

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Proses penuaan merupakan suatu proses yang dinamis. Proses penuaan menyebabkan terjadinya perubahan histologi lapisan kulit (Dewiastuti & Hasanah, 2017). Faktor penyebab penuaan kulit adalah faktor internal dan eksternal. Faktor internal yang menjadi penyebabnya penuaan dini adalah peningkatan radikal bebas dan kerusakan DNA. Faktor eksternal yaitu radiasi sinar UV dan asap merokok. Manifestasi penuaan kulit merupakan ciri khasnya keriput, dimana kerutan terbentuk akibat kehancuran DNA disebabkan oleh reaksi inflamasi yang datang menghasilkan protease dan spesies oksigen reaktif yang menghancurkan serat elastin (Cahyani *et al.* 2022).

Radikal bebas adalah molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron yang hilang. Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan sel seperti penyakit dan penuaan dini. Radikal bebas, yang menyebabkan penuaan kulit, dihasilkan oleh sinar ultraviolet (UV). Radikal bebas ini dapat menyebabkan berbagai bahaya fotokimia, termasuk fotoisomerisasi dan fotooksidasi. Reaksi fotooksidasi dihasilkan dari pelepasan spesies oksigen reaktif (ROS) dalam bentuk anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan radikal hidroksil ($OH^\bullet$) di bawah pengaruh kromofor penyerap sinar ultraviolet (Nisa & Surbakti, 2016).

Antioksidan adalah suatu zat yang dapat menghambat proses oksidasi, bahkan pada konsentrasi yang relatif rendah. Antioksidan adalah senyawa kimia yang terbuat dari fenol monohidroksilasi atau polihidroksilasi. Antioksidan berperan dalam berbagai cara dalam proses oksidasi, termasuk dengan menghilangkan radikal bebas dengan enzim atau melalui reaksi kimia (Andarina & Djauhari, 2017). Antioksidan memiliki banyak manfaat bagi kesehatan kulit antara lain sebagai antipenuaan, perlindungan terhadap ROS akibat stres oksidatif dan perlindungan terhadap radiasi sinar UV. Antioksidan menghambat produksi ROS dengan

langsung, sehingga mengurangi jumlah oksidan di dalam dan sekitar sel, mencegah ROS untuk mencapai target biologisnya, membatasi penyebaran oksidan yang terjadi selama proses peroksidasi lipid dan melawan stres oksidatif sehingga mencegah penuaan (Haerani *et al.*, 2018). Mekanisme antioksidan senyawa polifenol bergantung pada kemampuan mereka untuk mendonorkan atom hidrogen dan mengelut ion logam. Setelah mendonorkan satu atom hidrogen, senyawa fenol menjadi senyawa yang stabil dan tidak mudah mengalami resonansi, sehingga mereka tidak mudah terlibat dalam reaksi radikal lainnya (Liliana *et al.* 2017). Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan yakni tanaman widuri (*Calotropis gigantea* L.).

Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea* L.) merupakan tanaman yang tumbuh di daerah tropis dan beriklim hangat (Griana, 2019). Secara empiris, tanaman widuri digunakan oleh masyarakat luas untuk mengobati kudis, luka, sariawan, gatal pada cacar air, campak, demam, dan batuk (Faradilla & Maysarah, 2019). Serat diperoleh dari kulit dan biji buahnya. Getah putih susu dari batang tanaman ini diketahui mempunyai manfaat bagi kesehatan antara lain vertigo, asma, bronkitis, pencernaan yang terganggu, kusta, tumor dan berbagai gangguan pencernaan (Sukardan *et al.* 2017). Pada daun, bunga, getah dan kulit akar (*Calotropis gigantea* L.) mengandung fenol, tannin dan steroid. Saponin terdapat pada daun dan getah, sedangkan flavonoid hanya terdapat pada daun dan bunga (Faradilla & Maysarah, 2019).

Pada penelitian Usmani (2013) ekstrak bunga widuri memiliki aktivitas antioksidan. Menurut penelitian Maulani *et al.* (2023) hasil skrining fitokimia dari bunga widuri memiliki kandungan fenol, tanin, steroid dan flavanoid yang dimana kandungan senyawa ini memiliki aktivitas antioksidan dengan jumlah kadar total flavanoid sebesar 1,723 mgQE/g ekstrak. Menurut penelitian Usmani (2013) menunjukkan bahwa adanya aktivitas antioksidan dari bunga widuri, dimana kandungan antioksidan dari bunga widuri lebih tinggi dari bagian akarnya. Menurut penelitian Singh & Javed (2015) minyak atsiri pada bunga widuri (*Calotropis gigantea* L.) mengandung senyawa kimia seperti, *Benzyl alcohol* (42,89%), 4-

vinylguaiacol (15,56), *Phenethyl alcohol* (3,56%), *3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol* (2,53%).

Daun widuri (*Calotropis gigantea* L.) mempunyai kandungan kimia antara lain tanin, polifenol, kalsium oksalat, saponin, dan flavonoid. Tingginya kandungan flavonoid dan fenol pada daun widuri (*Calotropis gigantea* L.) menyebabkan adanya aktivitas antioksidan. Pada penelitian Pudji (2023) kadar total flavonoid ekstrak daun widuri didapat sebesar 9,630 mgQE/g. Pada penelitian Singh *et al.* (2018) menyatakan bahwa, minyak atsiri dari daun widuri (*Calotropis gigantea* L) mengandung *Phytol* (17,94%), *phenylacetaldehyde* (9,16%), *4-methyl-1-heptanol* (4,98%), *benzyl alcohol* (4,10%), *4-methyl-3-penten-1-ol* (3,83%), *Gentanol*, *2-hexyn-1-ol* (2.86 %) dan *phenethyl alcohol* yang dimana senyawa *phytol* membuktikan bahwa adanya aktivitas antioksidan.

Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan berbagai metode, salah satunya adalah metode *2,2-difenil-1-pikrilhidrazil* (DPPH). Metode DPPH banyak digunakan untuk mengetahui aktivitas radikal atau antioksidan senyawa fenol murni dan ekstrak tumbuhan alami. Selain itu, cara ini sering digunakan dan diulang-ulang. Selain itu, gangguan warna DPPH pada sampel yang mengandung antosianin melemahkan aktivitas antioksidan (Shalaby & Shanab, 2013).

Berdasarkan latar belakang diatas, perlu dilakukannya penelitian mengenai Evaluasi Komponen Fitokimia, Kadar Fenol Total, dan Kapasitas Antioksidan Dari Minyak Atsiri Bagian Bunga dan Daun Widuri (*Calotropis gigantea* L.) dengan harapan hasil penelitian dapat menambah informasi mengenai potensi tanaman widuri khusus nya bagian bunga dan daun sebagai agen antioksidan dan mengetahui kadar fenol total pada bagian bunga dan daun Widuri (*Calotropis gigantea* L).

1.2. Rumusan Masalah

1. Apa komponen kimia dari minyak atsiri bagian bunga dan bagian daun widuri (*Calotropis gigantea* L.)?
2. Berapa kadar fenol total minyak atsiri bagian bunga dan daun widuri (*Calotropis gigantea* L.)?

3. Berapa nilai IC_{50} minyak atsiri bagian bunga dan daun widuri (*Calotropis gigantea* L.) dengan menggunakan metode DPPH?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui komponen kimia pada minyak atsiri bagian bunga dan daun widuri (*Calotropis gigantea* L.).
2. Untuk mengetahui kadar fenol total dalam minyak atsiri bagian bunga dan daun widuri (*Calotropis gigantea* L.).
3. Untuk mengetahui nilai IC_{50} minyak atsiri bagian bunga dan daun widuri dengan menggunakan metode DPPH.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat teoritis

Menjadi referensi bagi mahasiswa untuk penelitian selanjutnya mengenai peranan minyak atsiri daun dan bunga widuri (*Calotrophis gigantea* L.) sebagai antioksidan.

1.4.2. Manfaat praktis

Diharapkan dengan penelitian ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dalam memanfaatkan minyak atsiri daun widuri (*Calotrophis gigantea* L.) sebagai antioksidan alami.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea* L.)

Tanaman widuri (*Calotropis gigantea* L.) biasanya banyak ditemukan di daerah dengan musim kemarau yang panjang seperti daratan rendah dan pantai berpasir (Faradilla & Maysarah, 2019). Tanaman ini merupakan jenis tanaman perdu yang berumur hingga bertahun-tahun (*perennial*) dengan tinggi kurang lebih 2-3 meter. Tanaman widuri memiliki jenis akar tunggang, batang berkayu berbentuk silindris berwarna putih dengan permukaan halus dan dengan percabangan sympodial (batang utama tidak tanpa jelas). Daun pada tanaman ini merupakan jenis daun tunggal, tidak memiliki tangkai (*sessilis*) tersusun dengan berhadapan (*folia opposita*), dengan warna hijau keputihan, dan dengan ukuran panjang 8-20 cm, lebar 4-15 cm. Daun tanaman ini berbentuk bulat telur dengan ujung tumpul (*obtusis*), pangkal berlekuk (*emarginatus*), tepi rata dengan tulang daun menyirip (*pinnate*) dan permukaan kasar (*scaber*) (Sukardan *et al.* 2017).

2.1.1. Klasifikasi tanaman widuri (*Calotropis gigantea* L.)

Klasifikasi tanaman widuri (*Calotropis gigantea* L.) adalah sebagai berikut (Mishra *et al.*, 2015):

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divison	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclass	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Gentianales</i>
Familia	: <i>Asclepiadaceae</i>
Genus	: <i>Calotropis</i>
Species	: <i>Calotropis gigantea</i> L.



Gambar 2. 1 Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea* L.)

2.1.2. Kandungan senyawa kimia widuri (*Calotropis gigantea* L.)

Kandungan fitokimia tanaman widuri (*Calotropis gigantea* L.) mengandung berbagai bagian senyawa flavonoid, terpenoid, alkaloid, steroid, glikosida, saponin, terpen, enzim, alkohol, resin, asam lemak dan ester kalotropeol, asam lemak rantai panjang yang mudah menguap, glikosida, dan protease. Bagian bunga, akar mengandung senyawa seperti alkaloid, karbohidrat, glikosida, senyawa fenol/tanin, protein dan asam amino, flavonoid, saponin, sterol. Getah susu dari tanaman ini juga mengandung banyak lupeol, calotropin, calotoxin, uscharidin, dan protein lateks (Suresh *et al.*, 2013). Pada penelitian Singh *et al.* (2018) menyatakan bahwa, minyak atsiri dari daun widuri (*Calotropis gigantea* L.) mengandung *Phytol*, *phenylacetaldehyde*, *4-methyl-1-heptanol*, *benzyl alcohol*, *4-vinyl guaiacol*, *4-methyl-3-penten-1-ol*, *Gentanol*, *2-hexyn-1-ol* (2.86 %) dan *phenethyl alcohol* yang dimana senyawa *phytol* membuktikan adanya aktivitas antioksidan. Menurut penelitian Singh & Javed (2015) minyak atsiri pada bunga widuri (*Calotropis gigantea* L.) mengandung senyawa kimia seperti, *Benzyl alcohol*, *4-vinylguaiacol*, *Phenethyl alcohol*, *3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol*.

Pada penelitian Alafnan *et al.* (2021) menunjukan bahwa pada ekstrak etanol daun widuri (*Calotropis gigantea* L.) yang dianalisis menggunakan metode DPPH dan ABTS menunjukan adanya aktivitas antioksidan didapat sebesar 67,90 dan 89,67 mgTE/g. Antioksidan mempunyai mekanisme kerja dengan cara memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas sehingga dapat menetralkannya.

2.2. Minyak Atsiri

Minyak atsiri merupakan salah satu jenis minyak nabati yang mempunyai banyak manfaat. Bahan baku minyak ini diperoleh dari berbagai bagian tanaman seperti daun, bunga, buah, biji, kulit biji, batang, akar atau rimpang (Effendi & Widjanarko, 2014). Minyak atsiri (*Essential oils*) hanya ditemukan di 10% pada tumbuhan dan disimpan di struktur sekretori tertentu, seperti kelenjar, rambut sekretori, duktus sekretorik, rongga sekretorik, atau duktus resin. Salah satu sifat terpenting dari minyak atsiri adalah mudah menguap dan mempunyai aroma yang khas. Minyak atsiri mudah menguap pada suhu ruangan tanpa terurai, mempunyai rasa getir (*pungent taste*), dan bau yang tajam sesuai dengan tanaman yang memproduksinya. Minyak atsiri dapat larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air, tetapi minyak atsiri larut dalam alkohol (Astri Yuliana *et al.*, 2020).

2.3. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil yang sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Untuk mencapai kestabilan, atom-atom ini bereaksi dengan molekul di sekitarnya untuk membentuk pasangan elektron. Reaksi ini terus-menerus di dalam tubuh dan bila tidak dihentikan dapat merusak sel sehingga sangat berbahaya bagi kesehatan dan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya (Mhd. Riza Marjoni & Afrinaldi, 2015).

Radikal bebas dan spesies oksigen reaktif (ROS) merupakan implikasi dalam sejumlah kondisi patologik dari penyakit tertentu seperti inflamasi, gangguan metabolik, penuaan selular, atherosclerosis dan karcinogenesis. ROS termasuk radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$), radikal anion superoksida ($\text{O}_2 \bullet^-$), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen singlet ($^1\text{O}_2$). Radikal bebas dan ROS tersebut mampu memberikan efek kerusakan pada komponen biologi seperti protein, DNA dan lipida (Suryanto & Wehantouw, 2009).

2.4. Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu senyawa atau molekul yang mempunyai kestabilan untuk memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas sehingga dapat menetralkannya, serta dapat menghambat kemampuannya dalam melakukan reaksi berantai dari radikal bebas. Antioksidan berfungsi untuk menetralkan dan mencegah kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron radikal bebas dan mencegah reaksi berantai yang dapat menyebabkan stres oksidatif karena, kehilangan pasangan elektronnya, atom radikal bebas dianggap tidak stabil (Mhd. Riza Marjoni & Afrinaldi, 2015).

Antioksidan berperan dalam mencegah kerusakan oksidatif akibat radikal bebas dengan cara menyumbangkan elektron pada senyawa radikal bebas sehingga dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghilangkan atau menetralkan radikal bebas untuk mencegah kerusakan oksidatif (Pratiwi & Wardaniati, 2019). Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibedakan menjadi eksogen dan endogen. Contoh antioksidan endogen termasuk enzim Katalase (CAT), *Glutation Peroxidase* (GPx), dan *Superoksida Dismutase* (SOD). Contoh antioksidan eksogen dibagi menjadi dua yaitu sintetis dan alami, contoh antioksidan sintetis seperti Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ), Butil Hidroksi Toluena (BHT), dan Butil Hidroksi Anisol (BHA). Penggunaan antioksidan sintetis dibatasi karena bersifat karsinogenik sedangkan, antioksidan alami diperoleh dari kelompok tanaman seperti sayuran, buah-buahan, dan rempah-rempah (Berliansyah *et al.*, 2021). Efek antioksidan terutama disebabkan oleh adanya senyawa fenol seperti flavonoida, asam fenolat. Biasanya senyawa dengan aktivitas antioksidan adalah senyawa fenol yang mempunyai gugus hidroksi yang tersubstitusi pada posisi orto dan para terhadap gugus – OH dan –OR (Mhd. Riza Marjoni & Afrinaldi, 2015).

Sel manusia memiliki antioksidan alami seperti superoksida dismutase (SOD), katalase, reduktase, glutathione peroksidase dan antioksidan yang dapat melindungi dari efek radikal bebas. Namun, ketika radikal bebas melebihi

pertahanan antioksidan alami, mereka dapat mengganggu dan memutuskan rantai reduksi-oksidasi normal dan menyebabkan kerusakan oksidatif jaringan yang sering dikenal dengan stress oksidatif (Berliansyah *et al.*, 2021).

Menurut Asih *et al.* (2022), senyawa fenolik memiliki mekanisme sebagai antioksidan yaitu melalui akibat kemampuan dari gugus fenol untuk mengikat suatu radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogennya melalui proses transfer elektron, sehingga fenol berubah menjadi radikal fenoksil. Melalui efek resonansi, radikal fenoksil yang terbentuk dari hasil reaksi fenol dengan radikal bebas akan mengalami penstabilan diri. Karena hal tersebut maka derivat dari fenol merupakan donor hidrogen yang baik yang dapat menghambat reaksi yang terjadi akibat senyawa radikal. Senyawa fenol ini juga disebut sebagai inhibitor radikal.

Menurut Hidayah & Anggarani (2022), senyawa yang terdapat pada fenolik adalah senyawa flavanoid. Flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan dengan cara menjebak radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen pada radikal bebas tersebut. Pada umumnya, kemampuan flavonoid untuk menangkap radikal bebas bergantung pada substitusi gugus hidroksil dan kemampuan stabilisasi radikal bebas fenol melalui ikatan hidrogen atau delokalisasi elektron. Selanjutnya, radikal fenoksi flavonoid ini distabilkan oleh delokalisasi elektron tidak berpasangan di sekitar cincin aromatik. Stabilitas radikal fenoksi flavonoid (*reactive oxygen*) mengurangi kecepatan propagasi reaksi berantai autoksidasi.

2.5. Uji Antioksidan

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan suatu sampel, harus diuji aktivitas antioksidannya. Metode uji aktivitas antioksidan yang berbeda memungkinkan kita mengidentifikasi sifat antioksidan dalam suatu sampel sehingga dapat mempelajari cara kerja masing-masing antioksidan. Berdasarkan mekanisme kerjanya yang berbeda, dimungkinkan untuk menguji aktivitas antioksidan non-enzimatik seperti polifenol (flavonoid) misalnya reaksi reduksi dengan radikal bebas atau khelasi ion radikal bebas melalui reaksi pembentukan kompleks (Aryanti *et al.* 2021).

Selain itu, banyak protokol atau metode pengujian *in vitro* yang dapat

digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan sampel target. Oleh karena itu, sulit untuk membandingkan satu pendekatan dengan pendekatan lainnya. Secara umum, pengujian antioksidan secara *in vitro* menggunakan perangkap radikal bebas sangatlah mudah untuk dilakukan. Selain cepat, sederhana (tidak memerlukan banyak langkah dan reagen), dan harganya terjangkau dibandingkan model pengujian lainnya, metode DPPH merupakan salah satu teknik pembersihan radikal bebas. Sedangkan untuk antioksidan hidrolis dan lipofilik dapat digunakan pengujian antioksidan dengan uji dekolorisasi (Alam *et al.*, 2013).

2.6. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) merupakan salah satu teknik yang paling banyak digunakan dan alat awal untuk menilai aktivitas antioksidan. Radikal kromogen stabil dengan rona ungu kuat yang disebut DPPH. Pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) didasarkan pada kemampuan antioksidan menyumbangkan elektron ke radikal DPPH. Reaksi tersebut disertai dengan perubahan warna DPPH, yang diukur pada panjang gelombang 517 nm, dan perubahan warna tersebut berfungsi sebagai ukuran efektivitas antioksidan (Shahidi & Zhong, 2015).

Serapan dihasilkan oleh DPPH yang berwarna ungu pekat pada panjang gelombang 517 nm pada awalnya. Namun, setelah direduksi, DPPH akan berubah menjadi senyawa difenil pikril hidrazin, yang secara bertahap memudar menjadi berwarna kuning dan memiliki nilai serapan yang sebanding dengan jumlah elektron yang diterima. Keunggulan dari metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) diantaranya memiliki proses analisis yang sederhana, cepat, mudah, dan sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil. Namun, karena DPPH hanya dapat dilarutkan dalam pelarut organik, maka akan sulit untuk menganalisis senyawa yang bersifat hidrofilik (Shalaby & Shanab, 2013). Parameter hasil pengujian metode DPPH yang dikenal sebagai IC_{50} (*Inhibitor Concentration*), merupakan konsentrasi larutan sampel yang menyebabkan penurunan aktivitas

DPPH sebesar 50%. Nilai IC_{50} yang lebih rendah menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan lebih tinggi (Souhoka *et al.*, 2019). Rumus untuk mencari IC_{50} yaitu:

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel larutan uji}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%.$$

Tabel 2. 1 Rentang Nilai IC_{50}

Rentang Aktivitas Antioksidan (IC_{50})	
Sangat kuat	$IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$.
Kuat	$IC_{50} 50\text{-}100 \mu\text{g/mL}$.
Sedang	$IC_{50} 100\text{-}150 \mu\text{g/mL}$.
Lemah	$IC_{50} 150\text{-}200 \mu\text{g/mL}$.
Sangat lemah	$IC_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$.

Sumber: (Souhoka *et al.*, 2019).

2.7. Senyawa Fenol

Senyawa fenol merupakan senyawa organik yang memiliki gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada cincin aromatik. Kelompok senyawa tanaman terbesar yang berfungsi sebagai antioksidan alami adalah fenol. Senyawa fenol, yang berasal dari tumbuhan dan memiliki ciri-ciri unik seperti cincin aromatik dengan satu atau dua gugus hidroksil, cenderung mudah larut dalam air yang bersifat polar. Senyawa fenol juga berpotensi memiliki aktivitas antioksidan. Menurut bentuknya, fenol dapat dibagi menjadi dua kategori: fenol sederhana (misalnya, resorsinol, hidroquinon, dan katekol) dan fenol kompleks (misalnya, lignin, melanin, flavonoid, dan tanin) (Berliansyah *et al.*, 2021).

Senyawa fenolik mempunyai mekanisme antioksidan yaitu melalui kemampuan gugus fenolik dalam menangkap radikal bebas dengan cara menyumbangkan atom hidrogennya melalui proses transfer elektron, dimana fenol berubah menjadi radikal fenoksil. Melalui efek resonansi, radikal fenoksil yang dihasilkan dalam reaksi fenol dengan radikal bebas menjadi stabil (Asih *et al.*, 2022). Senyawa fenol dibagi menjadi sub kelompok asam fenolat, flavonoid, tanin,

dan stilben berdasarkan jumlah gugus fenol hidroksi yang terikat dan jumlah bahan penyusun yang menghubungkan cincin benzen (Diniyah & Lee, 2020).

2.8. Soxhletasi

Soxhletasi adalah salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengisolasi minyak lemak. Soxhletasi merupakan ekstraksi padat-cair yang berkesinambungan, disebut ekstraksi padatcair karena substansi yang diekstrak terdapat di dalam campuran yang berbentuk padat, sedangkan disebut berkesinambungan karena pelarut yang sama dipakai berulang-ulang sampai proses ekstraksi selesai. Keuntungan dari metode ini antara lain menggunakan pelarut yang lebih sedikit karena pelarut tersebut akan dipakai untuk mengulang ekstraksi dan uap panas tidak melalui serbuk simplisia, tetapi melalui pipa samping (Triesty & Mahfud, 2017).

Prinsip kerja dari ekstraksi soxhlet adalah ekstraksi dilakukan secara terus menerus dengan memakai pelarut yang lebih sedikit. Pelarut yang digunakan dalam soxhletasi adalah pelarut-pelarut yang mudah menguap atau memiliki titik didih rendah. Soxhletasi dilakukan dengan cara memanaskan pelarut. Uap pelarut yang dihasilkan mengalami pendinginan dalam kondensor dan secara berulang akan membasahi sampel, dimana secara teratur pelarut tersebut dimasukkan kembali ke dalam labu dengan membawa analit. Proses ini terus berlangsung secara berulang (Firyanto *et al.*, 2020).

2.9. Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS)

Kromatografi gas-spektrometri massa atau dikenal dengan GC-MS adalah metode gabungan kromatografi gas dan spektrometri massa yang bertujuan untuk menganalisis berbagai senyawa dalam sampel. Kromatografi gas dan spektrometri massa memiliki prinsip kerjanya masing-masing, namun keduanya dapat digabungkan untuk mengidentifikasi suatu senyawa baik secara kualitatif maupun kuantitatif (Hotmian *et al.*, 2021).

Cara kerja GC-MS, senyawa organik dipisahkan dengan dua metode analisis senyawa yaitu Kromatografi Gas (GC) untuk menganalisis jumlah senyawa secara kualitatif dan Spektrometri Massa (MS) untuk menganalisis struktur molekul

senyawa analit. GC-MS merupakan kombinasi dari kromatografi gas dan spektroskopi massa. Senyawa yang dipisahkan dengan kromatografi gas, kemudian dideteksi atau dianalisis menggunakan spektroskopi massa. Dalam GC-MS aliran dari kolom dihubungkan secara langsung ke ruang ionisasi spektrometer massa. Di ruang ionisasi semua molekul (termasuk gas pembawa, pelarut, dan solut) akan terionisasi, dan ion dipisahkan berdasarkan rasio massa terhadap muatannya. Setiap zat larutan mengalami fragmentasi karakteristik menjadi ion-ion yang lebih kecil, sehingga spektrum massa dapat digunakan untuk mengidentifikasi solut secara kualitatif (Puspita *et al.*, 2019).

Keunggulan metode GC-MS antara lain: efisien, resolusi tinggi sehingga dapat digunakan untuk menganalisis partikel yang sangat kecil. Aliran gas sangat terkontrol dan kecepatannya tetap. Analisis cepat, biasanya hanya beberapa menit. Tidak merusak sampel. Sensitivitas tinggi, dapat memisahkan berbagai senyawa yang bercampur satu sama lain dan dapat menganalisis berbagai senyawa bahkan dalam kadar/konsentrasi rendah. Selain keunggulan metode GC-MS juga memiliki kekurangan antara lain: hanya untuk zat yang mudah menguap, tidak dapat memisahkan campuran dalam jumlah besar. Fase gerak tidak bersifat reaktif terhadap fase diam dan zat terlarut (Diva Candraningrat *et al.*, 2021).

2.10. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode analisis yang menggunakan panjang gelombang UV dan Visible sebagai area serapan untuk mendeteksi senyawa. Pada umumnya senyawa yang dapat diidentifikasi menggunakan Spektrofotometri UV-Vis adalah senyawa yang memiliki gugus kromofor dan gugus auxokrom. Pengujian dengan Spektrofotometri UV-Vis tergolong dan cepat jika dibandingkan dengan metode lain.

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis (*Ultra Violet-Visible*) berdasar pada serapan cahaya, dimana atom dan molekul berinteraksi dengan cahaya. Gabungan antara prinsip spektrofotometri Ultraviolet dan visible disebut spektrofotometer Ultraviolet-visible (UV-Vis). Sumber UV dan visible adalah dua sumber sinar yang

berbeda yang digunakan pada instrumen ini. Spektrofotometri UV-Vis berdasar pada hukum Lambert-Beer. Jika sinar monokromatik melewati suatu senyawa maka sebagian sinar akan diabsorpsi, sebagian dipantulkan dan sebagian lagi akan dipancarkan. Cermin yang berputar pada bagian dalam spektrofotometer akan membagi sinar dari sumber cahaya menjadi dua. Panjang gelombang pada daerah ultraviolet adalah 180 nm–380 nm, sedangkan pada daerah visible adalah 380 nm–780 nm.



2.11. Kerangka Konseptual

2.11.1. Kerangka teori

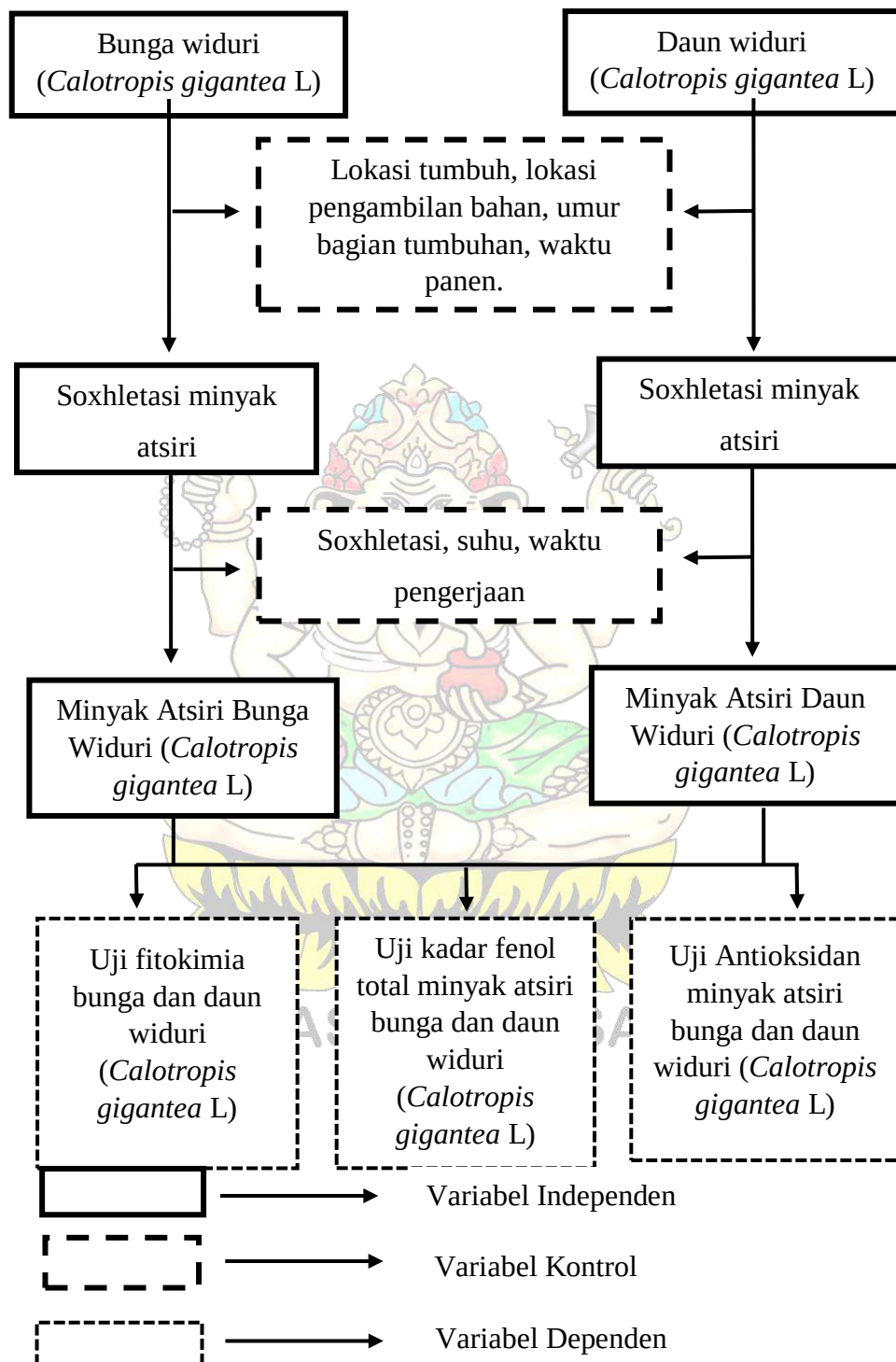


(Mhd. Riza Marjoni & Afrinaldi,

2015)

Gambar 2. 2 Kerangka Teori

2.11.2. Kerangka konsep



Gambar 2. 3 Kerangka Konsep