

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Katuk (*Sauropus androgynus*)

Katuk (*Sauropus androgynus*) merupakan tumbuhan sayuran yang banyak terdapat di Asia Tenggara. Ciri-ciri tanaman katuk adalah cabang-cabang agak lunak, daun tersusun selang-seling pada satu tangkai, berbentuk lonjong sampai bundar dengan panjang 2,5 cm, dan lebar 1,25-3 cm (Anonim^b, 2008). Katuk (*Sauropus androgynus*) merupakan tanaman obat-obatan tradisional yang mempunyai zat gizi tinggi, sebagai antibakteri, dan mengandung beta karoten sebagai zat aktif warna karkas. Senyawa fitokimia yang terkandung di dalamnya adalah : *saponin*, *flavonoid*, dan *tanin*, *isoflavonoid* yang menyerupai estrogen ternyata mampu memperlambat berkurangnya massa tulang (*osteomalasia*), sedangkan *saponin* terbukti berkhasiat sebagai antikanker, antimikroba, dan meningkatkan sistem imun dalam tubuh (Santoso, 2009). Gambar daun katuk dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Daun Katuk (*Sauropus androgynus*)

Tanaman katuk tumbuh menahun, berbentuk semak perdu dengan ketinggian antara 21/2m – 5 m. Tanaman katuk terdiri dari akar, batang, daun, bunga, buah dan biji. Sistem perakarannya menyebar ke segala arah dan dapat mencapai kedalaman antara 30-50 cm. Batang tanaman tumbuh tegak dan berkayu. Tanaman katuk mempunyai daun majemuk genap, berukuran kecil, berbentuk bulat seperti daun kelor. Permukaan atas daun berwarna hijau gelap, sedangkan permukaan bawah daun berwarna hijau muda. Produk utama tanaman katuk berupa daun yang masih muda. Daun katuk sangat potensial sebagai sumber gizi karena memiliki kandungan gizi yang setara dengan daun singkong, daun pepaya, dan sayuran lainnya.

Daun katuk merupakan salah satu jenis sayuran yang mudah diperoleh di setiap pasar, baik pasar tradisional maupun swalayan. Ditinjau dari kandungan gizinya, daun katuk merupakan jenis sayuran hijau yang banyak manfaat bagi kesehatan dan pertumbuhan badan. Di dalam daun katuk terdapat cukup banyak kandungan kalori, protein, kalsium, zat besi, fosfor dan vitamin yang dibutuhkan oleh tubuh manusia. Daun katuk dapat memperlancar pengeluaran ASI, kemudian dalam perkembangan selanjutnya, dibuat infus akar daun katuk digunakan sebagai diuretik dan sari daun katuk digunakan sebagai pewarna makanan (Rukmana, 2003). Kandungan gizi dari daun katuk dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia daun katuk

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

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

2.1.1 Manfaat Daun Katuk

Daun katuk berkhasiat memperbanyak air susu, untuk demam, bisul, borok dan darah kotor. Tiga peneliti menyatakan infus daun katuk dapat meningkatkan produksi air susu pada mencit. Infus daun katuk dapat meningkatkan jumlah asini tiap lobulus kelenjar susu mencit. Satu peneliti menyatakan isolat fase eter dan ekstrak petroleum eter daun katuk tidak menyebabkan peningkatan sekresi air susu yang bermakna. Satu peneliti menyatakan bahwa dekok akar katuk mempunyai efek antipiretik terhadap burung merpati.

Infus akar katuk mempunyai efek diuretik dengan dosis 72 mg/100 g bb. Konsumsi sayur katuk oleh ibu menyusui dapat memperlama waktu menyusui bayi perempuan secara nyata dan untuk bayi pria hanya meningkatkan frekuensi dan lama menyusui. Proses perebusan daun katuk dapat menghilangkan sifat anti protozoa. Pemberian infus daun katuk kadar 20 %, 40 %, dan 80 % pada mencit selama periode organogenesis tidak menyebabkan cacat bawaan (teratogenik) dan tidak menyebabkan resorpsi. Jus daun katuk mentah digunakan sebagai pelangsing tubuh alami di Taiwan.

2.2 Klorofil

Klorofil merupakan sel hidup pertama yang tumbuh di bumi dalam bentuk alga biru hijau. Kata kloro pada klorofil bukan berarti bahwa klorofil mengandung elemen klorin, tetapi kata klorofil tersebut diambil dari bahasa Yunani, Chloros yang berarti hijau, serta kata phyllon yang berarti daun. Klorofil adalah kelompok pigmen fotosintesis yang terdapat dalam tumbuhan, menyerap cahaya merah, biru dan ungu, serta merefleksikan cahaya hijau yang menyebabkan tumbuhan memperoleh ciri warnanya. Terdapat dalam kloroplas dan memanfaatkan cahaya yang diserap sebagai energi untuk reaksi-reaksi cahaya dalam proses fotosintesis.

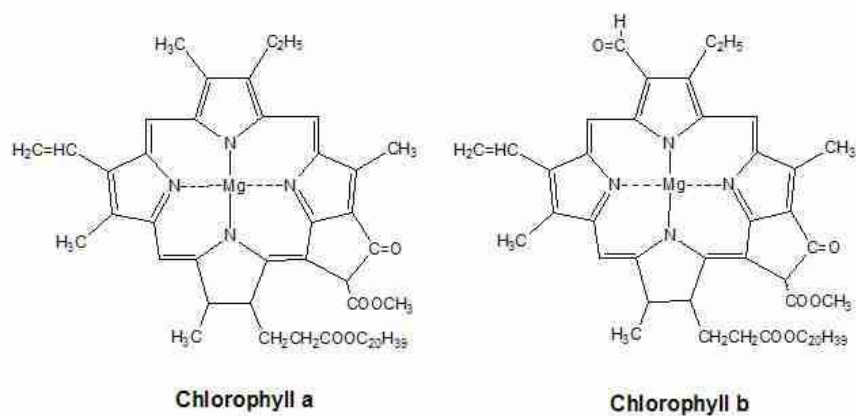
Sifat fisik klorofil adalah menerima dan atau memantulkan cahaya dengan gelombang yang berlainan. Klorofil banyak menyerap sinar dengan panjang gelombang antara 400-700 nm, terutama sinar merah dan biru. Sifat kimia klorofil, antara lain :

1. Tidak larut dalam air
2. Larut dalam pelarut organik yang lebih polar, seperti etanol dan kloroform.
3. Inti Mg akan bergeser oleh 2 atom H bila suasana asam, sehingga membentuk suatu persenyawaan yang disebut *feofitin* yang berwarna coklat (Dwidjoseputro, 1994).

Klorofil pada daun terbagi menjadi dua jenis, yaitu klorofil a dan klorofil b. Klorofil a adalah warna hijau tua pada daun, sedangkan klorofil b adalah warna hijau muda pada daun. Selain itu ada daun memiliki warna kuning, merah tua, ungu dan warna-warna lain yang disebut karotenoid. Adapun perbedaan klorofil a dan klorofil b dapat dilihat pada tabel 2 dan perbedaan struktur molekul klorofil a dan klorofil b dapat dilihat pada gambar 2.

Tabel 2. Perbedaan klorofil a dan klorofil b

Parameter	Klorofil A	Klorofil B
Rumus kimia	$C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$	$C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$
Gugus pengikat	CH_3	CH
Cahaya yang diserap	biru-violet dan merah	biru dan oranye dan memantulkan cahaya kuning-hijau.
Absorpsi Maksimum	673 nm	455-640 nm



Gambar 2. Struktur molekul klorofil a dan klorofil b

Pigmen daun atau klorofil yang berwarna hijau dapat berubah warna. Klorofil menyerap cahaya merah dan biru dari sinar matahari yang jatuh ke daun. Akibatnya, cahaya dipantulkan oleh daun dengan warna komplementernya yaitu hijau.

Perubahan warna yang terjadi di klorofil dapat disebabkan beberapa hal. Daun dapat berubah menjadi warna kuning ataupun kecoklatan. Perubahan tersebut dipengaruhi oleh kandungan klorofil dibandingkan dengan pigmen warna lainnya. Misalnya, pada daun hijau menjadi kuning lalu kecoklatan, pigmen klorofilnya jauh lebih sedikit dibandingkan karoten. Menurunnya kemampuan klorofil karena disfungsi daun tersebut menyerap cahaya untuk melakukan fotosintesis. Selain itu, karoten juga diketahui lebih stabil dibandingkan dengan klorofil. Sehingga, warna pigmen karoten tetap bertahan walaupun klorofil mulai menghilang (Anonim, 2005).

Selain faktor tersebut, pigmen daun klorofil yang berwarna hijau tersebut mempunyai sifat tidak stabil dan dapat mudah berubah menjadi coklat bila berhubungan dengan asam. Hal ini disebabkan oleh atom Mg yang digantikan dengan atom H. Hal tersebut mengakibatkan terbentuknya senyawa yang disebut feofitin. Senyawa tersebut yang memacu perubahan warna pada daun dari kuning menjadi coklat. Degradasi pigmen klorofil tersebut terjadi jika pada pH rendah dan pemanasan 70-100°C. Hal inilah yang memicu terjadinya proses feofitinisasi.

Klorofil juga dapat mengalami perubahan warna menjadi merah. Gugus fitol yang berperan besar dalam perubahan warna ini. Jika klorofil kehilangan gugus fitolnya, klorofil akan membentuk klorofilid yaitu senyawa berwarna merah terang larut dalam air tetapi lebih stabil dibandingkan klorofil.

Klorofil mampu menjadi penguat dan penenang pikiran alami karena kadar asam nukleat dan asam amino pada klorofil dapat memenuhi kebutuhan otak akan protein, terutama neuropeptida (bagian otak yang mengolah pikiran dan emosi positif). Sebagai sumber energi, klorofil mampu mensintesis oksigen dan

karbohidrat. Proses detoksifikasi (pengeluaran racun) inilah yang mampu meringankan kerja hati dalam membuang zat-zat kimia sintetis dari aliran darah. Selain itu, klorofil dapat membuang lendir dan kerak di dalam paru-paru, mineral dan kristal asam yang ada di dalam persendian, serta kolesterol dan lemak jenuh yang mengendap di arteri, si penyebab gangguan jantung.

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 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. Sifat kimia dari klorofil dipengaruhi oleh karbon ketujuh yang mengandung residu propionat, dan teresterifikasi dengan fitol . (Othmer, 1993, Anonim, 2011).

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 aflatoxin (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. Penyeimbang (regulator) asam, tekanan dan gula darah. Keberadaan asam dalam makanan yang dikonsumsi dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti asam urat, maag, lemahnya kardiovaskular, gangguan ginjal, dan keropos tulang. Klorofil menetralkan keberadaan asam karena bersifat basa kuat.

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 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 termasuk ke dalam alkohol rantai tunggal, dengan rumus kimia C₂H₅OH dan rumus empiris C₂H₆O. Ia merupakan isomer konstitusional dari dimetil eter. Etanol sering disingkat menjadi EtOH, dengan "Et" merupakan singkatan dari gugus etil (C₂H₅)

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.

Sifat-sifat fisika etanol utamanya dipengaruhi oleh keberadaan gugus hidroksil dan pendeknya rantai karbon etanol. Gugus hidroksil dapat berpartisipasi ke dalam ikatan hidrogen, sehingga membuatnya cair dan lebih sulit menguap dari pada senyawa organik lainnya dengan massa molekul yang sama.

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.

2.3.1 Sifat-sifat fisika etanol

Etanol memiliki banyak manfaat bagi masyarakat karena memiliki sifat yang tidak beracun. Adapun sifat-sifat fisika etanol dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. 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)

2.3.2 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 .

2.4. Natrium Bikarbonat

Natrium bikarbonat adalah senyawakimia 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

2.5. Penentuan Kadar Total Klorofil

Penentuan kadar total klorofil dari hasil ekstraksi klorofil dari daun katuk (*Sauropus Androgynus*) dengan pelarut etanol dan larutan Natrium Bikarbonat sebagai penstabil kemudian dilakukan pengujian dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang yang ditentukan yaitu 649 nm dan 665nm.

2.6. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun bahan cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu bahan dari campurannya, ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai cara. Ekstraksi menggunakan pelarut didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran (Suyitno, 1989).

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.

2.6.1. 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 perendama 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 antara larutan di luar sel dengan larutan di dalam 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 temperature 40-50 °C.

d. Infundasi

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

1.7 Distilasi

Distilasi atau penyulingan adalah suatu metode pemisahan bahan kimia berdasarkan perbedaan kecepatan atau kemudahan menguap (volatilitas) bahan. Dalam penyulingan, campuran zat dididihkan sehingga menguap, dan uap ini kemudian didinginkan kembali ke dalam bentuk cairan. Zat yang memiliki titik didih lebih rendah akan menguap lebih dulu.

Metode ini termasuk sebagai unit operasi kimia jenis perpindahan massa. Penerapan proses ini didasarkan pada teori bahwa pada suatu larutan, masing-masing komponen akan menguap pada titik didihnya. Ada 4 jenis distilasi, yaitu :

1. Distilasi Sederhana

Pada distilasi sederhana, dasar pemisahannya adalah perbedaan titik didih yang jauh atau dengan salah satu komponen bersifat volatil. Jika campuran dipanaskan maka komponen yang titik didihnya lebih rendah akan menguap lebih dulu. Selain perbedaan titik didih, juga perbedaan kevolatilan, yaitu kecenderungan sebuah substansi untuk menjadi gas. Distilasi ini dilakukan pada

tekanan atmosfer. Aplikasi distilasi sederhana digunakan untuk memisahkan campuran air dan alkohol.

2. Distilasi Fraksionisasi

Fungsi distilasi fraksionasi adalah memisahkan komponen-komponen cair, dua atau lebih, dari suatu larutan berdasarkan perbedaan titik didihnya. Distilasi ini juga dapat digunakan untuk campuran dengan perbedaan titik didih kurang dari 20 °C dan bekerja pada tekanan atmosfer atau dengan tekanan rendah. Aplikasi dari distilasi jenis ini digunakan pada industri minyak mentah, untuk memisahkan komponen-komponen dalam minyak mentah

Perbedaan distilasi fraksionasi dan distilasi sederhana adalah adanya kolom fraksionasi. Di kolom ini terjadi pemanasan secara bertahap dengan suhu yang berbeda-beda pada setiap platnya. Pemanasan yang berbeda-beda ini bertujuan untuk pemurnian distilat yang lebih dari plat-plat di bawahnya. Semakin ke atas, semakin tidak volatil cairannya.

3. 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.

4. Distilasi Vakum

Vakum merupakan suatu kondisi dari udara / gas sekitar lingkungan tertentu dimana tekanan udara dibawah tekanan atmosfer. Untuk menghasilkan vakum perlu untuk mengeluarkan udara dari sistem, ini merupakan prinsip dasar dari cara kerja 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.

Distilasi vakum biasanya digunakan jika senyawa yang ingin didistilasi tidak stabil, dengan pengertian dapat terdekomposisi sebelum atau mendekati titik didihnya atau campuran yang memiliki titik didih di atas 150 °C. Metode distilasi ini tidak dapat digunakan pada pelarut dengan titik didih yang rendah jika kondensornya menggunakan air dingin, karena komponen yang menguap tidak dapat dikondensasi oleh air. Untuk mengurangi tekanan digunakan pompa vakum atau aspirator. Aspirator berfungsi sebagai penurun tekanan pada sistem distilasi ini.

Prinsip dasar dari vakum distilasi, dimana proses tetap pada ruang hampa, aliran cairan dan uap air sangat diperlukan pada langkah-langkah untuk mencapai keseimbangan dimana pada proses tersebut untuk menguapkan komponen yang mudah menguap dan uap air diperkaya pada destilasi dalam vakum, bagaimanapun tanki tidaklah terhubung ke atmosfer, tetapi pompa vakum memelihara sistem tekanan agar tetap di bawah tekanan atmosfer.

1.8 Spektrofotometer UV/Vis

Spektrofotometri merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk menentukan komposisi suatu sampel baik secara kuantitatif dan kualitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya. Peralatan yang digunakan dalam spektrofotometri disebut spektrofotometer.

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrofotometer merupakan gabungan dari alat optik dan elektronika serta sifat-sifat kimia fisiknya. Dimana detektor dapat mengukur intensitas cahaya yang dipancarkan secara tidak langsung cahaya yang diabsorpsi. Tiap media akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu tergantung pada senyawa atau warna yang terbentuk (Riyanto, 2011).

Sinar atau cahaya yang berasal dari sumber tertentu disebut juga sebagai radiasi elektromagnetik. Radiasi elektromagnetik yang dijumpai dalam kehidupan sehari-hari adalah cahaya matahari. Cahaya yang dimaksud dapat berupa cahaya visibel, UV dan inframerah, sedangkan materi dapat berupa atom dan molekul namun yang lebih berperan adalah elektron valensi (Bioslab, 2013).

Spektrofotometer UV-Vis merupakan gabungan antara prinsip spektrofotometri UV dan Visible. Alat ini menggunakan dua buah sumber cahaya yang berbeda, yaitu sumber cahaya UV dan sumber cahaya Visible. Larutan yang dianalisis diukur serapan sinar ultra violet atau sinar tampaknya. Konsentrasi larutan yang dianalisis akan sebanding dengan jumlah sinar yang diserap oleh zat yang terapat dalam larutan tersebut (Bioslab, 2013).

Spektrofotometri uv-vis mengacu pada hukum Lambert-Beer. Apabila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut akan diserap, sebagian dipantulkan dan sebagian lagi akan dipancarkan. Sinar dari sumber cahaya akan dibagi menjadi dua berkas oleh cermin yang berputar pada bagian dalam spektrofotometer. Berkas pertama akan melewati kuvet berisi blanko, sementara berkas kedua akan melewati kuvet berisi sampel. Blanko dan sampel akan diperiksa secara bersamaan. Adanya blanko, berguna untuk menstabilkan absorpsi akibat perubahan voltase dari sumber cahaya (Riyanto, 2011).

Berikut bagian-bagian dari alat spektrofotometer Uv/Vis (Maya, 2007) :

1. Sumber cahaya

- a. Lampu Tungsten (Wolfram): Lampu ini digunakan untuk mengukur sampel pada daerah tampak. Bentuk lampu ini mirip dengan bola lampu pijar biasa.

Memiliki panjang gelombang antara 350-2200 nm. Spektrum radiasinya berupa garis lengkung. Umumnya memiliki waktu 1000 jam pemakaian.

- b. Lampu Deuterium : Lampu ini dipakai pada panjang gelombang 190-380 nm. Spektrum energi radiasinya lurus, dan digunakan untuk mengukur sampel yang terletak pada daerah uv. Memiliki waktu 500 jam pemakaian.

2. Monokromator

- a. Prisma, berfungsi mendispersikan radiasi elektromagnetik sebesar mungkin supaya di dapatkan resolusi yang baik dari radiasi polikromatis.
- b. Kisi difraksi, berfungsi menghasilkan penyebaran dispersi sinar secara merata, dengan pendispersi yang sama, hasil dispersi akan lebih baik. Selain itu kisi difraksi dapat digunakan dalam seluruh jangkauan spektrum.
- c. Celah optis, berfungsi untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diharapkan dari sumber radiasi. Apabila celah berada pada posisi yang tepat, maka radiasi akan dirotasikan melalui prisma, sehingga diperoleh panjang gelombang yang diharapkan.
- d. Filter, berfungsi untuk menyerap warna komplementer sehingga cahaya yang diteruskan merupakan cahaya berwarna yang sesuai dengan panjang gelombang yang dipilih.

3. Kompartemen sampel

Kompartemen ini digunakan sebagai tempat diletakkannya kuvet. Kuvet merupakan wadah yang digunakan untuk menaruh sampel yang akan dianalisis. Kuvet yang baik harus memenuhi beberapa syarat sebagai berikut :

- a. Permukaannya harus sejajar secara optis.
- b. Tidak berwarna sehingga semua cahaya dapat di transmisikan.
- c. Tidak ikut bereaksi terhadap bahan-bahan kimia dan tidak rapuh.

4. Detektor

- a. *Phototube* dengan jangkauan panjang gelombang (λ) 150 – 1000 nm.
- b. *Photomultiplier* dengan jangkauan panjang gelombang 150 – 1000 nm

5. Visual Display

Merupakan sistem baca yang memperagakan besarnya isyarat listrik yang dinyatakan dalam bentuk % Transmittan maupun Absorbansi.

Penyerapan sinar uv dan sinar tampak oleh molekul, melalui 3 proses yaitu :

- a. Penyerapan oleh transisi elektron ikatan dan electron anti ikatan.
- b. Penyerapan oleh transisi elektron d dan f dari molekul kompleks.
- c. Penyerapan oleh perpindahan muatan.

Serapan molekul di dalam daerah ultra ungu dan terlihat dari spektrum bergantung pada struktur ultra elektronik dari molekul. Penyerapan sejumlah energi, menghasilkan percepatan dari elektron dalam orbital tingkat dasar ke orbital yang berenergi lebih tinggi di dalam keadaan tereskitasi.

2.8.1 Tipe Instrumen Spektrofotometer

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

1. *Single-beam instrument*

Single-beam instrument 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, DA, 1996).

2. *Double-beam instrument*

Double-beam dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm. *Double-beam instrument* dimana mempunyai dua sinar yang dibentuk

oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blangko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel, mencocokkan fotodetektor yang keluar menjelaskan perbandingan yang ditetapkan secara elektronik dan ditunjukkan oleh alat pembaca (Skoog, DA, 1996).

Ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam analisis dengan spektrofotometri UV-Vis terutama untuk senyawa yang semula tidak berwarna yang akan dianalisis dengan spektrofotometri visibel karena senyawa tersebut harus diubah terlebih dahulu menjadi senyawa yang berwarna.

Berikut adalah tahapan-tahapan yang harus diperhatikan :

1. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis

Hal ini perlu dilakukan jika senyawa yang dianalisis tidak menyerap pada daerah tersebut. Cara yang digunakan adalah dengan merubah menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu. Pereaksi yang digunakan harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu :

1. Reaksinya selektif dan sensitif.
2. Reaksinya cepat, kuantitatif, dan reproduisibel.
3. Hasil reaksi stabil dalam jangka waktu yang lama.
4. Waktu operasional

Cara ini biasa digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan.

2. Pemilihan panjang gelombang

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Ada beberapa alasan mengapa harus menggunakan panjang gelombang maksimal, yaitu :

1. Pada panjang gelombang maksimal, kepekaannya juga maksimal karena pada panjang gelombang maksimal tersebut, perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar.
2. Disekitar panjang gelombang maksimal, bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum Lambert-Beer akan terpenuhi.
3. Jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali, ketika digunakan panjang gelombang maksimal (Rohman, Abdul, 2007).