

# BAB I

## TINJAUAN PUSTAKA

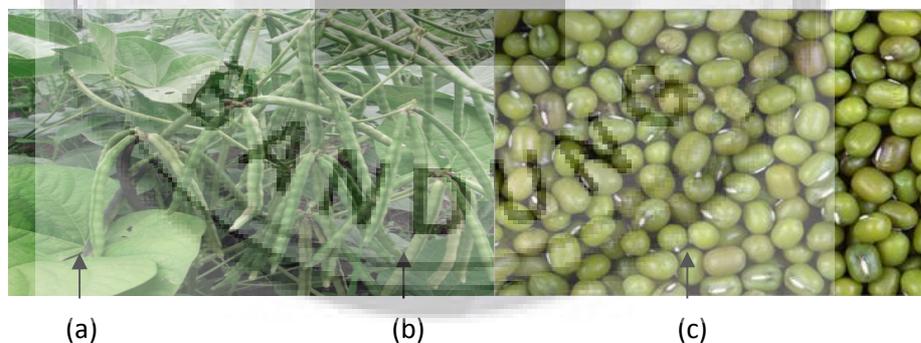
### 1.1. Klasifikasi Kacang Hijau

Klasifikasi tanaman kacang hijau adalah sebagai berikut (Heyne, 1987 :1051) :

Kingdom : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Ordo : Leguminales  
Famili : Leguminosae  
Genus : *Vigna*  
Spesies : ***Vigna radiata* (L.) R. Wilczek**  
Sinonim : *Phaseolus aureus* Roxb (Morton *et al.*, 1982 : 11).  
Nama daerah :  
Retek hijo (Aceh), ritik ertak (Batak), harita drawa (Nias), kacang padi (Minangkabau), retak redip (Lampung), kacang hejo, kacang herang (Sunda), kacang ijo (Jawa), artak (Madura), atak wilis, kacang wilis (Bali), buwe kope, buwe baicu (Bugis), tamelo (Ternate, Tidore), buwe (flores), *mung bean* (Inggris) (Purwono dan Hartono, 2005 :13).

### 1.1.1. Deskripsi Kacang Hijau

Morfologi dari kacang hijau terdiri dari akar, batang, daun, bunga, dan biji. Kacang hijau merupakan tanaman yang tumbuh tegak dengan ketinggian berkisar antara 30 cm – 130 cm dan berakar tunggang. Tanaman ini memiliki batang yang berbuku-buku, berbulu, dan berwarna hijau kecoklatan hingga kemerahan. Daunnya terdiri dari tiga helai (*trifoliate*) dan letaknya berselingan. Helai daun berbentuk oval dengan bagian ujung yang lancip dan memiliki warna hijau sampai hijau tua. Bunganya berbentuk seperti kupu-kupu, memiliki warna kuning. Polong kacang hijau berbentuk silindris dengan panjang 5 cm – 10 cm dan menghasilkan 10-15 biji untung setiap polong. Biji kacang hijau berbentuk bulat kecil, memiliki warna hijau kusam, hijau mengkilat, dan kuning kecoklatan (Pratap & Kumar, 2011:42)



**Gambar 1.1** Biji Kacang Hijau (Rukmana, 1997)  
KETERANGAN : (a). daun, (b.) buah, (c). biji

### 1.1.2. Penyebaran Kacang Hijau

Kacang hijau merupakan tanaman yang berasal dari India dan kemudian menyebar ke berbagai Negara Asia tropis termasuk ke Indonesia pada awal abad ke-17. Indonesia merupakan penghasil kacang hijau ke-empat di dunia (Rukmana, 1997:16).

### 1.1.3. Kandungan Kimia Kacang Hijau

Kandungan kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) terdiri dari senyawa golongan flavonoid, alkaloid, terpenoid dan tanin (Aruna *et al.*, 2012:107). Selain itu, biji kacang hijau juga memiliki kandungan nutrisi seperti protein, asam lemak oleat, asam lemak linolenat, vitamin A, vitamin B1 (thiamin), vitamin B2 (riboflavin), vitamin B3 (niasin), vitamin B6, vitamin C, mineral seperti kalsium, fosfor, besi, natrium, dan kalium (Astawan, 2009: 35).

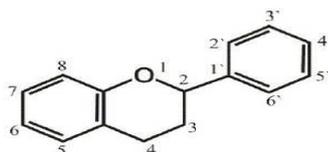
### 1.1.4. Khasiat Kacang Hijau

Kacang hijau berperan untuk mengobati penyakit beri-beri, radang ginjal, melancarkan pencernaan dan anemia (Rukmana, 1997: 17). Selain itu, khasiat lainnya adalah sebagai antimikroba, antiinflamasi, antidiabetes, antihiperlipidemia, antihipertensi, diuretik, dan antioksidan (Tang *et al.*, 2014:8).

## 1.2. Flavonoida

Senyawa flavonoida merupakan senyawa golongan polifenol yang mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C<sub>6</sub> – C<sub>3</sub> – C<sub>6</sub>, yaitu 2 cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan 3 karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1988:1). Flavonoida terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran dari flavonoida yang berbeda golongan dan jarang sekali dijumpai hanya flavonoid tunggal. Flavonoida pada tumbuhan terdapat dalam berbagai bentuk struktur molekul dengan beberapa bentuk kombinasi glikosida. Oleh karena itu, dalam menganalisis flavonoida lebih baik memeriksa aglikon yang telah terhidrolisis

daripada dalam bentuk glikosida dengan strukturnya yang rumit dan kompleks (Harborne, 1987: 71). Sistem penomoran untuk turunan flavonoid dapat dilihat pada **Gambar I.2**

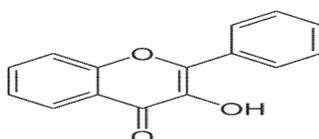


**Gambar I.2** Struktur dasar flavonoida (Markham, 1988:3)

Penggolongan Flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik, oksigen tambahan, dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola berlainan (Robinson, 1995:191):

a. Flavonol

Flavonol paling sering terdapat sebagai glikosida, biasanya 3 -glikosida, dan aglikon flavonol yang umum yaitu kamferol, kuersetin, dan mirisetin yang berkhasiat sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Flavonol lain yang terdapat di alam bebas kebanyakan merupakan variasi struktur sederhana dari flavonol. Larutan flavonol dalam suasana basa dioksidasi oleh udara tetapi tidak begitu cepat sehingga penggunaan basa pada pengerjaannya masih dapat dilakukan. Struktur flavonol dapat dilihat pada **Gambar 1.3**.

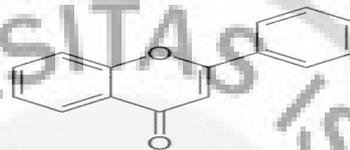


**Gambar 1.3** Struktur Flavonol

b. Flavon

Flavon berbeda dengan flavonol dimana pada flavon tidak terdapat gugusan 3-hidroksi. Hal ini mempunyai serapan UV-nya, gerakan kromatografi,

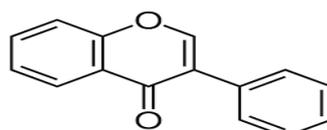
serta reaksi warnanya. Flavon terdapat juga sebagai glikosidanya lebih sedikit daripada jenis glikosida pada flavonol. Flavon yang paling umum dijumpai adalah apigenin dan luteolin. Luteolin merupakan zat warna yang pertama kali dipakai di Eropa. Jenis yang paling umum adalah 7-glikosida dan terdapat juga flavon yang terikat pada gula melalui ikatan karbon-karbon. Contohnya luteolin 8-C-glikosida. Flavon dianggap sebagai induk dalam nomenklatur kelompok senyawa flavonoid. Struktur flavon dapat dilihat pada **Gambar 1.4**.



**Gambar 1.4** Struktur Flavon

#### c. Isoflavon

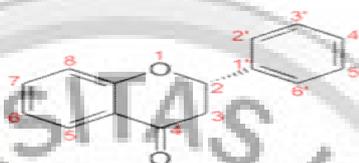
Isoflavon merupakan isomer flavon, tetapi jumlahnya sangat sedikit dan sebagai fitoaleksin yaitu senyawa pelindung yang terbentuk dalam tumbuhan sebagai pertahanan terhadap serangan penyakit. Isoflavon sukar dicirikan karena reaksinya tidak khas dengan pereaksi warna manapun. Beberapa isoflavon (misalnya daidzein) memberikan warna biru muda cemerlang dengan sinar UV bila diuapi amonia, tetapi kebanyakan yang lain tampak sebagai bercak lembayung yang pudar dengan amonia berubah menjadi coklat. Struktur Isoflavon dapat dilihat pada **Gambar 1.5**.



**Gambar 1.5** Struktur Isoflavon

d. Flavanon

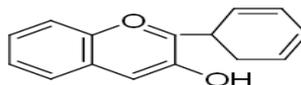
Flavanon terdistribusi luas di alam. Flavanon terdapat di dalam kayu, daun dan bunga. Flavanon glikosida merupakan konstituen utama dari tanaman genus prenus dan buah jeruk; dua glikosida yang paling lazim adalah naringenin dan hesperidin, terdapat dalam buah anggur dan jeruk. Struktur Flavanon dapat dilihat pada **Gambar 1.6**.



**Gambar 1.6** Struktur Flavanon

e. Antosianidin

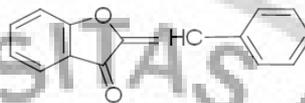
Antosianidin merupakan pewarna yang paling penting dan paling tersebar luas dalam tumbuhan. Pigmen yang berwarna kuat dan larut dalam air ini adalah penyebab hampir semua warna merah jambu, merah marak, ungu, dan biru dalam daun, bunga, dan buah pada tumbuhan tinggi. Secara kimia semua antosianidin merupakan turunan suatu struktur aromatik tunggal yaitu sianidin, dan semuanya terbentuk dari pigmen sianidin ini dengan penambahan atau pengurangan gugus hidroksil atau dengan metilasi atau glikosilasi. Struktur Antosianidin dapat dilihat pada **Gambar 1.7**.



**Gambar 1.7** Struktur Antosianidin

f. Auron

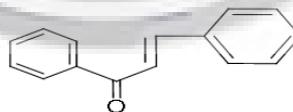
Auron berupa pigmen kuning emas yang terdapat dalam bunga tertentu dan briofita. Dalam larutan basa senyawa ini berwarna merah ros dan tampak pada kromatografi kertas berupa bercak kuning, dengan sinar ultraviolet warna kuning kuat berubah menjadi merah jingga bila diberi uap amonia. Struktur Auron dapat dilihat pada **Gambar 1.8**.



**Gambar 1.8** Struktur Auron

g. Kalkon

Kalkon adalah pigmen fenol kuning yang berwarna coklat kuat dengan sinar UV bila di kromatografi kertas. Aglikon flavon dapat dibedakan dari glikosidanya, karena hanya pigmen dalam bentuk glikosida yang dapat bergerak pada kromatografi kertas dalam pengembang air. (Harborne, 1996). Struktur Khalkon dapat dilihat pada **Gambar 1.9**.



**Gambar 1.9** Struktur Khalkon

### 1.3. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia atau skrining fitokimia merupakan tahapan awal dalam tahap identifikasi kandungan kimia yang terdapat dalam simplisia maupun ekstrak dari suatu tumbuhan. Senyawa yang diidentifikasi yaitu senyawa alkaloid,

flavonoid, tanin, polifenolat, steroid, triterpenoid, kuinon dan saponin (Farnsworth, 1966:243).

Metode yang digunakan untuk skrining harus memenuhi persyaratan seperti sederhana dan cepat, menggunakan peralatan sedikit mungkin, selektif, dan dapat memberikan informasi mengenai keberadaan senyawa tertentu.

#### **1.4. Penetapan Standar Simplisia Dan Ekstrak**

Parameter standar simplisia dan ekstrak dilakukan untuk menjamin keamanan, dan kualitas dari simplisia dan ekstrak. Parameter standar simplisia meliputi parameter spesifik dan parameter non spesifik.

##### **1.4.1. Parameter Spesifik**

Parameter spesifik terdiri dari identitas, yaitu tata nama ekstrak yang mempunyai senyawa identitas atau senyawa tertentu yang menjadi petunjuk spesifik. Parameter organoleptik ekstrak dengan menggunakan panca indra mendeskripsikan bentuk, rasa, bau, dan warna. Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu (larut air dan etanol) dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam pelarut untuk menentukan jumlah solut yang identik. Parameter kadar kandungan kimia tertentu, dengan adanya suatu kandungan kimia yang berupa senyawa identitas tertentu, dilakukan dengan berbagai instrumen seperti kromatografi lapis tipis, kromatografi gas, kromatografi cair kinerja tinggi, atau instrumen lain yang sesuai (Depkes RI, 2000: 30-33).

#### **1.4.2. Parameter Non Spesifik**

Parameter non-spesifik dilakukan untuk menetapkan kualitas ekstrak dan simplisia yang terdiri dari susut pengeringan (untuk simplisia), bobot jenis (untuk ekstrak), kadar air (untuk simplisia), kadar abu total, dan kadar abu tidak larut asam (untuk simplisia dan ekstrak). Susut pengeringan dilakukan untuk memberikan batasan maksimal besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Parameter bobot jenis dilakukan untuk mengetahui batasan besarnya masa per satuan volume untuk parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak kental. Parameter kadar abu dinilai untuk memberikan gambaran kandungan mineral yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Depkes RI, 2000: 13-20).

#### **1.5. Ekstraksi Dan Fraksinasi**

Ekstraksi merupakan proses penarikan zat pokok dari bahan dasar obat, baik yang berasal dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang dipilih, dimana zat yang diinginkan dapat larut atau disebut dengan ekstrak (Ansel, 2008: 605). Salah satu metode yang dapat digunakan untuk proses ekstraksi adalah maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan yang biasanya dilakukan pada temperatur 15° - 20°C dalam waktu selama 3 hari sampai zat yang diinginkan dapat larut (Ansel, 2008:608).

Fraksinasi adalah metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi yang berbeda susunannya. Metode pemisahan yang banyak digunakan adalah metode ekstraksi cair-cair dan kromatografi (Harborne, 1987:8).

Ekstraksi cair-cair merupakan proses pemisahan di mana suatu zat terbagi dalam dua pelarut yang tidak bercampur. Koefisien distribusi atau koefisien partisi yang merupakan tetapan keseimbangan yang merupakan kelarutan relatif dari suatu senyawa terlarut dalam dua pelarut yang tidak bercampur. Prinsip ekstraksi cair-cair adalah *like dissolves like* yang berarti bahwa senyawa polar akan mudah larut dalam pelarut polar, dan senyawa nonpolar mudah larut dalam senyawa nonpolar (Fajariah, 2009:8). Ekstraksi cair-cair dalam prosesnya terjadi perpindahan solut dari satu fase ke fase lain. Pada ekstraksi cair cair, fase yang digunakan adalah dua cairan yang tidak saling bercampur, biasanya digunakan air dan pelarut organik (Harborne, 1987: 4).

#### **1.6. Kromatografi**

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase. Teknik kromatografi umum membutuhkan zat terlarut terdistribusi diantara dua fase yaitu fase diam dan fase gerak (Depkes RI, 1995:1002).

Teknik-teknik kromatografi adalah kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, kromatografi Gas Cair, dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Pemilihan teknik kromatografi bergantung pada sifat kelarutan dan keatsirian senyawa yang

akan dipisahkan. Pemisahan dan pemurnian kandungan kimia tumbuhan dapat dilakukan dengan menggunakan salah satu metode tersebut (Harborne, 1987: 9).

a. Kromatografi Kertas (KKt)

Kromatografi kertas dapat digunakan untuk kandungan tumbuhan yang mudah larut dalam air, seperti karbohidrat, basa asam nukleat, asam amino, asam organik dan senyawa fenolat. Pada kromatografi ini digunakan lembaran kertas saring sebagai media pemisahan atau penyangga (Harborne, 1987:9-10).

b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pilihan untuk pemisahan semua senyawa dengan kepolaran yang berbeda. Pada kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan fase diam dan fase gerak.

1). Fase Diam

Fase diam KLT adalah fase yang berupa pelarut yang terjerap pada lapisan tipis (atau penjerap) alumina, silika gel, selulosa, magnesium karbonat, pati, talk dan turunannya.

2). Fase Gerak

Fase gerak yang biasanya digunakan dalam kromatografi lapis tipis adalah campuran dari pelarut organik dengan tujuan untuk memperoleh pemisahan yang lebih baik atau suatu campuran pelarut yang bergerak dalam fase diam, karena adanya gaya kapilaritas. Kombinasi pelarut berdasarkan atas kepolaritasannya, sehingga akan diperoleh sistem pengembang yang cocok. Dalam beberapa percobaan pelarut tunggal memberikan hasil yang bagus, akan tetapi pada sebagian percobaan pelarut tunggal dapat menggerakkan bercak terlalu jauh

sehingga kombinasi pelarut yang mempunyai polaritas berbeda sering dikombinasikan dalam kromatografi lapis tipis (Gritter et al., 1991:109-110).

c. Kromatografi Gas Cair (KGC)

Pemisahan dalam kromatografi gas cair ini bergantung pada aliran gas pembawa melalui kolom (pipa kecil) dengan laju aliran yang terkendali. Hasil KGC dinyatakan dengan volume retensi ( $R_v$ ), yaitu volume gas pembawa yang diperlukan untuk melulusi suatu komponen dari kolom (Harborne, 1987:15-16).

d. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Kromatografi cair kinerja tinggi adalah suatu metode yang menggabungkan keefisienan kolom dan kecepatan analisis dan dapat memisahkan kandungan yang keatsiriannya kecil. KCKT hampir sama dengan KGC dalam kepekaan dan kemampuannya menghasilkan data kualitatif dan kuantitatif (Harborne, 1987:17).

**1.7. Isolasi dan Pemurnian**

Kromatografi preparatif merupakan metode kromatografi untuk mendapatkan isolat murni, dimana pada kromatografi preparatif ini setiap senyawa akan terpisah menurut tingkat kepolarannya membentuk urutan pita-pita. Pita selanjutnya dipisahkan untuk dilarutkan pada pelarut yang sesuai sehingga akhirnya diperoleh isolat murni (Harborne, 1987).

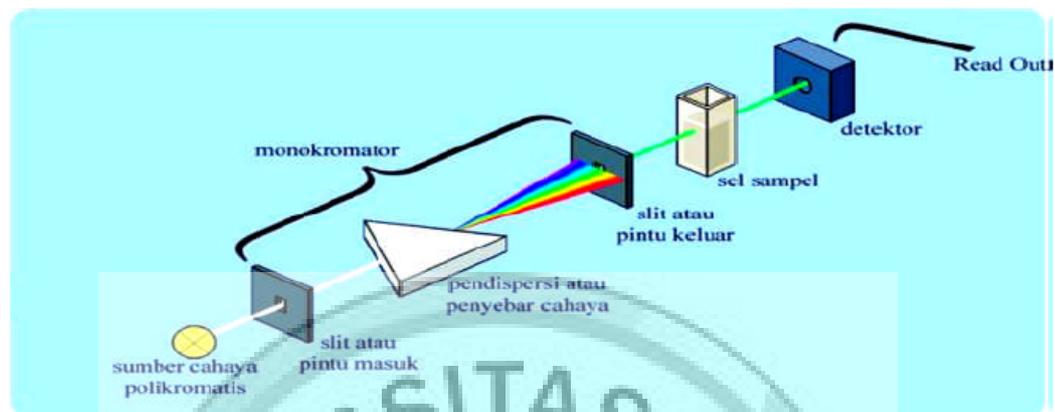
### 1.8. Spektrofotometri UV-Sinar Tampak

Spektrum serapan kandungan tumbuhan dapat diukur dalam larutan yang sangat encer dengan pembanding blanko pelarut serta menggunakan spektrofotometer yang merekam otomatis. Senyawa tanpa warna diukur pada jangkai 200 sampai 400 nm, senyawa berwarna pada jangkai 200 sampai 700 nm (Harborne, 1987:21).

Absorpsi sinar tampak (*visible*) atau ultraviolet (UV) oleh suatu molekul dapat menyebabkan terjadinya eksitasi molekul tersebut dari tingkat energi dasar (*ground state*) ke tingkat energi eksitasi (*excited state*). Absorpsi sinar UV dan *visible* oleh suatu molekul, umumnya menghasilkan eksitasi ikatan elektron (*bonding*), sehingga panjang gelombang absorban maksimum dapat dikorelasikan dengan absorban UV dan *visible* untuk penentuan kuantitatif senyawa-senyawa yang mengandung gugus penjerap. Pada spektrofotometer UV, yang diabsorpsi adalah cahaya ultraviolet, sehingga larutan yang tidak berwarna dapat diukur. Energi cahaya UV ternyata lebih besar dari energi cahaya sinar tampak, sehingga energi UV dapat menyebabkan transisi elektron  $\sigma$  atau  $\pi$  (Bintang, 2010:193).

Pelarut yang banyak digunakan untuk spektrofotometer UV adalah etanol 96% karena senyawa larut dalam pelarut tersebut. Pelarut lain yang sering digunakan adalah air, metanol, heksana, dan eter. Pelarut kloroform umumnya harus dihindari karena menyerap kuat daerah 200-260 nm, tapi cocok untuk mengukur spektrum pigmen tumbuhan seperti karotenoid, di daerah spektrum

tampak (Harborne, 1987:21). Komponen utama dari spektrofotometer dapat dilihat pada **Gambar 1.10**.



**Gambar 1.10.** Skema Spektrofotometri UV-Sinar tampak.

Interaksi sinar dengan partikel, bila seberkas radiasi mengenai sasaran tertentu maka terjadi peristiwa radiasi akan diserap, dipancarkan, dihamburkan, direfleksikan, atau difluoresensikan. Interaksi tersebut menghasilkan perpindahan energi dari radiasi ke materi dan proses ini disebut penyerapan. Interaksi radiasi elektronik merupakan suatu fenomena yang *reversible*. Proses yang berkaitan dengan spektrofotometer adalah penyerapan (absorpsi) dan pancaran (transmisi) (Bintang, 2010: 194).