

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pewarna merupakan salah satu bahan tambahan yang seringkali digunakan dalam berbagai industri, mulai dari industri pangan, kosmetik, farmasi, hingga tekstil (Fikri *et al.*, 2017). Pewarna berfungsi untuk meningkatkan daya tarik visual produk serta menambah nilai estetika dan komersial. Secara umum, pewarna dibagi menjadi dua yaitu pewarna sintetis dan pewarna alami. Pewarna sintetis adalah bahan pewarna yang diperoleh dari proses kimiawi, sedangkan pewarna alami adalah zat yang diperoleh dari proses ekstraksi bahan alam seperti tanaman, hewan atau mineral (Parsih, 2023).

Saat ini, pewarna sintetis atau pewarna buatan banyak ditemukan dalam produk farmasi dan produk makanan serta minuman, seperti minuman buah, minuman energi, permen, sereal dan makanan ringan. Pewarna sintetis yang telah banyak digunakan diantaranya yaitu, tartrazine (E-102), sunset yellow (E-110), amaranth (E-123) dan ponceau 4R (E-124) dari golongan azo dan quinoline yellow (E-104) dari golongan quinethazones (Ardila *et al.*, 2021). Meskipun pewarna sintetis memiliki keunggulan dari segi kestabilan warna dan biaya produksi yang rendah, penggunaannya tidak terlepas dari risiko kesehatan (Butar *et al.*, 2022). Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa konsumsi pewarna sintetis dalam jumlah berlebihan atau dalam jangka panjang dapat menyebabkan alergi, gangguan patologis, gangguan pernafasan, gangguan ginjal, gangguan gastrointestinal hingga peningkatan risiko terjadinya kanker (Oliveira *et al.*, 2024).

Berdasarkan data Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) pada tahun 2023, kasus keracunan pangan di Indonesia akibat konsumsi makanan yang mengandung bahan tambahan pangan berbahaya seperti formalin, boraks dan pewarna sintetis menduduki posisi tertinggi yaitu sejumlah 1.110 kasus, dibandingkan dengan keracunan yang disebabkan oleh faktor lainnya. Pewarna sintetis memiliki dampak negatif bagi tubuh karena dapat bersifat toksik dan

karsinogenik (Armanzah & Hendrawati, 2016). Oleh karena itu, diperlukan alternatif pewarna yang lebih aman, salah satunya dengan memanfaatkan bahan alam sebagai pewarna alami. Pewarna alami yang berasal dari tanaman tidak hanya memberikan warna, namun juga memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti antioksidan yang memberikan manfaat kesehatan tambahan (Asra *et al.*, 2019).

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) merupakan salah satu tanaman lokal yang dikenal kaya akan kandungan senyawa antosianin yang berpotensi sebagai pigmen warna alami (Purwaniati *et al.*, 2020). Antosianin merupakan pigmen larut air yang berperan menghasilkan warna merah, ungu dan biru pada berbagai tanaman (Wiyono *et al.*, 2022). Selain berperan sebagai pewarna, antosianin memiliki berbagai aktivitas farmakologis seperti, antidiabetes, antiinflamasi, antimikroba, antitumor, antikanker dan antioksidan (Yue *et al.*, 2021). Aktivitas antioksidannya berperan dalam menangkal radikal bebas yang dapat merusak sel, sehingga berpotensi dalam pencegahan penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes melitus dan penyakit kardiovaskular. Adanya dampak positif bagi kesehatan manusia dan berbagai potensi aplikasinya menyebabkan kebutuhan senyawa antosianin kini semakin meningkat (Hoang *et al.*, 2023).

Potensi tersebut menjadikan bunga telang sebagai sumber antosianin yang bernilai tinggi untuk aplikasi di bidang pangan dan farmasi. Untuk memperoleh antosianin dalam jumlah dan kualitas optimal, diperlukan metode ekstraksi yang sesuai. Metode maserasi dipilih karena prosesnya sederhana dan dapat mengurangi kerusakan senyawa antosianin pada bunga telang yang bersifat termolabil (Yurisna *et al.*, 2022). Antosianin merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga ekstraksi antosianin dapat dilakukan dengan menggunakan pelarut yang juga bersifat polar (Tan *et al.*, 2022). Etanol banyak digunakan dalam ekstraksi antosianin karena sifat polaritasnya yang sesuai, serta keamanannya untuk aplikasi pangan dan farmasi lebih baik dibanding pelarut metanol atau pelarut organik lainnya (Herman *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil dari beberapa penelitian melaporkan bahwa jenis pelarut pengestraksi dan konsentrasi pelarut yang berbeda-beda akan berpengaruh terhadap hasil ekstraksi bahan alam. Penelitian Agustin dan Ismiyati (2015), melaporkan bahwa ekstraksi antosianin dari kelopak bunga kembang sepatu dengan

pelarut etanol 96% memberikan hasil yang lebih optimal dibandingkan etanol 60, 70 dan 80%. Sementara hasil yang berbeda dilaporkan oleh Le *et al.* (2019), dalam penelitiannya dengan variasi pelarut diketahui bahwa pelarut etanol 50% merupakan kondisi paling optimum dalam memperoleh konsentrasi antosianin total yang paling maksimal. Dengan demikian, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui konsentrasi etanol yang paling efektif dalam menghasilkan konsentrasi antosianin total yang maksimal dari bunga telang.

Senyawa antosianin dari hasil ekstraksi seringkali masih mengandung senyawa lain atau komponen pengotor yang dapat mempengaruhi efektifitasnya. Oleh karena itu, untuk memperoleh jumlah antosianin yang lebih optimal dengan kualitas baik, diperlukan teknik pemisahan lanjutan untuk memperoleh senyawa antosianin yang lebih murni. Salah satu teknik pemisahan yang efektif adalah menggunakan adsorben resin makropori AB-8 melalui proses adsorpsi dan desorpsi. Resin makropori efektif digunakan untuk pemurnian senyawa bahan alam karena memiliki kapasitas adsorpsi yang besar, stabilitas fisikokimia yang baik, selektivitas tinggi terhadap senyawa target, serta dapat digunakan secara berulang dengan biaya yang rendah (Xianzhe *et al.*, 2015). Namun, masih terbatasnya kajian mengenai pemurnian senyawa antosianin dengan adsorben resin makropori AB-8 pada tanaman bahan alam Indonesia, khususnya bunga telang.

Berdasarkan uraian diatas, penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengaruh variasi konsentrasi pelarut etanol (50, 70 dan 96%) terhadap konsentrasi antosianin total pada ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.), serta mengevaluasi efektivitas adsorben resin makropori AB-8 dalam pemurnian senyawa antosianin. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan metode ekstraksi dan pemurnian antosianin untuk aplikasi pangan dan farmasi, serta mendukung pemanfaatan tanaman lokal sebagai bahan baku alternatif pewarna alami dan bahan aktif produk farmasi.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi pelarut etanol terhadap konsentrasi antosianin total pada ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.)?
2. Bagaimana efektivitas adsorben resin makropori AB-8 dalam pemurnian senyawa antosianin dari ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.)?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, adapun tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi pelarut etanol terhadap konsentrasi antosianin total pada ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.).
2. Untuk mengetahui efektivitas adsorben resin makropori AB-8 dalam proses pemurnian senyawa antosianin dari ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.).

## 1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian di atas, didapatkan manfaat penelitian yakni sebagai berikut:

### 1.4.1 Manfaat Teoritis

Dapat memperluas kajian ilmiah mengenai metode optimasi ekstraksi dan pemurnian senyawa antosianin dari tanaman lokal Indonesia, khususnya bunga telang (*Clitoria ternatea* L.). Selain itu, penelitian ini juga berkontribusi pada pengembangan bahan pewarna alami berbasis antosianin yang memiliki potensi dalam industri pangan dan farmasi, khususnya dalam pengembangan produk kesehatan berbahan dasar alami.

### 1.4.2 Manfaat Praktis

Dapat memberi informasi mengenai konsentrasi pelarut etanol yang optimal untuk ekstraksi antosianin dari bunga telang. Selain itu, dapat menjadi acuan dalam pengembangan metode pemurnian senyawa bioaktif menggunakan resin makropori AB-8 yang dapat diaplikasikan dalam industri farmasi untuk produksi ekstrak antosianin murni dari bahan alam Indonesia yang potensial dalam bidang kesehatan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tanaman Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

##### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman Bunga Telang

Klasifikasi tanaman bunga telang menurut Handito *et al.*, (2022) adalah sebagai berikut:



Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Super Divisio	: Spermatophyta
Divisio	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Sub Class	: Rosidae
Ordo	: Fabales
Family	: <i>Fabaceae</i>
Genus	: <i>Clitoria</i>
Species	: <i>Clitoria ternatea</i> L.

##### 2.1.2 Deskripsi Tanaman Bunga Telang

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) juga dikenal sebagai bunga biru termasuk dalam famili *Fabaceae*. Bunga telang biasanya digunakan sebagai tanaman hias dan banyak terdapat di pekarangan rumah, perkebunan maupun pinggiran sawah. Bunga telang banyak ditemukan di negara beriklim subtropis dan tropis seperti di Indonesia. Selain itu, bunga ini juga tersebar hingga wilayah Amerika Serikat, Afrika, Brazil, Pasifik Utara, dan Amerika Utara (Yurisna *et al.*, 2022). Bunga telang memiliki nama yang berbeda di setiap daerah di Indonesia, seperti bunga biru, bunga kelentit atau telang di Sumatera, bunga teleng atau menteleng di Jawa, bunga temen raleng di Sulawesi dan bunga bisi atau semagulele di Maluku (Purwaniati *et al.*, 2020).

Secara morfologis, tanaman telang memiliki batang yang kecil dan merupakan tumbuhan merambat. Tanaman ini memiliki daun majemuk yang berukuran kecil, dan setiap cabang terdiri dari 2-4 pasang daun dan dapat tumbuh merambat (Yurisna *et al.*, 2022). Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) termasuk tanaman dikotil, mempunyai daun bunga tidak lengkap, mempunyai tangkai dan helaian daun, memiliki akar tunggang terdiri dari 4 bagian, yaitu leher, batang/utama, ujung dan serabut akar. Tanaman ini memiliki biji seperti kacang sehingga tergolong sebagai polong-polongan yang berwarna hijau saat masih muda dan berwarna hitam saat sudah tua (Nugraha *et al.*, 2024). Gambar dari tanaman bunga telang dapat dilihat pada gambar 2.1.



Sumber: Ichsan & Wulandari (2021, Gambar 2.1)

Gambar 2.1: Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Bagian bunga dari tanaman telang (*Clitoria ternatea* L.) merupakan bunga majemuk terbentuk pada pangkal bunga telang, memiliki tangkai silinder dengan panjang  $\pm 1,5$  cm, kelopak bunga berbentuk corong dengan mahkota yang menyerupai bentuk kupu-kupu (Danis, 2022). Bunga telang dikenal juga dengan sebutan *butterfly pea* atau *blue pea* merupakan jenis flora yang khas dengan kelopak tunggal yang memiliki warna yang beragam seperti ungu, biru, pink dan putih (Yurisna *et al.*, 2022).

### 2.1.3 Kandungan Kimia dan Manfaat Bunga Telang

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) merupakan tanaman yang diketahui memiliki kandungan senyawa polifenol yang tinggi yang memiliki berbagai

manfaat bagi kesehatan. Kandungan senyawa yang terdapat dalam bunga telang diantaranya yaitu, antosianin, flobatanin, saponin, tanin, protein, karbohidrat, fenol, triterpenoid, flavonoid, antrakuinon, minyak volatil, steroid, alkaloid, flavanol glikosida, flavonol glikosida dan stigmasit 4-ena-3,6 dion (Yurisna *et al.*, 2022). Flavonoid lain yang terkandung dalam bunga telang meliputi senyawa kaempferol, myricetin dan quercetin. Selain itu, dalam ekstrak air bunga telang juga diketahui terdapat senyawa epigallocatechin-3-gallate (EGCG), yaitu senyawa katekin yang umumnya ditemukan dalam teh hijau yang berpotensi sebagai antioksidan dan antikanker (Escher *et al.*, 2020)

Warna biru khas pada kelopak bunga telang dipengaruhi oleh kandungan senyawa antosianin khususnya jenis ternatin. Ternatin merupakan antosianin kompleks yang terbentuk dari struktur dasar delphinidin yang terglukosilasi serta mengalami modifikasi melalui penambahan gugus glukosa, asam *p*-kumarat, dan asam manolat. Beberapa jenis ternatin yang telah berhasil diidentifikasi dalam bunga telang diantaranya yaitu, ternatin A3, B2, B3, B4 dan D2, masing-masing mempunyai berat molekul dan struktur yang berbeda-beda (Escher *et al.*, 2020).

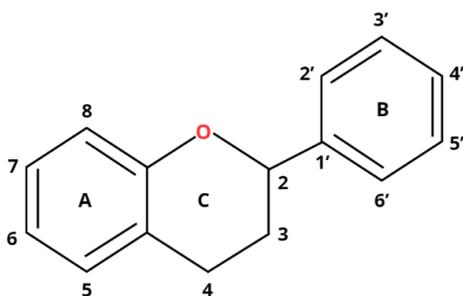
Senyawa fitokimia yang terdapat pada bunga telang memiliki berbagai aktivitas farmakologis, antara lain sebagai antiradang, antibakteri, antidiabetes, analgesik, antihistamin, antikanker dan antioksidan (Yurisna *et al.*, 2022). Antioksidan merupakan senyawa yang berperan dalam mencegah dan menetralkan radikal bebas, yaitu molekul reaktif yang terbentuk akibat proses oksidasi berlebih. Radikal bebas dapat mengakibatkan kerusakan struktur dan fungsi sel di dalam tubuh sehingga menyebabkan *stres oksidatif* (Rifqi, 2021). Stres oksidatif ini dapat memicu berbagai penyakit, seperti penuaan dini, kanker, penyakit degeneratif dan penyakit yang berhubungan dengan kardiovaskular. Antioksidan bekerja dengan cara menyumbangkan elektron pada molekul radikal bebas, sehingga menghambat reaksi oksidasi dan menstabilkan senyawa tersebut (Handito *et al.*, 2022). Kandungan antosianin dalam bunga telang menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan antosianin dari bunga lain (Kazuma *et al.*, 2013 dalam Fizriani *et al.*, 2020). Hasil penelitian Andriani dan Murtisiwi (2020) melaporkan bahwa ekstrak etanol bunga telang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat

yaitu sebesar 41,36  $\mu\text{g/mL}$  yang berpotensi dikembangkan sebagai salah satu sumber antioksidan alami.

## 2.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam golongan senyawa fenolik. Senyawa flavonoid merupakan senyawa terbesar yang ditemukan di alam yang terkandung dalam berbagai bagian tanaman baik di daun, bunga, buah, kayu, akar, kulit dan batang tanaman. Saat ini, lebih dari 9000 flavonoid telah diketahui digunakan untuk suplemen kesehatan. Senyawa flavonoid mempunyai aktivitas farmakologis sebagai antioksidan, anti-penuaan, antiinflamasi, antivirus, dan lainnya. Senyawa flavonoid berperan dalam memberikan pigmen warna kuning, merah, orange, biru, dan ungu dari buah, bunga dan daun. Selain berperan dalam memberi pigmen warna, flavonoid juga berperan dalam memberikan aroma dan rasa pada biji, bunga dan buah (Ningsih *et al.*, 2023).

Senyawa flavonoid merupakan senyawa golongan polifenol yang memiliki 15 atom karbon yang memiliki struktur dasar  $\text{C}_6\text{C}_3\text{C}_6$ , yang berarti kerangka karbonnya terdiri dari dua cincin benzena tersubstitusi (cincin A dan B) yang dihubungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (cincin C). Flavonoid merupakan senyawa turunan asam asetat atau fenilalanin dari biosintesis senyawa melalui jalur asam sikimat. Berdasarkan sifat-sifat strukturalnya flavonoid dibagi menjadi beberapa sub kelas diantaranya yaitu flavanol, flavanon, flavon, isoflavon, flavonol dan antosianidin (Arifin dan Ibrahim, 2018). Struktur dasar flavonoid dapat dilihat pada gambar 2.2



Sumber: Camara *et al.* (2021, Gambar 2.2)

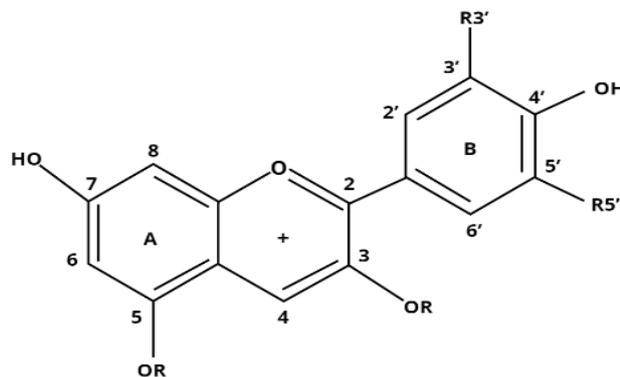
Gambar 2.2: Struktur Dasar Flavonoid

### 2.3 Antosianin

Antosianin merupakan salah satu senyawa golongan flavonoid yang tersebar luas di alam pada berbagai jenis tanaman. Antosianin berasal dari bahasa Yunani yakni, “*Anthos*” berarti bunga dan “*kyanos*” berarti biru (Renaldi dan Siampa, 2020). Antosianin merupakan pigmen warna larut dalam air yang berperan dalam memberikan pigmen warna merah, ungu dan biru yang terdapat pada tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai pigmen warna alami (Wiyono *et al.*, 2022). Senyawa ini terdapat pada berbagai bagian tumbuhan seperti bunga, buah, biji-bijian, sayuran dan umbi-umbian (Priska *et al.*, 2018). Antosianin dapat ditemukan pada buah blueberry, ceri, raspberry, kubis ungu, anggur ungu, beras hitam, dan bunga telang (Ramdan & Alviansyah, 2024).

Antosianin dan senyawa turunannya memiliki peran penting dalam industri farmasi karena memiliki berbagai aktivitas farmakologis yang bermanfaat bagi kesehatan. Adanya dampak positif bagi kesehatan manusia dan berbagai potensi aplikasinya menyebabkan kebutuhan senyawa antosianin kini semakin meningkat (Hoang *et al.*, 2023). Antosianin memiliki berbagai efek farmakologis yaitu dapat menjaga kesehatan mata, sebagai antidiabetes, antiinflamasi, menjaga sistem imun, dan mencegah agregasi trombosit (Purwaniati *et al.*, 2020). Penelitian menunjukkan bahwa senyawa antosianin juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, antitumor dan antikanker (Yue *et al.*, 2021).

Struktur antosianin tersusun atas tiga atom karbon yang diikat oleh sebuah atom oksigen untuk menghubungkan dua cincin aromatik benzena ( $C_6H_6$ ) di dalam struktur utamanya. Antosianin memiliki karakteristik kerangka karbon ( $C_6C_3C_6$ ) dengan struktur dasar 2-fenil-benzofirilium dari flavilium. Antosianin terbentuk melalui proses hidrolisis dalam reaksi esterifikasi antara antosianidin (aglikon) dan satu atau lebih glikon (gugus gula) yang berikatan secara glikosidik membentuk ester monosakarida seperti glukosa, galaktosa, ramnosa, dan pentosa. (Priska *et al.*, 2018). Adapun struktur dasar antosianin dapat dilihat pada gambar 2.3.

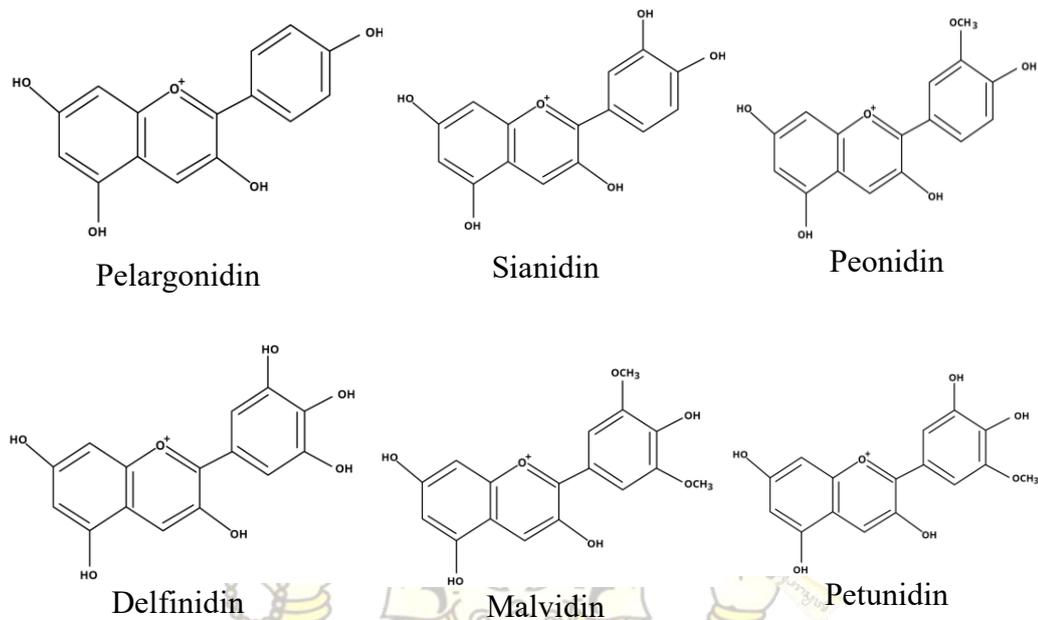


Sumber: Priska *et al.* (2018, Gambar 2.3).

Gambar 2.3: Struktur Dasar Antosianin

Secara kimia, antosianin merupakan turunan dari struktur aromatik tunggal yaitu sianidin. Struktur antosianin terdiri dari beberapa jenis yang dibedakan oleh ikatan antara gugus substitusi ( $R_3'$  dan  $R_5'$ ) dengan cincin aromatiknya (Priska *et al.*, 2018). Gugus  $R_3'$  dan  $R_5'$  adalah substituen yang terbentuk dari pigmen sianidin dengan adanya penambahan atau pengurangan gugus hidroksil, perubahan posisi hidroksil, nomor dan posisi gula yang terikat pada molekul, serta kehadiran asam alifatik (asam malonat, asetat, malat, suksinat, dan oksalat) atau asam aromatik (asam p-kumarat, kafeat, ferulat, dan galat) yang melekat pada gula tersebut. Perbedaan gugus pada antosianin dapat mempengaruhi stabilitas dan warna yang dihasilkan. Antosianin juga mengandung ikatan rangkap tak jenuh dan gugus yang mudah teroksidasi yang mengakibatkan sifatnya sangat tidak stabil (Priska *et al.*, 2018). Adapun bentuk berbagai struktur antosianin dapat dilihat pada gambar 2.4.

UNMAS DENPASAR



Sumber: Priska *et al.*, (2018, Gambar 2.4).

Gambar 2.4: Bentuk Struktur Antosianin

Antosianin memiliki sifat yang sensitif terhadap perubahan pH yang dapat mempengaruhi stabilitasnya. Pada pH rendah, sebagian besar antosianin berada dalam bentuk kation flavilium yang berwarna merah. Namun, seiring meningkatnya pH, struktur kation flavilium mengalami transformasi bertahap menjadi bentuk basa karbinol hingga akhirnya menjadi bentuk kalkon yang tidak berwarna. Selain itu, inti flavilium dalam pigmen antosianin memiliki sifat defisiensi elektron yang menjadikannya sangat reaktif dan mudah mengalami reaksi degradasi yang menyebabkan terjadinya pemudaran warna (Ramdan *et al.*, 2019). Adapun pH yang umum digunakan untuk menentukan konsentrasi antosianin yaitu berkisar antara pH 1,0-4,5 (Zhou *et al.*, 2020). Selain pH, stabilitas pigmen antosianin juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, intensitas cahaya, keberadaan oksigen, struktur kimia, pelarut, adanya kopigmen, ion logam dan enzim (Khoo *et al.*, 2017). Suhu di atas 50<sup>0</sup>C dapat mengakibatkan terjadinya degradasi yang mengakibatkan berkurangnya intensitas warna dari antosianin (Escher *et al.*, 2020).

## 2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu metode pemisahan suatu komponen dengan melarutkan bahan campuran dalam pelarut yang sesuai. Pelarut yang umum

digunakan yaitu akuades dan pelarut organik seperti kloroform, eter dan alkohol (Santoso & Fibrianto, 2017). Pemilihan pelarut yang tepat merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Pelarut yang tepat mampu meningkatkan efektivitas ekstraksi dengan mempertimbangkan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut karena adanya kontak langsung yang cukup lama dengan sampel (Santoso & Fibrianto, 2017). Prinsip ekstraksi yaitu melarutkan senyawa polar dengan pelarut polar dan senyawa non polar dengan pelarut non polar (*like dissolves like*). Proses ekstraksi diawali dengan pencampuran bahan dengan pelarut, kemudian terjadi kontak antara bahan dengan pelarut sehingga terjadi difusi antara bahan dan pelarut. Proses ekstraksi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti ukuran partikel, waktu ekstraksi, jenis pelarut dan metode ekstraksi (Elkana *et al.*, 2020).

Secara umum, metode ekstraksi dibedakan berdasarkan ada atau tidaknya proses pemanasan, dimana metode ekstraksi dapat dibagi menjadi dua yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas. Metode ekstraksi cara dingin diantaranya yaitu ekstraksi maserasi dan perkolasi. Sedangkan, metode ekstraksi cara panas diantaranya yaitu reflux, soxhlet, ultrasonik, infusa dan dekokta. Pemilihan metode ekstraksi bergantung pada sifat bahan atau senyawa yang akan diisolasi. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling umum digunakan untuk mengekstraksi berbagai bahan dan senyawa. Ekstraksi maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut selama beberapa jam yang dilakukan tanpa adanya proses pemanasan. Metode maserasi dipilih karena proses dan alat yang digunakan sederhana dan cocok digunakan untuk mengekstraksi senyawa bioaktif pada bunga telang karena dapat mengurangi kerusakan senyawa antosianin pada bunga telang yang bersifat termolabil (Yurisna *et al.*, 2022).

## **2.5 Pelarut Ekstraksi**

Pelarut ekstraksi adalah zat yang digunakan untuk melarutkan komponen kimia tertentu dengan mempertimbangkan kesesuaian polaritasnya dengan senyawa target sehingga komponen tersebut dapat dipisahkan dan dimurnikan.

Perbedaan polaritas pelarut dalam ekstraksi dapat mempengaruhi kandungan total senyawa bioaktif (Hidayah *et al.*, 2016). Menurut Agustien (2021), berdasarkan tingkat kepolarannya, pelarut ekstraksi dibagi menjadi 3 jenis yaitu:

1. Pelarut Non-polar

Pelarut yang bersifat non-polar dapat digunakan untuk melarutkan senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap. Senyawa non-polar hanya akan larut pada pelarut non-polar seperti eter, kloroform dan n-heksana.

2. Pelarut Semi-polar

Pelarut semi-polar dapat digunakan untuk ekstraksi senyawa kimia seperti fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Contoh pelarut semi-polar diantaranya yaitu, etil asetat dan aseton.

3. Pelarut Polar

Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa kimia seperti alkaloid, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino dan glikosida. Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol dan air.

Antosianin memiliki sifat hidrofilik dan polar sehingga mudah larut dalam pelarut organik yang bersifat polar seperti etanol, metanol, dan air (Priska *et al.*, 2018). Etanol dipilih sebagai pelarut karena memiliki selektivitas dan kemampuan yang lebih baik dalam melarutkan senyawa organik dibandingkan pelarut air. Pelarut etanol juga memiliki beberapa keunggulan diantaranya yaitu ekonomis, mudah diperoleh dan memiliki toksisitas yang rendah dibandingkan dengan metanol (Herman *et al.*, 2020). Suatu senyawa akan semakin larut dalam pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang sama (Silaturahmi *et al.*, 2021). Oleh karena itu, semakin polar pelarut etanol maka semakin banyak kadar antosianin yang terekstraksi karena antosianin bersifat polar (Surianti *et al.*, 2019).

Konsentrasi etanol memungkinkan penyesuaian proses ekstraksi untuk mengoptimalkan selektivitas dan kemurnian senyawa yang diinginkan. Pada penelitian ini etanol dengan konsentrasi (50,70 dan 96%) digunakan untuk mengoptimalkan hasil ekstraksi antosianin. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi pelarut dapat mempengaruhi hasil ekstraksi. Berdasarkan

penelitian Agustin dan Ismiyati (2015), menunjukkan bahwa ekstraksi antosianin dari kelopak bunga kembang sepatu dengan pelarut etanol 96% memberikan hasil yang lebih optimal dibandingkan dengan pelarut etanol 60,70 dan 80%. Sementara hasil yang berbeda dilaporkan oleh Le *et al.*, (2019), dimana dalam penelitiannya dengan variasi pelarut diketahui bahwa pelarut etanol 50% merupakan kondisi paling optimum dalam memperoleh konsentrasi antosianin total yang paling maksimal. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa penggunaan pelarut etanol dengan berbagai konsentrasi dapat memberikan hasil yang berbeda-beda dalam proses maserasi. Perbedaan hasil juga dipengaruhi oleh jenis bahan alami yang diekstraksi dan senyawa target yang diinginkan (Herman *et al.*, 2020).

## 2.6 Adsorben

Adsorben merupakan zat padat yang memiliki kemampuan untuk menyerap komponen tertentu dari suatu fase pada permukaannya melalui proses yang disebut dengan adsorpsi. Adsorpsi terjadi ketika molekul atau ion dari fase gas atau cair menempel pada permukaan padatan. Sebagian besar adsorben mempunyai struktur berpori dan proses adsorpsi terjadi di permukaan pori atau di area dalam partikel tersebut (Rahmi & Sajidah, 2017). Luas permukaan yang besar memungkinkan adsorben untuk menangkap lebih banyak molekul adsorbat pada permukaannya sehingga meningkatkan efektivitas adsorpsi. Ukuran dan distribusi pori juga berpengaruh terhadap proses adsorpsi untuk mengetahui seberapa baik adsorben dapat menyerap molekul dengan ukuran yang berbeda. Proses adsorpsi terjadi karena adanya perbedaan massa molekul atau polaritas yang mengakibatkan sebagian molekul menempel lebih kuat pada permukaan adsorben dibandingkan molekul lainnya (Setiorini & Agusdin, 2018).

Berdasarkan sumbernya, adsorben umumnya dibagi menjadi dua yaitu adsorben alami dan adsorben buatan (Soonmin, 2022). Adsorben alami atau sering disebut biosorben adalah adsorben yang berasal dari bahan-bahan biologis, seperti zeolit, tanah liat dan arang aktif. Adsorben alami memiliki keunggulan diantaranya ramah lingkungan, biaya rendah dan ketersediaan melimpah (Rahmi & Sajidah, 2017). Adsorben buatan adalah adsorben yang diperoleh dari proses sintesis atau

dikembangkan di laboratorium untuk memenuhi kebutuhan adsorpsi yang lebih spesifik. Keunggulan dari adsorben buatan adalah memiliki stabilitas yang tinggi, kapasitas adsorpsi yang besar dan memiliki selektivitas yang tinggi sehingga dapat menargetkan molekul tertentu dengan lebih efisien dibandingkan adsorben alami. Namun, adsorben ini cenderung lebih mahal dan membutuhkan proses produksi yang kompleks. Contoh adsorben buatan diantaranya yaitu karbon aktif, silika gel dan resin makropori (Setiorini & Agusdin, 2018).

Pemilihan adsorben bergantung pada sifat fisikokimia dari adsorbat dan kebutuhan spesifik proses adsorpsi. Resin makropori merupakan adsorben yang efisien digunakan untuk memisahkan komponen bioaktif dari ekstrak tanaman karena memiliki selektivitas adsorpsi yang lebih tinggi dan desorpsi yang lebih mudah. Proses pemisahan dengan adsorben resin makropori melibatkan dua proses yaitu adsorpsi dan desorpsi. Adsorpsi adalah proses penyerapan adsorbat (ke permukaan adsorben (Setiorini & Agusdin, 2018). Desorpsi adalah proses kebalikan dari adsorpsi. Desorpsi merupakan proses pelepasan adsorbat dari adsorben. Pada desorpsi terjadi pelepasan molekul, ion, dan sebagainya dari permukaan zat padat (Suryadi *et al.*, 2021).

Resin makropori sebagai adsorben memiliki kemampuan mengadsorpsi suatu senyawa melalui interaksi  $\pi$ - $\pi$  (stacking) dan ikatan van der Waals antara cincin aromatik polifenol dan matriks polimer adsorben. Selain itu adanya perbedaan afinitas dalam larutan dengan resin menyebabkan suatu zat dapat teradsorpsi ke dalam pori resin (Pismenskaya *et al.*, 2020). Sementara pada proses desorpsi untuk mengeluarkan senyawa dari resin dapat ditambahkan pelarut untuk melepaskan adsorbat dari adsorben. Pada penelitian ini, pelarut yang digunakan untuk mendesorpsi senyawa antosianin dari resin makropori adalah etanol. Etanol dapat mendesorpsi antosianin dari resin makropori karena adanya gaya hidrofobik dan perbedaan polaritas antara etanol dan antosianin lebih tinggi daripada afinitas antosianin dan resin (Xianzhe *et al.*, 2015).

Penggunaan resin makropori hingga kini telah berhasil digunakan untuk pemisahan dan pemurnian senyawa fitokimia seperti saponin, paclitaxel, isoflavon, antosianin dan levan dari tanaman (Yang *et al.* 2015). Resin makropori terdiri dari

beberapa jenis diantaranya yaitu D101, DM21, DM28, HP-20, HPD100, X-5, AB-8, HPD400, NKA-9, S-8 dan HPD600. Banyaknya jenis dan bahan serta struktur sintetisnya menyebabkan resin makropori memiliki sifat adsorpsi yang berbeda-beda (Zhou *et al.*, 2024).

## 2.7 Resin Makropori AB-8

Resin makropori AB-8 merupakan resin yang bersifat polar lemah, memiliki luas permukaan 480-520 (m<sup>2</sup>/g), diameter partikel 0,3-1,2 nm dan rata-rata diameter pori 12-14 nm. Resin makropori AB-8 memiliki matriks penyusun berupa hasil polimerisasi stirena dengan divinilbenzena. Resin makropori ini memiliki permukaan yang bersifat hidrofobik dan hidrofilik, sehingga dapat mengadsorpsi senyawa polar maupun non polar. Mekanisme adsorpsi resin ini melibatkan pembentukan ikatan hidrogen dan gaya van der waals (Zhou *et al.*, 2024). Molekul target diadsorpsi ke dalam pori-pori resin melalui sifat hidrofobiknya dan berinteraksi dengan situs adsorpsi sehingga memungkinkan proses pemisahan, pemurnian dan penghilangan pengotor dari senyawa lainnya. Proses adsorpsi dan desorpsi pada resin makropori terjadi melalui proses menempelnya senyawa target ke permukaan resin, kemudian senyawa target dielusi dari resin menggunakan sejumlah kecil pelarut organik, sehingga resin dapat digunakan kembali. Dengan demikian, resin makropori AB-8 merupakan teknik pemisahan senyawa yang efisien karena sederhana, memiliki selektivitas adsorpsi yang tinggi dan dapat digunakan secara berulang, serta memiliki potensi penggunaan pada skala industri yang besar (Yang *et al.* 2015). Gambar resin makropori AB-8 dapat dilihat pada gambar 2.5.



Sumber: Data Pribadi (2024, Gambar 2.5)

Gambar 2.5: Resin Makropori AB-8

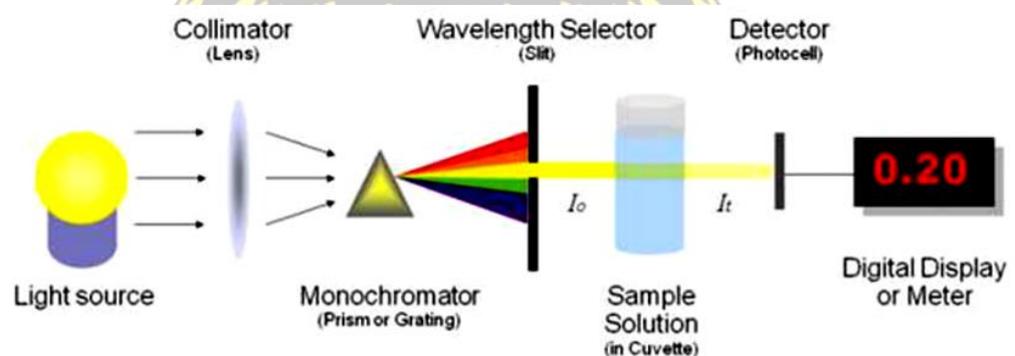
Penggunaan resin makropori AB-8 ini telah digunakan untuk pemurnian antosianin dalam penelitian yang dilakukan oleh Yang *et al.* (2015) pada ekstrak raspberi merah (*Rubus idaeus* L.), Chen *et al.* (2016) pada ekstrak buah mulberi (*Morus alba* L.) dan Liu *et al.* (2021) pada ekstrak blueberry (*Vaccinium* spp.). Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa resin makropori AB-8 efektif dalam pemisahan dan pemurnian senyawa dari tanaman. Penelitian yang dilakukan oleh Hamed *et al.* (2019) melaporkan bahwa resin makropori AB-8 merupakan resin yang paling cocok digunakan untuk pemurnian senyawa flavonoid dari ekstrak etanol daun kelor karena memiliki kemampuan adsorpsi dan desorpsi yang paling tinggi dibandingkan resin lainnya yaitu D130, D101, S-8 dan NAKII. Penelitian Xue *et al.* (2019) juga menyatakan bahwa resin makropori AB-8 memiliki rasio adsorpsi dan desorpsi tertinggi dibandingkan dengan beberapa jenis resin lainnya, yaitu sebesar 97,73% dan 81,52%.

## 2.8 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan teknik analisis yang digunakan untuk mengukur absorbansi atau serapan cahaya yang dilewatkan pada sampel larutan dalam rentang panjang gelombang tertentu dengan alat yang digunakan yaitu spektrofotometer. Spektrofotometer adalah alat yang akan menghasilkan cahaya pada panjang gelombang tertentu, sedangkan fotometer adalah alat untuk mengukur intensitas cahaya yang diserap. Keuntungan dari metode ini yaitu sederhana dan dapat digunakan untuk menetapkan kuantitas zat yang kecil, hasil yang diperoleh

cukup akurat, angka yang terbaca langsung dicatat oleh detektor dan ditampilkan dalam bentuk angka digital atau grafik yang sudah diregresikan (Mubarok, 2021). Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengukur penyerapan cahaya berdasarkan panjang gelombang pada daerah ultraviolet (180-380 nm) dan pada daerah visible (380-780 nm) (Ahriani *et al.*, 2021).

Prinsip dasar spektrofotometri UV-Vis yaitu berdasarkan pada penyerapan sinar ultraviolet (UV) dan sinar tampak (Visible) oleh suatu molekul yang mengakibatkan terjadinya eksitasi molekul dari tingkat energi rendah ke tingkat energi lebih tinggi (Abriyani *et al.*, 2023). Prinsip kerja spektrofotometer diawali dengan cahaya yang berasal dari sumber cahaya akan diteruskan melalui lensa menuju ke monokromator, kemudian cahaya yang awalnya polikromatis diubah menjadi cahaya monokromatis (tunggal) (Mubarok, 2021). Jika cahaya monokromatik melewati suatu senyawa maka sebagian cahaya akan diserap, sebagian akan dipantulkan dan sebagian lagi akan dipancarkan (Ahriani *et al.*, 2021). Cahaya yang dilewatkan kemudian diterima oleh detektor dan dihitung untuk mengetahui cahaya yang diserap oleh sampel. Berdasarkan hukum Lambert-Beer, nilai absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi zat yang terkandung dalam sampel (Mubarok, 2021). Prinsip kerja spektrofotometer dapat dilihat pada gambar 2.6.



Sumber: Mubarok (2021, Gambar 2.6)

Gambar 2.6: Prinsip Kerja Spektrofotometer

Secara umum spektrofotometer dapat dibagi menjadi dua jenis yaitu *single beam* (berkas tunggal) dan *double beam* (berkas ganda).

#### 1. Single Beam

Spektrofotometer single beam disusun oleh komponen tunggal, instrument ini lebih murah dan pemeliharaannya lebih mudah. Pada spektrofotometer single beam diperlukan standar referensi untuk mengukur intensitas cahaya sebelum dan sesudah sampel dimasukkan (Mubarok, 2021).

#### 2. Double Beam

Pada spektrofotometer double beam sumber cahaya dibagi menjadi dua berkas cahaya setelah melewati monokromator. Berkas cahaya yang satu digunakan untuk sampel dan berkas cahaya lainnya digunakan untuk referensi standar. Keuntungan spektrofotometer double beam ini yaitu pembacaan sampel dan standar dapat dilakukan secara bersamaan sehingga pengukuran menjadi independent dari variasi intensitas sumber cahaya (Mubarok, 2021).

Suatu senyawa dapat dianalisis secara kuantitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis jika memiliki gugus kromofor dan gugus auksokrom (Abriyani *et al.*, 2023). Keberadaan ikatan rangkap terkonjugasi pada gugus kromofor dalam struktur antosianin memungkinkan senyawa menyerap cahaya di daerah tampak sehingga dapat dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Priska *et al.*, 2018). Penentuan konsentrasi antosianin total dilakukan dengan mengukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dan panjang gelombang 700 nm. Pengukuran pada panjang gelombang dilakukan karena antosianin memiliki senyawa aglikon (kation flavilium) yang mengandung ikatan rangkap terkonjugasi sehingga dapat diserap pada daerah panjang gelombang maksimum berkisar 510-530 nm (Ramdan & Alviansyah, 2024).

### 2.9 Analisis Statistik

Analisis data dilakukan secara statistik untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antara perlakuan. Analisis data dilakukan dengan

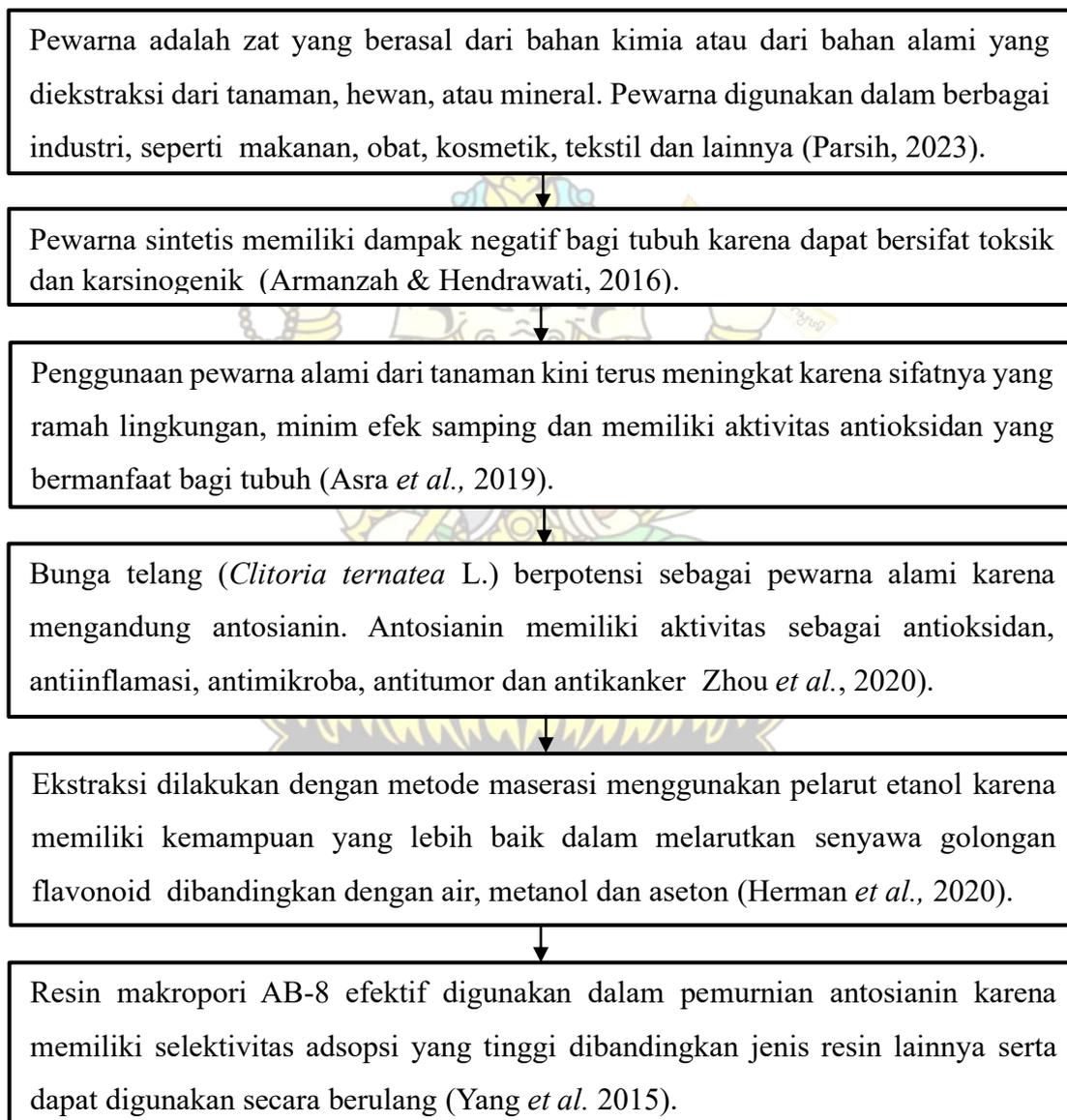
menggunakan aplikasi IBM® SPSS® versi 27 dengan taraf kepercayaan 95%. Data terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas untuk mengetahui metode analisis yang akan digunakan. Uji normalitas bertujuan untuk mengetahui data penelitian berdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas dilakukan dengan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel  $\leq 50$ . Data dinyatakan berdistribusi normal apabila nilai signifikansi ( $p$ )  $> 0,05$ . Sedangkan, jika nilai signifikansi ( $p$ )  $\leq 0,05$  maka data dinyatakan berdistribusi tidak normal. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui apakah data yang dianalisis homogen atau tidak. Uji homogenitas dapat dilakukan dengan *Levene test*. Data dinyatakan berdistribusi homogen apabila nilai signifikansi ( $p$ )  $> 0,05$ . Namun apabila nilai signifikan ( $p$ )  $\leq 0,05$  maka dikatakan bahwa *varians* dari dua atau lebih kelompok data tidak sama atau tidak homogen (Khasanah & Fitriani, 2022).

Berdasarkan hasil uji normalitas dan uji homogenitas, apabila data berdistribusi normal dan homogen maka digunakan metode statistik parametrik dengan uji *One Way Anova*. Jika nilai signifikansi dari hasil uji *One Way Anova* ( $p$ )  $\leq 0,05$  maka terdapat paling tidak 2 kelompok yang berbeda bermakna. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda bermakna maka dilakukan uji *post hoc Tukey* (Arif *et al.*, 2023). Sementara, jika data yang diperoleh tidak berdistribusi normal dan tidak homogen maka digunakan metode statistik non parametrik dengan uji *Kruskal-Wallis*. Jika nilai ( $p$ ) dari uji *Kruskal Wallis* ( $p$ )  $\leq 0,05$  maka paling tidak terdapat 2 kelompok yang berbeda bermakna sehingga perlu dilakukan uji *post hoc Mann Whitney* (Quraisy & Hasni, 2021).

## 2.10 Kerangka Konseptual

Kerangka konseptual yang terdiri dari kerangka teori dan kerangka konsep dapat dilihat pada gambar 2.7 dan gambar 2.8.

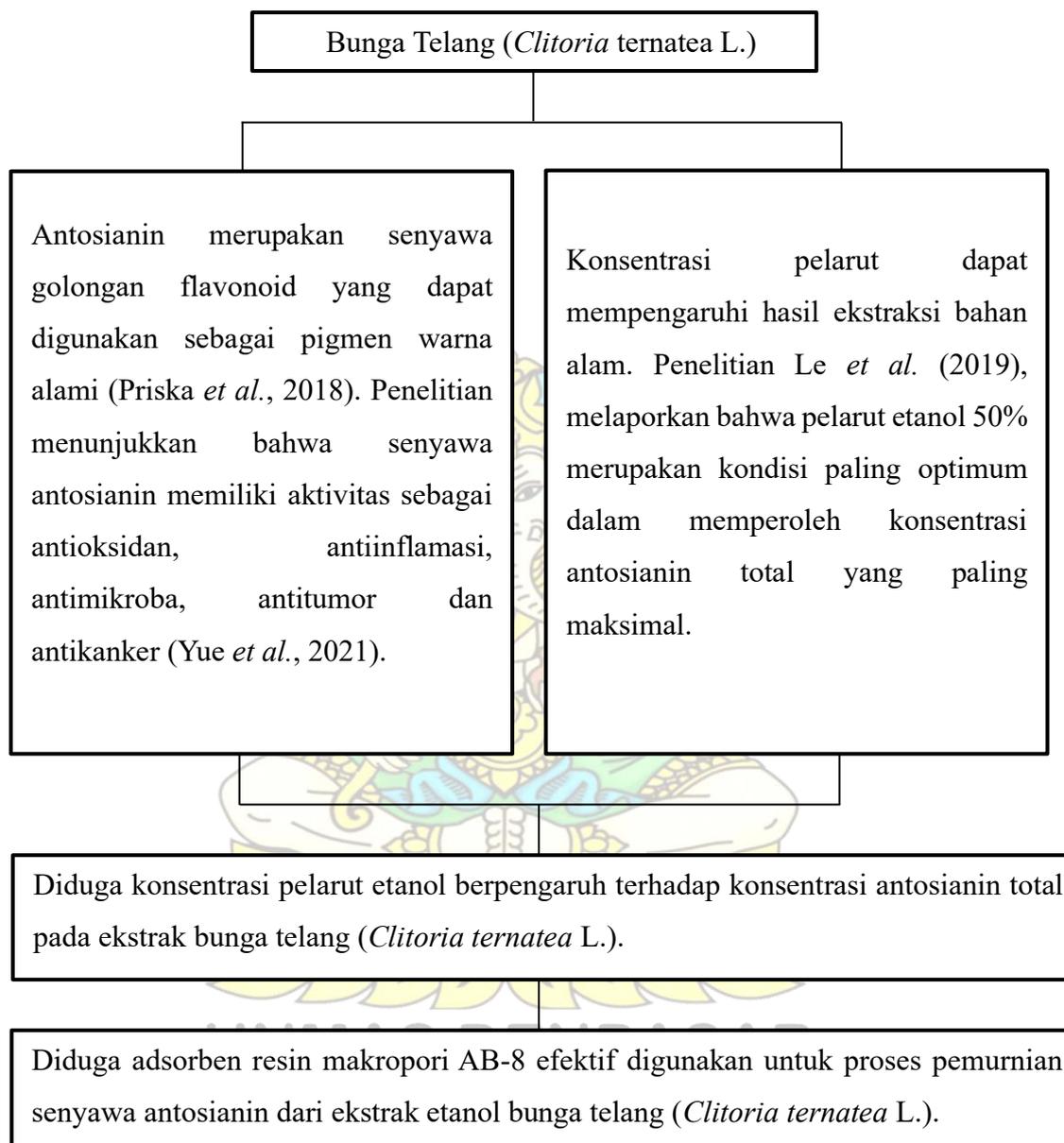
### 2.10.1 Kerangka Teori



Sumber: Data Pribadi, (2024, Gambar 2.7)

Gambar 2.7: Kerangka Teori

### 2.10.2 Kerangka Konsep



*Sumber: Data Pribadi, (2024, Gambar 2.8)*

Gambar 2.8: Kerangka Konsep

### 2.11 Hipotesis Penelitian

1. Diduga konsentrasi pelarut etanol berpengaruh terhadap konsentrasi antosianin total pada ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.).
2. Diduga adsorben resin makropori AB-8 efektif digunakan untuk proses pemurnian senyawa antosianin dari ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.).

