

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi tanaman

Proses identifikasi tanaman dilaksanakan untuk memastikan keakuratan jenis tanaman yang diuji, sehingga dapat menghindari kesalahan dalam pengambilan bahan penelitian atau kemungkinan tercampurnya sampel tanaman yang diteliti dengan spesies lain. Kegiatan determinasi tanaman ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan pada tanggal 21 Maret 2025, dengan nomor surat keputusan SK 216/Lab.Bio/B/III/2025. Berdasarkan hasil identifikasi, sampel penelitian tersebut dikonfirmasi sebagai *Clitoria ternatea* L., sebagaimana tercantum dalam **(Lampiran 1)**.

2. Preparasi sampel

Sampel bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari kebun budidaya yang terletak di Desa Kepuh Kulon RT 03, Wirokerten, Banguntapan, Bantul. Pemilihan lokasi pengambilan sampel dilakukan untuk memastikan kualitas dan kesegaran bahan penelitian. Proses pemanenan dilakukan pada pagi hari, tepatnya antara pukul 06.30 hingga 11.00 WIB. Total bunga telang yang terkumpul mencapai 5 kg. Selanjutnya, dilakukan proses sortasi kering untuk memisahkan bagian bunga dan kelopak dari kotoran, sisa daun, serta tangkai yang tidak diperlukan.

Proses pengeringan sampel dilaksanakan dengan menggunakan oven pada suhu konstan 50°C selama 2 hari. Tujuan utama dari tahap pengeringan ini adalah untuk mengurangi kadar air dalam simplisia. Sehingga, bahan menjadi lebih stabil dan tidak rentan terhadap pertumbuhan mikroba maupun mikroorganisme lainnya (Wijaya & Noviana, 2022). Setelah mencapai tingkat kekeringan yang diinginkan, sampel kemudian dihaluskan menjadi serbuk

menggunakan alat grinder. Menurut Noviantari *et al.* (2017), konversi bahan menjadi serbuk memiliki tujuan strategis yaitu untuk memperluas permukaan kontak sampel. Dengan meningkatnya luas permukaan ini, interaksi antara partikel serbuk dengan pelarut selama proses ekstraksi akan menjadi lebih optimal, akhirnya dapat meningkatkan rendemen ekstrak yang dihasilkan. Tahap selanjutnya proses pengayakan menggunakan ayakan berukuran 40 mesh untuk memperoleh ukuran partikel yang seragam dan homogen. (Syamsunarto & Yohanes, 2018). Melalui serangkaian proses tersebut, diperoleh serbuk bunga telang dengan total berat mencapai 284,1 gram.

3. Ekstraksi sampel

Dilakukan optimasi proses ekstraksi seperti pada **Tabel 3**. Sehingga diperoleh ekstrak kental. **Tabel 4** Menunjukkan hasil persentase rendemen yang diperoleh dari setiap *batch*. Rendemen ekstrak yang diperoleh dihitung sebagai persentase rasio berat ekstrak yang dihasilkan terhadap berat serbuk bunga telang yang digunakan saat ekstraksi. Syarat rendemen menurut Farmakope Herbal Indonesia adalah tidak kurang dari 10% (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017). Hasil penelitian yang tidak memenuhi syarat yaitu pada *batch* 3, 4, 7, 8, 11, dan 15.

Tabel 4. Hasil Rendemen Ekstrak

<i>Batch</i>	Rasio Bahan-Pelarut	Rasio Etanol-Akuades	Waktu Ekstraksi (Menit)	Rendemen (%)
1	15	50	20	20.566
2	15	0	40	30.540
3	5	50	20	6.604
4	5	50	60	8.594
5	10	50	40	18.301
6	10	0	60	29.961
7	15	100	40	3.897
8	10	100	60	4.905
9	10	0	20	32.411
10	10	50	40	17.499
11	5	100	40	2.275
12	5	0	40	19.685
13	15	50	60	16.267
14	10	50	40	22.543
15	10	100	20	3.655

4. Identifikasi fenolik

Identifikasi fenolik dilakukan pada ekstrak hasil ekstraksi semua *batch*. Tujuannya untuk mengetahui apakah ekstrak bunga telang dalam penelitian ini mengandung metabolit sekunder berupa senyawa fenolik. Hasil dari identifikasi fenolik dapat dilihat pada **Tabel 5.** dan **Lampiran 4.**

Tabel 5. Hasil Uji Tabung Identifikasi Fenolik

Senyawa aktif	Teoritis	Batch	Hasil skrining
Fenolik	Terbentuk warna hijau kehitaman	1	++
		2	+
		3	+++
		4	+++
		5	+++
		6	+
		7	+++
		8	+++
		9	+
		10	++
		11	+++
		12	+
		13	++
		14	++
		15	+++

Keterangan: (+): tidak pekat; (++): pekat; (+++): sangat pekat

5. Penentuan kadar fenolik total

a. Penentuan panjang gelombang maksimum asam galat (λ maks)

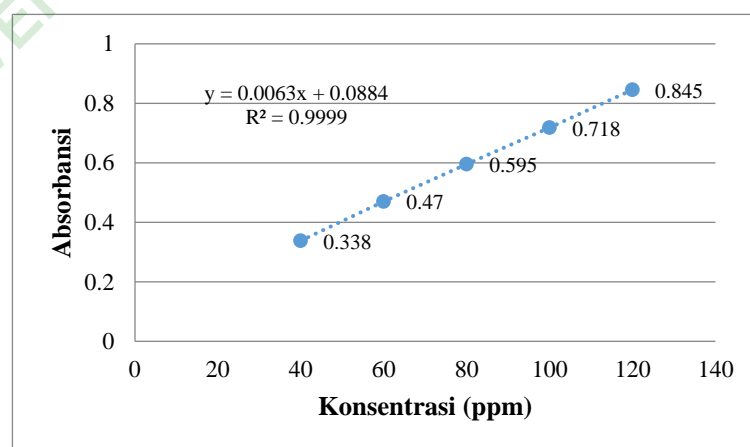
Proses analisis kadar suatu senyawa diawali dengan tahap penentuan panjang gelombang maksimum. Sebagaimana dijelaskan oleh Kresnadipayana & Lestari (2017), pengukuran sampel uji harus dilakukan pada panjang gelombang maksimum agar diperoleh nilai serapan yang optimal. Dalam penelitian ini, penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Dilakukan *scanning* pada rentang panjang gelombang 600-800 nm. Berdasarkan hasil pengukuran, diperoleh nilai panjang gelombang maksimum pada 755 nm. Hasil tersebut sama seperti penelitian yang dilakukan oleh Pratama *et al.* (2018).

b. Penentuan *Operating Time* asam galat

Operating Time (OT) merupakan parameter yang digunakan untuk menentukan durasi waktu yang diperlukan suatu senyawa untuk mencapai kondisi stabil setelah mengalami reaksi (Ramayani *et al.*, 2021). Berdasarkan hasil OT, stabilitas reaksi tercapai pada menit ke-45. Hal ini menunjukkan bahwa sampel memerlukan waktu inkubasi selama 45 menit sebelum pengukuran absorbansi dikarenakan hanya setelah periode inilah reaksi dianggap telah mencapai kondisi stabil yang sesuai untuk pembacaan nilai absorbansi.

c. Penentuan kurva baku asam galat

Dalam penelitian ini, kurva baku asam galat dibuat dengan menggunakan pelarut akuades melalui pengenceran dari larutan induk 1000 ppm untuk memperoleh seri konsentrasi 40, 60, 80, 100, dan 120 ppm. Hasil pembuatan kurva baku tersebut dapat dilihat pada **Gambar 6**. Analisis regresi linier terhadap kurva baku menghasilkan persamaan $y = 0,0063x + 0,0884$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9999. Nilai r yang sangat mendekati 1 ($r < 1$) ini menunjukkan bahwa kurva baku yang dihasilkan bersifat linier. Selanjutnya, persamaan regresi linier ini digunakan sebagai dasar perhitungan untuk menentukan kandungan fenolik total dalam sampel yang dianalisis.



Gambar 6. Grafik Kurva Baku Asam Galat

d. Penentuan kadar total fenolik

Penentuan kadar total fenolik dalam penelitian ini dilakukan dengan memanfaatkan spektrofotometer UV-Vis sebagai instrumen analisis utama. Metode kolorimetri diterapkan sebagai pendekatan analitik untuk mengukur konsentrasi senyawa kimia fenolik. Secara spesifik, analisis kolorimetri untuk senyawa fenolik ini melibatkan penggunaan pereaksi Folin-Ciocalteu yang dikombinasikan dengan Na_2CO_3 kemudian direaksikan dengan standar asam galat yang berfungsi sebagai pembanding (Ramayani *et al.*, 2021). Hasil pengukuran kuantitatif terhadap kadar fenolik total dalam sampel yang diperoleh dari analisis disajikan secara lengkap dalam **Tabel 6**.

Tabel 6. Hasil Perhitungan Kadar Fenolik Total Ekstrak Bunga Telang

<i>Batch</i>	Rasio Bahan-Pelarut	Rasio Etanol-Aquadest (%)	Waktu Ekstraksi (Menit)	TPC (mg GAE/g)
1	15	50	20	7.856
2	15	0	40	4.364
3	5	50	20	8.919
4	5	50	60	10.242
5	10	50	40	11.295
6	10	0	60	5.068
7	15	100	40	16.760
8	10	100	60	14.728
9	10	0	20	5.401
10	10	50	40	10.105
11	5	100	40	15.469
12	5	0	40	5.951
13	15	50	60	9.565
14	10	50	40	10.528
15	10	100	20	17.490

Keterangan: $n = 3$, kadar total fenolik (TPC) dinyatakan dalam rata-rata mg GAE/g ekstrak.

6. Analisis statistik

a. Pemilihan model

Proses analisis data dalam penelitian ini dilakukan melalui pemodelan statistik menggunakan *software Design Expert 13* dengan metode RSM *Box-Behnken Design*. Hasil pengolahan data secara

komputasi tersebut kemudian dilakukan pengujian eksperimental dan diperoleh hasil yang terlihat pada **Tabel 7**.

Tabel 7. Fit Summary Model

<i>Source</i>	<i>Sequential p-value</i>	<i>Lack of Fit p-value</i>	<i>Adjusted R²</i>	<i>Predicted R²</i>	
Linear	< 0.0001	0.1899	0.9205	0.8708	<i>Suggested</i>
2FI	0.5401	0.1668	0.9153	0.7617	
<i>Quadratic</i>	0.2400	0.1858	0.9375	0.6823	
<i>Cubic</i>	0.1858		0.9800		<i>Aliased</i>

Dari **Tabel 7** dapat disimpulkan bahwa model linear merupakan model yang direkomendasikan oleh *software Design Expert 13* untuk digunakan dalam penelitian ini. Rekomendasi ini didasarkan pada nilai *p-value* < 0,05 yang menunjukkan signifikansi statistik dari model tersebut. Selanjutnya, penerapan model linear ini menghasilkan *output* analisis ANOVA dan *fit statistic* yang terlihat pada **Tabel 8** dan **Tabel 9**.

Tabel 8. ANOVA Model Linear

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-value</i>	<i>p-value</i>	
Model	238.83	3	79.61	55.02	< 0.0001	<i>significant</i>
A-Rasio Bahan-Pelarut	0.5182	1	0.5182	0.3581	0.5617	
B-Rasio Etanol-Akuades	238.31	1	238.31	164.69	< 0.0001	
C-Waktu Ekstraksi	0.0005	1	0.0005	0.0003	0.9856	
Residual	15.92	11	1.45			
<i>Lack of Fit</i>	15.19	9	1.69	4.64	0.1899	<i>not significant</i>
<i>Pure Error</i>	0.7278	2	0.3639			
Cor Total	254.74	14				

Tabel 9. Fit Statistic Model Linear

Std. Dev.	1.20	R²	0.9375
Mean	10.25	Adjusted R²	0.9205
C.V. %	11.74	Predicted R²	0.8708
		Adeq Precision	18.3919

Dari data yang ada, koefisien dapat dikatakan signifikan karena P -value $< 0,05$. Selain itu, dari **Tabel 9** dapat ditarik kesimpulan bahwa model linear yang ada dapat digunakan karena selisih antara adjusted R^2 dengan predicted $R^2 < 0,2$ yaitu 0,0497 dan nilai adeq precision untuk TPC > 4 yaitu sebesar 18,3919.

b. Model *fitting* linear

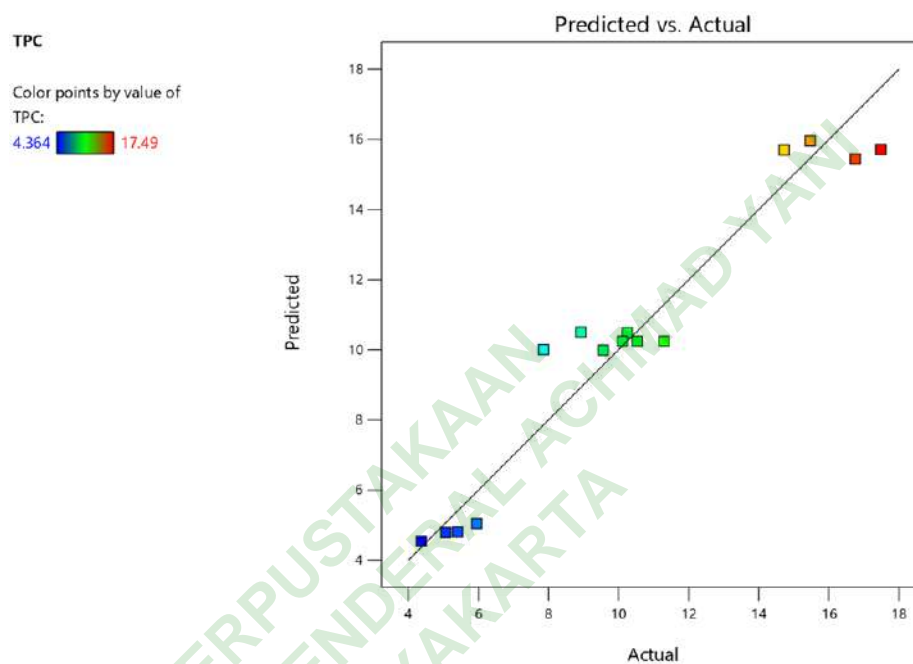
Pada **Tabel 10** ditampilkan hasil dari analisis RSM. Nilai TPC dipakai sebagai dasar untuk menetapkan koefisien dalam persamaan permukaan respon. Koefisien regresi dihitung dan ditampilkan pada **Tabel 10**, yang kemudian dapat dirumuskan persamaan polinomial orde pertama.

$$\text{TPC (mg GAE/g)} = +10.25 - 0.2545A + 5.46B - 0.0079C$$

Tabel 10. Nilai TPC Eksperimen dan Prediksi

<i>Run Order</i>	<i>Actual Value</i>	<i>Predicted Value</i>	Residual
1	7.86	10.00	-2.15
2	4.36	4.54	-0.1730
3	8.92	10.51	-1.59
4	10.24	10.50	-0.2540
5	11.29	10.25	1.05
6	5.07	4.78	0.2843
7	16.76	15.45	1.31
8	14.73	15.70	-0.9714
9	5.40	4.80	0.6016
10	10.11	10.25	-0.1444
11	15.47	15.96	-0.4928
12	5.95	5.05	0.9050
13	9.56	9.99	-0.4220
14	10.53	10.25	0.2786
15	17.49	15.72	1.77

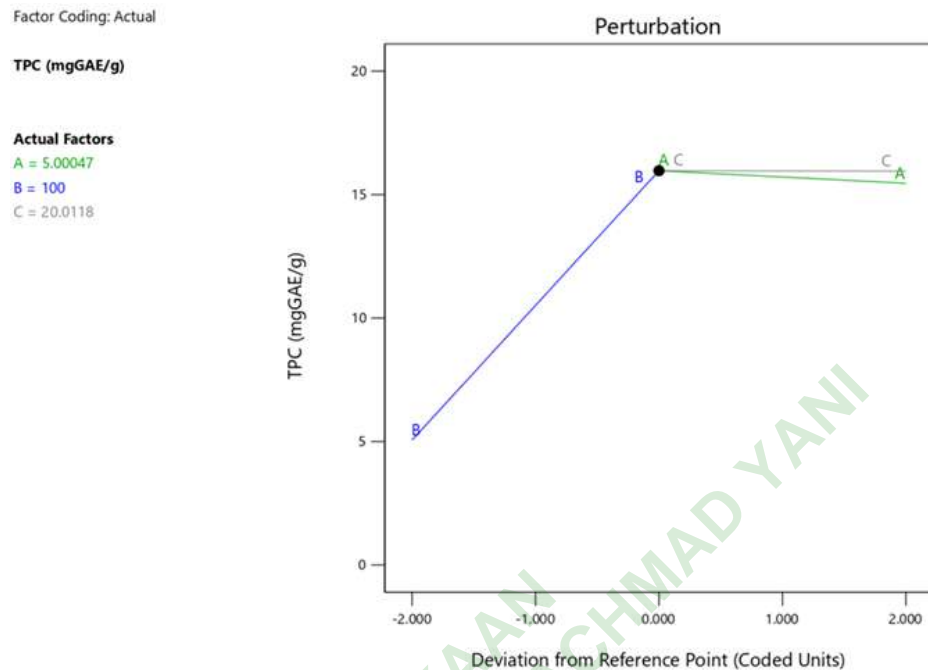
Gambar 7 mengilustrasikan seberapa baik nilai yang diprediksi dari persamaan yang sesuai dengan nilai eksperimental. Untuk desain eksperimental ini, model linier adalah yang paling cocok dan yang direkomendasikan oleh *software Design Expert 13*.



Gambar 7. Eksperimen TPC vs Prediksi TPC

1) Plot pertubasi TPC

Rasio setiap faktor di titik yang dipilih dalam ruang desain ditampilkan pada plot pertubasi. Grafik tersebut menunjukkan dampak dari setiap parameter di titik pusat di dalam ruang desain (misalnya, waktu ekstraksi, rasio etanol-akuades, dan rasio bahan-pelarut). Setiap elemen memiliki dampak yang menguntungkan pada TPC. Parameter yang paling penting dalam persamaan dapat ditentukan dengan membandingkan koefisien. Hasil grafik menunjukkan yang paling berpengaruh adalah faktor rasio etanol-akuades.



Gambar 8. Plot Pertubasi untuk Rate Respon TPC (A) Rasio bahan-pelarut, (B) Rasio Etanol-Akuades, (C) Waktu Ekstraksi

2) Optimasi kondisi ekstraksi bunga telang

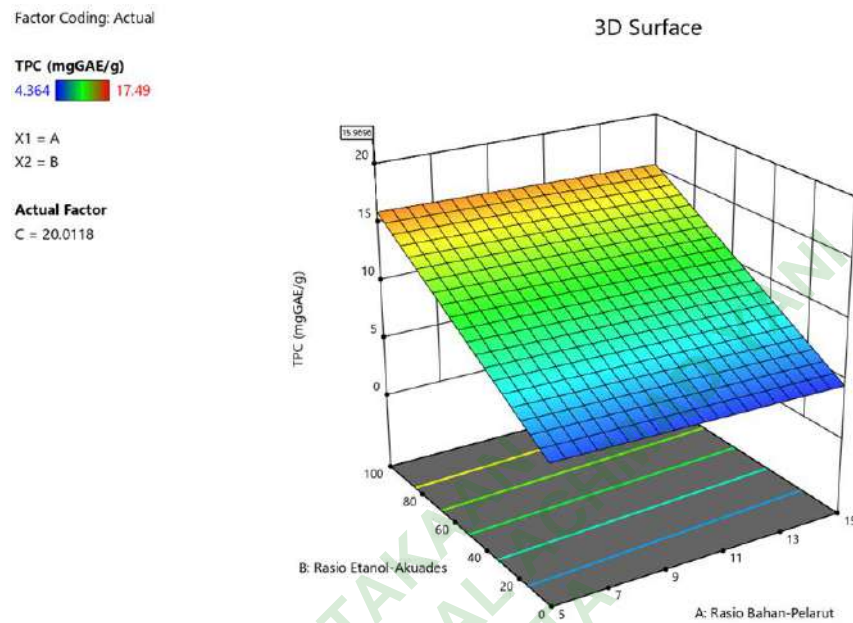
Hasil TPC yang dipengaruhi oleh rasio bahan-pelarut, rasio etanol-akuades, dan waktu ekstraksi diplot menggunakan *software Design Expert 13* untuk mempelajari pengaruh dari parameter dan interaksinya terhadap hasil ekstraksi bunga telang yang menghasilkan plot permukaan dari respon yang terlihat pada **Gambar 9, 10 dan 11**.

Tabel 11. Komponen Optimasi

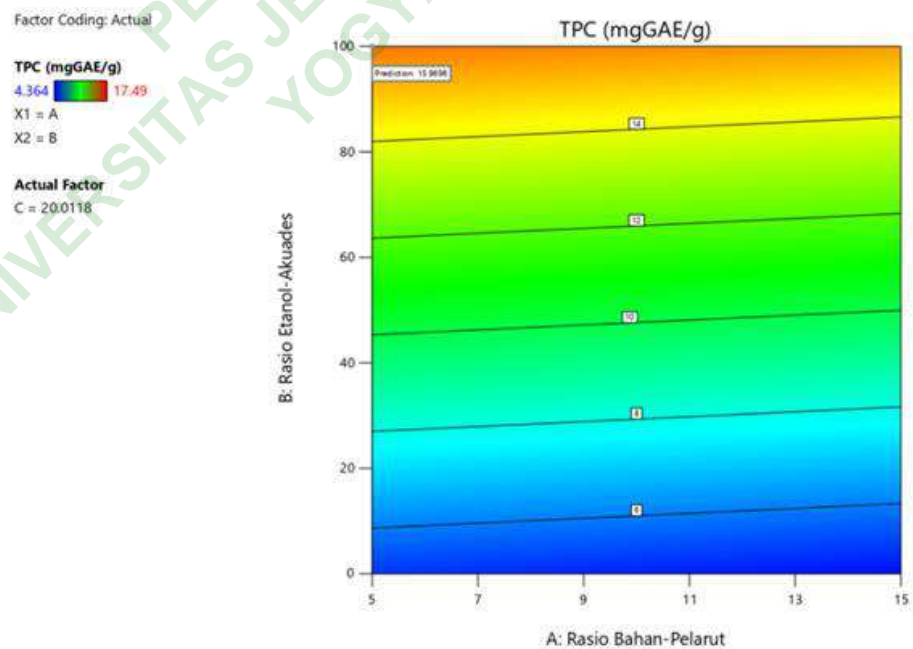
Komponen	Target	Batas Bawah	Batas Atas	Tingkat Kepentingan
A-Rasio Bahan-Pelarut	<i>In range</i>	5	15	+++
B-Rasio Etanol-Akuades	<i>In range</i>	0	100	+++
C-Waktu Ekstraksi (menit)	<i>In range</i>	20	60	+++
TPC (mg GAE/g)	<i>Maximize</i>	4,364	17,490	+++++

Tabel 11 menunjukkan komponen yang dioptimasi, target, batas bawah dan batas atasnya, serta tingkat kepentingan. Sehingga, pada model optimasi rasio bahan-pelarut, rasio etanol-akuades, dan waktu ekstraksi diatur pada data yang masih dalam jangkauan (*in range*) dengan

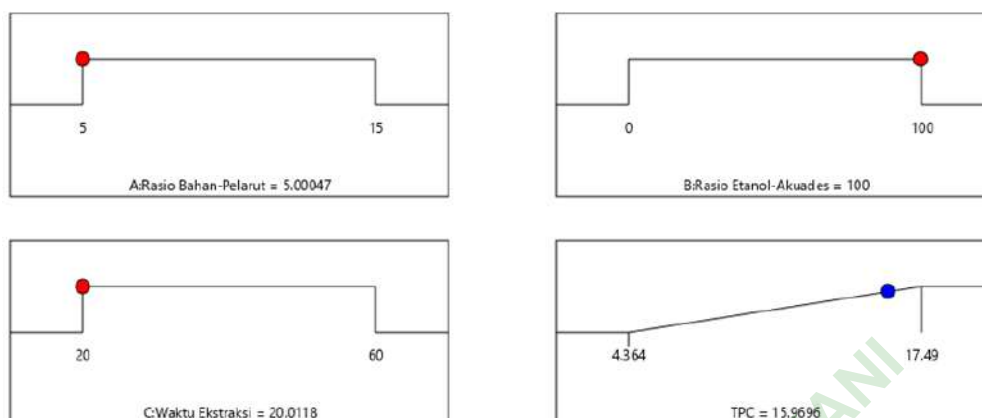
tingkat kepentingan 3 (+++) untuk memaksimalkan respon TPC dengan tingkat kepentingan 5 (+++++).



Gambar 9. Respon Permukaan (3D) Pengaruh Faktor pada TPC (mg GAE/g)

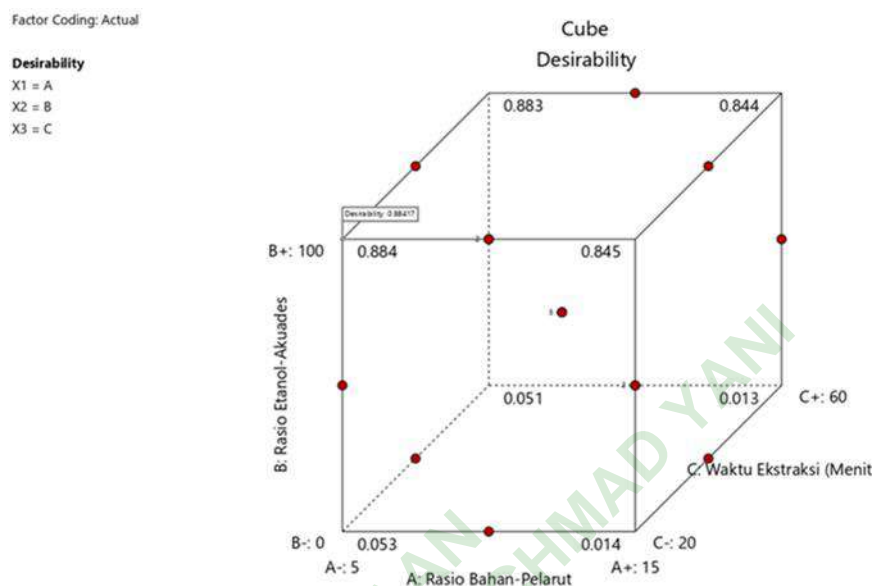


Gambar 10. Plot Kontur Pengaruh Faktor pada TPC (mg GAE/g)



Gambar 11. Hasil RSM untuk Titik Optimal Faktor terhadap TPC (mg GAE/g)

Gambar 9 menyajikan plot permukaan respon 3-D. **Gambar 10** menampilkan hasil plot kontur dan **Gambar 11** memperlihatkan titik optimal setiap pengaruh faktor yang dikembangkan untuk memperoleh nilai TPC dengan berbagai rasio etanol-akuades, rasio bahan-pelarut, dan waktu ekstraksi. Terlihat bahwa maksimum TPC dapat dicapai saat rasio bahan-pelarut tetap 1:5, rasio etanol-akuades 100:0 dan waktu ekstraksi 20,012 menit. Hasil prediksi nilai TPC pada kondisi ekstraksi tersebut sebesar 15,970 mg GAE/g.



Gambar 12. Bentuk Kubik Optimasi TPC dan *Desirability*

Gambar 12 memperlihatkan bentuk kubik dari *desirability* yang menunjukkan prediksi dari *software* pada kondisi ekstraksi rasio bahan-pelarut 1:5, rasio etanol-akuades 100:0, dan waktu ekstraksi 20,012 menit menghasilkan nilai *desirability* sebesar 0,884. Nilai ini cukup tinggi dan baik untuk sebuah model karena telah mendekati 1.

7. Verifikasi kondisi optimum hasil prediksi model

Berdasarkan pada solusi optimal yang diperoleh, kondisi terbaik berada pada rasio bahan-pelarut 1:5; rasio etanol-akuades 100:0; dan waktu ekstraksi 20,012 menit. Selanjutnya dilakukan perlakuan optimal tersebut untuk verifikasi. Hasil dari percobaan dengan hasil prediksi dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Nilai Prediksi dan Hasil Penelitian

<i>Analysis</i>	<i>Predicted Mean</i>	<i>Predicted Median</i>	<i>Std Dev</i>	<i>SE Pred</i>	<i>95% PI low</i>	<i>Data Mean</i>	<i>95% PI high</i>
TPC (mg GAE/g)	15.979	15.970	1.203	1.444	12.791	19.141	19.148

Keterangan: *Two-sided; Confidence = 95%*

Tabel 12 mempresentasikan data prediksi respon yang dihasilkan oleh sistem dengan membandingkan data aktual yang diperoleh setelah proses verifikasi. Hasil verifikasi harus berada dalam rentang 95% *Prediction Interval* (PI) yaitu indikator yang menunjukkan bahwa 95% data respon sampel yang terukur berada dalam kisaran tersebut (Hepi *et al.*, 2021). Berdasarkan data hasil nilai rentang 95% PI *low* dan 95% PI *high* adalah 12,791 mg GAE/g – 19,148 mg GAE/g. Nilai aktual hasil verifikasi diperoleh sebesar 19,141 mg GAE/g yang masih dalam rentang prediksi. Sehingga, model dapat digunakan untuk memprediksi respon dengan baik.

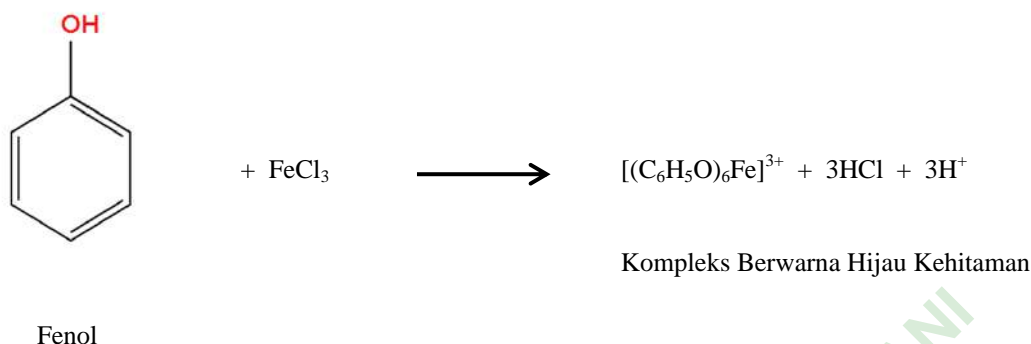
B. Pembahasan

Penelitian ini meneliti tentang pengaruh beberapa variabel bebas pada proses ekstraksi terhadap kandungan fitokimia dari ekstrak bunga telang. Khususnya kandungan fenolik total, menggunakan metode UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) dengan bantuan alat sonikator. Prinsip metode ekstraksi ini berdasarkan gelombang suara yang dihasilkan pada alat sonikator. Sehingga, dapat memecah partikel dan meninggalkan celah di dalam medium yang meningkatkan permeabilitas pelarut. Dinding sel serbuk simplisia akan pecah dan terjadi pemisahan senyawa (Ananingsih *et al.*, 2020). Selama proses ekstraksi dengan metode UAE terdapat beberapa faktor yang berpengaruh terhadap kadar fenolik total. Sehingga, dilakukan optimasi faktor ekstraksi yang berbeda dari rasio bahan-pelarut, rasio etanol-akuades, dan waktu ekstraksi sesuai dengan desain RSM yang telah diperoleh pada **Tabel 3** agar mendapatkan kondisi ekstraksi optimal yang ditunjukkan pada kadar fenolik total yang tinggi.

Hasil dari proses ekstraksi berupa rendemen ekstrak yang bervariasi pada setiap *batch* ditampilkan dalam **Tabel 4**. Pada *batch* 9 didapatkan rendemen sebesar 32,411% yang merupakan presentase rendemen tertinggi diantara *batch* lainnya. Namun, pada penelitian ini rendemen yang dihasilkan tidak linier. Hal tersebut dikarenakan adanya perbedaan viskositas dan kadar air dari masing-masing *batch* yang berakibat pada bobot ekstrak. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Cao *et al.* (2025), bentuk fisik viskositas ekstrak dapat

memengaruhi hasil rendemen dikarenakan suhu lingkungan yang tidak stabil dan berdampak pada ketidakmampuan untuk mengelola viskositas sampel seperti yang diinginkan. Sehingga, menghasilkan rendemen ekstrak fluktuatif. Variasi rasio etanol-akuades juga berpengaruh terhadap rendemen, dimana semakin banyak proporsi akuades maka rendemen yang dihasilkan semakin besar. Hal ini disebabkan karena akuades adalah pelarut polar sehingga tidak spesifik untuk menarik senyawa fenolik, tetapi juga akan menarik senyawa polar lainnya seperti sakarida dan protein. Sehingga, dapat dikatakan bobot molekul lebih besar dan berkontribusi terhadap peningkatan rendemen (Harborne, 1987). Hasil rendemen tertinggi ditunjukkan pada rasio etanol-akuades 0:100.

Perolehan ekstrak kental dari tahap ekstraksi dilanjutkan dengan identifikasi fenolik sebagai analisis kualitatif untuk mengetahui bahwa sampel bunga telang yang akan diteliti benar mengandung senyawa fenolik. Hasil sampel bunga telang dapat dinyatakan positif fenolik apabila terjadi perubahan warna setelah ditambahkan pereaksi FeCl_3 5% dengan indikator terbentuk warna hijau kehitaman. Hal tersebut dapat terjadi karena senyawa fenolik terikat pada gula sebagai glikosida sehingga mudah larut dalam pelarut yang polar seperti etanol dan air (Anggriani & Anggarani, 2022). Ketika ion Fe^{3+} berhibridisasi, reaksi FeCl_3 dengan sampel uji menghasilkan warna seperti yang terlihat pada **Gambar 13**. Hasil dari identifikasi fenolik ekstrak bunga telang tercantum pada **Tabel 5**. Pada semua *batch* menunjukkan positif mengandung senyawa fenolik dan terdapat perbedaan pada intensitas warna yang dihasilkan. Dengan demikian, hasil identifikasi kualitatif fenolik tersebut dapat dikorelasikan dengan data kuantitatif nilai kadar total fenolik. Terdapat hubungan positif antara intensitas warna dan kadar fenolik. Semakin gelap atau pekat warna yang dihasilkan, semakin tinggi kadar senyawa fenolik yang terdapat dalam sampel.



Gambar 13. Reaksi Fenol dengan FeCl₃ (Diadaptasi dari Mukhriani *et al.*, 2019 dengan program MolView)

Selanjutnya dilakukan tahap analisis kuantitatif untuk menetapkan kadar fenolik total menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi Folin-Ciocalteu. Prinsip metode ini bergantung pada suasana basa agar reaksi dapat berlangsung. Oleh karena itu, penambahan larutan natrium karbonat (Na₂CO₃) diperlukan untuk mengubah senyawa fenol menjadi ion fenolat, yang selanjutnya bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu. Reagen ini akan mengoksidasi ion fenolat atau gugus hidroksi fenolik sekaligus mereduksi senyawa heteropoli asam fosfomolibdat-fosfotungstat. Reaksi tersebut menghasilkan kompleks molybdenum-blue seperti terlihat pada **Gambar 14** (Ramayani *et al.*, 2021). Asam galat digunakan sebagai standar pembanding karena merupakan senyawa fenolik alami turunan asam hidroksibenzoat (Mukhriani *et al.*, 2019). Ketika asam galat bereaksi dengan natrium karbonat, protonnya terdisosiasi membentuk ion fenolat. Ion ini kemudian dioksidasi oleh reagen Folin-Ciocalteu membentuk kompleks berwarna biru yang dapat diukur menggunakan spektrofotometri visibel (Alfian & Susanti, 2012). Intensitas warna biru ini berbanding lurus dengan konsentrasi senyawa fenolik. Semakin tinggi kadarnya, semakin pekat warna biru yang dihasilkan. Pelarut utama yang digunakan untuk analisis kadar senyawa fenolik total dalam penelitian ini adalah akuades karena didasarkan pada sifat kelarutan senyawa fenol yang cenderung mudah larut dalam air, terutama karena struktur kimianya yang umum

senyawa yang diekstraksi. Dimana senyawa fenolik yang diinginkan cenderung bersifat semi polar sehingga etanol memiliki kemampuan yang bagus untuk menarik senyawa fenolik lebih banyak dan berdampak pada peningkatan TPC. Temuan ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Dhanani *et al.* (2017) yang melaporkan bahwa sampel yang diekstraksi menggunakan etanol mampu menghasilkan TPC lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan akuades. Hasil tertinggi TPC diperoleh pada rasio etanol-akuades 100:0 yaitu pada *batch* 15 sebesar 17,490 mg GAE/g.

Hasil analisis dari desain RSM berdasarkan hasil analisa kuantitatif kadar fenolik yang disajikan pada **Tabel 7** menunjukkan bahwa model linier yang direkomendasikan telah memenuhi semua persyaratan statistik berdasarkan uji ANOVA dan *fit statistic analysis*. Sehingga, model tersebut dapat digunakan untuk proses optimasi (Muki *et al.*, 2020). Dimana pada uji ANOVA model linier yang ditampilkan pada **Tabel 8** menjelaskan bahwa faktor rasio etanol-akuades memberikan hasil yang signifikan terhadap respon karena (p -value $<0,05$). Sedangkan faktor rasio bahan-pelarut dan waktu ekstraksi tidak menunjukkan hasil yang signifikan terhadap respon karena nilai p -value lebih dari 0,05. *Lack of fit* adalah parameter yang menunjukkan ketidaksesuaian antara model matematis dengan data eksperimen. Sehingga hasil yang diharapkan harus *not significant* (p -value $>0,05$) mengindikasikan bahwa data eksperimen telah sesuai dengan model (Gumilar *et al.*, 2024). Hasil *lack of fit* pada analisis ini menunjukkan p -value 0,1899 yang telah memenuhi persyaratan.

Berdasarkan hasil analisis RSM yang disajikan pada **Gambar 9** dapat diamati visualisasi model 3D yang menggambarkan interaksi antara tiga faktor terhadap TPC. Model respon permukaan ini menampilkan hubungan antara dua variabel bebas dengan satu variabel tetap yang ditentukan variasi besarnya. Variabel yang ditentukan besarnya adalah waktu ekstraksi yang ditetapkan pada kondisi 20,012 menit. Variasi warna pada permukaan respon menunjukkan gradasi nilai TPC. Spektrum warna biru menunjukkan TPC yang kecil. Sedangkan gradasi warna merah menunjukkan TPC yang semakin besar (Kamal *et al.*, 2023). Hasil optimasi solusi kondisi optimum diperoleh pada rasio bahan-pelarut (1:5),

rasio etanol-akuades (100:0), dan waktu ekstraksi 20,012 menit. Dimana rasio etanol-akuades sangat berpengaruh signifikan terhadap TPC bunga telang. TPC akan terus meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi etanol hingga mencapai rasio etanol-akuades (100:0), karena senyawa fenolik memiliki kelarutan yang lebih baik dalam pelarut etanol, sehingga memfasilitasi proses ekstraksi yang lebih efektif (Diantika *et al.*, 2014). Temuan ini konsisten dengan penelitian Dhanani *et al.* (2017) yang melaporkan bahwa ekstraksi menggunakan etanol 100% mampu menghasilkan TPC tertinggi.

Proses verifikasi kondisi optimal dilakukan untuk memvalidasi prediksi model terhadap tiga faktor ekstraksi yang meliputi rasio bahan-pelarut, rasio etanol-akuades, dan waktu ekstraksi. Berdasarkan rekomendasi *software Design Expert 13*, percobaan verifikasi dilakukan dengan solusi kondisi optimal yaitu rasio bahan-pelarut (1:5), rasio etanol-akuades (100:0), dan waktu ekstraksi 20,012 menit. Hasil verifikasi disajikan pada **Tabel 12** yang menunjukkan nilai TPC aktual sebesar 19,141 mg GAE/g. Sedangkan perhitungan program *Design Expert 13* hasil respon TPC sebesar 15,979 mg GAE/g. Perbedaan nilai respon prediksi dengan verifikasi lebih kecil dari 5% yaitu 3,162% yang berarti nilai verifikasi sudah sesuai dengan nilai prediksi program. Menurut pernyataan Hiovenaguna & Widjanarko (2017) menjelaskan bahwa perbedaan nilai prediksi dan nilai aktual tidak lebih dari 5% mengindikasikan bahwa model tersebut cukup tepat. Dengan demikian selisih nilai tidak terlalu signifikan dan solusi optimal yang diberikan program *Design Expert 13* dapat diterima. Diperkuat juga dengan nilai *PI (Prediction Interval)* merupakan rentang yang menunjukkan ekspektasi hasil pengukuran respon berikutnya dengan perlakuan yang sama (Hepi *et al.*, 2021). Hasil nilai aktual verifikasi yang diperoleh pada penelitian ini masuk dalam rentang 95% *PI low* dan 95% *PI high*. Hal tersebut membuktikan bahwa solusi kondisi proses optimum ekstraksi memberikan hasil pengujian yang sesuai dengan prediksi dari rekomendasi program.

Dari penelitian yang dilakukan didapatkan adanya hubungan antara hasil TPC dengan rendemen yang menunjukkan korelasi berbanding terbalik. Fenomena ini erat kaitannya dengan variasi rasio etanol-akuades yang digunakan

selama proses ekstraksi. Peningkatan presentase etanol cenderung menghasilkan nilai TPC yang lebih tinggi tetapi rendemen yang diperoleh lebih rendah, begitupun sebaliknya (Dhanani *et al.*, 2017). Hal ini sangat dipengaruhi oleh polaritas senyawa target yang diekstraksi yaitu senyawa fenolik total yang bersifat semi polar. Sehingga, etanol yang sifatnya semi polar akan mengekstrak senyawa fenolik total dalam bunga telang secara optimal seperti prinsip *like dissolve like* (Zhang *et al.*, 2018). Pada penelitian ini rasio etanol-akuades 100:0 meskipun menghasilkan rendemen rendah tetapi mampu mengekstrak senyawa fenolik total dalam hasil TPC yang tinggi.

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI
YOGYAKARTA