

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Umum *Nypa fruticans*

Nypa fruticans merupakan tumbuhan rawa jenis palma yang cocok pada iklim pantai, daerah pasang surut dengan ketinggian 0-10 meter diatas permukaan laut. Lebar jalur pertumbuhannya mencapai 50-500 meter dari tepian sungai (Suharto, 1991). Tumbuhan *Nypa fruticans* tumbuh dan hidup secara berumpun, di Indonesia banyak ditemukan di sepanjang pantai Sumatera dan Kalimantan. Jenis palma ini umumnya berhabitat di daerah payau dan tanah berlumpur serta dipengaruhi oleh pasang surutnya air laut dan air sungai (Rachman dan Sudarjo, 1991). Corner dan Watanabe (1969) mengklasifikasikan tumbuhan *Nypa fruticans* sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Arecales
Famili	: Palmae (Araceae)
Sub famili	: Nipoideae
Genus	: <i>Nypa</i>
Spesies	: <i>Nypa fruticans</i> Wurm



Gambar 1. Tumbuhan *Nypa fruticans*

Selama ini *Nypa fruticans* belum banyak dibudidayakan, karena areal hutan *Nypa fruticans* masih cukup luas dan tumbuhan ini masih dianggap sebagai tumbuhan liar. Di beberapa tempat di sebelah selatan Asia Tenggara, *Nypa fruticans* juga sering ditanam, oleh karena itu pengelompokan tumbuhan *Nypa fruticans* berdasarkan tempat populasi menyebabkan tumbuhan ini mempunyai beberapa nama. Di Inggris dinamakan *water palm* dan *water coconut* pada palma ini. Di Burma *Nypa fruticans* dikenal dengan nama *dana* dan di Singapura dikenal dengan *attap palm*, di Filipina dikenal dengan *nipa palm*, Indonesia dan Malaysia biasa disebut nipah.

Tumbuhan *Nypa fruticans* hampir sama dengan tumbuhan sagu muda, tumbuhan ini tidak berduri dan berbatang. *Nypa fruticans* tidak mempunyai batang secara jelas sebagaimana keluarga palma lain. Batangnya yang sangat pendek dan berupa rimpang yang terbenam di dalam tanah yang tidak kelihatan. *Nypa fruticans* mempunyai akar serabut yang menjalar dengan panjang dapat mencapai 13 meter dan terletak di dalam lumpur tanah yang sifatnya labil. Daun *Nypa fruticans* yang tua berwarna hijau dan yang masih muda berwarna kuning hampir menyerupai janur kelapa. Bunganya timbul dari celah pelepah dan setiap pelepah dapat mengeluarkan bunga secara bergiliran. Panjang tangkai pada daun bunga dapat mencapai 70-100 cm (Rachman *et al.*, 1991).

2.2. Manfaat Tumbuhan *Nypa fruticans*

Nypa fruticans masih sering dianggap sebagai tumbuhan liar yang tidak bermanfaat sehingga saat ini masih jarang dibudidayakan orang. Daun *Nypa fruticans* yang masih berupa pucuk digunakan sebagai pengulung rokok, sedangkan daun yang sudah tua merupakan bahan yang berguna untuk pembuatan atap rumah. Daun muda dapat dianyam untuk membuat tikar dan tas. Lidinya dapat digunakan untuk sapu, bahan anyam-anyaman dan tali, pelepah daun dapat digunakan sebagai bahan kayu bakar. Pelepah daun ini juga mengandung selulosa, yang bisa dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bubur kertas (Rachman dan Sudarjo, 1991).

Tangkai buah *Nypa fruticans* bila disadap akan menghasilkan nira yang dapat dijadikan gula. Pada dasarnya nira merupakan hasil fotosintesis dari daun



yang berupa senyawa organik, antara lain berupa pati. Agar pati tersebut dapat tersimpan dalam buah (biji), maka arus pengiriman pati tersebut diperlancar melalui proses fisiologi tumbuhan dan diubah menjadi gula berbentuk cair yang dikenal dengan nama nira. Nira dari *Nypa fruticans* dapat dijadikan sebagai pemanis alami baru. Komposisi kimia nira *Nypa fruticans* dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini

Tabel 1. Komposisi kimia nira nipah

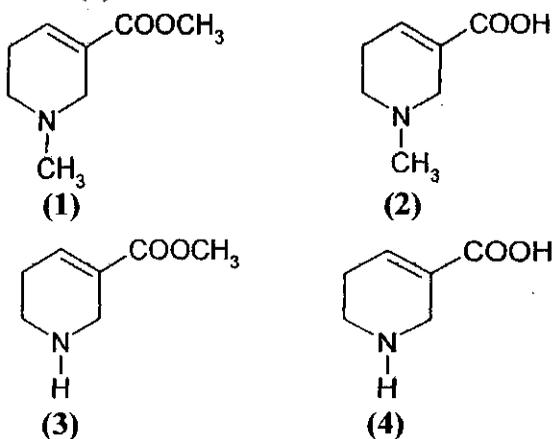
Komposisi	Kadar (%)
Glukosa	15-17
Sukrosa	13-15
Gula reduksi	0,2-0,5
Abu	0,3-0,7

Sumber: Rachman dan Sudarjo, 1991

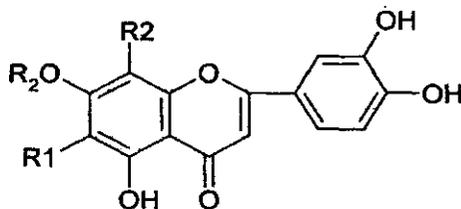
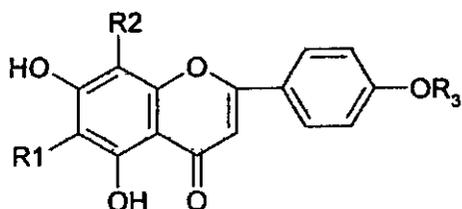
Di pulau Mantehage Sulawesi Utara *Nypa fruticans* dijadikan sebagai obat luka atau sebagai antiinflamasi. Ini dilakukan dengan percobaan terhadap mencit Swiss, dimana penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak daun *Nypa fruticans* dapat menyembuhkan atau pemulihan hati yang rusak dengan mekanisme antiinflamasi (Possangi dan Tambajong, 2001). Disisi lain ekstrak daun *Nypa fruticans* dapat digunakan untuk menghambat perkaratan seng (Zn) yang disebabkan oleh asam klorida (HCl) (Orubite *et al.*, 2004).

2.3. Senyawa Kimia dari Famili Araceae

Pada tahun 2006 Giri *et al.*, telah berhasil mengisolasi 4 senyawa alkaloid dari tumbuhan *Areca catechu* (Araceae) yaitu arekolin (1), arekaidin (2), gufakolin (3), dan gufakin (4).



Pada tahun 1999 Iwashina *et al.*, berhasil mengisolasi 8 turunan flavonoid dari daun tumbuhan Taro (*Araceae*) yaitu orientin (5), isoorientin (6), isofiteksin (7), fikenin-2 (8), orientin 7-*o*-glukosida (9), isofiteksin 4'-*o*-glukosida (10), fiteksin x''-*o*-glukosida (11), luteolin 7-*o*-glukosida (12).



7 $R_1 = C\text{-glukosil}, R_2 = R_3 = H$

5 $R_1 = R_2 = H, R_3 = C\text{-glukosil}$

8 $R_1 = R_2 = C\text{-glukosil}, R_3 = H$

6 $R_1 = C\text{-glukosil}, R_2 = R_3 = H$

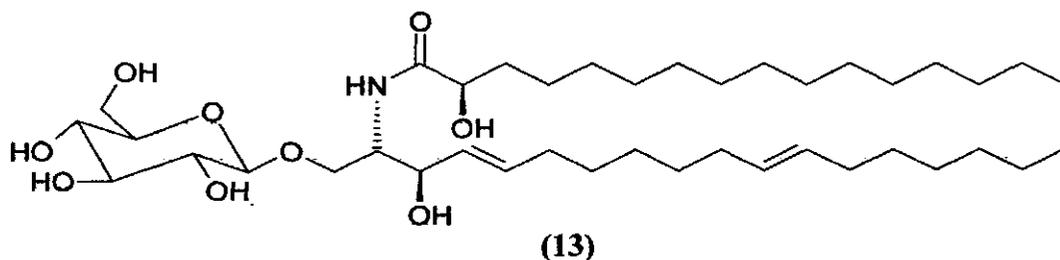
10 $R_1 = C\text{-glukosil}, R_2 = H, R_3 = \text{glukosil}$

9 $R_1 = H, R_2 = \text{glukosil}, R_3 = C\text{-glukosil}$

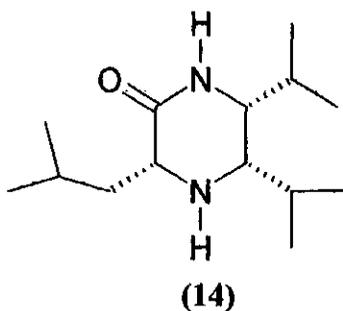
11 $R_1 = R_3 = H, R_2 = C\text{-glukoglukosil}$

12 $R_1 = R_3 = H, R_2 = \text{glukosil}$

Pada tahun 2003 Chen *et al.*, telah berhasil mengisolasi senyawa pinellosida (13) dari daun tumbuhan *Pinellia ternata* famili *Araceae* senyawa ini memiliki aktivitas sebagai antimikrobia



Pada tahun 2007 Desouky *et al.*, telah berhasil mengisolasi alkaloid baru yaitu piperazirum (14) dari daun tumbuhan *Arum palaestinum* Boiss famili *Araceae*, senyawa ini memiliki aktivitas sebagai antitoksitas dan antitumor.



2.4. Metoda Isolasi Senyawa Bahan Alam

2.4.1. Metoda ekstraksi

Metoda ekstraksi yang dipilih untuk mendapatkan senyawa bahan alam sangat tergantung kepada jenis sampel tumbuhan dan jenis senyawa yang ada. Terutama tergantung pada keadaan fisik senyawa tersebut, misalnya senyawa berupa cairan yang mudah menguap berbeda cara ekstraksi dengan cairan yang tidak menguap.

Ada beberapa teknik ekstraksi senyawa bahan alam yang umum digunakan antara lain maserasi, perkolasi, soksletasi. Maserasi biasanya dilakukan untuk bagian tumbuhan yang tekstur lunak, seperti bunga dan daun. Senyawa organik metabolit sekunder yang ada dalam bahan alam tersebut umumnya dalam persentase yang cukup banyak. Cara lain yang digunakan adalah perkolasi, cara ini digunakan untuk bagian tumbuhan yang teksturnya keras seperti akar, batang dan biji dan apabila senyawa kimia yang akan diekstrak dalam persentase yang cukup sedikit. Sedangkan tehnik soksletasi digunakan untuk sampel yang senyawa kimianya tahan panas. Prinsipnya yaitu menggunakan suatu pelarut yang mudah menguap dan dapat melarutkan senyawa organik yang terdapat dalam bahan alam tersebut. Semua teknik diatas penguapan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* (Sharp *et al.*, 1989).

2.4.2. Metoda Pemisahan

Dalam mengisolasi senyawa bahan alam tahap pemisahan merupakan tahap yang penting. Ada berbagai metoda untuk memisahkan senyawa bahan alam, seperti kromatografi. Kromatografi merupakan teknik pemisahan yang paling baik untuk pemurnian senyawa. Hampir setiap campuran kimia dapat dipisahkan dengan metoda ini, mulai dari bobot yang paling besar sampai bobot yang paling kecil. Pemisahan secara kromatografi berdasarkan beberapa kecenderungan sifat fisiknya yaitu ; 1. kecenderungan molekul untuk larut dalam cairan (kelarutan). 2. kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan serbuk halus (adsorpsi, penyerapan) dan 3. kecenderungan molekul untuk menguap atau berubah ke keadaan uap (keatsirian) (Gritter *et al.*, 1991).

Dalam kromatografi terdapat dua fase yaitu fase gerak dan fase diam. Fase gerak kromatografi dapat berupa zat cair atau gas dan fase diam dapat berupa zat padat atau zat cair. Berdasarkan sifat fase gerak dan fase diamnya, maka kromatografi dapat dikelompokkan menjadi empat kelompok kromatografi. Keempat kelompok kromatografi tersebut adalah cair-padat, gas-padat, cair-cair, dan gas-cair (Gritter *et al.*, 1991).

2.4.2.1. Kromatografi lapis tipis

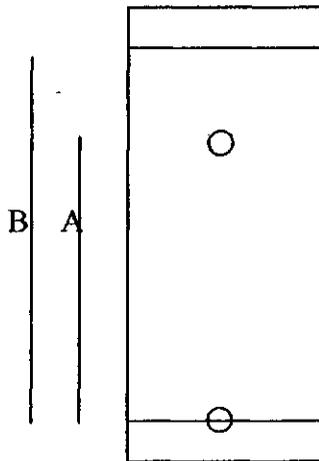
Kromatografi lapis tipis fase diamnya berupa lapisan dan fase geraknya mengalir karena kerja kapiler. Pada kromatografi lapis tipis (KLT), fase padatnya berupa lapisan yang terdiri atas bahan padat yang dilapiskan kepada permukaan penyangga yang biasanya terbuat dari kaca, tetapi dapat pula terbuat dari plat polimer atau logam. Lapisan melekat kepada permukaan dengan bantuan bahan pengikat, biasanya kalsium sulfonat atau amilum (pati). Pada KLT lapisan itu biasanya berfungsi sebagai permukaan padat yang menyerap, walaupun dapat pula dipakai sebagai penyangga zat cair.

Cara kerja dari KLT adalah sebagai berikut : campuran yang akan dipisahkan dilarutkan dalam pelarut yang sesuai. Untuk selanjutnya ditotolkan pada garis batas bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler, semprit atau alat otomatis. Pelarut dibiarkan menguap ke udara, kemudian dimasukkan kedalam fase gerak, lalu *chamber* ditutup dan ditunggu sampai pelarut naik pada garis batas (Gritter *et al.*, 1991).

Untuk dapat menghitung jarak yang ditempuh oleh noda maka harus diketahui lokasi noda pada plat dengan tepat. Untuk noda yang berwarna dapat dilihat secara visual, tetapi untuk noda tertentu dapat diamati dibawah lampu ultraviolet. Sedangkan untuk komponen yang tidak berwarna harus terlebih dahulu diubah menjadi warna dengan menggunakan pereaksi penampak noda. Persamaan visualisasi warna dibandingkan dengan standar, dapat digunakan sebagai indikasi tambahan untuk mengidentifikasi suatu senyawa secara kualitatif, karena harga R_f belum tentu digunakan secara mutlak.



Noda yang telah didapat ditandai dengan menggunakan pensil. Gunanya adalah untuk mencari harga Rf. Rf adalah perilaku senyawa-senyawa tertentu di dalam sistem kromatografi tertentu pula. Harga Rf berkisar antara 0 sampai 1.



$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh sampel (A)}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen (B)}}$$

Gambar 2. Plat KLT

2.4.2.2. Kromatografi kolom

Kromatografi kolom merupakan salah satu metoda kromatografi dengan fase gerak cair dan fase diam padat. Penggunaan fase gerak (eluen) disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dipisahkan.

Fase diam, baik bahan alam yang menyerap atau film zat cair pada penyangga, ditempatkan dalam tabung kaca berbentuk silinder, pada bagian bawah tertutup dengan katup atau kran dan fase gerak dibiarkan mengalir ke bawah melaluinya karena gaya berat. Pada kondisi yang dipilih dengan baik, eluen yang merupakan komponen campuran, turun berupa pita dengan laju yang berlainan dan dengan demikian dipisahkan. Eluen biasanya dipisahkan dengan cara membiarkannya mengalir keluar dari kolom dan mengumpulkannya sebagai fraksi, seringkali dengan memakai pengumpul fraksi mekanis (Gritter *et al.*, 1991).

Untuk mengoptimalkan hasil pemisahan dapat pula menggunakan kolom yang dilengkapi dengan aliran tekanan udara yang berasal dari aerator. Dalam hal ini kolom sedikit diberi modifikasi yakni, ujung kolom dibagian atas diberi penutup dan lubang saluran udara melalui pipa atau selang aerator. Tekanan udara akan mempercepat proses elusi dalam kolom. Tekanan ini lebih menguntungkan karena memisahkan dengan baik, tidak memakan waktu yang cukup lama, elusi

berjalan dengan baik jika dibandingkan dengan tanpa menggunakan tekanan udara (Hostettmann *et al.*, 1995).

2.4.2.3. Kromatografi cepat

Konsep kromatografi cepat (*flash chromatography*) sangat sederhana dan pemisahan preparatif memakai kromatografi kolom biasa yang dimodifikasi ini sangat mudah dilakukan, menggunakan alat gelas yang mudah didapat dan murah (Hostettmann *et al.*, 1995). Teknik ini berfungsi dalam kimia sintesis dan kimia bahan alam. Pemisahan dilakukan dengan memberikan tekanan pada kolom berupa udara atau gas nitrogen yang berfungsi untuk mempercepat proses pemisahan tersebut. Fasa diam yang digunakan pada kromatografi cepat adalah silika gel yang memiliki ukuran partikel 40 – 60 μm (230 – 400 mesh) (Cannel, 1998). Ukuran partikel yang kecil memberikan luas permukaan yang besar dan keseragaman meningkatkan resolusi. Ukuran kolomnya berdiameter antara 3-10 cm dan panjangnya 7-15 cm (Colegate dan Molyneux, 1993).

Kromatografi kilat ini pertama kali dipublikasikan pada tahun 1978 oleh Still *et al.*, sebagai usaha untuk memperpendek waktu kerja dari kromatografi kolom terbuka. Cara ini sangat murah dilakukan karena hanya menggunakan alat-alat gelas. Oleh karena itu metoda ini banyak sekali digunakan oleh para peneliti yang bekerja dalam masalah pemisahan. Kinerja kromatografi kilat lebih rendah dari pada kromatografi cair tekanan menengah, tapi dengan pertimbangan kesederhanaan dan ekonomi orang lebih sering menggunakan metoda ini (Hostettmann *et al.*, 1995).

2.4.2.4. Kromatografi vacum cair (VLC)

Kromatografi jenis ini pertama kali diperkenalkan oleh Coll *et al.*, pada tahun 1977. Metoda ini digunakan oleh Coll *et al.*, untuk mengisolasi diterpena sembreoid dari terumbu karang lunak Australia. Kromatografi vakum cair menggunakan silika gel 60 (63-200 μm , Merck). Kolom kromatografi dikemas kering (biasanya dengan penyerap mutu 10-40 μm) dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemesan maksimum. Vakum dihentikan, pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke permukaan penyerap lalu divakumkan lagi.

Kolom dihisap sampai kering dan sekarang siap dipakai. Cuplikan dilarutkan dalam pelarut yang cocok, dimasukkan langsung pada bagian atas kolom dan dihisap perlahan-lahan ke dalam kemasan dengan memvakumkannya. Kolom dielusi dengan campuran pelarut yang cocok, mulai dari pelarut dengan kepolaran rendah lalu kepolaran ditingkatkan perlahan-lahan, kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi (Hostettmann *et al.*, 1995).

2.4.2.5. Kromatografi radial (*Chromatotron*)

Kromatografi radial merupakan suatu teknik pemisahan untuk hasil fraksinasi. Dalam hal ini, fraksi hasil pemisahan kromatografi kolom belum memuaskan maka teknik ini dapat dipakai untuk memisahkan satu persatu komponen senyawa hasil pemisahan KLT maupun kromatografi kolom.

Pada prinsipnya kromatografi radial adalah kromatografi klasik dengan aliran fase gerak yang dipercepat oleh gaya sentrifugal. Bentuknya sederhana, dengan desain yang baru berupa plat yang berbentuk piringan dari bahan kaca dengan garis tengah 24 cm, serta penyerapannya menggunakan silika gel PF₂₅₄ yang umumnya digunakan untuk pemisahan yang lebih baik.

Rotor terdapat dalam ruang yang tertutup dengan pelat kaca kuarsa, Penutup ini memungkinkan kita mengamati bercak yang tidak berwarna tetapi dapat menyerap sinar UV dengan memakai lampu UV. Teknik ini menggunakan aliran gas nitrogen untuk mencegah penggembunan pelarut pengelusi dan untuk mencegah oksidasi cuplikan (Hostettmann *et al.*, 1995).

2.4.2.6. Kromatografi cair kecepatan tinggi

Kromatografi cair kecepatan tinggi merupakan salah satu jenis metoda kromatografi yang sering disebut dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). HPLC dilakukan pada temperatur rendah. Pada prinsipnya alat ini bekerja dengan adanya kompetisi dari 2 fase yaitu fase mobil (gerak) dan fase stasioner (diam). HPLC dapat digunakan untuk senyawa yang mudah menguap (Khopkar, 2003). Pada HPLC fase diam yang digunakan ada dua sistem yaitu :

1. Fase normal : jika fase gerak nonpolar dan fase diam polar
2. fase terbalik : jika fase gerak polar dan fase diam non polar

Keunggulan HPLC dari kromatografi cair lainnya adalah kolom HPLC dapat digunakan berulang-ulang tanpa degenerasi, tercapainya hasil yang memuaskan, peralatan dapat dioperasikan secara otomatis dan kuantitatif, pelarut yang menetes melalui kolom dibawah grafitasi, didukung melalui tekanan tinggi sampai dengan 400 atm. Ini membuatnya lebih cepat dan dapat dipergunakan untuk keperluan preparatif (Jhonson dan Robert, 1991).

HPLC dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Untuk analisis kualitatif yang digunakan adalah waktu retensi dari suatu senyawa. Waktu retensi adalah waktu yang diperlukan oleh suatu senyawa tertahan dalam kolom atau terpisah dari kolom, sedangkan untuk analisis kuantitatif digunakan luas puncak berbanding lurus dengan konsentrasi (Kennedy, 1990).

2.5. Uji Kemurnian dengan Titik Leleh

Titik leleh adalah temperatur keadaan suatu kristal mulai meleleh sampai meleleh seluruhnya. Titik leleh ini merupakan tetapan fisika untuk menentukan uji kemurnian dan identifikasi senyawa tidak dikenal. Harga yang didapat dibandingkan dengan literatur berdasarkan dugaan semula. Jika titik leleh yang didapat memberikan jarak yang tidak begitu besar (kecil dari atau sama dengan 2° C) maka kemungkinan senyawa sudah murni. Penggunaan tetapan fisika hanya sebagai langkah pendahuluan saja, dengan perkataan lain data pengujian tetapan fisika bukan satu-satunya cara yang menentukan kemurnian suatu senyawa (Sharp *et al.*, 1989).

2.6. Metoda Karakterisasi

2.6.1. Spektroskopi inframerah

Spektroskopi inframerah sangat penting dalam kimia modern, terutama pada kimia organik. Spektrofotometri inframerah lebih banyak digunakan untuk identifikasi suatu senyawa melalui gugus fungsinya. Hal ini mungkin disebabkan spektrum inframerah senyawa organik bersifat khas, artinya senyawa yang berbeda akan mempunyai spektrum yang berbeda pula. Daerah inframerah terletak antara spektrum elektromagnetik cahaya tampak dan spektrum radio yaitu antara 400 dan 4000 cm^{-1} (Noerdin, 1985).

Adanya vibrasi molekul dapat memberikan sifat-sifat yang khas dari suatu senyawa dalam spektrofotometri inframerah. Pita absorpsi inframerah akan tampak untuk tiap derajat kebebasan vibrasi asalkan terjadi perubahan momen dwi lainnya. Absorpsi terjadi di daerah inframerah dan intensitas absorpsi cukup kuat untuk dideteksi (Silverstein, 1986).

Frekuensi vibrasi suatu ikatan dapat dihitung dengan menggunakan hukum Hooke :

$$\nu = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\frac{m_1 \cdot m_2}{m_1 + m_2}}}$$

Dengan : ν = frekuensi vibrasi (cm^{-1})

k = konstanta gaya untuk ikatan kimia (N cm^{-1})

m_1, m_2 = massa atom yang terlibat (gram)

c = kecepatan cahaya ($3 \times 10^{10} \text{ cm s}^{-1}$)

2.6.2. Spektroskopi ultraviolet

Spektrum ultraviolet dan sinar tampak dari suatu senyawa organik berhubungan dengan transisi elektron dari satu tingkat energi ke tingkat energi yang lebih tinggi. Kegunaan lainnya adalah untuk mengetahui jumlah ikatan rangkap yang terdapat didalam suatu molekul (Sudjadi, 1983).

Apabila suatu molekul menyerap radiasi ultraviolet, didalam molekul tersebut terjadi perpindahan tingkat energi elektron-elektron ikatan di orbital molekul paling luar dari tingkat energi yang lebih rendah ke tingkat energi yang lebih tinggi (Noerdin, 1985). Untuk mempelajari serapan ultraviolet secara kualitatif berkas radiasi dikenakan pada cuplikan dan intensitas radiasi yang ditransmisikan harus diukur. Penggunaan spektroskopi ultraviolet secara kualitatif berhubungan dengan hukum Lambert-Beer, maka dapat dinyatakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi dan tebal cuplikan (Silverstein, 1986).

Hubungan ini dapat dirumuskan sebagai berikut :

$$\text{Log } T = A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

$$-\text{log } T = A = \text{Absorbansi}$$



Dengan : ϵ = Absorptivitas molar ($\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$)
b = Panjang sel (cm)
c = Konsentrasi (M)

Serapan ultraviolet secara kualitatif pada senyawa aromatik dan heterosiklik dengan pengaruh substitusi terhadap inti aromatik menurut Noerdin (1985) telah dipelajari secara luas. Substitusi lingkaran dengan gugus yang mempunyai elektron bebas atau elektron phi (π) yang berdekatan dengan lingkaran benzen akan menyebabkan pergeseran pita serapan ke panjang gelombang lebih besar (efek batokrom). Untuk lingkaran benzen yang mempunyai dua substitusi, tidak selalu dapat diramalkan harga panjang gelombang maksimumnya, tetapi tiga kaedah umum dibawah ini sangat berguna,

1. Bila gugus penarik elektron ($-\text{NO}_2$) dan gugus pendorong elektron ($-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{X}$) satu terhadap yang lain berada pada posisi para, terjadi pergeseran ke panjang gelombang lebih besar (efek batokrom).
2. Bila gugus penarik elektron dan gugus pendorong elektron berada pada posisi orto dan meta, spektrumnya hanya berbeda sedikit saja dari spektrum masing-masing senyawa monosubstitusi dengan gugus bersangkutan.
3. Bila dua gugus penarik elektron atau dua gugus pendorong elektron berada pada posisi para, spektrumnya hanya berbeda sedikit dari spektrum masing-masing senyawa monosubstitusi dengan gugus yang bersangkutan.

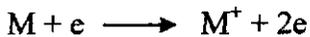
2.6.3. Spektroskopi massa

Spektrofotometer massa adalah suatu metode identifikasi struktur molekul senyawa berdasarkan massa. Spektrum massa merupakan rangkaian puncak-puncak yang berbeda-beda tingginya (Khopkar, 2003).

Suatu titik permulaan yang ideal dalam analisis struktur organik, penggunaan data spektroskopi massa adalah untuk memperoleh rumus molekul. Hal ini sangat mungkin karena spektrofotometer massa memberikan seluruh isotop yang hadir pada suatu senyawa untuk dapat diteliti secara bersamaan. Spektrofotometer massa memulai analisis dengan cara mengionisasi suatu sampel dan ion yang dihasilkan dipisahkan, kemudian diplot sebagai perbandingan massa terhadap muatan (m/z) versus kelimpahan relatif (relative abundance, %).



Muatan ion-ion tunggal atau ganda yang bermuatan positif maupun negatif dapat diamati (Crews, 1998).



Ion molekul M^+ cenderung tidak stabil dan biasanya terurai menjadi sepasang pecahan atau fragmen yang dapat berupa radikal dan ion atau molekul kecil dan radikal kation (Sastrohamidjojo, 2001).

Intensitas dari puncak ion molekul tergantung pada kestabilan ion yang terbentuk yang dipengaruhi oleh struktur molekul. Puncak yang paling tinggi dari spektrum massa disebut *base peak*. Setiap komponen memberikan rangkaian fragmentasi yang spesifik yang biasa disebut pola fragmentasi dan berbentuk deretan garis (Khopkar, 2003).

2.6.4. Spektroskopi *nuclear magnetic resonance* (NMR)

Spektroskopi NMR merupakan teknik yang sangat baik di dalam menentukan struktur senyawa organik. Spektroskopi NMR berhubungan dengan sifat magnetik inti. Penentuan senyawa dengan menggunakan NMR akan diperoleh gambaran perbedaan sifat magnet dari berbagai inti yang ada untuk menduga letak inti tersebut dalam molekul (Sudjadi, 1983).

Spektrum normal NMR adalah pengumpulan dari satu atau lebih puncak resonansi pada frekuensi berbeda. *Chemical shift* atau pergeseran kimia menunjukkan posisi frekuensi resonansi yang diamati pada inti spesifik lingkungan struktur tunggal (Crews, 1998). Ada dua jenis spektroskopi NMR yaitu ^1H NMR dan ^{13}C NMR. Salah satu bagian informasi yang penting pada suatu spektrum ^1H NMR adalah pergeseran kimia dari berbagai jenis proton di dalam sampel. ^{13}C NMR juga memberikan informasi struktur berdasarkan pergeseran kimia dari bermacam-macam karbon pada suatu senyawa (Mohrig *et al.*, 2003).

Spektrofotometer modern beroperasi pada bermacam-macam kekuatan medan magnet tergantung inti spesifik yang diamati pada bermacam-macam frekuensi. Plot NMR memiliki nilai Hz (unit frekuensi) dan delta (δ). Nilai δ dihitung dengan mengukur perbedaan pergeseran (*shift*) dalam Hz, antara suatu proton dan internal standar. Nilai ini dibagi oleh frekuensi spektrofotometer yang

selalu perkalian 1.000.000 Hz (MHz), jadi nilai δ adalah dalam satuan unit *part per million* (ppm) seperti yang ditunjukkan dalam persamaan di bawah ini :

$$\delta = \frac{\text{pergeseran sampel (Hz)} - \text{pergeseran TMS (Hz)}}{\text{frekuensi spektrofotometer (MHz)}} = \text{ppm}$$

Titik nol diset berdasarkan frekuensi dari standar *tetramethylsilane* (TMS, BP= 26°C) merupakan senyawa inert dan terkadang ditambahkan kepada sampel serta memberikan referensi internal untuk menghitung pergeseran kimia. Standar TMS digunakan untuk pergeseran kimia NMR ^1H , ^{13}C dan ^2H . Kebanyakan pergeseran kimia yang relatif tidak terlindungi oleh TMS, ditunjukkan sebagai nilai positif, sedangkan bagian terlindungi terhadap TMS ditunjukkan sebagai nilai negatif (Crews, 1998).

