

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bahan Baku Sayuran

2.1.1 Bayam (*Amaranthus sp.*)

Merupakan tumbuhan yang biasa ditanam untuk dikonsumsi daunnya sebagai sayuran hijau. Tumbuhan ini berasal dari Amerika tropik namun sekarang tersebar ke seluruh dunia. Tumbuhan ini dikenal sebagai sayuran sumber zat besi yang penting. Bayam relatif tahan terhadap pencahayaan langsung karena merupakan tumbuhan C4. Batang berair dan kurang berkayu. Daun bertangkai, berbentuk bulat telur, lemas, berwarna hijau, merah, atau hijau keputihan. Bunga tersusun majemuk tipe tukul yang rapat, bagian bawah duduk di ketiak, bagian atas berkumpul menjadi karangan bunga di ujung tangkai dan ketiak percabangan. Bijinya berwarna hitam, kecil dan keras. Bayam sebagai sayur hanya umum dikenal di Asia Timur dan Asia Tenggara, sehingga disebut dalam bahasa Inggris sebagai *Chinese amaranth*. Di Indonesia dan Malaysia, bayam sering disalahartikan menjadi "*spinach*" dalam bahasa Inggris (mungkin sebagai akibat penerjemahan yang dalam film kartun Popeye), padahal nama itu mengacu ke jenis sayuran daun lain - lihat Bayam (*Spinacia*). Di tingkat konsumen, dikenal dua macam bayam sayur: bayam petik dan bayam cabut. Bayam petik berdaun lebar dan tumbuh tegak besar (hingga dua meter) dan daun mudanya dimakan terutama sebagai lalapan (misalnya pada pecel, gado-gado), urap, serta digoreng setelah dibalur tepung.

Kandungan besi pada bayam relatif lebih tinggi daripada sayuran daun lain (besi merupakan penyusun sitokrom, protein yang terlibat dalam fotosintesis) sehingga berguna bagi penderita anemia. Beberapa kultivar *A. tricolor* memiliki daun berwarna merah atauputih dan dipakai sebagai tanaman hias, meskipun dapat pula disayur. Jenis tanaman hias lainnya adalah *A. caudatus* karena tandan bunganya berwarna merah panjang menggantung seperti ekor. Di tempat asalnya, bayam dimanfaatkan bijinya (bayam biji) sebagai sumber karbohidrat. Daun

bayam mempunyai kandungan klorofil yang tinggi, sehingga laju fotosintesisnya juga tinggi. Selain mengandung serat, bayam juga kaya betakaroten. 1 gelas bayam yang sudah dipetik bisa memenuhi 70% kebutuhan betakaroten per hari. Betakaroten (vitamin A), ditambah vitamin C membuat bayam bersifat antioksidan yang baik. Bayam juga mengandung asam folat, zat besi, dan seng. berikut Komposisi Kimia dalam 100 gr bayam dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia dalam Bayam

Kandungan Gizi	Kadar
Energi (kkal)	36
Protein (gr)	3,5
Serat (gr)	0,8
Karbohidrat (gr)	6,5
Kalsium (mg)	276
Fosfor (mg)	67
Zat Besi (mg)	3,9
Vitamin A (IU)	6090
Vitamin B1 (mg)	0,08
Vitamin C (mg)	80

Sumber Informasi Gizi : Berbagai publikasi Kementerian Kesehatan Republik



Gambar 1. Daun Bayam

2.1.2 Kangkung (*Ipomoea aquatica* Forsk.)

Kangkung adalah tumbuhan yang termasuk jenis sayur-sayuran dan ditanam sebagai makanan. Kangkung banyak dijual di pasar-pasar. Kangkung banyak terdapat di kawasan Asia dan merupakan tumbuhan yang dapat dijumpai hampir di mana-mana terutama di kawasan berair.

Ada dua bentuk kangkung yang dijual di pasaran. Yang pertama adalah kangkung berdaun licin dan berbentuk mata panah, sepanjang 10-15 cm. Tumbuhan ini memiliki batang berongga yang menjalar dengan daun berselang dan batang yang menegak pada pangkal daun. Tumbuhan ini bewarna hijau pucat dan menghasilkan bunga bewarna putih, yang menghasilkan kantung yang mengandung empat biji benih. Jenis kedua adalah dengan daun sempit memanjang, biasanya tersusun menyirip tiga.

Kangkung memiliki kandungan klorofil yang relatif rendah yaitu setara dengan daun kemangi. Hal ini diduga klorofil pada tanaman kangkung tersebar, tidak hanya pada organ daun saja namun juga dijumpai pada bagian batang. Hal ini menyebabkan laju fotosintesis berlangsung lama karena tidak efisien dalam menangkap energi radiasi cahaya.

Kangkung mengandung zat seperti vitamin A, vitamin B1, vitamin C, protein, kalsium, fosfor, zat besi, Zat besi sangat penting untuk tubuh kita, peranannya dalam membentuk sel darah merah sangatlah vital. Lemas, pusing dan pandangan kabur adalah ciri awal anemia karena kekurangan zat besi. Pada kangkung terdapat 2,5 mg/100g, sehingga sangat baik untuk mengatasi anemia/kurang darah. Berikut komposisi kimia dalam kangkung berdasarkan penelitian 100 gr (*Food Weight*) kangkung dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Kimia dalam Kangkung

Kandungan Gizi	Kadar
Energi (kkal)	29
Protein (gr)	3
Lemak (gr)	0,3
Karbohidrat (gr)	5,4
Kalsium (mg)	73
Fosfor (mg)	50
Zat Besi (mg)	3
Vitamin A (IU)	6300
Vitamin B1 (mg)	0,07
Vitamin C (mg)	32

Sumber Informasi Gizi : Berbagai publikasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (keju.blogspot.com)



Gambar 2. Daun Kangkung

2.1.3 Katuk (*Sauropus androgynus*)

Katuk merupakan tumbuhan sayuran yang banyak terdapat di Asia Tenggara. Tumbuhan ini dalam beberapa bahasa dikenali sebagai cekur manis (bahasa Melayu) dan *rau ngót* (bahasa Vietnam). Daun katuk merupakan sayuran minor yang dikenal memiliki khasiat memperlancar aliran air susu ibu (ASI). Semak, tinggi dua sampai tiga meter, tumbuh di dataran rendah hingga 1.300 di atas permukaan laut. Daun kecil, berwarna hijau gelap dengan panjang lima

sampai enam cm. Bunganya berwarna merah gelap atau kuning dengan bercak merah gelap dan berbunga sepanjang tahun.

Tumbuhan ini termasuk dalam suku menir-meniran (*Phyllanthaceae*), dan berkerabat dengan menteng, buni, dan ceremai. Ia termasuk dalam *tribus Phyllanthaeae* dan *subtribus Flueggeinae*. Tanaman ini banyak ditanam di pekarangan karena mudah diperbanyak dan biasa dijadikan pagar hidup.

Sifat kimia daun katuk dapat dilihat dari kadar kalsium yang tinggi. Kandungan vitamin C pada daun katuk jauh lebih tinggi daripada jeruk maupun jambu biji. Terdapat tujuh senyawa aktif yang dapat merangsang produksi hormon-hormon steroid (seperti progesteron, estradiol, testosteron, glukokortikoid) dan senyawa eikosanoid (diantaranya prostaglandin, prostasiklin, tromboksan, lipoksin dan leukotrien). Sifat fisika pada klorofil daun katuk dapat dilihat pada semakin tinggi suhu pengeringan, kadar klorofil semakin tinggi dan intensitas warna semakin hijau. Berikut kandungan komposisi kimia per 100 gr daun katuk dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Kimia dalam Katuk

Kandungan Gizi	Kadar
Energi (kkal)	59
Protein (gr)	4,8
Lemak (gr)	1
Karbohidrat (gr)	11
Serat (gr)	1,5
Kalsium (mg)	04
Fosfor (mg)	83
Zat Besi (mg)	2,7
Vitamin A (SI)	10370
Vitamin B1 (mg)	0,1
Vitamin C (mg)	239

Sumber Informasi Gizi : Berbagai publikasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (keju.blogspot.com)



Gambar 3. Daun Katuk

2.2 Bahan Tambahan

2.2.1 Natrium Bikarbonat

Natrium bikarbonat adalah senyawa kimia dengan rumus NaHCO_3 . Senyawa ini termasuk kelompok garam dan telah digunakan sejak lama.

Senyawa ini disebut juga baking soda (soda kue), Sodium bikarbonat, natrium hidrogen karbonat, dan lain-lain. Senyawa ini merupakan kristal yang sering terdapat dalam bentuk serbuk. Natrium bikarbonat larut dalam air.

Senyawa ini juga digunakan sebagai obat antasid (penyakit maag atau tukak lambung). Karena bersifat alkaloid (basa), senyawa ini juga digunakan sebagai obat penetral asam bagi penderita asidosis tubulus renalis (ATR) atau rhenal tubular acidosis (RTA). Selain itu, natrium bikarbonat juga dapat dimanfaatkan untuk menurunkan kadar asam urat

NaHCO_3 umumnya diproduksi melalui proses Solvay, yang memerlukan reaksi natrium klorida, amonia, dan karbon dioksida dalam air. NaHCO_3 diproduksi sebanyak 100.000 ton/tahun (2001). Berikut adalah karakteristik Natrium Bikarbonat :

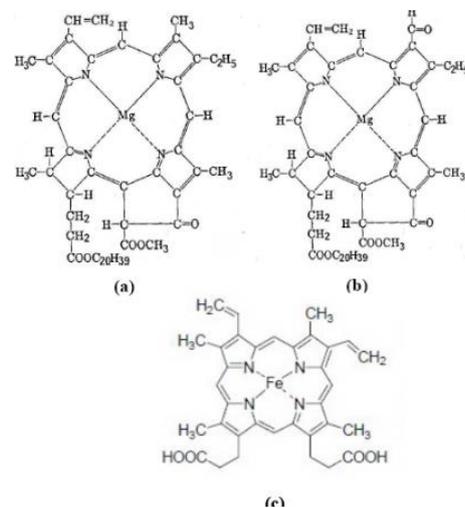
1. Memiliki titik lebur yang tinggi
2. Merupakan senyawa ionik dengan ikatan kuat.
3. Dalam bentuk leburan atau larutan dapat menghantarkan listrik.
4. Sifat larutannya dapat berupa asam, basa, atau netral. Sifat ini tergantung dari jenis asam/basa kuat pembentuknya

2.3 Klorofil

Pada awal tahun 1782, seorang ilmuwan bernama Senebier menemukan suatu senyawa kimia berwarna hijau, yang kemudian pada tahun 1818 oleh Pelletier dan Caventou diberi nama pigmen hijau alami tumbuhan bernama klorofil. Penelitian lebih lanjut akan senyawa ini dilanjutkan oleh Berzellius dan Verdeil pada tahun 1839 dan 1851 yang berhasil mengisolasi pigmen klorofil dan menemukan kesamaan struktur molekul antara pigmen klorofil ini dengan pigmen merah yang terdapat pada darah mamalia yaitu haemoglobin. Pada tahun 1906, Tswett merupakan peneliti yang pertama kali sukses memisahkan klorofil dengan cara kromatografi yang kemudian dikembangkan oleh Fischer dan Rothmund dalam pengembangan senyawa turunan klorofil dan penamaan dari gugus yang melekat di klorofil itu sendiri. (Othmer, 1993)

Sumber klorofil yang paling nyata adalah sayuran hijau. Akan tetapi, kandungannya akan menurun bila dimasak. Proses pemanasan saat memasak dapat merusak hampir semua kandungan klorofilnya. (Anonim, 2011). Setiap sel tumbuhan terdapat organel sel yang dinamakan kloroplas. Dalam kloroplas akan dihasilkan pigmen yang akan menyebabkan warna hijau pada tumbuhan (klorofil). Klorofil dapat ditemukan pada daun dan permukaan batang, yaitu di dalam lapisan sponge di bawah kutikula. Klorofil berikatan erat dengan lipid, protein dan lipoprotein. Kloroplas kering mengandung sekitar 10 % klorofil dan 60 % protein. Klorofil sangat sensitif terhadap cahaya, terutama sinar dengan warna ungu atau biru dan jingga atau merah. Kandungan klorofil pada beberapa tanaman sekitar 1% basis kering dengan perbandingan umum jumlah klorofil a dan b sebesar 3:1. Namun besar perbandingan tersebut tidaklah pasti, masih dapat bervariasi dan dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan dan faktor lingkungan. (Anonim, 2011).

Klorofil a merupakan klorofil dengan warna hijau kebiruan dengan susunan kimia $C_{55}H_{72}MgN_4O_5$. Sedangkan klorofil b merupakan klorofil dengan warna hijau kekuningan dengan susunan kimia $C_{55}H_{70}MgN_4O_6$. Perbedaan dalam struktur dari dua klorofil tersebut kemudian menghasilkan perbedaan dalam penyerapan spektrum, hijau kebiruan untuk klorofil a dan hijau kekuningan untuk klorofil b. Posisi penyerapan maksimum bervariasi sesuai dengan pelarut yang digunakan. Klorofil merupakan ester dan larut pada pelarut organik. (Anonim, 2011)



Gambar 4. Struktur Molekul Klorofil dan Hemoglobin

(a) Klorofil a (b) Klorofil b (c) Hemoglobin (Othmer, 1993)

2.3.1 Manfaat Klorofil

Klorofil dan senyawa turunannya dapat diaplikasikan dengan baik dalam berbagai industri. Sebagai contoh dalam pewarna serat, resin atau tinta tertentu. Karena sifatnya yang aman dalam mewarnai lemak dan minyak, klorofil sangat baik dan aman sebagai pewarna makanan yang mengandung lemak atau minyak. Karena kelarutannya dalam lemak dan minyak, serta sifatnya yang tidak mengiritasi, klorofil dipandang sebagai pewarna yang baik untuk kosmetik, parfum, lotion, bahkan krem muka. Klorofil juga telah dimanfaatkan dalam industri pembuatan sabun, baik sebagai pewarna maupun sebagai material pelapis karena kestabilannya pada suasana alkali serta kelarutannya dalam minyak dan silikat yang ditambahkan dalam pembuatan sabun. Klorofil dan beberapa senyawa

turunannya juga ditemukan memiliki kecenderungan antiknocking ketika ditambahkan pada mesin gasoline. (Othmer, 1993). Dalam kehidupan sehari-hari pemakaian klorofil telah berkembang dengan luas dalam dunia pengobatan. Beberapa manfaat klorofil yang telah diakui antara lain: (Anonim, 2011)

1. Zat warna alami
2. Antioksidan/ penghancur radikal bebas. Penelitian membuktikan kerusakan DNA akibat aflatoksin (senyawa karsinogen) berkurang 50% dengan konsumsi klorofil sebanyak 300 mg/hari.
3. Zat anti kanker
4. Zat antiseptik
5. Zat antigenotoksik
6. Zat yang berperan dalam regenerasi sel dan jaringan. Klorofil akan meningkatkan sistem kekebalan dalam tubuh, dengan segera mengganti keberadaan sel rusak sehingga virus tidak dapat menyerang kesehatan manusia.
7. Agen detoks dan penyerap kolesterol dalam tubuh manusia. Bagian ekor klorofil bersifat lipofilik (suka lemak) mampu menembus sel tubuh dengan sangat cepat tanpa halangan (barrier) mengikat dan menarik keluar semua senyawa hidrokarbon berbahaya seperti obat-obat yang tertimbun dalam tubuh, pengawet dan perasa makanan, nikotin, narkotika, logam berat dari air minum dan asap knalpot sekalipun. Keberadaan klorofil dapat membantu kinerja organ hati dalam tubuh manusia. Selain itu bagian ekor yang lipofilik pun dapat menyerap kolesterol yang mengkristal di peredaran darah.
8. Menguatkan sistem peredaran darah, reproduksi, pencernaan dan pernapasan . Klorofil secara efisien melepaskan Mg dan membantu darah membawa O₂ yang dibutuhkan ke semua sel di jaringan tubuh. Distribusi O₂ yang baik dalam tubuh akan menunjang reproduksi, pencernaan, dan pernapasan.

2.3.2 Sifat-sifat Klorofil

Secara kimiawi, senyawa klorofil baik klorofil a maupun klorofil b mengandung senyawa turunan pirol dan dengan adanya kandungan magnesium di

struktur pusatnya, serta adanya gugus ester pada fitol alkohol tidak jenuhnya, seperti $C_{20}H_{29}OH$, atau $(CH_3)_2CH(CH_2)_3CH(CH_3)(CH_2)_3CH(CH_3)(CH_2)_3C(CH_3) : CHCH_2OH$. Senyawa klorofil merupakan senyawa yang cukup peka terhadap perubahan cahaya, temperatur, pH, dan oksigen. Senyawa klorofil akan bekerja stabil dalam menunjukkan warna hijau pada rentang temperatur kamar hingga $100^\circ C$ dan pada pH sekitar netral (7 - 8). Pada pH asam (3 - 5) dan pH basa (11 - 12) klorofil mengalami reaksi dan menghasilkan berbagai senyawa turunan klorofil. Pada suasana asam, atom Mg akan diganti dengan atom H sehingga terbentuk senyawa yang disebut feofitin yang berwarna kecoklatan. Namun dengan adanya perlakuan penambahan basa seperti kapur tohor, reaksi tersebut dapat dihindari sehingga klorofil tidak bereaksi membentuk feofitin. Dari struktur kimianya, dapat dilihat klorofil a bersifat kurang polar atau bahkan sering digolongkan sebagai senyawa non polar, sedangkan klorofil b bersifat polar.

2.3.3 Metode Penentuan Kadar Klorofil

Metode penentuan klorofil adalah dengan teknik spektroskopi dengan spektrofotometer. Pengukuran kadar klorofil secara spektrofotometrik didasarkan pada hukum Lambert-Beer. Beberapa metode untuk menghitung kadar klorofil total, klorofil a dan klorofil b yang telah dirumuskan diantaranya adalah: (Anonymous, 2011)

1. Metode Arnon, menggunakan pelarut aseton 85% dan mengukur nilai absorbansi larutan klorofil pada panjang gelombang 663 dan 645 nm.

Persamaan yang digunakan yaitu:

$$\text{Kadar klorofil (mg/L)} = 20.2 A_{645.0 \text{ nm}} + 8.02 A_{663.0 \text{ nm}}$$

2. Metode Wintermans and De Mots menggunakan pelarut etanol 96% dan mengukur absorbansi larutan klorofil pada panjang gelombang 649 dan 665 nm. Persamaan yang digunakan yaitu:

$$\text{Kadar klorofil (mg/L)} = 20 A_{649.0 \text{ nm}} + 6,1 A_{665.0}$$

2.4 Etanol

Etanol, disebut juga etil alkohol, alkohol murni, alkohol absolut, atau *alkohol* saja, adalah sejenis cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna, dan merupakan alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari.

Etanol adalah cairan tak berwarna yang mudah menguap dengan aroma yang khas. Ia terbakar tanpa asap dengan lidah api berwarna biru yang kadang-kadang tidak dapat terlihat pada cahaya biasa.

Etanol adalah pelarut yang serbaguna, larut dalam air dan pelarut organik lainnya, meliputi asam asetat, aseton, benzena, karbon tetraklorida, kloroform, dietil eter, etilena glikol, gliserol, nitrometana, piridina, dan toluena. Ia juga larut dalam hidrokarbon alifatik yang ringan, seperti pentana dan heksana, dan juga larut dalam senyawa klorida alifatik seperti trikloroetana dan tetrakloroetilena.

2.4.1 Sifat-sifat fisika etanol

Etanol memiliki banyak manfaat bagi masyarakat karena memiliki sifat yang tidak beracun. Selain itu etanol juga memiliki banyak sifat-sifat, baik secara fisika maupun kimia. Adapun sifat-sifat fisika etanol dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Sifat-sifat fisika etanol

Parameter	Keterangan
Berat Molekul	46,07 gr/grmol
Titik Lebur	-112 °C
Titik Didih	78,4 °C
Densitas	0,7893 gr/ml
Indeks Bias	1,36143 cP
Viskositas	20°C 1,17 cP
Panas Penguapan	200,6 kal/gr
Warna	Tidak Berwarna
Kelarutan	Larut dalam air dan eter
Bau	Memiliki bau yang khas

(Sumber : Perry,1999)

2.4.2 Sifat-sifat kimia etanol

Etanol selain memiliki sifat-sifat fisika juga memiliki sifat-sifat kimia. Sifat-sifat kimia tersebut adalah :

1. Merupakan pelarut yang baik untuk senyawa organik
2. Mudah menguap dan mudah terbakar
3. Bila direaksikan dengan asam halida akan membentuk alkyl halida dan air

$$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{HC}=\text{CH} \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}=\text{CH}_2$$
4. Bila direaksikan dengan asam karboksilat akan membentuk ester dan air

$$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{CH}_3\text{COOH} \text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3 + \text{H}_2\text{O}$$
5. Dehidrogenasi etanol menghasilkan asetaldehid
6. Mudah terbakar diudara sehingga menghasilkan lidah api (flame) yang berwarna biru muda dan transparan, dan membentuk H_2O dan CO_2 .

2.5 Ekstraksi Padat – Cair

2.5.1 Definisi dan Prinsip Ekstraksi

Terdapat berbagai metode pemisahan campuran baik yang berlaku secara fisika maupun kimia. Dalam suatu proses pemisahan, substansi yang akan dipisahkan dapat bergerak secara difusi di antara fase yang berbeda. Proses ekstraksi merupakan salah satu proses pemisahan secara difusional satu atau bahkan beberapa bahan yang berasal dari suatu padatan atau cairan menggunakan bantuan pelarut. Dengan adanya kontak dengan pelarut, zat terlarut (solute) yang terkandung dalam umpan akan terlarut di dalam pelarut. Dengan kata lain pemisahan dengan proses ekstraksi ini akan didasarkan pada perbedaan kelarutan komponen-komponen yang dipisahkan. Pemisahan yang berlangsung dengan ekstraksi dapat digolongkan pemisahan fisik di mana komponen terlarut kemudian dikembalikan lagi ke keadaan semula tanpa mengalami perubahan kimiawi. (Mc. Cabe, 2005)

Faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi adalah : (Suyitno, 1989)

1. Tipe persiapan sampel
2. Waktu ekstraksi

3. Kuantitas pelarut

4. Suhu pelarut

5. Tipe pelarut

Hal-hal yang berpengaruh dalam ekstraksi yaitu sebagai berikut :

1. Jenis Pelarut

Pelarut yang digunakan adalah pelarut organik. Pelarut organik sangat cepat menguap sehingga cepat terjadi sirkulasi uap dan perolehan minyak akan semakin rendah, disamping itu titik didih lebih rendah akan mempermudah proses pemisahan

2. Volume pelarut

Volume pelarut yang kecil/sedikit akan menghasilkan minyak yang sedikit karena kontak antar uap pelarut dengan sampel sedikit sekali dan sebaliknya.

3. Temperatur

Temperatur yang tinggi akan meningkatkan harga difusi massa sehingga perpindahan solute ke pelarut juga meningkatkan harga difusi massa.

4. Ukuran partikel

Semakin halus ukuran partikel maka akan semakin mudah dalam mendapatkan minyak tetapi akan mempengaruhi terhadap warna minyak yang dihasilkan. Partikel yang terlalu halus akan mempersulit keluarnya minyak, karena kontak dengan pelarut kecil.

5. Pengadukan

Fungsi pengadukan adalah untuk mempercepat terjadinya reaksi antara pelarut dengan solut.

6. Lama waktu

Lamanya waktu ekstraksi akan menghasilkan minyak yang lebih banyak, karena sirkulasi uap akan semakin sering kontak antara solut dengan pelarut lebih lama.

2.5.2. Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi terbagi menjadi 2 macam, yaitu :

1. Ekstraksi cara dingin

Metode ini artinya tidak ada proses pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung, tujuannya untuk menghindari rusaknya senyawa yang dimaksud akibat proses pemanasan. Ekstraksi dingin antara lain:

a. Maserasi

Merupakan proses ekstraksi menggunakan pelarut diam atau dengan pengocokan pada suhu ruangan. Pada dasarnya metode ini dengan cara merendam sampel dengan sekali-kali dilakukan pengocokan. Pengocokan dapat dilakukan dengan menggunakan alat *rotary shaker* dengan kecepatan sekitar 150 rpm. Umumnya perendaman dilakukan 24 jam dan selanjutnya pelarut diganti dengan pelarut baru. Namun dari beberapa penelitian melakukan perendaman hingga 72 jam.

Selama proses perendaman, cairan akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Kemudian zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut terus berulang hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel.

Keuntungan cara ekstraksi dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang sederhana. Namun metode ini juga memiliki kekurangan, yaitu cara pengerjaannya yang lama dan ekstraksi yang kurang sempurna.

b. Perkolasi

Merupakan cara ekstraksi yang dilakukan dengan mengalirkan pelarut melalui bahan sehingga komponen dalam bahan tersebut tertarik ke dalam pelarut. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosis, adesi, daya kapiler dan daya geseran (friksi). Hasil perkolasi disebut perkolat. Perkolasi banyak digunakan untuk mengekstraksi komponen dari bahan tumbuhan. Pada proses perkolasi, terjadi partisi komponen yang diekstraksi, antara bahan dan pelarut. Dengan pengaliran pelarut secara berulang-ulang, maka semakin banyak komponen yang tertarik.

Kelemahan dari metode ini yaitu diperlukan banyak pelarut dan waktu yang lama, sedangkan komponen yang didapat relatif tidak banyak. Keuntungannya

adalah tidak memerlukan pemanasan sehingga teknik ini baik untuk substansi termolabil (yang tidak tahan terhadap panas).

2. Ekstraksi cara panas

Metode ini melibatkan panas dalam prosesnya. Dengan adanya panas secara otomatis akan mempercepat proses ekstraksi dibandingkan cara dingin. Metodenya antara lain:

a. Refluks

Merupakan ekstraksi dengan pelarut yang dilakukan pada titik didih pelarut tersebut, selama waktu tertentu dan sejumlah pelarut tertentu dengan adanya pendinginan balik (kondensor). Prinsip dari metode refluks adalah pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung.

Prinsip kerja metode ini yaitu pada rangkaian refluks ini terjadi empat proses, yaitu proses *heating*, *evaporating*, kondensasi dan *cooling*. *Heating* terjadi pada saat *feed* dipanaskan di labu didih, *evaporating* (penguapan) terjadi ketika *feed* mencapai titik didih dan berubah fase menjadi uap yang kemudian uap tersebut masuk ke kondensor dalam. *Cooling* terjadi di dalam *cooler*, di dalam *cooler* kita masukkan batu es dan air, sehingga ketika menghidupkan pompa, air dingin akan mengalir dari bawah menuju kondensor luar. Proses yang terakhir adalah kondensasi (Pengembunan), proses ini terjadi di kondensor, jadi terjadi perbedaan suhu antara kondensor dalam yang berisi uap panas dengan kondensor luar yang berisikan air dingin, hal ini menyebabkan penurunan suhu dan perubahan fase dari steam tersebut untuk menjadi *liquid* kembali.

Prosedur dari sintesis dengan metode refluks adalah semua bahan dimasukkan dalam labu bundar. Kemudian setelah kondensor pendingin air terpasang campuran direfluks selama waktu tertentu. Pengaturan suhu dilakukan pada penangas air. Pelarut akan mengekstraksi dengan panas, terus akan menguap sebagai senyawa murni dan kemudian didinginkan dalam kondensor, turun lagi ke

wadah dan terjadi ekstraksi lagi. Demikian seterusnya berlangsung secara berkesinambungan sampai penyaringan sempurna.

Keuntungan dari metode refluks adalah digunakan untuk mengekstraksi sampel-sampel yang mempunyai tekstur kasar dan tahan pemanasan langsung.

Kerugian dari metode refluks adalah membutuhkan volume total pelarut yang besar dan sejumlah manipulasi dari operator.

b. Soxhlet

Soxhlet adalah proses ekstraksi dimana sampel yang akan diekstraksi ditempatkan dalam suatu timbel yang permeabel terhadap pelarut dan diletakkan di atas tabung destilasi, dididihkan dan dikondensasikan di atas sampel. Kondensat akan jatuh ke dalam timbel dan merendam sampel dan diakumulasi sekeliling timbel. Setelah sampai batas tertentu, pelarut akan kembali masuk ke dalam tabung destilasi secara otomatis. Proses ini berulang terus dengan sendirinya di dalam peralatan Soxhlet.

c. Digesti

Digesti adalah proses ekstraksi dengan pengadukan kontinu pada temperatur tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50 °C.

d. Infundasi

Infundasi adalah ekstraksi dengan cara perebusan, dimana pelarutnya adalah air pada temperatur 96-98 °C selama 14-20 menit.

2.6 Distilasi

Prinsip pada destilasi adalah pemisahan dua zat atau lebih yang mempunyai perbedaan titik didih. Jika zat-zat yang dipisahkan mempunyai perbedaan titik didih yang jauh berbeda, dapat digunakan metode isolasi biasa. Zat yang memiliki titik didih rendah akan cepat terdestilasi daripada zat yang bertitik didih tinggi. Uap zat yang bersifat volatil dan memiliki titik didih yang rendah akan masuk ke dalam pipa pada kondensator (terjadi proses pendinginan) sehingga akan turun berupa tetesan-tetesan yang turun ke dalam penampung atau disebut juga destilat. perlu diketahui distilasi ialah salah satu pemisahan campuran

yang memiliki prinsip sederhana namun tetap memiliki variasi dengan kekuatan dan kelemahan tertentu. Secara umum pada distilasi ada labu distilasi, pemanas, kolom distilasi dan labu penerimanya. jadi mula mula labu distilasi yang berupa cairan dipanaskan, lalu uapnya akan naik ke kolom. Zat yang memiliki titik didih tinggi yang terbawa menguap akan mencair lagi pada kolom. zat yang titik didihnya lebih rendah akan terus terbawa hingga di labu penerima. Ada macam-macam distilasi, berikut diantaranya.

2.6.1 Jenis-jenis Distilasi

a. Distilasi Sederhana

Pada proses distilasi sederhana, campuran larutan yang dipanaskan akan menguap. distilasi sederhana ini cocok untuk memisahkan campuran 2 zat yang memiliki titik didih yang cukup jauh beda. Zat yang lebih mudah menguap akan menguap lebih dahulu sehingga yang tersisa hanyalah zat yang titik didihnya lebih tinggi. Hal ini bisa diulangi beberapa kali untuk mendapatkan hasil dan pemisahan yang lebih baik

b. Distilasi Bertingkat

Secara Prinsip distilasi bertingkat ini ialah distilasi sederhana yang hasil distilasinya dilakukan distilasi ulang. Hal ini dilakukan berulang ulang bergantung dari panjang kolom distilasi yang disesuaikan dengan sifat komponen campuran sehingga dihasilkan masing masing komponen yang murni. Distilasi bertingkat ini dapat digunakan untuk memisahkan campuran yang memiliki lebih dari dua komponen sehingga diperlukan suatu rancangan bentuk kondensor yang khusus. Distilasi bertingkat ini digunakan untuk memisahkan komponen komponen minyak bumi

c. Distilasi Vakum

Prinsip dari Distilasi Vakum ini yaitu dengan cara menurunkan tekanan diatas permukaan cairan dengan bantuan pompa vakum, maka cairan yang didistilasi akan mudah menguap, karena cairan ini akan mendidih dibawah titik didih normalnya. Hal ini sangat menguntungkan untuk mendistilasi campuran yang senyawa penyusunnya mudah rusak atau terurai pada titik didihnya atau

untuk menguapkan campuran yang sangat pekat karena penguapannya tidak memerlukan panas yang tinggi.

Proses distilasi dengan tekanan dibawah tekanan atmosfer atau distilasi vakum adalah merupakan destilasi tekanan dibawah 1 atmosfer tekanan operasinya 0,4 atm (≤ 300 mmHg absolut), pada bidang migas distilasi vakum digunakan untuk memisahkan fraksi –fraksi yang tidak dapat dipisahkan dengan destilasi atmosferik seperti gas oil berat, parafine *destilate* atau vakum *distilate* yang masih terkandung didalam long residu dari hasil destilasi atmosferik. Residu yang terdapat dari destilasi atmosferik ini tidak dapat dipisahkan dengan destilasi atmosferik, apabila dipanaskan pada tekanan atmosferik akan terjadi cracking sehingga akan merusak mutu produk dan menimbulkan *tar (coke)* yang kemudian dapat diberikan kenutuhan pada *tube* dapur. Dengan cara penyulingan di bawah tekanan atmosferik atau tekanan vakum fraksi–fraksi yang terkandung di dalam long residu dapat *discovery*.

Prinsip ini didasarkan pada hukum fisika dimana zat cair akan mendidih dibawah titik didih normalnya apabila tekanan pada permukaan zat cair itu diperkecil atau vakum. Pada prinsipnya proses vakum ini tidak jauh dari proses destilasi atmosferik. Proses destilasi vakum pada sistem vakum proses berlangsung dibawah kondisi normal $\pm 30 - 35$ mmHg dengan tujuan menurunkan titik didihnya.

d. Distilasi Uap

Distilasi uap digunakan pada campuran senyawa-senyawa yang memiliki titik didih mencapai 200 °C atau lebih. Distilasi uap dapat menguapkan senyawa-senyawa ini dengan suhu mendekati 100 °C dalam tekanan atmosfer dengan menggunakan uap atau air mendidih. Sifat yang fundamental dari distilasi uap adalah dapat mendistilasi campuran senyawa di bawah titik didih dari masing-masing senyawa campurannya. Selain itu distilasi uap dapat digunakan untuk campuran yang tidak larut dalam air di semua temperatur, tapi dapat didistilasi dengan air. Aplikasi dari distilasi uap adalah untuk mengekstrak beberapa produk alam seperti minyak eucalyptus dari eucalyptus, minyak sitrus dari lemon atau jeruk, dan untuk ekstraksi minyak parfum dari tumbuhan. Campuran dipanaskan

melalui uap air yang dialirkan ke dalam campuran dan mungkin ditambah juga dengan pemanasan. Uap dari campuran akan naik ke atas menuju ke kondensor dan akhirnya masuk ke labu distilat.

2.7 Spektrofotometer UV- Vis

Spektrofotometri Sinar Tampak (UV-Vis) adalah pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu (Day, 2002). Sinar ultraviolet (UV) mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak (visible) mempunyai panjang gelombang 400-750 nm. Pengukuran spektrofotometri menggunakan alat spektrofotometer yang melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. Spektrum UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Rohman, 2007).

Cahaya yang dapat dilihat oleh manusia cahaya terlihat/tampak. Biasanya cahaya yang terlihat merupakan campuran dari cahaya yang mempunyai berbagai panjang gelombang, mulai dari 400 nm hingga 700 nm, seperti pelangi dilangit.

Hubungan antara warna sinar tampak dengan panjang gelombang terlihat seperti tabel 5. Dalam tabel berikut ini tercantum warna dan warna komplementernya merupakan pasangan dari setiap dua warna dari spektrum yang menghasilkan warna putih jika dicampurkan.

Tabel 5. Warna dan warna komplementer

Panjang gelombang (nm)	Warna	Warna Komplementer
400 – 435	Ungu	Hijau kekuningan
435 – 480	Biru	Kuning
480 – 490	Biru kehijauan	Jingga
490 – 500	Hijau kebiruan	Merah
500 – 560	Hijau	Ungu kemerahan
560 – 580	Hijau kekuningan	Ungu
595 – 610	Jingga	Biru kehijauan
610 – 680	Merah	Hijau kebiruan
680 – 700	Ungu kemerahan	hijau

2.7.1 Penerapan Hukum Beer

Hukum Lambert-Beer menyatakan hubungan linieritas antara absorban dengan konsentrasi larutan analit dan berbanding terbalik dengan transmitan. Dalam hukum Lambert-Beer tersebut ada beberapa pembatasan, yaitu :

- Sinar yang digunakan dianggap monokromatis
- Penyerapan terjadi dalam suatu volume yang mempunyai penampang yang sama
- Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain dalam larutan tersebut
- Tidak terjadi fluoresensi atau fosforisensi
- Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan

Hukum Lambert-Beer dinyatakan dalam rumus sbb :

$$A = e \cdot b \cdot c$$

dimana :

A = absorban

e = absorptivitas molar

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

Dapat terlihat bahwa jika kita melakukan pengukuran suatu unsur yang sama pada panjang gelombang yang sama dalam kuvet sampel yang sama pula,

maka akan tampak hubungan linear antara absorbansi A dan konsentrasi c , selama absorptivitas molar e dan tebal kuvet b konstan. Karena nilai b adalah tetap, maka ini adalah penerapan Hukum Beer. Oleh karenanya, jika suatu larutan dengan konsentrasi C_1 menghasilkan absorbansi A_1 maka larutan unsur yang sama dengan konsentrasi C_2 (diukur pada kondisi yang sama) akan menghasilkan absorbansi A_2 sehingga : Konsentrasi dari larutan yang belum diketahui kemudian dapat dihitung dengan mengukur absorbansi dari larutan yang diketahui konsentrasinya dan larutan yang belum diketahui konsentrasinya pada kondisi yang sama. Perhitungan dengan metode sederhana ini tidak mempertimbangkan ketidakpastian percobaan yang terlibat dalam persiapan larutan dan dalam pengukuran absorbansi. Oleh karena itu dalam praktek sangat dianjurkan untuk menyiapkan beberapa larutan dengan konsentrasi yang berbeda biasanya disebut larutan standar, kemudian diukur absorbansinya. Hasil pengukuran dibuat grafik kalibrasi absorbansi vs konsentrasi. Selanjutnya konsentrasi larutan yang belum diketahui dapat ditentukan dari grafik tersebut.

Dengan menggunakan grafik kalibrasi yang diperoleh dari beberapa standar dibanding dengan menggunakan satu standar , ketidakpastian analisa dapat dikurangi dan karenanya ketelitian akan sangat meningkat.

Perlu dicatat bahwa garis lurus pada grafik kalibrasi tidak akan diperoleh dengan cara mem-plot transmitans vs konsentrasi. Karena absorbansi dan transmitans dihubungkan oleh persamaan : $A = -\log T$

maka tidak ada hubungan linear antara transmitans dan konsentrasi. Oleh karena itu jika hasil pengukuran berupa transmitans, maka harus diubah ke bentuk absorbansi agar dapat membuat kurva kalibrasi.

2.7.2 Pemilihan panjang gelombang untuk Analisa Kuantitatif

Dalam spektrometri molekular kuantitatif, pengukuran absorbansi atau transmitans dibuat berdasarkan satu seri (rangkai) larutan pada panjang gelombang yang telah ditetapkan. Panjang gelombang paling yang sesuai ditentukan dengan membuat spektrum absorpsi dimana panjang gelombang yang

paling sesuai adalah yang menghasilkan absorbansi maksimum. Selanjutnya panjang gelombang ini digunakan untuk pengukuran kuantitatif.

Dengan menggunakan panjang gelombang dari absorbansi yang maksimum, maka jika terjadi penyimpangan (deviasi) kecil panjang gelombang dari cahaya masuk hanya akan menyebabkan kesalahan yang kecil dalam pengukuran tersebut. Jika panjang gelombang dipilih dari daerah spektrum di mana ada suatu perubahan yang besar absorbansi dalam daerah (range) panjang gelombang yang sempit, maka jika terjadi penyimpangan (deviasi) kecil panjang gelombang dari cahaya masuk akan menyebabkan kesalahan yang besar dalam pengukuran absorbansi tersebut.

2.7.3 Tahapan Penentuan Kadar Sampel Secara Spektrofotometri

1. Penentuan panjang gelombang maksimum

Definisi: panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu. Alasan mengapa dipergunakan panjang gelombang maksimum dalam pemeriksaan spektrofotometri, sbb :

- panjang gelombang max memiliki kepekaan maksimal karena terjadi perubahan absorbansi yang paling besar
- Pada panjang gelombang max bentuk kurva absorbansi memenuhi hukum Lambert-Beer

Hal yang perlu diperhatikan pada penentuan panjang gelombang maksimum sbb : Absorban yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmitans. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa kesalahan dalam pembacaan T adalah 0,005 atau 0,5% (kesalahan fotometrik). (Rohman, A. 2007)

2. Penentuan Operating Time (OT)

TUJUAN : untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil yaitu saat sampel bereaksi sempurna dengan reagen warna . Waktu kerja ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan.

3. Pembuatan Kurva Larutan Baku Linier

TUJUAN : untuk memperoleh persamaan larutan baku dalam penentuan kadar sampel. Tahapan yang diperlukan sbb :

- Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi.
- Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur pada panjang gelombang maksimal (berdasarkan hasil panjang gelombang maksimal yang diperoleh dari tahap 1) dan *Operating Time* (berdasarkan waktu yang diperoleh pada tahap 2)
- Membuat Kurva Larutan Baku yang merupakan hubungan antara konsentrasi (sumbu y) dan absorbansi (sumbu x)
- Bila hukum Lambert-Beer terpenuhi maka kurva baku berupa garis lurus
- Paling sedikit menggunakan 5 rentang konsentrasi yang meningkat yang dapat memberikan serapan linier
- Kemiringan atau slope adalah nilai ϵ (absorptivitas molar)
- Nilai R antara 0,70 – 1,00 (pertanda terbentuk garis lurus linear pada rentang konsentrasi yang dibuat)

Apabila persyaratan pembuatan kurva baku di atas tidak terpenuhi maka penyimpangan dari garis lurus biasanya dapat disebabkan oleh: (i) kekuatan ion yang tinggi, (ii) perubahan suhu, dan (iii) reaksi ikutan terjadi.

4. Penentuan Kadar Sampel

Penentuan kadar sampel metode regresi linier yaitu metode parametrik dengan variabel bebas (konsentrasi sampel) dan variabel terikat (absorbansi sampel) menggunakan persamaan garis regresi Kurva Larutan Baku. Konsentrasi sampel dapat dihitung berdasarkan persamaan kurava baku tersebut (Rohman, 2007).