

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pepaya Gunung (*Carica pubescens*)

2.1.1. Definisi Morfologi

Pepaya gunung merupakan pohon kecil yang tidak berkayu, tetapi memiliki cabang yang lebih banyak dan ukuran semua bagian tanaman lebih kecil. Tinggi rata-rata tanaman ini adalah 1-2 meter, buah pepaya dieng berbentuk bulat telur dengan panjang 6-10 cm dan diameter 3-4 cm. Buah matang berbentuk telur sungsang dengan ukuran 6-15 cm x 3-8 cm, dagingnya keras, berwarna kuning-jingga, rasanya sedikit asam. Buah yang belum matang memiliki kulit berwarna hijau gelap dan akan berubah menjadi kuning setelah matang. Biji buah berwarna hitam dengan jumlah yang banyak dan padat (Dewi & Santosa, 2017).

2.1.2. Klasifikasi *Carica pubescens*



**Gambar 2.1 Buah pepaya gunung (*Carica pubescens*)
Sumber: tekno.tempo.co**

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Brassicales
Subkelas	: Dillenidae
Famili	: Caricaceae
Genus	: <i>Carica</i>
Spesies	: <i>Carica pubescens</i> A. DC.

(Hidayat A, 2000)

2.1.3. Manfaat Tumbuhan Pepaya Gunung

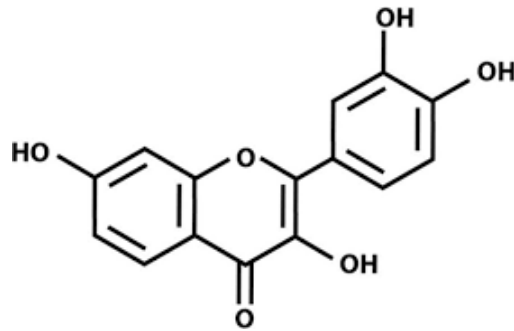
Kandungan serat tinggi pada buah pepaya gunung dapat melancarkan proses pencernaan. Kandungan papain dapat berguna untuk menetralkan pH dan membunuh bakteri-bakteri jahat dalam usus. Kandungan Vitamin A dalam pepaya gunung lebih besar daripada buah wortel sehingga baik untuk kesehatan mata serta baik untuk menangkal radikal bebas dan sinar UV yang dapat merusak kesehatan kulit. Zat agrinin yang terkandung didalamnya dapat menghambat tumbuhnya sel kanker dalam tubuh. Pepaya gunung juga dapat digunakan sebagai penunda penuaan dini atau anti aging (Barus, 2009).

2.2. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan dalam jaringan tanaman. Senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang tersebar di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagai zat kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Suradji et al., 2016). Kandungan flavonoid dalam tanaman sangat rendah, sekitar 0,25%.

Golongan flavonoid memiliki kerangka karbon yang terdiri atas dua cincin benzene tersubstiyusi yang disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Pengelompokan flavonoid berdasarkan pada cincin heterosiklik - oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar (Wahyulianingsih et al., 2016). Golongan terbesar flavonoid memiliki cincin piran yang menghubungkan rantai tiga \pm karbon dengan salah satu cincin benzene (Wahyulianingsih et al., 2016). Senyawa flavonoid diturunkan dari unit C6-C3 (fenilpropana) yang bersumber dari asam sikimat dan unit C6 yang diturunkan dari jalur poliketida. Fragmen poliketida ini disusun dari tiga molekul malonil-KoA, yang bergabung dengan unit C6-C3 (sebagai koA tioester) untuk membentuk unit awal triketida (Wahyulianingsih et al., 2016). Oleh karena itu, flavonoid yang berasal dari biosintesis gabungan

terdiri atas unit-unit yang diturunkan dari asam sikimat dan jalur poliketida (Heinrich, et al., 2010).



Gambar 2.2 Struktur dasar flavonoid
Sumber gambar : wikipedia.org

Flavonoid dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang terdapat dalam satu tumbuhan dalam bentuk kombinasi glikosida. Sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi, dan antikanker (Wahyulianingsih et al., 2016). Senyawa flavonoid diduga sangat bermanfaat dalam makanan karena, berupa senyawa fenolik, senyawa ini yang bersifat antioksidan kuat. Banyak kondisi penyakit yang diketahui bertambah parah oleh adanya radikal bebas seperti superoksida dan hidroksil, dan flavonoid memiliki kemampuan untuk menghilangkan dan secara efektif “menyapu” spesies pengoksidasi yang merusak ini. Oleh karena itu, makanan yang kaya flavonoid dianggap penting untuk mengobati penyakit-penyakit, seperti kanker dan penyakit jantung (Kusuma et al., 2018).

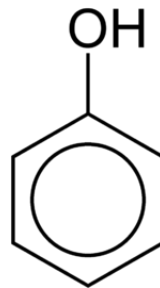
Analisis kandungan flavonoid dilakukan dengan penambahan pereaksi $AlCl_3$. Fungsi dari pereaksi $AlCl_3$ adalah untuk membentuk reaksi antara $AlCl_3$ dengan golongan flavonoid membentuk kompleks antara gugus hidroksil dan keton yang bertetangga atau dengan gugus hidroksil yang saling bertetangga. $AlCl_3$ akan bereaksi dengan gugus keton pada C4 dan gugus OH pada C3 atau C5 pada senyawa flavon atau flavonol membentuk senyawa kompleks yang stabil berwarna kuning. Senyawa yang digunakan sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid ini adalah

kuersetin, karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada atom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga (Saadah et al., 2017)

Kuersetin merupakan salah satu jenis flavonoid yang umum digunakan sebagai standar dalam penentuan kadar flavonoid, yang secara biologis sangat kuat, memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi (Haeria & Andi, 2016) serta glikosidanya dengan jumlah sekitar 60-70% dari flavonoid (Dinurrosifa, 2022).

2.3. Fenol

Fenol adalah senyawa aromatik yang struktur kimianya diturunkan dari benzene jika satu atau lebih atom hidrogen yang terikat pada inti benzene diganti dengan satu atau lebih gugus hidroksil (Sumardjono, 2008). Fenol memiliki ciri fisik berupa kristal putih dan perlahan berubah menjadi merah muda apabila terkena paparan panas atau cahaya pada suhu ruangan (Geza, 2019). Fenol juga berbau khas, yaitu manis. Fenol sangat larut dalam alkohol, benzene, klorofom, eter, dan hamper semua jenis pelarut organik. Fenol memiliki rumus molekul C_6H_5OH serta memiliki berat molekul sebesar 94,11 g/mol.



Gambar 2.3 Struktur kimia fenol
Sumber gambar : karbonaktif.org

Senyawa fenol berperan penting dalam aktivitas antioksidan, sehingga kadar fenol berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan atau bisa diartikan semakin besar kadar fenol, maka semakin besar pula aktivitas antioksidannya. (Hardiana & Rudiansyah, 2012).

Fenol memiliki lebih dari seribu struktur. Golongan terbesar adalah flavonoid dalam bentuk glikosida, yaitu gula dan alkohol yang berkombinasi dan saling berikatan. Kandungan seperti fenol kuinon dan fenil propanoid memiliki bagian yang cukup banyak. Prinsipnya akan terbentuk ikatan glikosida apabila gugus hidroksil alkohol beradisi ke gugus karbonil dari gula. Pada tanaman, jenis senyawa fenol yang sering ditemukan yaitu, senyawa flavonoid, katekin, asam fenolat, isoflavone, resvevratrol, antosianin, dan kuersetin (Anwariyah, 2011).

2.4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

2.4.1. Pengertian Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas dan elektroforesis. Kromatografi lapis tipis pertama kali dikembangkan oleh Izrailoff dan Schraiber pada tahun 1938. KLT merupakan salah satu metode isolasi yang terjadi berdasarkan perbedaan daya serap dan daya partisi serta kelarutan dari komponen-komponen kimia yang akan bergerak mengikuti kepolaran eluen (Erizka Dwi Febrianty, 2017). Oleh karena daya serap adsorben terhadap komponen kimia tidak sama, maka komponen bergerak dengan kecepatan yang berbeda sehingga ini yang menyebabkan pemisahan (Minarno, 2015). KLT banyak digunakan karena peralatan dan bahan yang dibutuhkan untuk melaksanakan pemisahan dan analisis sampel sangat sederhana, yaitu dengan sebuah bejana tertutup yang berisi pelarut dan lempeng KLT (Wulandari, 2011).

2.4.2. Kelebihan dan Kekurangan KLT

Menurut Ganjar & Rohman (2012) kromatografi lapis tipis juga memiliki beberapa kelebihan lain dibandingkan dengan kromatografi kertas, yaitu:

1. Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, flourensi dan radiasi menggunakan sinar ultraviolet.
2. Ketepatan penentuan kadar lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak.
3. Membutuhkan sedikit pelarut.

4. Biaya yang dibutuhkan terjangkau, preparasi sampel mudah. Disamping memiliki kelebihan, KLT juga memiliki kekurangan, diantaranya yaitu:

1. Tingkat ketekunan dan kesabaran yang tinggi sangat dibutuhkan untuk mendapatkan bercak atau noda yang diharapkan.
2. Dibutuhkan waktu yang lama jika dilakukan secara tidak tekun.
3. Dibutuhkan system trial dan eror untuk menentukan eluen yang cocok.

2.4.3. Fase Diam dan Fase Gerak

Fase diam adalah medium angkut yang terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Fase diam yang digunakan merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Semakin kecil dan sempit ukuran partikel fase diam, semakin baik kinerja KLT dalam efisiensi dan resolusinya.

Berikut adalah beberapa penjerap fase diam yang digunakan pada KLT:

Tabel 2.1 Penjerap fase diam pada KLT

Fase Diam	Mekanisme Sorpsi	Penggunaan
Silika gel	Adsorpsi	Asam amino, hidrokarbon, vitamin, alkaloid
Serbuk selulosa	Partisi	Asam amino, nukleotida, karbohidrat
Selulosa penikaran ion	Pertukaran ion	Asam nukleat, nukleotida, halide dan ion-ion logam
Gel sephadex	Eksklusi	Polimer, protein, kompleks logam
B-siklodekstrin	Interaksi adsorpsi stereospesifik	Camputan enansiomer

Sumber tabel : Sumiati, 2015

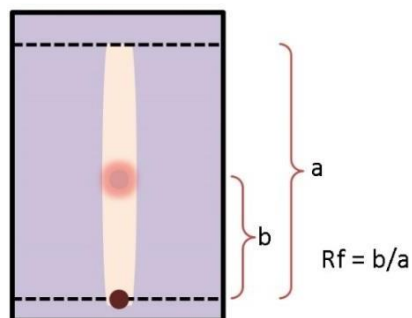
Fase gerak eluent yang berperan penting pada proses elusi bagi larutan feed untuk melewati fase diam. Eluen dapat digolongkan menurut ukuran kekuatan teradsorpsinya pelarut atau campuran pelarut pada adsorben dan dalam hal ini jenis alumina adsorben atau lapis tipis silika yang paling sering digunakan. Beberapa petunjuk dalam memilih fase gerak:

1. Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang tinggi dikarenakan KLT merupakan teknik yang sensitive.
2. Daya elusi fase gerak harus diatur supaya harga Rf terletak antara 0,2-0,8 untuk pemisahan yang maksimal.

2.4.4. Nilai Rf

Retensi senyawa yang diekstraksi dengan KLT dapat diukur selama proses pengembangan eluen. Retensi diukur sebagai *Racing factor* (Rf), yakni panjang senyawa yang ditandai adanya spot dibagi dengan panjang yang dilalui oleh pelarut atau eluen. Nilai Rf untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan nilai Rf dari senyawa standar. Nilai Rf dapat juga dapat didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik asal, maka dari itu bilangan Rf selalu lebih kecil dari 1,0, tetapi beberapa Pustaka menyatakan nilai Rf yang baik menunjukkan pemisahan yang cukup baik adalah berkisar antara 0,2-0,8. Perhitungan nilai Rf didasarkan atas rumus:

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

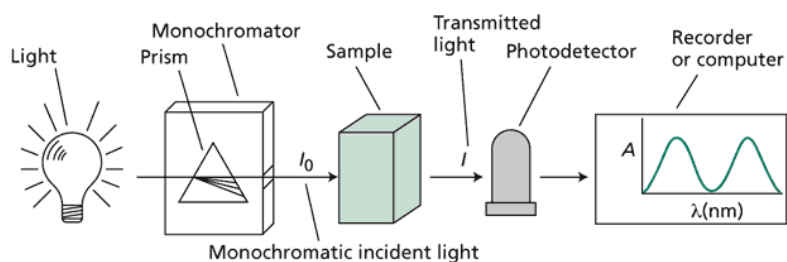


Gambar 2.4 Pengukuran nilai Rf
Sumber gambar : modifikasi dari Wall, 2007

Semakin tinggi nilai R_f sampel, semakin banyak pula senyawa yang bergerak pada pelat KLT. Ketika membandingkan dua sampel berbeda dalam kondisi kromatografi yang sama, nilai R_f akan besar ketika senyawa tersebut kurang polar dan berinteraksi dengan adsorbent polar dari plat KLT (Afina, 2021).

2.5. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri adalah suatu metode analisis yang didasarkan pengukuran serapan sinar monokromatis oleh suatu larutan yang berwarna dengan panjang gelombang. Spektrofotometer merupakan suatu alat yang menghasilkan sinar dari spectrum untuk mengukur transmittan atau absorban pada sampel sebagai fungsi panjang gelombang (Hasibuan, 2015). Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi antara radikal elektromagnetik (REM) dengan molekul. Radiasi REM merupakan bentuk radiasi yang mempunyai sifat gelombang dan partikel.



Gambar 2.5 Skema Spektrofotometer
Sumber gambar : (Yian Guo 2015)

Pada spektrofotometer terdiri dari sumber cahaya yang berfungsi untuk memancarkan semua warna cahaya yang merupakan cahaya putih, monokromator yang berfungsi untuk memilih satu panjang gelombang dan panjang gelombang yang dikirimkan melalui sampel, detector yang dapat mendeteksi Panjang gelombang cahaya yang telah melewati sampel, amplifier yang dapat meningkatkan sinyal sehingga lebih mudah untuk membaca kebisingan latar belakang.

Prinsip dasar spektrofotometri UV-Vis yaitu ketika suatu molekul mengabsorbansi radiasi UV-Vis pada panjang gelombang tertentu, elektron yang terdapat dalam suatu molekul akan mengalami transisi dari tingkat

energi rendah ke yang lebih tinggi yang memiliki karakter berbeda-beda pada tiap senyawa. Penyerapan cahaya oleh molekul terjadi jika energi radiasi yang dipancarkan pada atom analit yang besarnya sama dengan perbedaan tingkat energi yang ada pada transisi elektro (Nazar, 2018).

Spektroskopi yang dilakukan pada daerah ultra violet dan sinar tampak disebut spektroskopi UV-Vis (Alfiyani, 2017). Spektrofotometer UV-Vis merupakan alat yang digunakan untuk mengukur transmitan, reflektansi dan absorbs dari cuplikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Alat yang digunakan yaitu spektrofotometer UV-Vis, teknik pada spektrofotometer yaitu pada daerah ultra-violet dan sinar tampak. Pada spektrofotometer UV-Vis warna yang diserap oleh suatu senyawa atau unsur adalah warna komplementer dari warna yang teramati dan pengamatan dapat diketahui dari suatu larutan berwarna yang memiliki serapan maksimum pada warna komplementernya (Ipandi et al., 2016).

Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam analisis dengan spektrofotometri UV-Vis yaitu :

1. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis
Dengan cara mengubah menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu sehingga dapat menyerap sinar UV-Vis.
2. Pemilihan panjang gelombang
Untuk analisis kuantitatif panjang gelombang yang digunakan adalah Panjang gelombang maksimal.
3. Pembuatan kurva kalibrasi
Membuat seri larutan baku dalam berbagai konsentrasi kemudian absorbansi tiap konsentrasi diukur, lalu dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi.
4. Pembacaan absorbansi sampel
Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,8.