

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman kembang bulan

*Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Grey juga dikenal sebagai tanaman kembang bulan adalah tanaman tahunan berbentuk semak, asli Amerika utara dan tengah. Dinaturalisasi di Afrika, Australia, dan Asia, di mana ia merupakan penyerbu yang agresif. *Tithonia diversifolia* biasanya tingginya 1,2–3 m. Daunnya tersusun bergantian, berlobang (terkadang daun bagian atas tidak berlobang), dengan pangkal tipis atau melengkung, puncak lancip atau lancip, dan pinggir crenate, berukuran 5–17 × 3,5–12 cm. Kepala bunga menyendiri pada tangkai yang panjangnya 6–13 cm (Ajao & Moteetee, 2017). Seperti terlihat pada gambar berikut:

**Gambar 2.1 Daun Kembang Bulan**



Adapun taksonomi tanaman kembang bulan adalah sebagai berikut (Hutapea, 2000):

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Bangsa	: <i>Asterales</i>
Suku	: <i>Asteraceae</i>
Marga	: <i>Tithonia</i>
Jenis	: <i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsley) A. Gray

Daun memiliki stomata anomositik di kedua sisi, mesofil dorsiventral dan beberapa ikatan pembuluh kolateral yang tersusun melingkar di pelepah. Batangnya dicirikan oleh kolenkim tangensial sudut, endodermis yang mencolok dengan tutup

sklerenkim yang berdampingan dengan floem (Hasputra, 2016). Karakter titik untuk identifikasi struktur kembang bulan adalah trikoma non kelenjar dan kelenjar (kapitata dan non kapitata) pada daun, serta pelepah, dan saluran sekretorik yang letaknya sangat dekat dengan sistem vaskular. Meskipun bersifat invasif, tanaman ini telah digunakan sebagai pupuk organik untuk meningkatkan hasil tanaman sayuran dan jagung (Prawesti et al., 2017). tanaman ini secara tradisional dicari untuk memberikan bantuan bagi berbagai penyakit, ditambah dengan beberapa aktivitas fitomedisinal dan etnofarmakologis. Kembang bulan memiliki banyak manfaat bagi tanaman maupun kesehatan karena mengandung senyawa flavonoid, tanin, terpenoid dan saponin (Nurjanah et al., 2018).

### **2.1.1 Manfaat kembang bulan**

Kembang bulan sering digunakan dalam pengobatan oleh banyak kelompok etnis. Di Amerika dan Venezuela, ekstrak batang dan daunnya diminum untuk mengobati abses, hematoma, dan kram otot. Di Meksiko dan Nigeria, digunakan secara oral untuk pengobatan malaria (Dewi et al., 2018). Selain daun keringnya yang digunakan secara eksternal untuk luka di Kosta Rika, *T. diversifolia* juga populer dicari oleh beberapa kelompok etnis di India, dimana bubuk dari daun panggangnya digunakan untuk pengobatan kondisi dermatologis termasuk memar, luka, dan infeksi kulit. Kembang bulan digunakan secara oral atau untuk mencuci area yang terkena untuk pengobatan infeksi mikroba pada organ seksual, daun kembang bulan juga dapat digunakan untuk mengobati diabetes, diare, penyakit liver, sakit perut (Ajao & Moteetee, 2017).

### **2.1.2 Komposisi kembang bulan**

Umumnya organ tumbuhan seperti daun, batang, bunga, dan akarnya mengandung zat (bergizi atau non-gizi) yang dapat dimanfaatkan untuk tujuan farmakologi. Tanaman tersebut digunakan dalam pengelolaan banyak penyakit karena komponen aktif medis yang dikandungnya (Sintowati et al., 2021). Analisis fitokimia dan mineral pada daun, batang, dan akar kembang bulan mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, tanin, dan terpenoid, terdapat dalam ekstrak air dan etanol dari tiga bagian tanaman. Namun, kandungan fitokimia lebih banyak terdapat pada daun, diikuti oleh akar dan batang, kecuali fenol yang sebagian besar terdistribusi pada akar (Zirconia et al., 2015).

### **2.1.3 Daun kembang bulan**

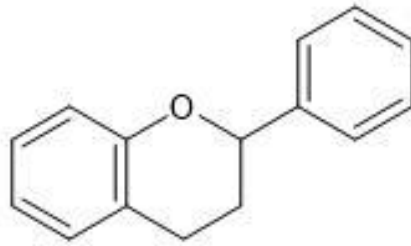
Daun kembang bulan memiliki banyak manfaat kesehatan, di berbagai negara daun kembang bulan digunakan sebagai antivirus, antidiabetes, liver, dan radang tenggorokan. Hasil skrining fitokimia dari daun kembang bulan menunjukkan bahwa ada flavonoid, glikosida, tanin, dan triterpenoid/steroid (Hasputra, 2016). Adanya kandungan dalam daun kembang bulan tersebut dapat menjadi daya penghambatan pertumbuhan *Plasmodium*. Ekstrak metanol dan kloroform daun kembang bulan memiliki aktivitas antiplasmodium. Ekstrak air dan metanol daun kembang bulan bekerja lebih baik jika diberikan sebelum infeksi mulai terjadi (Pradiningsih et al., 2018).

Senyawa flavonoid yang ada dalam daun kembang bulan merupakan kelompok fenol dengan perbedaan keelektronegatifan yang tinggi dan banyak gugus -OH sehingga bersifat polar. Golongan senyawa ini mudah terekstrak dalam pelarut aquabides yang memiliki sifat polar karena adanya gugus hidroksil, sehingga dapat terbentuk ikatan hidrogen (Azwana et al., 2019). Daun Kembang Bulan juga digunakan sebagai antidiabet karena mengandung tiga jenis senyawa seskuiterpen, 1 $\beta$ -hydroxydiversifolin-3-O-metil eter dan 1 $\beta$ -hydroxytirodun-3-O-metil eter, yang diisolasi dari bagian aerial. Kandungan yang ada dalam daun kembang bulan mampu untuk menurunkan kadar gula darah (Sulistyowati, 2015)

## **2.2 Flavonoid**

### **2.2.1 Definisi**

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder dari polifenol, yang dapat ditemukan pada seluruh tumbuhan. Flavonoid berperan untuk proses pertumbuhan dan pertahanan melawan plak. Flavonoid ditemukan pada tanaman, yang berkontribusi memproduksi pigmen berwarna kuning, merah, oranye, biru, dan warna ungu dari buah, bunga, dan daun (Arifin & Ibrahim, 2018). Bioaktif flavonoid dapat menjadi fitokimia penting dalam makanan dan memiliki manfaat biologis bagi manusia. Cara biotransformasi mikroba untuk menghasilkan flavonoid dapat menghasilkan flavonoid baru yang tidak ada di alam (Wang et al., 2018). Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung gugus C15 yang terdiri atas dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon (Azzahra et al., 2022).



**Gambar 2.2. Struktur dasar flavonoid. Sumber: Kumar and Pandey (2013)**

Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung konfigurasi C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, karbon tersebut terdiri dari dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Variasi struktur dasar ini memberikan berbagai subkelas senyawa flavonoid (Fitri & Putra, 2021). Flavonoid memiliki kerangka yang terdiri dari dua cincin aromatik A dan B, cincin tengah berupa heterosiklik yang memiliki kandungan oksigen. Pembagian sub-sub golongan flavonoid didapatkan dari bentuk oksidasi cincin, Subkelompok ini adalah: flavon, flavonol, flavanon, flavanol atau katekin, antosianin dan kalkon (Suwanditya et al., 2020).

Flavonoid banyak terdapat dalam makanan nabati dan produk kesehatan alami, serta mempunyai berbagai macam pengaruh terhadap jenis-jenis organisme dan dapat digunakan sebagai pengobatan tradisional (Amoussa et al., 2015). Flavonoid pada tanaman berguna untuk pemeliharaan terhadap kondisi tekanan dari lingkungan, pengatur pertumbuhan tanaman, pemeliharaan dari sinar radiasi ultraviolet dan daya tarik terhadap penyerbuk serangga, jamur, virus, dan bakteri (Alfaridz & Amalia, 2018). Selain sebagai pengendali hormon dan enzim inhibitor, flavonoid juga berperan dalam filtrasi UV, fiksasi simbiosis dan pigmentasi bunga, sebagai pengatur fisiologis internal atau pembawa pesan kimiawi di dalam tubuh tanaman (Khoirunnisa & Sumiwi, 2019).

### **2.2.2 Struktur flavonoid**

Flavonoid dapat dibedakan kedalam kelompok tergantung dari struktur karbon pada gugus aromatik sentral (Wang et al., 2018). Subkelompok flavonoid dapat dibedakan sebagai berikut

1. Flavon

Seringkali, flavonoid dalam bentuk glikosida ditemukan pada daun, buah, dan bunga. Senyawa flavon termasuk baicalin, apigenin, luteolin, luteolin-7-glukosida, dan akatekin (Liga et al., 2023). Struktur flavon sendiri terdiri dari ikatan rangkap antara posisi 2 dan 3, serta keton pada posisi 4. Sebagian besar flavon memiliki gugus hidroksil pada posisi 5. Seledri, kamomil, daun mint, dan ginkgo biloba adalah beberapa tanaman yang banyak mengandung flavon (Ekalu & Habila, 2020).

## 2. Flavonol

Salah satu flavonoid yang memiliki gugus keton adalah flavonol. Kuersetin, mirisetin, fisetin, galangin, morin, rutin, dan robinetin adalah flavonol. Untuk membedakan flavonol dari flavon, ada gugus di posisi 3 cincin C, yang memungkinkan glikosilasi terjadi (Marzouk, 2016). Flavonol memiliki sifat antioksidan. Karena ikatan rangkap konjugasi pada nomor 2 dan 3 memiliki kemampuan untuk memindahkan elektron dari cincin B ke radikal bebas dan memecah radikal bebas, gugus aromatic cincin B bertanggung jawab atas aktivitas flavonol. Tomat, apel, anggur, bawang, beri, dan tanaman lainnya banyak mengandung flavonol (Roy et al., 2022).

## 3. Flavanon

Famili Compositae, Leguminosae, dan Rutaceae memiliki flavonoid yang paling umum. Komponen ini dapat ditemukan pada akar, batang, bunga, buah, biji, dan rizoma. Senyawa flavanol termasuk naringin, naringenin, ponkiretin, pinocembrin, dan lonchocarpol A (Brodowska, 2017). Ciri khas flavanol adalah cincin C saturasi dengan ikatan rangkap di antara posisi 2 dan 3. Ciri ini membedakannya dengan flavon. Flavanon berasal dari tanaman seperti jeruk, anggur, dan lemon (Panche et al., 2016). Flavanone memiliki fungsi farmakologi sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Sebagai antioksidan, flavanone menghambat pembentukan sitokin pro-inflamasi pada makrofaga, mengurangi produksi nitrat dan nitrit, yang merupakan indikator proses inflamasi (Alfaridz & Amalia, 2018).

## 4. Flavanol

Flavanol, juga disebut katekin, adalah derivat dari flavanone yang menambah gugus hidroksi. Tidak memiliki ikatan rangkap pada posisi 2 dan 3

dan memiliki gugus hidroksi yang selalu menempel di posisi 3 pada cincin C (Zuraida et al., 2017). Flavanol banyak ditemukan pada tumbuhan seperti teh, kiwi, apel, kakao, dan anggur merah. Sebagian besar senyawa flavanol, termasuk katekin, epikatekin, dan galokatekin, dapat dibagi menjadi turunan yang lebih kompleks, meningkatkan dilatasi pembuluh darah dengan meningkatkan kadar nitrit oksida dalam darah perokok dengan dosis 176-185 mg (Wahyulianingsih et al., 2016).

#### 5. Antosianidin

Ini adalah pigmen yang bertanggung jawab atas warna tanaman. Antosianidin ini dapat ditemukan pada berbagai jenis makanan, antara lain coklat, sereal, kacang-kacangan, madu, teh, dan buah beri (Brodowska, 2017). Antosianidin yang paling umum adalah aglikon dengan struktur dasar flavylum. Cyanidin, pelargonidin, delphinidin, malvidin, petunidin, dan peonidin adalah bahan kimia yang paling sering terdeteksi. Aktivitas farmakologi antosianidin sangat penting dalam penyakit kardiovaskular karena menekan ekspresi VEGF sekaligus mengaktifkan protein kinase mitogen p38 dan kinase *c-Jun N-terminal* (JNK) (Ekalu & Habila, 2020).

#### 6. Kalkon

Ini adalah satu-satunya flavonoid karena tidak memiliki cincin aromatik C, yang berfungsi sebagai fondasi kerangka flavonoid. Phloridzin, arbutin, phloretin, dan chlorconaringenin adalah contoh bahan kimia kalkon (Panche et al., 2016). Aktivitas farmakologisnya sebagai modulator genesis steroid untuk enzim 3-hidroksisteroid dehidrogenase (HSD) dan 17-HSD. Kalkon umumnya ditemukan pada tanaman seperti tomat, stroberi, pir, beri, dan gandum (Roy et al., 2022).

### 2.2.3 Manfaat flavonoid bagi aktivitas farmakologis

Flavonoid adalah senyawa organik alami yang ada pada tumbuhan secara umum yang bermanfaat bagi aktivitas farmakologis (Alfaridz & Amalia, 2018). Berikut beberapa manfaat flavonoid bagi aktivitas farmakologis:

#### 1. Antiinflamasi

Senyawa anti-inflamasi mampu berperan dalam menghambat pembentukan mediator prostaglandin, menghambat migrasi sel leukosit ke area

inflamasi dan menghambat pelepasan prostaglandin yang berada di dalam sel (Waruwu et al., 2023). Saat membran sel rusak atau terjadi disfungsi pada rangsangan kimiawi, fisik maupun mekanis akan menyebabkan inflamasi. Enzim fosfolipida yang ada dalam membran sel menjadi asam arakhidonat lalu di ubah oleh enzim siklooksigenase (COX 1) menjadi asam endoperoksida dan seterusnya prostaglandin. Pada arakidonat diubah oleh enzim siklooksigenase menjadi leukotrin yang berperan sebagai inflamasi (Djuwarno et al., 2022). Penelitian oleh (Latief et al., 2021) menemukan bahwa senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak etanol daun sungkai mampu menghambat aktivitas siklooksigenase dan lipooksigenase asam arakidonat, sehingga mampu menghambat sintesis prostaglandin dan leukotriene.

## 2. Antioksidan

Karena kemampuan mereka untuk memecahkan radikal bebas, flavonoid berhubungan erat dengan antioksidan. Flavonoid memiliki tiga cara untuk mencegah radikal bebas: mereka memperlambat pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS), menghancurkan ROS, dan mengontrol dan melindungi dengan antioksidan (Zuraida et al., 2017). Selain itu, flavonoid merangsang enzim antioksidan internal, menghalangi enzim yang berhubungan dengan pembentukan radikal bebas, dan mengikat logam. Sebagian besar orang percaya bahwa gugus hidroksi cincin B memainkan peran penting dalam pemecahan ROS (Dewi et al., 2018).

Kuersetin, kaempferol, myricetin, apigenin, luteolin, vixetin, dan isovixetin adalah beberapa jenis flavonoid yang sering ditemukan di sayur-sayuran, buah-buahan, dan sereal, dan memiliki potensi untuk berfungsi sebagai antioksidan (Arifin & Ibrahim, 2018). Pada penelitian yang dilakukan (Bakti et al., 2017) menemukan bahwa semua flavonoid yang ditemukan pada daun *kasturi* (*Magnifera casturi Kosterm*) termasuk dalam kategori antioksidan yang sangat aktif dan memiliki aktivitas antioksidan metode DPPH dengan nilai IC50 sebesar 34,558 ppm.

## 3. Antihipertensi

Senyawa flavonoid kuersetin memiliki dampak pada sistem kardiovaskular, terutama hipertensi. Salah satu jenis flavonoid dari kelompok

flavonol ini telah banyak dipelajari dan diidentifikasi memiliki kemampuan untuk mengurangi stres oksidatif, yaitu dengan menghentikan aktivitas angiotensin converting enzim (ACE) (Suwanditya et al., 2020). Salah satu faktor yang menyebabkan hipertensi adalah angiotensin II, yang dihasilkan oleh angiotensin II yang menyempit pembuluh darah, yang dapat meningkatkan tekanan darah. Sebaliknya, ACE inhibitor melebar pembuluh darah, memungkinkan darah lebih banyak mengalir ke jantung, yang menghasilkan penurunan tekanan darah (Irawati, 2015). Menurut penelitian yang dilakukan (Nadila, 2014) Senyawa flavonoid yang terkandung pada labu siam memiliki efek hipotensi dengan mekanisme menghambat aktivitas ACE, serta sebagai diuretik.

#### 4. Antidiabetes

Kuersetin, salah satu jenis flavonoid kelompok flavonol, memiliki kemampuan untuk menghambat GLUT 2 dalam mukosa usus, yang mengakibatkan penurunan absorpsi glukosa. Akibatnya, penyerapan glukosa dan fruktosa dari usus berkurang, yang pada gilirannya mengakibatkan penurunan kadar glukosa darah (Azzahra et al., 2022). Pada kondisi normal, GLUT 2 adalah transporter mayor glukosa di usus. Tertelannya Kuersetin dengan glukosa menyebabkan hiperglikemia secara signifikan menurun. Ini menunjukkan bahwa Kuersetin dapat menghentikan penyerapan glukosa melalui GLUT 2 (Muin, 2019). Menurut penelitian oleh (Sintowati et al., 2021) kandungan yang flavonoid, polifenol dan saponin yang terkandung dalam tanaman kembang bulan mampu meregenerasi pankreas untuk meningkatkan sel beta pankreas untuk sekresi insulin meningkat, yang akan membantu penurunan kadar glukosa darah.

### 2.3 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi adalah proses penarikan bahan kimia yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik bahan kimia yang terdapat pada bahan tersebut (Winahyu et al., 2019). Prinsip perpindahan masa-komponen zat padat ke dalam pelarut adalah dasar ekstraksi. Perpindahan dimulai pada lapisan antarmuka dan kemudian berdifusi ke



dalam pelarut (Aminah et al., 2017). Terdapat banyak metode ekstraksi, salah satu metode yang paling umum digunakan adalah metode maserasi.

Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (like dissolved like). Ekstraksi zat aktif dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Pelarut yang digunakan, akan menembus dinding sel dan kemudian masuk ke dalam sel tanaman yang penuh dengan zat aktif. Pertemuan antara zat aktif dan pelarut akan mengakibatkan terjadinya proses pelarutan dimana zat aktif akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang berada di dalam sel mengandung zat aktif sementara pelarut yang berada di luar sel belum terisi zat aktif, sehingga terjadi ketidakseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dengan konsentrasi zat aktif yang berada di luar sel. Perbedaan konsentrasi ini akan mengakibatkan terjadinya proses difusi, dimana larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar sel dan digantikan oleh pelarut dengan konsentrasi rendah. Peristiwa ini terjadi berulang-ulang sampai didapat suatu kesetimbangan konsentrasi larutan antara di dalam sel dengan konsentrasi larutan di luar sel (Marjoni, 2016).

#### **2.4 Analisis Kadar Flavonoid**

Analisis flavonoid pada ekstrak daun tanaman dapat dilakukan dengan menggunakan spektroskopi inframerah dan kemometrik. Teknik kemometrik memudahkan analisis data yang dihasilkan oleh spektrum inframerah, sedangkan metode spektroskopi inframerah bergantung pada vibrasi atom pada molekul (Fangohoy et al., 2019).

Flavonoid terdiri dari banyak golongan, tiap golongan hanya berbeda pada jenis molekul pada cabang atom C3, dan mereka menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis. Flavonoid yang bersifat polar juga dapat menyerap gelombang radiasi pada daerah UV-Vis. Oleh karena itu, untuk melakukan uji kualitatif flavonoid, spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan (Winahyu et al., 2019). Spektrum serapan dan serapan ultra violet tampaknya merupakan metode tunggal yang paling efektif untuk menentukan struktur flavonoid. Selain itu, metode ini dapat digunakan untuk melakukan uji kuantitatif untuk mengetahui berapa banyak flavonoid yang terdapat dalam ekstrak metanol. Ini dilakukan dengan

menggunakan spektrofotometer UV-Vis, atau dengan mengukur nilai absorbansinya (Hamka, 2013).

Pada penelitian yang dilakukan (Zirconia et al., 2015) senyawa flavonoid pada daun kembang bulan diekstraksi menggunakan metode maserasi. Ekstrak yang didapat dilakukan uji fitokimia dilanjutkan pemisahan senyawa flavonoid menggunakan kromatografi lapis tipis dan identifikasi menggunakan metode pereaksi geser.

Menurut Ahriani et al., (2021), pada penentuan kadar flavonoid maka menggunakan persamaan regresi dari kurva standar antara absorbansi banding konsentrasi. Persamaan regresi secara sistematis dapat dituliskan:

$$y = mC + n \quad (1)$$

Selanjutnya nilai absorbansi disubstitusikan ke dalam persamaan regresi sebagai (y). Sehingga untuk menentukan kadar flavonoid pada sampel herbal dapat digunakan persamaan:

$$\text{kadar flavonoid} = \frac{CV}{M} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan:

y = Nilai absorbansi

m = Kelandaian kurva garis lurus

n = Perpotongan kurva dengan ordinat

C = Konsentrasi ekstrak sampel (mg/L) V = Volume ekstrak sampel (L)

M = Massa ekstrak (mg)

## **2.5 Spektrofotometer UV-VIS**

### **2.5.1 Pengertian Spektrofotometer UV-VIS**

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmitan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrofotometer sesuai dengan namanya merupakan alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi (Suarsa, 2015). Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi cahaya secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Suatu

spektrofotometer tersusun dari sumber spektrum sinar tampak yang sinambung dan monokromatis. Sel pengabsorpsi untuk mengukur perbedaan absorpsi antara cuplikan dengan blanko ataupun pembanding.

Berdasarkan sistem optiknya terdapat 2 jenis spektrofotometer, yaitu Spektrofotometer *single beam* (berkas tunggal) dan spektrofotometer *double beam* (berkas ganda) (Suhartati, 2017). Pada spektrofotometer single beam hanya terdapat satu berkas sinar yang dilewatkan melalui kuvet. Blanko, larutan standar dan contoh diperiksa secara bergantian. Sedangkan pada spektrofotometer double beam sinar dari sumber cahaya dibagi menjadi dua berkas oleh cermin yang berputar. Berkas pertama melalui kuvet berisi blanko dan berkas kedua melalui kuvet berisi standar atau contoh (Price & Wilson, 2005).

Spektroskopi ultraviolet-visible (UV-Vis) adalah teknik lain yang digunakan untuk melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif suatu sampel menggunakan sumber cahaya pada rentang panjang gelombang ultraviolet 200–400 nm hingga rentang panjang gelombang tampak 400–700 nm (Thambiratnam et al., 2020). Teknik ini didasarkan pada prinsip transisi elektronik dalam molekul atau atom, yang disebabkan oleh penyerapan cahaya di area spektrum elektromagnetik yang terlihat di bawah eksitasi elektron dari keadaan dasar ke orbital yang lebih tinggi (Mallakpour & Azimi, 2020). Dengan demikian, elektron  $\pi$  atau molekul elektron tak terikat (n-elektron) dapat menyerap energi dalam bentuk gelombang UV-Vis untuk mengeksitasi elektron tersebut ke orbital molekul anti-ikatan yang lebih tinggi (Oluwafemi et al., 2021). Semakin mudah elektron tereksitasi maka semakin panjang panjang gelombang cahaya yang dapat diserap. Puncak karakteristik pada spektrum UV-Vis merupakan representasi ikatan energi pada sampel (Thambiratnam et al., 2020). Adanya konjugasi dan delokalisasi secara signifikan mempengaruhi panjang gelombang puncak karakteristik spektrum UV-Vis.

### **2.5.2 Prinsip UV-Vis**

Pada prinsipnya spektroskopi UV-Vis menggunakan cahaya sebagai tenaga yang mempengaruhi substansi senyawa kimia sehingga menimbulkan cahaya. Cahaya yang digunakan merupakan foton yang bergetar dan menjalar secara lurus dan merupakan tenaga listrik dan magnet yang keduanya saling tegak lurus

(Kartawijaya, 2013). Tenaga foton bila mempengaruhi senyawa kimia, maka akan menimbulkan tanggapan (respon), sedangkan respon yang timbul untuk senyawa organik ini hanya respon fisika atau Physical event. Tetapi bila sampai menguraikan senyawa kimia maka dapat terjadi peruraian senyawa tersebut menjadi molekul yang lebih kecil atau hanya menjadi radikal yang dinamakan peristiwa kimia atau Chemical event (Amirah, 2022).

Cara kerja alat spektrofotometer UV-Vis yaitu sinar dari sumber radiasi diteruskan menuju monokromator yang berfungsi mengubah sinar polikromatis menjadi sinar monokromatis sesuai yang dibutuhkan oleh pengukuran, Cahaya dari monokromator diarahkan terpisah melalui sampel dengan sebuah cermin berotasi, dan kemudian sampel akan menyerap cahaya tersebut atau mengalami absorbs. Dimana energi cahaya yang diserap atom/molekul tersebut digunakan untuk bereksitasi ke tingkat energi elektronik yang lebih tinggi. Absorbs hanya terjadi jika selisih kedua tingkat energi elektronik tersebut bersesuaian dengan energi cahaya (foton) yang datang yakni  $\Delta E = E_{\text{foton}}$ . Kemudian cahaya yang melewati sampel akan sampai di detector sampel secara bergantian secara berulang – ulang, Detektor yang berupa transduser yang mengubah energi cahaya menjadi suatu isyarat listrik, dan kemudian dilanjutkan ke pengganda (amplifier), dan rangkaian yang berkaitan membuat isyarat listrik itu memadai untuk dibaca. Dan akhirnya sampai di suatu sistem baca (piranti pembaca) yang memperagakan besarnya isyarat listrik, menyatakan dalam bentuk % Transmittan (% T) maupun Absorbansi (A), Sinyal listrik dari detektor diproses, diubah ke digital dan dilihat hasilnya, perhitungan dilakukan dengan komputer yang sudah terprogram (Suhartati, 2017).

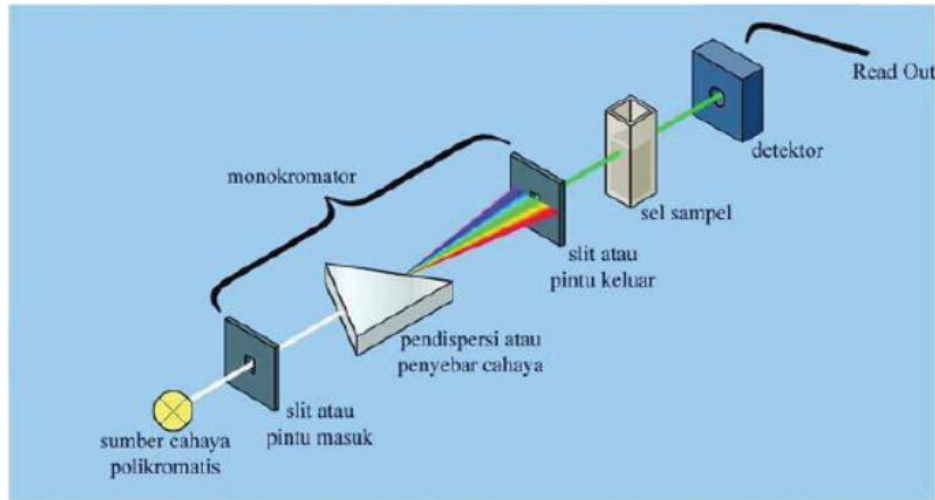
### 2.5.3 Tipe-tipe Spektrofotometer UV-Vis

Pada umumnya terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer, yaitu *single-beam* dan *double-beam*.

#### 1. *Single-Beam*

*Single-beam instrument* Gambar (1), 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. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm (Skoog et al., 1998).

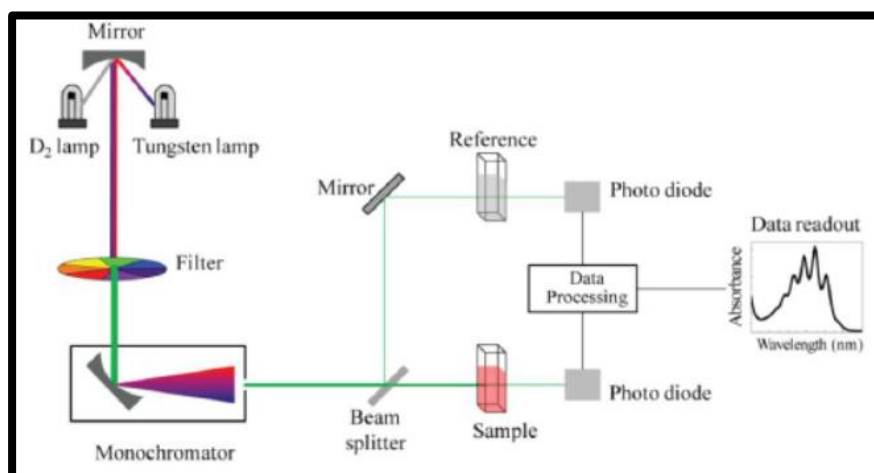


**Gambar 2.3 Diagram alat spektrometer UV-Vis (*single beam*)**

Sumber: (Suhartati, 2017)

## 2. *Double-Beam*

*Double beam* dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm. *Double-beam instrument* (Gambar 2) mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel (Skoog et al., 1998).



**Gambar 2.4 Skema spektrofotometer UV-Vis (*Double-beam*)**

Sumber: (Suhartati, 2017)

Sumber sinar polikromatis, untuk sinar UV adalah lampu deuterium, sedangkan sinar Visibel atau sinar tampak adalah lampu wolfram. Monokromator pada spektrometer UV-Vis digunakan 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.

#### **2.5.4 Komponen-Komponen Alat**

Spektrofotometer UV-Vis terdiri dari rangkaian komponen-komponen sebagai berikut (Harvey, 1957):

##### **1. Sumber Cahaya**

Sebagai sumber cahaya pada spektrofotometer, haruslah memiliki pancaran radiasi yang stabil dan intensitasnya tinggi. Sumber energi cahaya yang biasa untuk daerah tampak, ultraviolet dekat, dan inframerah dekat adalah sebuah lampu pijar dengan kawat rambut terbuat dari wolfram (tungsten). Lampu ini mirip dengan bola lampu pijar biasa, daerah panjang gelombang ( $\lambda$ ) adalah 350 – 2200 nanometer (nm).

Di bawah kira-kira 350 nm, keluaran lampu wolfram itu tidak memadai untuk spektrofotometer dan harus digunakan sumber yang berbeda. Paling lazim adalah lampu tabung tidak bermuatan (discas) hidrogen (atau deuterium) 175 ke 375 atau 400 nm. Lampu hidrogen atau lampu deuterium digunakan untuk sumber pada daerah ultraviolet (UV). Kebaikan lampu wolfram adalah energi radiasi yang dibebaskan tidak bervariasi pada berbagai panjang gelombang. Sumber cahaya untuk spektrofotometer inframerah, sekitar 2 ke 15 m m menggunakan pemijar Nernst (Nernst glower).

##### **2. Pengatur Intensitas**

Berfungsi untuk mengatur intensitas sinar yang dihasilkan oleh sumber cahaya agar sinar yang masuk tetap konstan.

##### **3. Monokromator**

Monokromator digunakan untuk mendispersikan sinar ke dalam komponen-komponen panjang gelombangnya yang selanjutnya akan dipilih

celah (slit). Monokromator berputar sedemikian rupa sehingga kisaran panjang gelombang dilewatkan pada sampel sebagai scan instrumen melewati spektrum. (Syarif, 2012).

Ketelitian dari monokromator dipengaruhi juga oleh lebar celah (*slit width*). Ada 2 macam monokromator yaitu :

- Filter Optik : Lensa berwarna sehingga cahaya yang diteruskan sesuai dengan warna lensa yang dikenai cahaya, dan
- Lensa Prisma/ Grating : cahaya akan diubah menjadi spektrum cahaya.

#### 4. Kuvet

Kuvet merupakan wadah dari sampel berupa cairan yang telah diatur takarannya hingga dapat terbaca oleh spektrofotometer UV-Vis. Biasanya sampel yang digunakan adalah sampel yang berwarna yang mudah menyerap sinar yang dipancarkan oleh sumber cahaya. Pada pengukuran di daerah sinar tampak digunakan kuvet kaca dan daerah UV digunakan kuvet kuarsa. Berikut beberapa contoh dari kuvet yang ada.

#### 5. Detektor

Detektor berfungsi untuk mengubah sinyal radiasi menjadi sinyal elektronik yang kemudian ditampilkan pada read out. Prinsipnya adalah menyerap energi menjadi besaran yang dapat diukur. Adapun syarat detector adalah harus menghasilkan sinyal yang mempunyai hubungan kuantitatif dengan intensitas sinar, mempunyai kepekaan tinggi terhadap radiasi yang diterima, memiliki respon tetap pada daerah panjang gelombang pengamatan, besaran-besaran yang dihasilkan harus berbanding lurus dengan energi radiasinya elektronik harus bisa diamplifikasikan ke rekorder.