

Bab II

Tinjauan Pustaka

1.1 Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Bunga telang (*Clitoria ternatea*), merupakan bunga yang khas dengan kelopak tunggal berwarna ungu. Tanaman telang dikenali sebagai tumbuhan merambat yang sering ditemukan di pekarangan atau tepi persawahan/perkebunan. Dilihat dari bijinya yang serupa dengan kacang hijau, tumbuhan ini termasuk suku polong - polongan. Selain bunga ungu, bunga telang juga dapat ditemui dengan warna pink, biru muda dan putih (Budiasih, 2017). Selain sebagai tanaman hias, sejak dulu tumbuhan ini dikenal secara tradisional sebagai obat untuk mata, dan pewarna makanan yang memberikan warna biru. Dilihat dari tinjauan fitokimia, bunga telang memiliki sejumlah bahan aktif yang memiliki potensi farmakologi. Potensi farmakologi bunga telang antara lain adalah sebagai antioksidan, antibakteri, anti inflamasi dan analgesik, antiparasit dan antisisida, antidiabetes, anti-kanker, antihistamin, immunomodulator, dan potensi berperan dalam susunan syaraf pusat. Bagian lain dari tanaman ini, yaitu daun dan akar juga memiliki potensi tersendiri (Budiasih, 2017).

Tanaman *Clitoria ternatea* berasal dari Amerika Selatan bagian tengah yang menyebar ke daerah tropik sejak abad 19, terutama ke Asia Tenggara termasuk Indonesia. *Clitoria ternatea* merupakan salah satu tanaman semak belukar yang umum tumbuh di tempat terbuka sepanjang jalan dan lereng. Tanaman ini secara alami ditemukan pada padang rumput, hutan terbuka, semak, pinggiran sungai, dan tempat-tempat terbuka lainnya, serta merupakan tanaman merambat pada tanaman pohon ataupun pagar pekarangan. Tanaman ini tumbuh pada berbagai jenis tanah, terutama pada tanah berpasir dan tanah liat merah dengan kisaran pH tanah 5,5-8,9. Tanaman ini memerlukan kelembaban dengan iklim tropis dataran rendah dengan rata-rata curah hujan tahunan sekitar 2000 mm. Tanaman ini tumbuh subur di bawah sinar matahari penuh, tetapi dapat tumbuh di bawah naungan seperti di perkebunan karet dan kelapa. (Cook et al, 2015).



Gambar 2. 1. Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) (Budiasih, 2017)

Adapun taksonomi tumbuhan telang dikutip dari (Budiasih, 2017) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Tracheophyta
Infrodivisi : Angiospermae
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Fabales
Familia : Fabaceae
Genus : *Clitoria* L.
Spesies : *Clitoria ternatea*

Tanaman *Clitoria ternatea* yang mempunyai nama umum kembang telang berbentuk perdu tahunan yang memiliki perakaran yang dalam dan berkayu, batang agak menanjak atau tegak dan memanjat dengan tinggi antara 20-90 cm, berbulu halus, berdaun tiga, anak daun berbentuk lonjong, permukaan atas tidak berbulu dan permukaan bawah dengan bulu yang tersebar, pembungaan tandan di ketiak dengan 1-2 bunga, panjang tangkai daun hingga 4 cm, kelopak daun berwarna ungu hingga hampir putih, buah polong berbentuk memipil lonjong, tidak berbulu, berbiji 3-7, katup cembung, biji bundar hingga bulat telur, berwarna kecoklatan (Cook et al, 2015). Bunga telang mengandung tanin, flobatanin, karbohidrat, saponin, triterpenoid, flavonoid, fenolmfavanoid, flavanol glikosida, protein, alkaloid, antrakuinon, antosianin, stigmasit 4-ena-3,6 dion, minyak volatil dan steroid. Komposisi asam lemak meliputi asam palmitat, stearat, oleat linoleat, dan linolenat Biji bunga telang juga mengandung asam sinamat, finotin dan beta sitosterol (Budiasih, 2017).

1.2 Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.)

Secang ditemukan pertama kali oleh Kimichi (seorang berkebangsaan Spanyol) di Brazil. Sesuai dengan tempat asalnya, tanaman ini disebut kayu Brazil (*Brazil wood*). Secang

dikenal di berbagai daerah di Indonesia dengan nama lokal yang berbeda-beda, seperti seupeng (Aceh), sepang (Gayo), opang (Batak), cacang (Minangkabau), secang (Sunda), kayu secang, soga Jawa (Jawa), kaju secang (Madura), cang (Bali), sepang (Sasak), supu, suang (Bima), sepel (Timor), hong (Alor), kayu sema (Manado), apang (Makassar), seppang (Bugis), sefen (Halmahera Selatan), lacang (Minangkabau), sepel (Timor) (Ramdani sari & Suhartati, 2010).



Gambar 2. 2. Kayu secang (*Caesalpinia sappan L*) (Sastiani, 2019)

Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Resales
Suku : Cesalpiniaceae
Marga : *Caesalpinia*
Jenis : *Caesalpinia sappan L*

Kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) merupakan tanaman famili *Caesalpiniaceae* yang banyak ditemui di Indonesia. Kayu secang secara empiris diketahui memiliki banyak khasiat penyembuhan dan sering dikonsumsi oleh masyarakat sebagai minuman kesehatan. Kayu secang memiliki kandungan senyawa berupa brazilin ($C_{16}H_{14}O_5$), sappanin ($C_{12}H_{12}O_4$), *brazilein*, dan minyak atsiri seperti D- α -felandrena, asam galat, osinema, dan damar. kayu secang memiliki daya antioksidan yang andal dengan indeks antioksidatif ekstrak air kayu secang lebih tinggi daripada antioksidan komersial (BHT dan BHA) sehingga potensial sebagai agen penangkal radikal bebas (Sugiyanto, 2013). Kandungan brazilin dalam kayu secang memberikan warna yang khas pada kayu secang, ekstrak etanol dan metanol kayu secang menghasilkan warna coklat kemerahan dan menghasilkan warna merah cerah ketika dilarutkan dalam air . Hasil penelusuran literatur menunjukkan bahwa ekstrak kayu secang dalam pelarut etanol 70 % (berwarna merah) ditambahkan pada larutan dapar pH 3,8-6,2

menjadi berwarna kuning lemah (jernih), pH 7,0-8,6 menjadi berwarna merah muda, pada pH 8,6-9,4 berwarna jingga, dan pada pH 10,9-12 larutan berwarna merah muda (Padmaningrum dkk, 2012).

1.3 Ekstraksi

Ekstraksi serbuk kering jaringan tumbuhan dapat dilakukan secara maserasi, refluks, atau sokletasi dengan menggunakan pelarut yang tingkat kepolarannya berbedabeda. Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyari tertentu. Proses ekstraksi bertujuan untuk mendapat bagian-bagian tertentu dari bahan yang mengandung komponen-komponen aktif. Teknik ekstraksi yang tepat pastinya berbeda untuk masing-masing bahan. Hal ini dipengaruhi oleh tekstur kandungan bahan dan jenis senyawa yang didapat. Ada beberapa metode ekstraksi yang dapat dilakukan, pertama dengan menggunakan cara dingin yang terdiri dari maserasi dan perkolasi. Cara kedua dengan cara panas yang terdiri dari refluks, digesti, infusa, dekok, dan sokletasi (Kristanti, 2018).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi adalah teknik yang digunakan untuk menarik atau mengambil senyawa yang diinginkan dari suatu larutan atau padatan dengan teknik perendaman terhadap bahan yang akan diekstraksi. Sampel yang telah dihaluskan direndam dalam suatu pelarut organik selama beberapa waktu (Ibrahim & Marham, 2013). Menurut Koirewoa (2012), proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pelarut yang mengalir ke dalam sel dapat menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan larut sesuai dengan kelarutannya. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut.

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah *inert* yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan

banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

1.4 Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai molekul atau fragmen molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas dapat terbentuk melalui peristiwa metabolisme sel normal, kekurangan gizi dan akibat respons terhadap pengaruh dari luar tubuh seperti polusi dan sinar ultraviolet. Radikal bebas berperan dalam terjadinya berbagai penyakit degeneratif karena radikal bebas dapat merusak makromolekul lipid membran sel, DNA, dan protein (Valko et al, 2006). Radikal bebas juga dijumpai pada lingkungan, beberapa logam (contohnya besi dan tembaga), asap rokok, obat, makanan dalam kemasan, bahan aditif, dan lain-lain (Droge, 2002). Dalam melindungi tubuh dari serangan radikal bebas, substansi antioksidan berfungsi untuk menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga menghambat terjadinya reaksi berantai (Windono et al, 2001).

Menurut Windono et al, (2001) antioksidan adalah senyawa yang dapat digunakan untuk melindungi bahan pangan melalui perlambatan kerusakan, ketengikan atau perubahan warna yang disebabkan oleh oksidasi. Antioksidan mampu bertindak sebagai penyumbang radikal hidrogen atau dapat bertindak sebagai akseptor radikal bebas sehingga dapat menunda tahap inisiasi pembentukan radikal bebas. Antioksidan merupakan substansi nutrisi maupun non nutrisi yang terkandung dalam bahan pangan, yang mampu mencegah atau memperlambat terjadinya reaksi oksidasi dalam tubuh. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan kosmetik serta berperan penting dalam mempertahankan mutu produk pangan (Heo dkk, 2005). Antioksidan dalam pengertian kimia, merupakan senyawa pemberi elektron. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa terhambat. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Salah satu metode yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH dan membentuk DPPH tereduksi. Jika semua elektron pada

radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang (Rohman et al, 2010).

1.4.1 Fungsi dan Jenis Antioksidan

Antioksidan berfungsi sebagai sistem pertahanan terhadap radikal bebas, namun peningkatan produksi radikal bebas yang terbentuk akibat faktor stres, radiasi ultraviolet, polusi udara, dan lingkungan mengakibatkan sistem pertahanan tersebut kurang memadai, sehingga diperlukan tambahan antioksidan dari luar. Jenis antioksidan di luar tubuh dapat diperoleh dalam bentuk sintesis dan alami. Antioksidan sintetis seperti *buthylated hydroxytoluene* (BHT), *buthylated hidroksianisol* (BHA), dan *ters-butylhydroquinone* (TBHQ) secara efektif dapat menghambat oksidasi. Namun, antioksidan sintesis dibatasi oleh aturan pemerintah karena, jika penggunaannya melebihi batas justru dapat menyebabkan racun dalam tubuh dan bersifat karsinogenik, sehingga dibutuhkan antioksidan alami yang aman (Aditya dkk, 2016).

1.4.2 Antioksidan Berdasarkan Manfaatnya

Berdasarkan sumbernya (Sussi, 2018), manfaat antioksidan dapat dibagi menjadi dua yaitu :

a. Antioksidan primer

antioksidan primer merupakan substansi yang berperan sebagai akseptor radikal bebas sehingga dapat menghambat mekanisme radikal bebas pada proses oksidasi. Antioksidan ini juga disebut sebagai antioksidan pemecah rantai yang dapat bereaksi dengan radikal lipid dan mengubahnya menjadi bentuk yang lebih stabil. Contoh antioksidan primer antara lain tokoferol dan asam askorbat.

b. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder atau antioksidan pelindung berperan dalam mereduksi kecepatan rantai inisiasi melalui berbagai mekanisme. Mekanisme antioksidannya dapat terjadi melalui pengikatan ion-ion logam, scavenger oksigen, dekomposisi hidroperoksida menjadi bentuk-bentuk non radikal, menyerap radiasi sinar ultra violet atau deaktivasi singlet oksigen. Contoh antioksidan sekunder antara lain asam sitrat dan turunan asam fosfat, karoten, enzim superoksida dismutase, katalase dan glutathion peroksidase.

1.5 Skrining Fitokimia

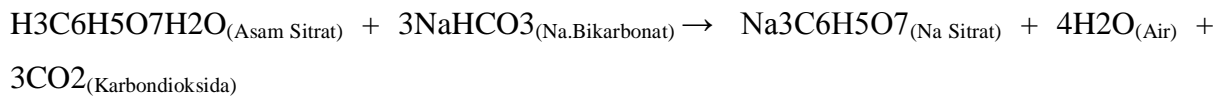
Skirining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan memberi gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Metode skrining fitokimia yang dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna. Skrining fitokimia juga merupakan metode yang digunakan untuk mempelajari komponen senyawa aktif yang terdapat pada sampel yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman. Sampel tanaman yang digunakan dalam uji fitokimia dapat berupa daun, batang, buah, bunga umbi dan akarnya yang memiliki khasiat sebagai obat dan digunakan sebagai bahan mentah dalam pembuatan obat modern maupun obat-obatan tradisional (Agustina dkk, 2016)

Skrining fitokimia dilakukan dengan metode uji tabung menggunakan pereaksi-pereaksi yang sesuai untuk golongan senyawa yang akan di uji yaitu *alkaloid*, *polifenol*, *tanin*, *flavonoid* dan *saponin*. Kromatografi lapis tipis merupakan uji untuk menegaskan hasil uji tabung. Pemeriksaan senyawa kimia dilakukan terhadap senyawa *polifenol*, *flavonoid* dan *saponin* yang telah diketahui memberikan hasil positif dalam larutan uji pada uji tabung. Pemeriksaan golongan senyawa dideteksi dibawah sinar UV (*ultra violet*) dan dipertegas dengan dilakukan penyemprotan dengan suatu pereaksi pada plat KLT. Pereaksi *Dragendroff* dan pereaksi *Meyer* digunakan untuk mendeteksi golongan senyawa *alkaloid* lalu diamati ada tidaknya endapan. Pereaksi $FeCl_3$ digunakan untuk pemeriksaan *polifenol* dengan mengamati warna larutan hasil reaksi. Pereaksi gelatin 1% digunakan untuk pemeriksaan tanin lalu diamati ada tidaknya endapan. Pereaksi uap ammonia digunakan untuk pemeriksaan *flavonoid*. Uji buih dan penambahan HCl digunakan untuk mendeteksi adanya saponin (Kumalasari & Sulistyani, 2011).

1.6 Granul *Effervescent*

Granul *effervescent* merupakan produk granul atau serbuk kasar sampai kasar sekali yang mengandung unsur obat dalam campuran yang kering, biasanya terdiri dari natrium bikarbonat, asam karbonat dan asam tartrat. Campuran ini bila ditambah dengan air, asam dan karbonatnya akan bereaksi dan membebaskan karbondioksida yang menghasilkan buih. *effervescent* disukai karena mempunyai warna, bau dan rasa yang menarik. Selain itu jika dibanding dengan minuman serbuk biasa, serbuk *effervescent* memiliki keunggulan pada kemampuan untuk menghasilkan gas karbon dioksida yang memberikan rasa segar seperti pada air soda. Gas tersebut akan menutupi rasa pahit dan juga mempermudah

proses pelarutannya tanpa harus dilakukan lagi pengadukan (Permana et al, 2012). Reaksi antara asam sitrat dengan natrium bikarbonat, dapat dilihat sebagai berikut:



Reaksi diatas menjelaskan bahwa dibutuhkan 3 molekul natrium bikarbonat untuk menetralkan 1 molekul asam sitrat. Reaksi ini akan memberikan efek *sparkle* atau rasa seperti minuman soda yang berlangsung cukup cepat, umumnya selesai dalam waktu kurang dari lima menit dan menghasilkan larutan yang jernih (Pulungan dkk, 2004).

1.7 Bahan Tambahan

1. Asam Sitrat

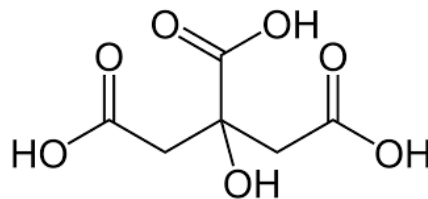
Nama lain : Acidum Sitrat

Rumus kimia : $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$

Pemerian : Hablur tidak berwarna / serbuk putih tidak berbau, rasa asam. Agak higroskopis, merapuh dalam udara kering dan panas

Kelarutan : Larut kurang dari 1 bagian air dan dalam 1,5 etanol (95 %) P
Sukar larut dalam air

Fungsi : Digunakan untuk memberi rasa dalam minuman (Depkes, 1995)



Gambar 2. 3. Asam Sitrat (Depkes, 1995)

2. Natrium Bikarbonat

Nama lain : Natrium Subcarbonas

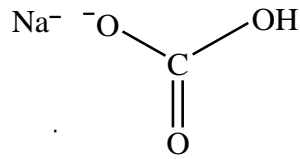
Rumus kimia : NaHCO_3

BM : 84,01

Pemerian : Serbuk hablur putih, stabil diudara kering, tetapi dalam udara lembab secara perlahan-lahan terurai, Larutan segar dalam air dingin, tanpa dikocok, bersifat basa pada lakmus. Kebasaan bertambah bila larutan dibiarkan, digoyang atau dipanaskan.

Kelarutan : Larut dalam air, tidak larut dalam etanol

Fungsi : Sebagai bahan tambahan dan sebagai pembentuk zat CO₂



Gambar 2. 4. Natrium Bikarbonat (Depkes, 1995)

3. PVP (*Polyvinyl Pyrolydone*)

Nama lain : Povinil Pirolidon

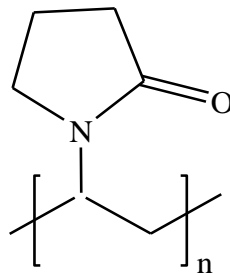
Rumus kimia : (C₃H₅O₂)

Berat Jenis : 0,29 – 0,39 g/ml

Pemerian : Serbuk sangat halus berwarna putih atau putih kekuningan, hampir tidak berbau, higroskopik.

Kelarutan : Mudah larut dalam air, etanol (95%), dan dalam kloroform

Fungsi : Sebagai bahan tambahan dan sebagai bahan pengikat.



Gambar 2. 5. Polyvinyl Pyrolydone (Depkes, 1995)

4. Sakarin

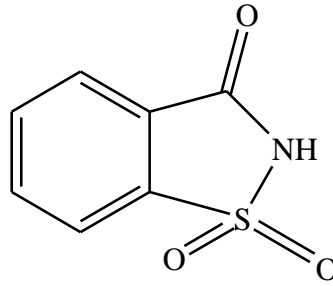
Nama lain : Saccharinum

Rumus kimia : C₇H₅NO₃S

BM : 183,18

Pemerian : Serbuk atau hablur putih, tidak berbau, atau berbau aromatik lemah, larutan encer sangat manis, larutan bereaksi asam terhadap lakmus.

Fungsi : Sebagai bahan pemanis



Gambar 2. 6. Sakarin (Depkes, 1995)

5. Laktosa

Nama lain : Saccharum Lactis

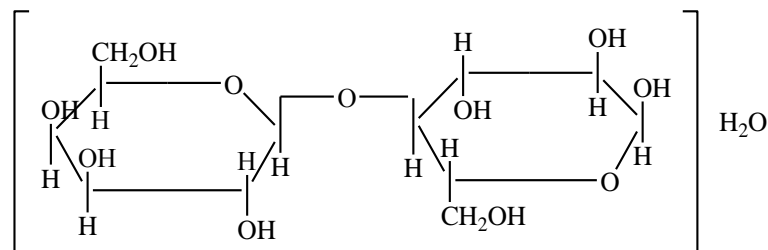
Rumus kimia : $C_{12}H_{22}O_{11}$

BM : 343,4

Pemerian : Berupa serbuk atau massa hablur, keras, putih.

Kelarutan : Mudah larut dalam air dan lebih mudah dalam air mendidih, sukar larut dalam etanol, tidak larut dalam kloroform dan dalam eter.

Fungsi : Sebagai bahan pengisi (Permana et al, 2012).



Gambar 2. 7. Laktosa (Depkes, 1995)

6. Aquadest

Aquadest merupakan air murni yang dihasilkan dengan cara penyulingan, pertukaran ion, osmosis terbalik atau dengan cara yang sesuai. Proses pembuatannya dilakukan dengan menggunakan air yang dapat diminum. Aquadest berbentuk cairan jernih yang tidak berwarna, berasa, maupun berbau (Depkes, 1995).

1.8 Uji Antioksidan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) *In Vitro*

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara *in vitro* dengan metode DPPH. DPPH (2,2 difenil-1- pikrihidrazil) merupakan suatu senyawa radikal yang bersifat stabil. DPPH digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan melalui kemampuannya dalam menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan transfer elektron yang

dilakukan oleh antioksidan. Semula DPPH yang berwarna ungu pekat memberikan serapan pada panjang gelombang 517 nm namun setelah mengalami reduksi maka DPPH akan berubah menjadi senyawa difenil pikril hidrazin yang warnanya akan berangsurangsur memudar menjadi warna kuning dan nilai serapannya akan sebanding dengan jumlah elektron yang diterima (Sunarni, 2007). Pengujian menggunakan DPPH akan menghasilkan informasi mengenai aktivitas antioksidan dalam menangkal radikal bebas yang dilihat berdasarkan nilai IC50 dan data yang dihasilkan perlu dibandingkan dengan senyawa lain yang memiliki aktivitas antioksidan yang baik seperti vitamin C. IC50 yaitu besarnya konsentrasi inhibisi larutan uji terhadap kemampuannya menurunkan aktivitas radikal bebas sebesar 50%.

1.9 Spektrofotometri UV – Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah salah satu alat ukur untuk analisa unsur-unsur berkadar rendah secara kuantitatif maupun secara kualitatif. Penentuan secara kualitatif berdasarkan puncak-puncak yang dihasilkan pada spektrum suatu unsur tertentu pada panjang gelombang tertentu, sedangkan penentuan secara kuantitatif berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan dari spektrum senyawa kompleks unsur yang dianalisa dengan pengompleks yang sesuai. Pembentukan warna dilakukan dengan cara menambahkan bahan pengompleks yang selektif terhadap unsur yang ditentukan. Spektrofotometer UV-VIS adalah salah satu metode instrumen yang paling sering diterapkan dalam analisis kimia untuk mendeteksi senyawa (padat/cair) berdasarkan absorbansi foton. Agar sampel dapat menyerap foton pada daerah UV-VIS (panjang gelombang foton 200 nm – 700 nm), biasanya sampel harus diperlakukan atau derivatisasi, misalnya penambahan reagen dalam pembentukan garam kompleks dan lain sebagainya. Unsur diidentifikasi melalui senyawa kompleksnya. Persyaratan kualitas dan validitas kinerja hasil pengukuran spektrofotometer dalam analisis kimia didasarkan pada acuan ISO 17025, *Good Laboratory Practice* (GLP) atau rekomendasi dari *Pharmacopeia* (EP, DAB, USP), (Irawan, 2019). Hal-hal yang harus diperhatikan dalam analisis spektrofotometri UV – Vis :

1. Penentuan Panjang Gelombang

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang dimana terjadi absorbansi maksimum. Untuk memperoleh panjang gelombang serapan maksimum dapat diperoleh dengan membuat hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku dengan konsentrasi tertentu.

2. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dilakukan dengan membuat seri larutan baku dalam berbagai konsentrasi kemudian absorbansi tiap konsentrasi diukur lalu dibuat kurva yang meruapakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi. Kurva kalibrasi yang lurus menandakan bahwa hukum Lambert-Beer terpenuhi.

3. Pembacaan Absorbansi Sampel

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2-0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmittan. Hal ini disebabkan karena pada kisaran ini nilai absorbansi tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi adalah paling minimal.

1.10 Kegunaan Spektrofotometri UV – Vis

1.10.1 Analisis kualitatif

Kegunaan spektrofotometri ultraviolet dalam analisis kualitatif sangat terbatas, karena rentang daerah radiasi yang relatif sempit hanya dapat mengakomodasi sedikit sekali puncak absorpsi maksimum dan minimum, karena itu identifikasi senyawa yang tidak diketahui, tidak memungkinkan. Penggunaannya terbatas pada konfirmasi identitas dengan menggunakan parameter panjang gelombang puncak absorpsi maksimum, λ_{max} , nilai absorptivitas, a , nilai absorptivitas molar, ϵ , atau nilai ekstingsi, $A_{1\%, 1cm}$, yang spesifik untuk suatu senyawa yang dilarutkan dalam suatu pelarut dan pH (Hafiz Iqbal dkk, 2014)

1.10.2 Analisis Kuantitatif

Penggunaan utama spektrofotometri ultraviolet adalah dalam analisis kuantitatif. Apabila dalam alur spektrofotometer terdapat senyawa yang mengabsorpsi radiasi, akan terjadi pengurangan kekuatan radiasi yang mencapai detektor. Parameter kekuatan energi radiasi khas yang diabsorpsi oleh molekul adalah absorbansi (A) yang dalam batas konsentrasi rendah nilainya sebanding dengan banyaknya molekul yang mengabsorpsi radiasi dan merupakan dasar analisis kuantitatif. Penentuan kadar senyawa organik yang mempunyai gugus khromofor dan mengabsorpsi radiasi ultraviolet-sinar tampak, penggunaannya cukup luas. Konsentrasi kerja larutan analit umumnya 10 sampai 20 $\mu\text{g/ml}$, tetapi untuk senyawa yang nilai absorptivitasnya besar dapat diukur pada konsentrasi yang lebih rendah. Senyawa yang tidak mengabsorpsi radiasi ultraviolet-sinar tampak dapat juga ditentukan dengan spektrofotometri ultraviolet-sinar tampak, apabila ada reaksi kimia yang dapat mengubahnya menjadi khromofor atau dapat disambungkan dengan suatu pereaksi khromofor (Hafiz Iqbal dkk, 2014)

1.11 Uji Mutu Granul *Effervescent*

Pengujian sifat fisik pada sediaan granul *effervescent* sangat diperlukan, untuk melihat kualitas serta mutu dari suatu granul . Pengujian yang dilakukan antara lain uji organoleptik, kadar air, uji PH, kecepatan alir dan waktu dispersi.

a. Uji Organoleptik

Uji organoleptis dilakukan dengan melihat kejernihan, mencium bau dan warna dari Granul *effervescent* yang dibuat (Rahayu, 1994)

b. Uji Kecepatan Alir

Uji kecepatan alir dimasukkan ke dalam corong, lalu alat dihidupkan. Waktu alir granul dicatat, setelah itu dihitung aliran granul (Aulton, 2002).

c. Uji Sudut diam

Fixed funnel method digunakan untuk mengukur sudut diam. Corong ditutup pada bagian ujungnya pada ketinggian tertentu (h), sedangkan pada bagian bawah diletakkan kertas grafik. Granul kemudian dimasukkan kedalam corong dan dibiarkan mengalir hingga bagian atas gundukan granul menyentuh ujung corong. Radius dasar gundukan diukur. Sudut diam (θ) dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\tan \theta = h/r \quad (2.1)$$

Dimana, θ = sudut diam, h = ketinggian gundukan, r = radius dari dasar gundukan.

Nilai untuk sudut diam $\leq 30^\circ$ biasanya menunjukkan bahan bebas mengalir dan sudut diam $\geq 40^\circ$ menunjukkan bahan yang memiliki aliran yang buruk, 25 - 30 menunjukkan sifat aliran yang paling baik, 31 - 35 menunjukkan sifat aliran yang baik, 36 - 40 menunjukkan sifat aliran yang cukup dan 41 - 45 menunjukkan sifat aliran *passable* (Aulton, 2006).

d. Uji Waktu Larut

Waktu larut adalah waktu yang dibutuhkan produk untuk larut secara cepat. Menurut *British Pharmacopoeia* waktu larut granul *effervescent* adalah kurang dari <5 menit. Cara pengujian dengan memasukkan sejumlah granul tiap formula ke dalam 200 mL *aquadest* pada suhu 15-25°C. Waktu larut dihitung dengan menggunakan *stopwatch* dimulai dari granul tercelup ke dalam *aquadest* sampai semua granul terlarut dan gelembung-gelembung di sekitar wadah mulai menghilang. Waktu larut granul *effervescent* berkisar antara 1-2 menit. Bila granul tersebut terdispersi dengan baik dalam air dengan waktu ≤ 5 menit, maka sediaan tersebut memenuhi persyaratan waktu larut (Burhan, 2014)

e. Uji Kadar Air

Uji kadar air dilakukan untuk mengetahui kadar air dalam granul, syarat kadar air yang baik adalah 0,4%-0,7% Kadar air yang tinggi berkaitan dengan reaksi *effervescent*, jika

kadar air terlalu tinggi maka akan memicu terjadinya reaksi *effervescent* sehingga diperlukan kadar air yang rendah (Noerwahid, 2016).

f. Uji PH

Sediaan granul effervescent yang telah dilarutkan dalam akuades, diukur pHnya dengan menggunakan pH meter (Kailaku at al, 2012).

g. Kompresibilitas Granul

Indeks kompresibilitas (*Carr's index*) adalah pengukuran propensitas serbuk untuk dikempa. *Carr's index* ditentukan dari densitas bulk dan densitas mampat. Secara teori, semakin kurang granul dapat dikempa semakin dapat mengalir sutau granul. Dengan demikian, *Carr's index* mengukur pentingnya interaksi antarpartikel. Untuk serbuk yang bebas mengalir, interaksi tersebut pada umumnya kurang signifikan, dan nilai densitas bulk dan mampat akan berdekatan. Untuk bahan yang alirannya buruk, seringkali terjadi interaksi antarpartikel yang lebih besar, dan nilai densitas bulk dan densitas mampat akan jauh berbeda. Perbedaan nilai tersebut akan tergambarkan pada nilai *Carr's index* yang dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Indeks kompresibilitas} = [(\rho_{\text{tap}} - \rho_{\text{b}})/\rho_{\text{tap}}] \times 100 \quad (2.2)$$

Dimana, ρ_{b} = Densitas bulk, ρ_{tap} = Densitas mampat

Tabel 2. 1. Nilai *Carr's index* (indeks Kompresibilitas)

<i>Carr's Index</i>	Deskripsi
≤ 10	Baik Sekali
11 – 15	Baik
16 – 20	Sedang
21 – 25	<i>passable</i>
26 – 31	Buruk
32 - 37	Sangat Buruk
≥ 38	Sangat – Sangat buruk

Hausner's ratio adalah indeks tidak langsung dari kemudahan aliran serbuk. Hausner's ratio dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Hausner's Ratio} = \text{densitas mampat } (\rho_t) / \text{densitas bulk } (\rho_b) \quad (2.3)$$

Dimana ρ_t densitas mampat dan ρ_b adalah densitas bulk. Semakin rendah nilai *Hausner's ratio* (1,25) menunjukkan sifat aliran yang baik dibanding dengan nilai yang lebih tinggi, antara 1,25 - 1,5 menunjukkan sifat aliran kurang baik dan lebih dari 1,5 menunjukkan aliran yang buruk (Aulton, 2006)

Tabel 2. 2. Klasifikasi penafsiran hasil dari Hausner Ratio

<i>Hausner Ratio</i>	Deskripsi
1,25	Baik
1,25 – 1,5	Sedang
1,5	Buruk

h. Distribusi Ukuran Partikel

Perhitungan distribusi ukuran partikel secara modern umumnya menggunakan analisis gambar atau beberapa jenis perhitungan partikel. Gambar partikel dapat diperoleh dengan menggunakan mikroskop elektron seperti SEM dan TEM. Pengukuran distribusi ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan metode *dynamic light scattering* (DLS) pada alat *particle size analyzer* (PSA). PSA merupakan alat yang mampu mengukur distribusi ukuran partikel. Metode lain yang dapat digunakan untuk menentukan distribusi ukuran partikel yaitu dengan menggunakan metode ayakan dan coulter counter. PSA dapat digunakan untuk menganalisis partikel suatu sampel yang bertujuan menentukan ukuran globul dan distribusi ukuran partikel dari sampel. Distribusi ukuran partikel dapat diketahui melalui gambar yang dihasilkan. Nilai *polidispersitas indeks* (PI) menggambarkan distribusi ukuran partikel. Nilai PI yang baik menunjukkan stabilitas jangka panjang yang baik. Ukuran partikel dapat dinyatakan dalam jari-jari untuk partikel yang berbentuk bola. Penentuan ukuran dan distribusi ukuran partikel menggunakan PSA dapat dilakukan dengan beberapa cara. Pertama, dengan difraksi sinar laser untuk partikel dari ukuran submikron sampai dengan milimeter. *principle* untuk mengukur dan menghitung partikel berukuran mikron sampai milimeter.

Terakhir, dengan penghamburan sinar untuk mengukur partikel yang berukuran mikron sampai dengan nanometer (Octavia, 2012).

1.12 Uji Asumsi Anova

Uji asumsi Anova dibagi menjadi 2 yaitu uji kenormalan data dan uji homogenitas data.

2.12.1 Uji Asumsi Kenormalan

Uji asumsi kenormalan bertujuan untuk mengetahui apakah residual/*error* terdistribusi secara normal. Uji asumsi kenormalan dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu visual dan analitis. Data dikatakan terdistribusi normal secara visual apabila residual plotnya menyerupai garis lurus. Langkah-langkah uji kenormalan data secara analitis adalah sebagai berikut. Hipotesis: H_0 : Residual plot terdistribusi normal dan H_1 : Residual plot terdistribusi tidak normal. Pengambilan keputusan: Jika nilai $p > \alpha$, maka H_0 diterima dan Jika nilai $p < \alpha$, maka H_0 ditolak (Oktaviani et al, 2014).

1.13 Uji Anova (*Analysis of Variance*)

Analysis of variance merupakan metode untuk menguji hubungan antara satu variabel dependen (skala metrik) dengan satu atau lebih variabel independen (skala nonmetrik atau kategorikal dengan kategori lebih dari dua). Hubungan antara satu variabel dependen dengan satu variabel independen disebut *Anova One Way*. Anova digunakan untuk mengetahui pengaruh utama (*main effect*) dan pengaruh interaksi (*interaction effect*) dari variabel independen kategorikal (faktor) terhadap variabel dependen metrik. Pengaruh utama atau *main effect* adalah pengaruh langsung variabel independen terhadap variabel dependen. Sedangkan pengaruh interaksi adalah pengaruh bersama atau *joint effect* dua atau lebih variabel independen terhadap variabel dependen.

Untuk dapat menggunakan uji statistik ANOVA harus dipenuhi beberapa asumsi di bawah ini:

- a. *Homogeneity of variance* : Variabel dependen harus memiliki varian yang sama dalam setiap kategori variabel independen. Jika terdapat lebih dari satu variabel independen, maka harus ada *homogeneity of variance* di dalam *cell* yang dibentuk oleh variabel independen kategorikal. SPSS memberikan *test* ini dengan nama *Levene's test of homogeneity of variance*. Jika nilai *Levene test* signifikan (probabilitas < 0.05) maka hipotesis nol akan ditolak bahwa grup memiliki *variance* yang berbeda dan hal ini menyalahi asumsi. Jika yang dikehendaki adalah tidak dapat menolak hipotesis nol atau hasil *Levene test* tidak signifikan (probabilitas > 0.05).

b. *Random Sampling* : Untuk tujuan uji signifikansi, maka subyek di dalam setiap grup harus diambil secara random.

Multivariate Normality : Untuk tujuan uji signifikansi, maka variabel harus mengikuti distribusi *normal multivariate*. Variabel dependen terdistribusi secara normal dalam setiap kategori variabel independen. ANOVA masi tetap *robust* walaupun terdapat penyimpangan asumsi *multivariate normality*. SPSS memberikan uji *Boxplot test of the normality assumption* (Prof.H.Imam dkk, 2018)