kemudian didihkan dahulu airnya setelah itu masukkan bayam, dapat ditambah dengan bahan makanan lainnya seperti garam. Merebus sayuran adalah cara aman untuk mengkonsumsi sayuran secara sehat. Bayam yang direbus sebaiknya menggunakan sedikit air karena sayuran ini cepat sekali masak yaitu hanya 4-6 menit. Kandungan dalam bayam tidak tahan panas artinya dapat berkurang atau rusak karena proses pemanasan. Bayam sebaiknya habis sekali makan sebab masakan bayam tak layak dikonsumsi setelah dari 5 jam dan tidak dianjurkan untuk dimasak ulang atau dipanaskan (Qadri et al., 2022).

**2.1.5 Jenis-Jenis Bayam**

Di Indonesia terdapat tiga jenis bayam, yaitu:

1. *Amaranthus tricolor* merupakan bayam cabut yang mempunyai ciri batangnya kemerah-merahan atau keputih-putihan dikenal juga bayam merah. Jenis ini sering digunakan sebagai obat alami, secara empiris untuk mencegah osteoporosi, mengobati penyakit kuning, alergi, menjaga kesehatan mata dan kulit, meningkatkan kadar hemoglobin dalam darah dan mengobati luka bakar. (Kusmiati. et al., 2017) .Lalu pada Amaranthus tricolor terbagi lagi menjadi 2 variates yaitu *Amaranthus tricolor* L. dan *Amaranthus viridis* L.
2. Bayam kakap yang mempunyai ciri berdaun lebar memiliki akar yang terasa manis, pahit, dan sejuk, khasiatnya sebagai pereda demam (antipiretik),
peluruh kencing (diuretic), peluruh dahak (ekspektoren), penawar racun, menghilangkan bengkak, dan pembersih darah(Kusmiati. et al., 2017).
3. Bayam duri, merupakan tanaman liar yang juga dimanfaatkan sebagai tanaman herbal. Bagian tanaman yang telah dimanfaatkan secara herbal adalah bagian daun dan akar. Bagian daun dan akar dimanfaatkan untuk mengatasi penyakit diare, sakit gigi, demam, dan sakit tenggorokan(Purnomo, 2023)

**2.1.6 Bayam Hijau**

**

**Gambar 2.2** Tumbuhan Bayam Hijau *(Amaranthus viridis* L*.)*

Menurut herbarium medanense (MEDA) Universitas Sumatra Utara, tumbuhan bayam hijau (*Amaranthus viridis* L.) memiliki sistematika sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Caryophyllales

Family : Amaranthaceae

Genus : Amaranthus

Spesies : *Amaranthus viridis* L.

Nama lokal : Bayam Hijau

Bayam hijau *(Amaranthus viridis* L*.)* merupakan jenis tumbuhan yang biasa ditanam dan dimanfaatkan sebagai sayuran hijau. Bayam hijau banyak digemari masyarakat Indonesia karena rasanya enak, lunak, dapat memberikan rasa dingin dalam perut dan dapat memperlancar pencernaan. Selain itu, bayam hijau juga mudah diperoleh dipasar-pasar dengan harga yang relative murah. Beberapa khasiat bayam yaitu merupakan sumber vitamin A, B dan C, protein, lemak, karbohidrat kalium, amaratin, serta mineral-mineral yang penting seperti kalsium, fosfor dan besi yang bermanfaat dalam mendorong pertumbuhan dan menjaga kesehatan. Kandungan besi pada bayam relatif lebih tinggi dibanding sayuran daun lain sehingga tanaman ini sangat baik dikonsumsi oleh penderita anemia. Sebagai bahan pangan dengan kandungan gizi yang tinggi, bayam memiliki banyak khasiat dan menyembuhkan berbagai penyakit dalam menunjang kesehatan masyarakat, sehingga perlu ditingkatkan pertumbuhan dan hasilnya. Bayam hijau memiliki kandungan zat besi yang tinggi untuk mencegah anemia. Zat besi berperan penting dalam pembentukan hemoglobin yaitu protein pada sel darah merah yang membawa oksigen dari paru-paru keseluruh tubuh (Fajri, 2019).

**Tabel 2.2** Kandungan Gizi Pada Bayam Hijau per 100 g

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Kandungan Gizi | Nilai | Satuan |
| Energi | 16 | kal |
| Protein | 0,9 | g |
| Lemak | 0.4 | g |
| Kalsium | 166 | mg |
| β-karoten | 2699 | mcg |
| Vitamin C | 41 | mg |
| Air | 94.5 | g |
| Serat  | 0,7 | g |
| Abu  | 1,3 | g |
| Fosfor  | 76 | mg |
| Thiamin  | 0.04 | mg |
| Riboflavin  | 0.10 | mg |
| Niasin  | 0.1 | mg |
| Kalium  | 456,4 | mg |

Sumber : (Kementerian Kesehatan et al., 2017)

**2.1.7 Bayam Merah**

****

**Gambar 2.3** Tumbuhan Bayam Merah *(Amaranthus tricolor* L*.)*

Menurut Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatra Utara, tumbuhan bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) memiliki sistematika sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Caryophyllales

Family : Amaranthaceae

Genus : Amaranthus

Spesies : *Amaranthus tricolor* L.

Nama local : Bayam Merah

Bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) adalah variates bayam dengan daun dan batangnya yang berwarna merah atau ungu yang tumbuh dengan cepat dan kaya akan nutrisi. Bayam merah memiliki kandungan zat besi tinggi dibandingkan dengan bayam hijau (Ningsih, Arel, and Rasyadi 2022). Bayam merah merupakan salah satu sayuran yang mempunyai gizi yang tinggi dan rendah kalori. Keunggulan nilai nutrisi sayuran bayam terutama kandungan vitamin A (beta karoten), vitamin C, riboflavin, dan asam amino tiamin dan niacin. Selain memberikan variasi warna dan rasa dalam makanan, konsumsi bayam merah dapat memberikan manfaat kesehatan, seperti meningkatkan kesehatan mata, memperkuat sistem kekebalan tubuh, dan mengurangi risiko penyakit jantung dan kanker baik bagi penderita kanker usus besar, kencing manis, kolesterol, untuk menurunkan berat badan dan juga bayam merah dapat meningkatkan kerja ginjal serta membersihkan darah sehabis bersalin, tekanan darah rendah dan kurang darah (Rumimper et al., 2014).

**Tabel 2.3** Kandungan Gizi Pada Bayam Merah per 100 g

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Kandungan Gizi | Nilai | Satuan |
| Energi | 41 | kal |
| Protein | 2.2 | g |
| Lemak | 0.8 | g |
| Kalsium | 520 | mg |
| β-karoten | 7325 | mcg |
| Vitamin C | 62 | mg |
| Air | 88.5 | g |
| Serat  | 2.2 | g |
| Abu  | 2.2 | g |
| Fofor | 80 | mg |
| Thiamin | 0.20 | mg |
| Riboflavin | 0.10 | mg |
| Niasin | 0.1 | mg |
| Kalium  | 60.0 | mg |

**Sumber :**(Kementerian Kesehatan et al., 2017)**.**

**2.2 Ekstrak**

**2.2.1 Pengertian Ekstrak**

Ekstrak adalah sedian pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.

**2.2.2 Pembagian Ekstrak**

Ekstrak dapat dikelompokkan atas dasar sifatnya, menjadi ekstrak kental, ekstrak kering, dan ekstrak cair.

1. Ekstrak kental sediaan ini diliat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang. Kandungan airnya berjumlah sampai 30%.
2. Ekstrak kering ini memiliki konsistensi kering dan mudah digosokkan. Melalui pemguapan cairan pengekstraksi dan pengeringan sisanya akan terbentuk suatu produk yang sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak dari 5%.
3. Sedangkan ekstrak cair dalam hal ini diartikan sebagai ekstrak cair, yang dibuat sedemikian rupa sehingga 1 bagian simplisia sesuai dengan 2 bagian (kadang-kadang juga satu bagian) ekstrak cair (voigt, 1995).

**2.3 Metode Ekstraksi**

Ekstraksi suatu tanaman obat adalah pemisahan secara kimia atau fisika suatu bahan padat atau bahan cair dari suatu padatan, yaitu tanaman obat (Depkes RI, 2000). Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibedakan menjadi dua cara yaitu ; cara dingin dan cara panas. Cara dingin terbagi menjadi dua yaitu; maserasi dan perkolasi, sedangkan cara panas ini pastinya melibatkan panas dalam prosesnya. Dengan adanya panas secara otomatis akan mempercepat proses penyarian dibandingkan cara dingin. Metodenya adalah refluks, ekstraksi dengan alat soxhlet dan infusa (Sudarwati 2019).

**2.3.1 Cara Dingin**

 Cara dingin terbagi dua sebagai berikut:

1. Maserasi

Maserasi berasal dari bahasa latin macerase berarti mengairi dan melunakkan. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan yang masuk kedalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir (Voigt, 1994).

Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokan berulangulang, upaya pengocokan ini dapat menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat didalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengekstraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voigt, 1994). Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.

1. Perkolasi

Perkolasi adalah prosedur yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam tumbuhan. Sebuah perkolator adalah wadah sempit berbentuk kerucut terbuka di kedua ujungnya. Sampel tumbuhan padat dibasahi dengan sejumlah pelarut yang sesuai dan dibiarkan selama kira-kira 4 jam dalam wadah tertutup. Selanjutnya bagian atas perkolator ditutup. Pelarut ditambahkan hingga merendam sampel. Campuran sampel dan pelarut dapat dimaserasi lebih lanjut dalam wadah percolator tertutup selama 24 jam. Saluran keluar perkolator kemudian dibuka dan cairan yang terkandung di dalamnya dibiarkan menetes perlahan. Pelarut dapat ditambahkan sesuai kebutuhan, sampai ukuran perkolasi sekitar tiga perempat dari volume yang diperlukan dari produk jadi (Julianto,2019).

**2.3.2 Cara Panas**

Cara panas terbagi menjadi tiga, penjelasan sebagai berikut:

1. Refluks

Salah satu metode sintesis senyawa anorganik adalah refluks, metode ini digunakan apabila dalam sintesis tersebut menggunakan pelarut yang volatil. Pada kondisi ini jika dilakukan pemanasan biasa maka pelarut akan menguap sebelum reaksi berjalan sampai selesai. Prinsip dari metode refluks adalah pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung. Sedangkan aliran gas N2 diberikan agar tidak ada uap air atau gas oksigen yang masuk terutama pada senyawa organologam untuk sintesis senyawa anorganik karena sifatnya reaktif (Sudarwati 2019).

1. Soxhlet

Sokletasi adalah suatu metode atau proses pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam zat padat dengan cara penyaringan berulang-ulang dengan menggunakan pelarut tertentu, sehingga semua komponen yang diinginkan akan terisolasi. Sokletasi digunakan pada pelarut organik tertentu. Dengan cara pemanasan, sehingga uap yang timbul setelah dingin secara kontinyu akan membasahi sampel, secara teratur pelarut tersebut dimasukkan kembali ke dalam labu dengan membawa senyawa kimia yang akan diisolasi tersebut. Pelarut yang telah membawa senyawa kimia pada labu distilasi yang diuapkan dengan rotary evaporator sehingga pelarut tersebut dapat diangkat lagi bila suatu campuran organik berbentuk cair atau padat ditemui pada suatu zat padat, maka dapat diekstrak dengan menggunakan pelarut yang diinginkan (Sudarwati 2019).

1. Infusa

Infusdasi merupakan metode ekstraksi dengan pelarut air. Pada waktu proses infusdasi berlangsung, temperatur pelarut air harus mencapai suhu 90ºC selama 15 menit. Rasio berat bahan dan air adalah 1 : 10, artinya jika berat bahan 100 gr maka volume air sebagai pelarut adalah 1000 ml. Cara yang biasa dilakukan adalah serbuk bahan dipanaskan dalam panci dengan air secukupnya selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90ºC sambil sekali-sekali diaduk. Saring selagi panas melalui kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume yang diinginkan. Apabila bahan mengandung minyak atsiri, penyaringan dilakukan setelah dingin (Sudarwati 2019).

**2.4 Tinjauan β-karoten**

1. Monografi

β-karoten merupakan senyawa organik, secara kimiawi diklasifikasikan sebagai hidrokarbon, dan secara spesifik diklasifikasikan sebagai terpenoid (isoprenoid), mencerminkan bahwa ia merupakan turunan unit isoprena. β-karoten memiliki rantai karbon berjumlah 40. Sifat β-karoten yang tidak larut di dalam air (United States Pharmacopeial Convention, 2006) menyebabkan β-karoten harus dikonsumsi bersama dengan makanan atau susu untuk membantu kelarutannya di dalam tubuh sehingga dapat diabsorbsi dan menimbulkan efek. Di antara semua karoten, β-karoten dicirikan dengan keberadaan cincin beta pada kedua ujung molekulnya. Penyerapan β-karoten oleh tubuh meningkat dengan meningkatnya asupan lemak, karena karoten larut oleh lemak. Sebagian β-karoten diubah menjadi vitamin A yang keduanya dapat bertindak sebagai antioksidan di dalam tubuh untuk melawan radikal bebas yang menjadi penyebab kebanyakan dari penyakit degeneratif dan kronis seperti penyakit kardiovaskular, neurodegeneratif, kanker, penyakit autoimun, rheumatoid artritis, katarak, dan aging (Pham-Huy, 2008). β-karoten adalah salah satu dari sekitar 500 karatenoid yang ada di alam dan mempunyai aktivitas Vitamin A yang paling tinggi (Suwandi,1991)



**Gambar 2.4** Struktur β-karoten

Rumus : C40H56

Nama trivial : beta,beta-Carotene

Nama IUPAC : 1,3,3-Trimetil-2-[3,7,12,16-tetrametil-18 (2,6,6-Trimetilsiklohex1-en-1-yl)Octadeca-1,3,5,7,9,11,13,15,17-nonaen-1-yl] Siklohex1-ene

Massa molar : 536,8726 g/mol

Titik didih : 633°C

Kepadatan : 940 kg/m³

Titik lebur : 180°C

**2.4.1 Aktivitas Farmakologi β-karoten**

β-karoten banyak dikonsumsi sebagai suplemen karena memiliki berbagai manfaat antara lain untuk kesehatan mata, mencegah penyakit kanker, meningkatkan daya tahan tubuh melalui peningkatan komunikasi antarsel, mengurangi risiko terjadinya stroke, dan memberikan efek analgetik serta antiinflamasi (Astawan, 2008). FDA (2015) merekomendasikan diet vitamin A dalam sehari adalah sebesar 5000 IU atau setara dengan 3 mg β-karoten sintesis. Manfaat β-karoten bagi tubuh adalah untuk mencegah dan menurunkan resiko kanker. Mengkonsumsi makanan atau buah-buahan yang mengandung β-karoten diharapkan bisa menunjang kebutuhan gizi dan meningkatkan kekebalan tubuh. Asupan β-karoten dalam jumlah memadai diyakini dapat mencegah angina 9 pectoris, penyakit kardiovaskuler, dan kanker terutama kanker paru-paru dan kanker lambung (Winarsih, 2007). Sifat antioksidan yang terdapat pada β-karoten dapat melindungi tumbuhan dan mikroorganisme dari sinar matahari yang merusak (Listya, 2010).

β-karoten dapat meningkatkan presentasi natural killer (NK) atau sel pembunuh, dimana natural killer ini sendiri merupakan subpopulasi dari limfosit, sel ini berfungsi untuk membunuh sel-sel tumor dan mengeliminasi infeksi yang disebabkan oleh virus, terutama pada kelompok usia lanjut.

Berdasarkan penelitian Kondororik (2017) β-karoten tidak hanya meningkatkan populasi sel natural killer tetapi juga membantu memperkuat daya tahan tubuh pasien kanker. Selain itu perlakuan β-karoten juga menunjukkan fungsi sebagai pelindung kulit dari fotosensitif yang dapat memicu kanker kulit. β-karoten dapat memberikan efek perlindungan bagi sel-sel tumor dan mengurangi potensi sebagai antioksidan jika dibandingkan dengan sel normal. Setiap jenis karotenoid memiliki manfaat bagi kesehatan manusia, β-karoten merupakan salah satu diantaranya. Memiliki potensi antioksidan, dapat menjadi prekusor vitamin A yang sangat baik dan juga dapat meningkatkan sistem imun untuk mencegah penyakit kanker dan juga membantu pasien dalam menguatkan (resisten) tubuh pasien. Sistem kerja sel imun sangat bergantung dari komunikasi sel, β-karoten sendiri berperan dalam menjaga sistem kerja sel imun dan juga meningkatkan sel-sel imun misalnya (CD4+, CD8+ dan natural killer) yang nantinya dapat membantu tubuh mengeliminasi sel-sel abnormal dalam tubuh yang dapat menyebabkan kanker (Kondororik, 2017).

1. **Kromatografi**

Teknik pemisahan kromatografi adalah metode pemisahan multi tahap dimana komponen suatu sampel didistribusi antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa padatan atau cairan pendukung pada suatu padatan atau gel. Fase diam dapat dikemas dalam suatu kolom, menyebar sebagai suatu film, atau diaplikasikan oleh teknik lain. Fase gerak dapat berupa gas atau cairan, atau fluida superkritikal. Proses pemisahan dapat berupa suatu adsorbsi, distribusi massa (pertisi), atau pertukaran ion, atau berdasarkan perbedaan antara sifat fisika kimia suatu molekul, seperti ukuran, massa dan volume (Depkes, 2013).

* + 1. **Jenis-jenis Kromatografi**

Jenis-jenis kromatografi yang digunakan dalam prosedur analisis kualitatif

dan kuantitatif dalam Farmakope adalah kromatografi kolom, kromatografi gas, kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis (termasuk kromatografi lapis tipid kinerja tinggi/KLTKT), dan kromatografi cairan yang diberi tekanan atau yang biasa dikenal dengan kromatografi cair kinerja tinggi/KCKT (Depkes, 2013).

**2.5.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan berdasarkan sifat fisis dimana campuran suatu senyawa didistribusikan antara fase diam dan fase gerak. Prinsipnya berdasarkan proses perpindahan atau pergeseran zat dengan kecepatan yang berbeda-beda. Cara pemisahan dengan absorpsi pada lapisan tipis adsorben yang sekarang dikenal dengan kromatografi lapis tipis (Thin Layer Chromatogra py atau TLC) sebenarnya telah dipakai sejak tahun 1938 oleh Ismailov dan Shraiber. Pada tahun 1961 penggunaannya telah meluas dan diakui merupakan cara pemisahan yang baik, khususnya untuk kegunaan analisis kualitatif. Kini TLC dapat digunakan untuk memisahkan berbagai senyawa seperti ion-ion organik dengan anorganik, dan senyawa-senyawa organik baik yang terdapat pada bahan alam dan senyawa-senyawa organik sintetik (Adnan, 1997).

Kelebihan penggunaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dibandingkan dengan Kromatografi Kertas (KK) adalah karena dapat dihasilkan pemisahan yang lebih sempurna, kepekaan yang lebih tinggi dan dapat dilaksanakan dengan cepat (Adnan, 1997). Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi adsorbsi dan adsorben bertindak sebagai fase stasioner. Empat macam absorben yang sering digunakan atau umum dipakai adalah silika gel (asam silikat), alumina (aluminium oxide), kieshelgur (diatomeous eart), dan selulosa. Dari keempat jenis adsorben yang paling banyak dipakai adalah silika gel dan masing-masing terdiri dari beberapa jenis yang mempunyai nama perdagangan bermacam-macam. Ada beberapa jenis silika gel yaitu silika gel G, silika gel H, silika gel PF (Adnan, 1997).

Sistem kromatografi mempunyai kemampuan memisahkan campuran bahan kimia dengan cara menghambat selektif perjalanan senyawa tertentu melalui fase stationer sedangkan senyawa lain dibiarkan terus berlalu, oleh karena itu kromatogram dapat dievaluasi secara kualitatif dengan cara menentukan Rf (Retordation factor) atau faktor penghambat untuk tiap bahan yang dielusi. Harga 13 Rf didefinisikan sebagai perbandingan antara jarak senyawa dari titik awal dan jarak antarmuka pelarut dari titik awal.

 $Rf=\frac{jarak noda }{jarak pelarut }$

Rf adalah perbandingan jarak rambat suatu senyawa tertentu dengan jarak perambatan baku pembanding. Jika zat uji yang diidentifikasikan dan zat pembanding itu sama, maka terdapat kesesuaian dalam warna dan harga Rf. (Depkes RI, 2008).

## 2.6 Spektrofotometri UV-Vis

### 2.6.1 Pengertian

Spektroskopi UV-tampak dapat dilakukan untuk analisis kualitatif dan untuk identifikasi kelas tertentu dari senyawa dalam campuran murni dan biologis. Lebih disukai, spektroskopi UV-tampak dapat digunakan untuk analisis kuantitatif karena molekul-molekul aromatik ada lah kromofor kuat dalam rentang UV. Senyawa alami dapat ditentukan dengan menggunakan spektroskopi UV-tampak. Senyawa fenolik termasuk anthocyanin, tanin, pewarna polimer, dan fenol membentuk kompleks dengan besi yang telah terdeteksi oleh spektroskopi ultraviolet-tampak (UV-Vis). Selain itu, teknik spektroskopi UV-Vis diketahui menjadi kurang selektif dalam memberikan informasi tentang komposisi kandungan polifenol total. Spektroskopi UV-Vis dapat digunakan untuk menentukan total fenolik ekstrak (280 nm), flavones (320 nm), asam fenolik (360 nm), dan total anthosianid (520 nm). Teknik ini tidak memakan waktu, dan biaya yang lebih murah dibandingkan dengan teknik lain (Julianto,2019).

Spektrofotometrimerupakan suatu metode analisa yang didasarkan pada pengukuran serapan sinar monokromatis oleh suatu lajur larutan berwarna pada panjang gelombamg spesifik dengan menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dengan detektor fototube. Secara sederhana, spektrofotometri adalah pengukuran penyerapan energi cahaya suatu sistem kimia sebagai fungsi dari panjang gelombang dan radiasi. Dalam percobaan, metode ini biasanya digunakan untuk menentukan kadar Fe3+ dalam sampel. Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV/Vis yang merupakan sebuah instrumen untuk mengukur transmitansi atau absorbansi suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang (UV: 185–400 nm; Vis: 400–760 nm). Spektrofotometri dapat dianggap sebagai perluasan suatu pemeriksaan visual dengan studi yang lebih mendalam dari absorbsi energi. Absorbsi radiasi oleh suatu sampel diukur pada berbagai panjang gelombang dan dialirkan oleh suatu perekam untuk menghasilkan spektrum tertentu yang khas untuk komponen yang berbeda (Yudono,2017).

### 2.6.2 Tipe-tipe Spektrofotometer UV-Vis

Pada umumnya terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer, yaitu *single-beam* dan *double-beam*.*Single-beam instrument* Gambar (2.5), dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. *Single-beam instrument* mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya yang ada merupakan keuntungan yang nyata.

Beberapa instrumen menghasilkan *single-beam instrument* untuk pengukuran sinar ultra violet dan sinar tampak. Panjanggelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan palingtinggi adalah 800 sampai 1000 nm .*Doublebeam* dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190sampai 750 nm. *Double-beam instrument* (Gambar 2.6) mempunyai dua sinar yangdibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebutpemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinarkedua secara serentak melewati sampel (Suhartati,2017).



**Gambar 2.5** Diagram alat spektrofotometer UV-Vis (*single beam*)

Sumber sinar polikromatis, untuk sinar UV adalah lampu deuterium, sedangkan sinar Visibel atau sinar tampak adalah lampu wolfram. Monokromator pada spektrometer UV-Vis digunakaan lensa prisma dan filter optik. Sel sampel berupa kuvet yang terbuat dari kuarsa atau gelas dengan lebar yang bervariasi. Detektor berupa detektor foto atau detektor panas atau detektor dioda foto, berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik. Diagram spektrofotometer UV-Vis (Double-beam) dapat dilihat pada Gambar 2.6 (Suhartati,2017).



**Gambar 2.6** Skema spektrofotometer UV-Vis (*Double-beam*)

### 2.6.3 Syarat Pengukuran

Spektrofotometri UV-Visible dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain: 1. Harus melarutkan sampel dengan sempurna. 2. Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel) 3. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis 4. Kemurniannya harus tinggi (Suhartati,2017).

Sinar tampak fungsinya ya seperti namanya, agar membuat tampak benda-benda di sekeliling kita. jadi kita bisa membedakan setiap benda dari warnanya. Salah satu aplikasi dari sinar tampak adalah penggunaan sinar laser dalam serat optik pada bidang telekomunikasi.Cahaya yang diserap oleh suatu zat berbeda dengan cahaya yang ditangkap oleh mata manusia. Cahaya yang tampak atau cahaya yang dilihat dalam kehidupan sehari-hari disebut warna komplementer. Misalnya suatu zat akan berwarna orange bila menyerap warna biru dari spektrum sinar tampak dan suatu zat akan berwarna hitam bila menyerap semua warna yang terdapat pada spektrum sinar tampak (Yudono,2017).

**Tabel 2.4 Komplementer**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Panjang gelombang** **(nm)** | **Warna yang****Diabsorpsi** | **Warna yang dipantulkan****(komplementer)** |
| 340 – 450 | Lembayung | Kuning – hijau |
| 450 – 495 | Biru | Kuning |
| 495 – 570 | Hijau | Violet |
| 570 – 590 | Kuning | Biru |
| 590 – 620 | Jingga | Hijau-biru |
| 620 – 750 | Merah | Biru-hijau |

Spektrofotometeradalah absorbansi, transmitan, kuvet, drive cell, dan blangko. Absorbansiadalah daya radiasi sinar yang diserap oleh larutan baik itu larutan baku maupun blangko, sedangkan transmitan adalah daya radiasi sinar yang diteruskan atau yang keluar dari kuvet dan daya radiasi sinar yang masuk ke dalam kuvet. Kuvet adalah tempat untuk meletakkan larutan, baik larutan blangko maupun larutan baku, sedangkan Drive celladalah tempat untuk meletakkan kuvet. Keberadaan blangkoberfungsi untuk mengoreksi adanya sinar yang dipantulkan oleh kuvet dan sinar yang diserap oleh substituen lain (Yudono,2017).

Prinsip kerja Spektrofotometer UV-Vis yaitu apabila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap dan sebagian dipantulkan dan sebagiannya lagi dipancarkan . Aplikasi rumus tersebut dalam pengukuran kuantitatif dilaksanakan dengan cara komparatif menggunakan kurva kalibrasi dari hubungan konsentrasi deret larutan alat untuk analisa suatu unsur yang berkadar rendah baik secara kuantitatif maupun secara kualitatif, pada penentuan secara kualitatif berdasarkan puncak-puncak yang dihasilkan spektrum dari suatu unsur tertentu pada panjang gelombang tertentu, sedangkan penentuan secara kuantitatif berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan dari spektrum dengan adanya senyawa pengompleks sesuai unsur yang dianalisisnya (Yalinastuti,2016).

### 2.6.4 Hukum Lambert-Beer

Hukum Lambert-Beer (Beer’s law) , berbunyi “Jumlah radiasi cahaya tampak (ultraviolet, inframerah dan lainnya) yang diserap oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan’’.

Absorptivitas (a) adalah konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel tetapi absorptivitas tergantung pada suhu, struktur molekul, panjang geombang radiasi dan pelarut (Gandjar,2007). Hukum Lambert-Beer dikenal dengan persamaan sebagai berikut:

A = (Io / It) = a.b.c

Keterangan: Io : Intensitas sinar datang

It : Intensitas sinar yang diteruskan

a : Absorptivitas

b : Panjang sel/kuvet

c : Konsentrasi (g/L)

A : Absorban