BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Daun Katu (*Sauropus androgynus* L. Merr)

Daun katu adalah tanaman yang tumbuh liar. Daun katu banyak tumbuh di India, Indonesia dan Malaysia. Tanaman ini dikenal berbagai daerah dengan berdasarkan daerahnya masing-masing seperti Memata (Melayu), Simani (Minangkabau), Katu (Sunda), Kebing dan Katuan (Jawa), Kerakur (Madura). Tinggi batang daun katu 2-5 meter. Daun katu mempunyai ciri-ciri sebagai berikut daun muda berwarna hijau dan setelah tua berwarna cokelat kehijauan, daun majemuk, bulat telur, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi rata, panjang 1-6 cm, lebar 1-4 cm, pertulangan menyirip, warna hijau. Daun katu memiliki bunga majemuk bentuk payung di ketiak daun, mahkota bulat telur dan berwarna ungu (Seputra, 2008). Daun katu tumbuh pada pH minimum 5,1 dan pH maksimum 7,5. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa dalam tiap 100 g daun katu mengandung energi 59 kal, protein 6,4 g, lemak 1,0 g, hidrat arang 9,9 g, serat 1,5 g, abu 1,7 g, kalsium 233 mg, fosfor 98 mg, besi 3,5 mg dan vitamin C 164 mg, serta air 81 g (Azis dan Muktiningsih, 2008).

Klasifikasi daun katu secara lengkap sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae (tanaman)
Subkingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Superdivisio	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisio	: Magnoliophyta (berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub-kelas	: Rosidae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: *Sauropus*
Spesies	: *Sauropus androgynus* (L.) Merr

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

Gambar 1. Bunga, batang dan daun tanaman katu

2.2. Tinjauan Umum Famili *Euphorbiaceae*

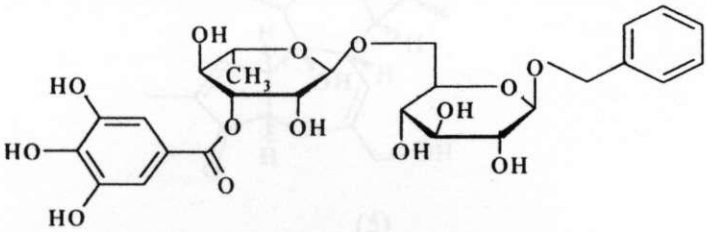
Kata Euphorbiaceae berasal dari nama seorang tabib bernama Euphorbor yang terkenal di Maurintina, Afrika Barat Laut pada tahun pertama masehi. Euphorbiaceae adalah salah satu famili tanaman berbunga yang mempunyai 322 genus dan 8900 spesies. Sebagian besar berbentuk herba tetapi pada daerah tropis berbentuk pohon atau semak. Di Indonesia, tanaman ini banyak tumbuh di daerah pantai sampai pegunungan dengan ketinggian 1400 m. Tumbuhnya liar di tempat-tempat terbuka yang lembab maupun yang kering, seperti tepi kolam, sungai pinggir jalan dan pematang sawah (Balakrishnan dkk, 2007).

Tanaman famili Euphorbiaceae mempunyai daun tunggal atau majemuk, duduknya tersebar atau berhadapan dengan daun-daun penumpu yang seringkali menyerupai kelenjar. Hampir semua bagian tubuh dalam famili ini mengandung getah yang terdapat dalam saluran-saluran getah yang hanya terdiri atas 1 saluran saja (suatu senosit) yang panjang dan bercabang-cabang serta bersambungan satu sama lain (anastomoseren), dapat pula merupakan fusi banyak sel seperti buluh-buluh pengangkutan. Getahnya dapat dimanfaatkan sebagai obat (Tjitrosoepomo, 1991).

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

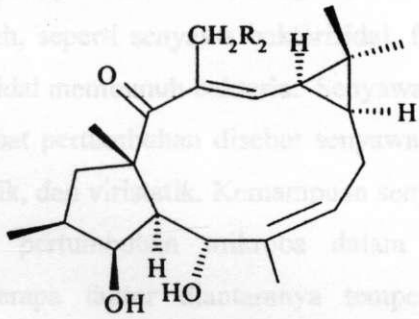
2.3. Beberapa Senyawa Kimia Famili *Euphorbiaceae*

Feng dkk (2009) telah berhasil mengisolasi aril glikosida yaitu 3"-O-galloil-benzil-O-α-L-ramnopiranosil-(1→6)-β-D-glukopiranosida (1) dari *Euphorbia helioscopia* L. yang bersifat sebagai antimikrobial dan antitumor.



(1)

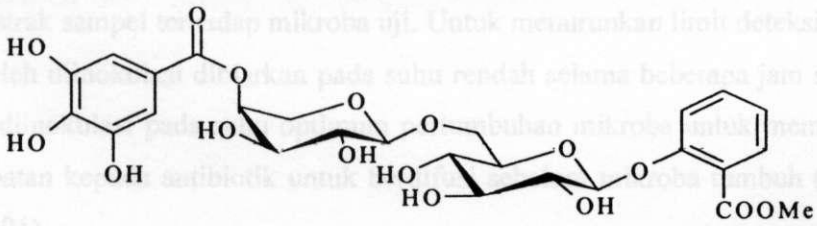
Wang dkk (2008) telah berhasil mengisolasi dua diterpen latiran baru yaitu 3β,5α-dihidroksi-15β-sinnamoiloksi-14-oksalatira-6Z,12E -diena (2) and 3β,5α,20- trihidroksi-15β-sinnamoiloksi-14-oksolatira-6Z,12E-diena (3) dari *Euphorbia kansuensis* yang bersifat sebagai obat laksatif.



R1 = Sinnamoil; R2=H (2)

R1 = Sinnamoil; R2=OH (3)

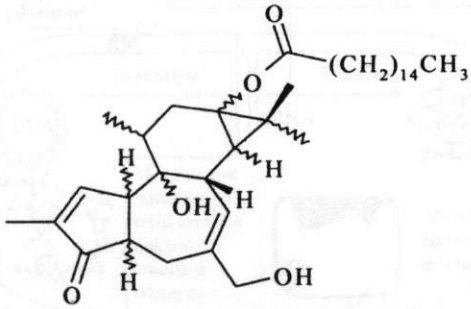
Kanchanapoom (2008) telah berhasil mengisolasi diglikosida aromatik yaitu 4"-O-galloil-violutosida (4) dari *Cladogynos orientalis* yang digunakan oleh masyarakat tradisional Asia untuk mengobati sakit perut.



(4)

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

Haba dkk (2007) telah berhasil mengisolasi senyawa diterpen yaitu 4,12-dideoksi(4α)forbol-13-heksadekanoat (5) dari *Euphorbia guyoniana*.



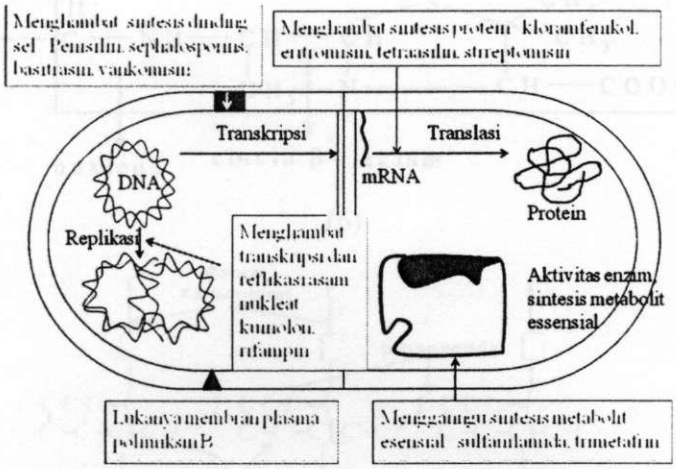
(5)

2.4. Senyawa Antimikrobial

Senyawa antimikrobial adalah senyawa yang dapat membunuh mikroba atau yang menghambat pertumbuhan mikroba tersebut. Senyawa yang membunuh organisme sering disebut sidal, dengan prefik yang menunjukan jenis organisme yang dibunuh, seperti senyawa bakterisidal, fungisidal, dan virisidal. Suatu senyawa bakterisidal membunuh bakteria. Senyawa yang tidak membunuh tetapi hanya menghambat pertumbuhan disebut senyawa statik, seperti senyawa bakteriostatik, fungistatik, dan viristatik. Kemampuan senyawa antimikroba untuk menghambat aktivitas pertumbuhan mikroba dalam sistem pangan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya temperatur, keasaman (pH), pengaruh khusus dari mikroorganisme (Madigan dkk, 2000).

Uji aktivitas antimikrobial yang umum digunakan adalah metode difusi agar (*Kirby Bauer Test*). Dengan metode difusi ini, ekstrak uji yang diserap dengan kertas cakram dimasukkan ke dalam cawan petri dan dikontakkan dengan media yang telah diinokulasi. Kemudian setelah diinkubasi, diameter daerah bening (*clear zone*) diukur. Diameter daerah bening ini merupakan daerah inhibisi dari ekstrak sampel terhadap mikroba uji. Untuk menurunkan limit deteksi, sistem yang telah diinokulasi dibiarkan pada suhu rendah selama beberapa jam sebelum sistem diinokulasi pada suhu optimum pertumbuhan mikroba untuk memberikan kesempatan kepada antibiotik untuk berdifusi sebelum mikroba tumbuh (Tortora dkk, 2001).

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/



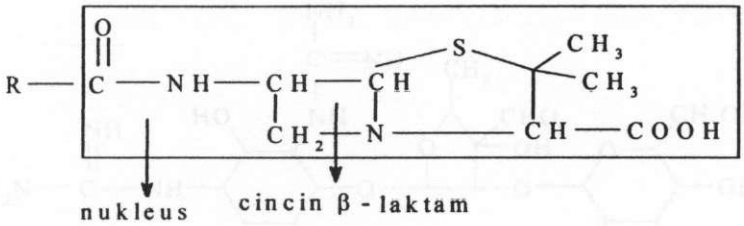
Gambar 2. Cara kerja obat antimikrobial (Tortora dkk, 2001)

Gambar di atas memperlihatkan mekanisme antimikrobial dari beberapa antibiotik yang dapat :

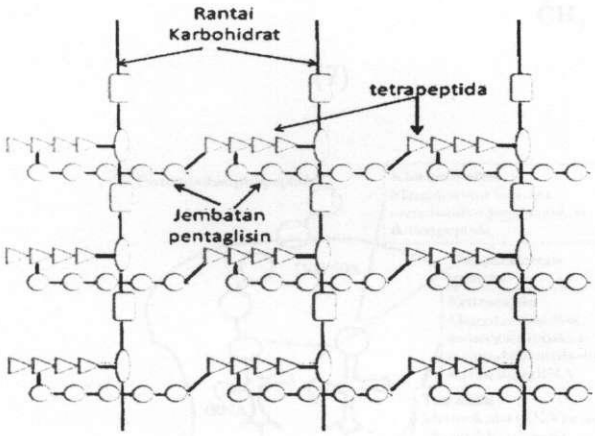
1) Menghambat sintesis dinding sel

Salah satu contoh antibiotik yang dapat menghambat sintesis dinding sel yaitu penisilin. Penisilin (6) dapat menghambat sintesis dinding sel karena penisilin mempunyai struktur senyawa aktif yang mengandung cincin β-laktam yang disebut juga dengan nukleus dan penisilin mencegah pembentukan ikatan silang dari peptidoglikan yang menyebabkan dinding sel dari mikroba tidak terbentuk (Tortora dkk, 2001). Pembentukan ikatan silang antara pentaglisin dan tetra-Alanin pada peptidoglikan di katalisis oleh enzim transpeptidase. Penisilin dapat masuk ke sisi aktif enzim transpeptidase karena senyawa ini menyerupai substrat D-Alanin-D-Alanin yang diperlukan untuk membentuk jembatan tetrapeptida pada peptidoglikan dinding sel bakteria. Penisilin membentuk ikatan kovalen dengan residu serin di sisi aktif enzim. Penisiloil-enzim tidak dapat bereaksi lebih lanjut, sehingga enzim transpeptidase terhambat secara irreversible dan ikatan silang tidak dapat dibentuk (Strayer, 1997).

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/



(6)



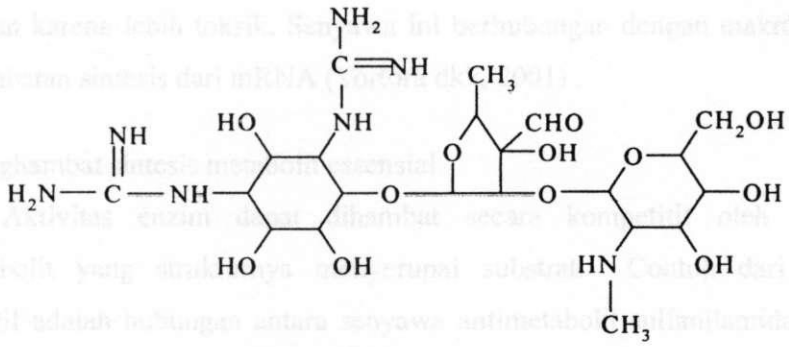
Gambar 3. Diagram dinding sel *Staphylococcus aureus* (Strayer 1997)

2) Menghambat sintesis protein

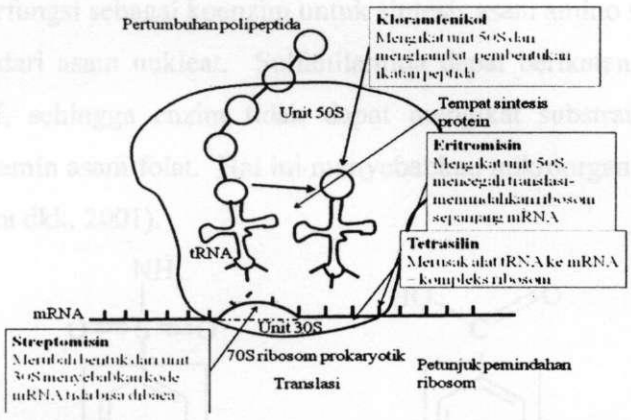
Sintesis protein terjadi pada sel prokaryotik dan eukaryotik. Perbedaan antara sel prokaryotik dan eukaryotik yaitu sel prokaryotik memiliki 80S ribosom (60S + 40S unit ribosom) dan sel eukaryotik memiliki 70S ribosom (50S + 30S unit ribosom). Salah satu contoh mikroba yang termasuk ke dalam golongan sel eukaryotik yaitu fungi. Untuk menghambat sintesis protein dari fungi dapat menggunakan antibiotik ketokonazol. Mikroba yang termasuk ke dalam golongan sel prokaryotik misalnya bakteri dan antibiotik yang biasa digunakan untuk menghambat sintesis proteinnya yaitu streptomisin (Tortora dkk, 2001).

Streptomisin (7) merupakan golongan antibiotik aminoglikosida yang memiliki gula amino berikatan dengan ikatan glikosida. Jenis aminoglikosida yang terbaik ditemukan pada tahun 1944 adalah streptomisin yang aktif terhadap gram negatif bakteria. Streptomisin adalah bakterisidal dan penghambat sintesis protein. Streptomisin menghambat tahap awal dari sintesis protein dengan merubah bentuk subunit 30S ribosom bakteria. Perubahan ini menyebabkan kode genetik pada mRNA tidak dapat dibaca dengan tepat (Tortora dkk, 2001).

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/



(7)



Gambar 4. Mekanisme penghambatan sintesis protein dengan antibiotik (Tortora dkk, 2001).

3) Rusaknya membran plasma

Beberapa senyawa antimikrobial yang terdiri dari polipeptida dapat merusak membran plasma. Perubahan ini menyebabkan hilangnya metabolit penting dari dalam sel mikrobial. Sebagai contoh, polimiksin B menyebabkan rusaknya membran plasma dengan mengikat fosfolipid pada membran plasma bakteria. Polimiksin B merupakan antibiotik bakterisidal terhadap bakteri gram negatif (Tortora dkk, 2001).

4) Menghambat sintesis asam nukleat

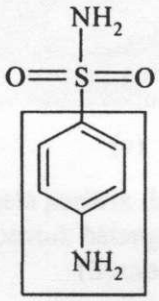
Beberapa senyawa antimikrobial menghambat proses replikasi DNA dan transkripsi pada mikroorganisme. Antimikrobial dengan sifat ini jarang digunakan karena dapat menggangu DNA dan RNA mamalia. Rifamisin lebih sering

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

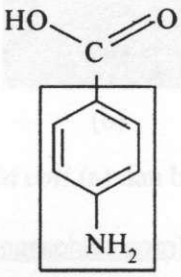
digunakan karena lebih toksik. Senyawa ini berhubungan dengan makrolida dan penghambatan sintesis dari mRNA (Tortora dkk, 2001) .

5) Menghambat sintesis metabolit essensial

Aktivitas enzim dapat dihambat secara kompetitif oleh senyawa antimetabolit yang strukturnya menyerupai substrat. Contoh dari inhibisi kompetitif adalah hubungan antara senyawa antimetabolit sulfanilamida (8) dan *para-aminobenzoic acid* (PABA). Pada sebagian besar mikroorganisme, PABA (9) adalah substrat reaksi enzim untuk membentuk asam folat yang merupakan vitamin dan berfungsi sebagai koenzim untuk sintesis asam amino serta basa purin dan pirimidin dari asam nukleat. Sulfanilamida dapat berikatan dengan enzim pada sisi aktif, sehingga enzim tidak dapat mengikat substrat PABA untuk membentuk vitamin asam folat. Hal ini menyebabkan mikroorganism tidak dapat tumbuh (Tortora dkk, 2001).



(8)



(9)

2.4.1. Bakteri

Kata bakteri berasal dari bahasa Latin *bacterium* (jamak, *bacteria*) adalah kelompok besar dari organisme hidup. Ada beberapa jenis bakteri yang mengakibatkan terjadinya pembusukan pada makanan dan dapat juga menimbulkan penyakit pada manusia. Namun ada juga yang menguntungkan manusia, seperti bakteri yang digunakan dalam proses fermentasi makanan atau minuman (Buckle dkk, 1985).

Berdasarkan morfologinya bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal dengan panjang 0,5-10 μm dan lebar 0,5-2,5 μm . Karakteristik bentuk sel adalah :

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

1) Bentuk bulat atau cocci (*coccus*).

2) Bentuk batang atau bacili (*bacillus*).

3) Bentuk spiral atau spirili (*spirilium*).

4) Bentuk koma atau vibrios (*vibrio*)

Beberapa jenis bakteri yang digunakan untuk uji aktivitas antimikroba adalah sebagai berikut :

1). *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri gram-negatif berbentuk batang, bersifat anaerobik fakultatif dan mempunyai flagela peritrik. *Escherichia coli* dapat menyebabkan keracunan pada makanan yang telah terkontaminasi. Selain itu, bakteri ini merupakan bakteri patogen penyebab diare (keracunanan makanan) dan dapat menjadi indikator pencemaran air (Todar, 2008).

(a) (b)

Gambar 5. Plagela peritrik dari *Escherichia coli* (a) dan bakteri *Escherichia coli* berbentuk batang (b)
(Sumber : www.astrographics.com)

Klasifikasi *E. coli* menurut Bergey (1998) adalah sebagai berikut :

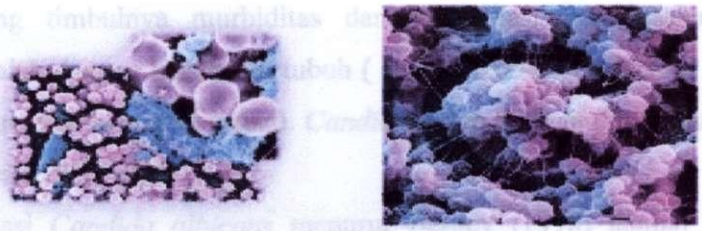
Kingdom	: Bacteria
Divisio	: Proteobacteria
Class	: Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: *Escherichia*
Spesies	: *Escherichia coli*

2). *Staphylococcus aureus*

S. aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bola yang umumnya berkelompok seperti buah anggur, bakteri ini tidak bergerak dan

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

anaerob fakultatif (Buckle dkk, 1985). Memiliki suhu optimum 35-37 °C dan pH 4,0-9,8 dengan pH optimum 7,0-7,5. Bakteri ini sering terdapat pada pori-pori dan permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus. *S. aureus* dapat menyebabkan bermacam-macam infeksi seperti jerawat dan bisul pada manusia (Volk dkk, 1993).



Gambar 6. *Staphylococcus aureus* berbentuk bola seperti buah anggur (Sumber : www.healthheap.com)

Klasifikasi *S. aureus* menurut Bergey (1998) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Monera
Divisio	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: *Staphylococcus*
Spesies	: *Staphylococcus aureus*

2.4.2. Fungi

Fungi adalah mikroorganisma eukaryotik yang hidup secara saprofit karena tidak dapat berfotosintesa. Fungi merupakan organisme sel tunggal yang banyak ditemukan di tanah, air dan udara. Fungi dapat masuk ke dalam tubuh melalui hidung, paru-paru dan saluran pencernaan. Ada 5000 jenis fungi yang dapat hidup dalam tubuh manusia yaitu pada kulit, vagina dan saluran pencernaan. Sistem imun, tingkat pH dan mikroorganisme lainnya yang melindungi manusia terhadap masalah infeksi yang disebabkan oleh fungi (Martin dkk, 2000).

Di alam ini fungi dapat bersifat sangat merugikan manusia dengan menimbulkan infeksi (penyakit) yang dihasilkan ataupun bersifat menguntungkan dengan menghasilkan produk-produk yang dapat digunakan oleh manusia sebagai contoh antibiotik. Contoh fungi yang menguntungkan manusia yaitu *Rhizopus*

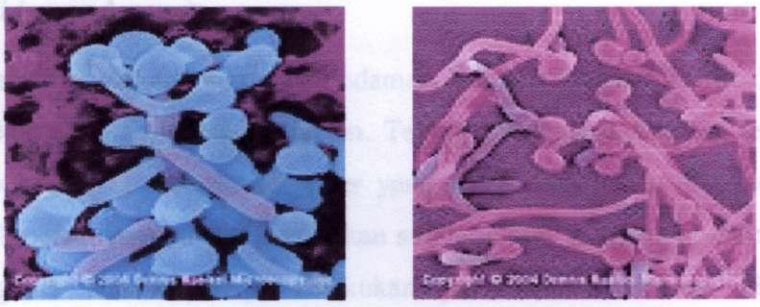
Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

orizae digunakan untuk membuat tape. Contoh fungi yang merugikan manusia yaitu *Candida albicans* menyebabkan sariawan dan keputihan (Martin dkk, 2000).

Adapun fungi yang digunakan untuk uji aktivitas antimikroba adalah *Candida albicans*. *Candida* merupakan fungi diploid dan merupakan agen penyebab infeksi vagina pada manusia. Sistem infeksi fungi ini merupakan penyebab penting timbulnya murbiditas dan mortalitas pada pasien yang mempunyai masalah dengan kekebalan tubuh (seperti AIDS, kemoterapi kanker, transplantasi tulang sumsum atau organ). *Candida* hidup pada mulut manusia dan sistem usus (Pelczar dkk, 1988).

Klasifikasi *Candida albicans* menurut Bergey (1998) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Filum	: Ascomycota
Kelas	: Saccharomycotina
Ordo	: Saccharomycetes
Famili	: Saccharomycetaceae
Genus	: *Candida*
Spesies	: *Candida albicans*



Gambar 7. *Candida albicans* berbentuk bulat
(Sumber : www.remediesforthrush.com)

2.5. Metoda Ekstraksi dan Isolasi Bahan Alam

Sebelum diekstraksi sebaiknya sampel dikeringkan terlebih dahulu dan pengeringan haruslah dilakukan dalam keadaan terawasi untuk mencegah terjadinya perubahan kimia terlalu banyak, sebaiknya menggunakan aliran udara yang baik (Harborne, 1987).

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

Ekstraksi senyawa metabolit sekunder dari seluruh bagian tumbuhan baik bunga, buah, daun, kulit batang dan akar. Untuk menganalisis, kita harus menggunakan tumbuhan yang tidak berpenyakit, terinfeksi virus, bakteri, jamur atau lumut. Sebab hasil sintesis mikroba yang mungkin terdeteksi, tetapi infeksi pun mungkin mengubah metabolisme tumbuhan secara serius dan membentuk hasil yang tidak diharapkan, bahkan dalam jumlah besar (Harborne, 1987).

2.5.1. Metoda Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pengambilan komponen yang larut dari bahan atau campuran, dengan menggunakan pelarut seperti air, alkohol, eter, aseton, dan sebagainya. Metoda ekstraksi yang dipilih untuk mendapatkan senyawa bahan alam tergantung pada jenis sampel tumbuhan yang ada. Terutama tergantung pada keadaan fisik senyawa tersebut, misalnya senyawa yang berupa cairan yang mudah menguap berbeda caranya dengan cairan yang tidak menguap (Harbone, 1987).

Ada beberapa teknik isolasi senyawa bahan alam yang digunakan antara lain:

1). Maserasi (perendaman)

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Teknik maserasi digunakan terutama jika senyawa organik metabolit sekunder yang ada dalam bahan alam tersebut cukup banyak persentasenya dan ditemukan suatu pelarut yang dapat melarutkan senyawa organik tersebut tanpa dilakukan pemanasan. Maserasi biasanya dilakukan untuk bagian tumbuhan yang strukturnya lunak seperti bunga dan daun. Secara umum metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam karena dapat melarutkan hampir semua senyawa metabolit sekunder. Hasil perendaman kemudian disaring dan filtrat yang didapatkan diuapkan dengan alat *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental tumbuhan yang akan dilakukan pemisahan dengan cara-cara kromatografi (Sharp dkk, 1989).

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

2). Perkolasi

Merupakan proses melewatkan pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut. Pada prinsipnya teknik perkolasi menggunakan suatu pelarut dimana pelarut tersebut dilewatkan secara perlahan (tetes demi tetes) kepada bahan alam yang mengandung senyawa organik tersebut. Perkolasi biasanya digunakan untuk tumbuhan yang keras seperti akar, batang dan biji. Cara perkolasi digunakan apabila kandungan senyawa kimianya sedikit. Filtrat yang didapatkan diuapkan pelarutnya dengan alat rotary evaporator (Sharp dkk, 1989).

3). Sokletasi

Menggunakan soklet dengan pemanasan dan pelarut akan dapat dihemat karena terjadinya sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel. Proses ini sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruh oleh panas. Prinsip kerja dengan metoda sokletasi adalah menggunakan suatu pelarut yang mudah menguap dan dapat melarutkan senyawa organik yang terdapat dalam bahan alam tersebut. Metoda sokletasi menggunakan keunggulan dari metoda lain, karena melalui metoda ini penyarian yang dilakukan beberapa kali dan pelarut yang digunakan tidak habis, karena dia didinginkan melalui pendingin, begitupun pelarut tersebut dapat dipergunakan lagi setelah hasil isolasi dipisahkan. Metoda ini mempunyai kelemahan, karena hanya cocok untuk isolasi senyawa yang tidak rusak akibat pemanasan pada suhu titik didih pelarutnya (Sharp dkk, 1989).

4). Destilasi Uap

Proses destilasi uap lebih banyak digunakan untuk senyawa yang tahan pada suhu yang cukup tinggi, yang lebih tinggi dari titik didih pelarut yang digunakan. Pada umumnya banyak dilakukan untuk minyak atsiri (Sharp dkk, 1989).

2.5.2. Metoda Kromatografi

Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan yang menggunakan 2 fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak. Cara kromatografi digolongkan sesuai dengan sifat–sifat dari fasa diam, jika fasa diamnya zat padat maka disebut dengan

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

kromatografi serapan, sedangkan jika fasa diamnya zat cair maka disebut kromatografi partisi. Fasa diam ini dipengaruhi oleh besarnya partikel dan homogenitasnya (Gritter, 1991).

Di dalam kromatografi berlaku prinsip "*like dissolve like*" artinya polar mengikat yang polar dan non polar mengikat yang non polar. Dalam hal ini fasa diam yang polar akan menyerap lebih kuat komponen yang relatif polar, sedangkan fase diam yang non polar akan menyerap lebih kuat komponen-komponen yang non polar. Hal yang sama berlaku juga pada fase gerak. Fase gerak yang polar yang akan melarutkan lebih baik komponen yang polar, sebaliknya fase gerak yang non polar akan melarutkan relatif lebih baik komponen yang non polar (Day dkk, 1991).

1). Kromatografi kolom

Kromatografi kolom merupakan salah satu metoda kromatografi dengan fasa gerak cair dan fasa diam padat. Penggunaan fasa gerak (eluen) disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dipisahkan (Gritter, 1991).

Kromatografi kolom digunakan untuk pemisahan skala preparatif, dari beberapa miligram sampai puluhan gram sampel. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan kolom kaca yang dapat diisi dengan bahan penyerap (adsorben) seperti alumina atau silika gel dan dialiri dengan pelarut seperti heksana, etilasetat, metanol,dan lain sebagainya sebagai fasa gerak. Sejumlah kecil cuplikan dari campuran dimasukkan melalui sebelah atas kolom kemudian dielusi sehingga membentuk pita-pita serapan dari cuplikan tersebut. Kecepatan bergerak dari suatu komponen tergantung pada beratnya ia terhambat atau tertahan oleh penyerap di dalam kolom (Sastrohamidjojo, 1985).

2). Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) fase diamnya berupa lapisan tipis dan fase bergeraknya mengalir karena daya kapiler. Lapisan tipis (tebal 0,1-2 mm) ini terdiri dari bahan padat yang dilapiskan pada permukaan penyangga datar yang biasanya terbuat dari kaca, tetapi dapat pula terbuat dari plat polimer atau logam. Lapisan tipis melekat pada permukaan dengan bantuan bahan pengikat, biasanya

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

kalsium sulfat atau amilum (pati). Lapisan tipis pada kromatografi ini biasanya berfungsi sebagai permukaan padat yang menyerap (Gritter, 1991).

Cara kerja dari KLT adalah sebagai berikut: sampel berupa campuran yang akan dipisahkan dilarutkan dalam pelarut yang sesuai. Selanjutnya ditotolkan pada garis bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler, dimana sampel akan meluas membentuk noda yang bulat. Bila noda telah kering, plat dimasukkan ke dalam *chamber* yang telah jenuh dengan pelarut yang telah dipilih sebagai fase gerak dan jangan sampai noda tercelup karena senyawa yang akan dipisahkan akan terlarut dari plat. Pelarut bergerak melalui plat karena gaya kapiler dan menggerakkan komponen dari campuran cuplikan pada perbedaan jarak dalam arah aliran pelarut. Bila permukaan pelarut telah bergerak sampai pada jarak yang telah ditentukan, maka plat diambil dan dibiarkan kering. Jika senyawa-senyawanya berwarna akan terlihat sebagai pita-pita atau noda-noda yang terpisah (Sastroamidjojo, 1985).

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 di bawah lampu ultraviolet. Untuk komponen yang tidak berwarna harus terlebih dahulu diubah menjadi warna dengan menggunakan pereaksi penampak noda.

Beberapa penampak noda yang biasa digunakan adalah

- ✓ Pereaksi Lieberman-Burchard, yaitu: pereaksi asam sulfat dan asam asetat anhidrat.
- ✓ Pereaksi Cerium sulfat, yaitu: larutan 15 % asam sulfat dan ditambah dengan sedikit kristal serium sulfat.

Noda yang telah didapat ditandai dengan menggunakan pensil. Gunanya adalah untuk mencari harga Rf (retardation factor = faktor penghambat).

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh eluen}}$$

Kromatografi lapis tipis hingga saat ini masih populer karena memiliki beberapa keunggulan yang tidak dapat diganti oleh cara kromatografi lain. Keunggulan KLT menurut Gritter (1991) antara lain adalah :

- ✓ Peralatan sederhana

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

- ✓ Biaya murah
- ✓ Waktu analisis pendek
- ✓ Daya pemisahan baik
- ✓ Pemakaian pelarut dan cuplikan yang jumlahnya sedikit
- ✓ Tersedianya berbagai metoda

3). Kromatografi vacum cair (VLC)

Kromatografi jenis ini pertama kali diperkenalkan oleh Coll dkk., pada tahun 1977. metoda ini digunakan oleh Coll dkk, untuk mengisolasi diterpena sembrenoid 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 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 dkk, 1995).

2.5.3. Uji Kemurnian dengan Titik Didih

Titik didih merupakan tetapan fisika untuk menentukan uji kemurnian suatu senyawa yang berupa cairan. Titik didih adalah suhu (temperatur) dimana tekanan uap sebuah zat cair sama dengan tekanan eksternal yang dialami oleh cairan. Sebuah cairan didalam vakum akan memiliki titik didih yang rendah dibandingkan jika cairan itu berada di dalam tekanan atmosfer. Cairan yang berada di dalam tekanan tinggi akan memiliki titik didih lebih tinggi jika dibandingkan dari titik didihnya di dalam tekanan atmosfer. Jika titik didih yang didapat memberikan jarak yang tidak begitu besar (kecil dari atau sama dengan 2^0C) maka kemungkinan hasil isolasi sudah murni (Sharp dkk, 1989).

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

2.5.4. Metoda Karakterisasi

1). Spektroskopi inframerah (IR)

Penggunaan spektrofotometri inframerah untuk identifikasi suatu senyawa melalui gugus fungsinya. Panjang gelombang IR dapat dibagi menjadi tiga sub daerah, yaitu IR dekat (υ = 4000 -1300 cm^{-1} atau λ = 2,5 μm – 0,8 μm), IR tengah (υ = 400 – 4000 cm^{-1} atau λ = 25 μm – 2,5 μm) dan IR jauh (υ = 400 – 40 cm^{-1} atau λ = 250 μm – 25 μm). Hanya IR tengah yang berguna dalam analisis struktur organik, karena pada daerah ini teramati vibrasi-vibrasi ulur dan dapat dihubungkan dengan bentuk struktur molekul (Crews, 1998).

2). Spektroskopi ultraviolet (UV)

Spektroskopi ultraviolet paling umum digunakan untuk mengukur jumlah ikatan rangkap atau konyugasi aromatik di dalam suatu molekul (Sudjadi, 1983). Substitusi lingkar dengan gugus yang mempunyai elektron bebas atau elektron phi (π) yang berdekatan dengan lingkar benzen akan menyebabkan pergeseran pita serapan ke panjang gelombang lebih besar (efek batokrom) (Sastrohamidjojo, 2001).

3). Spektroskopi Resonansi Magnet Inti (NMR)

Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (NMR) adalah salah satu metoda spektrometri yang penting untuk menguraikan atau menentukan struktur dari senyawa yang tidak diketahui (Sastrohamidjojo, 2001). Spektrofotometer NMR berhubungan dengan sifat magnet inti, resonansi magnet inti (NMR) memberikan keterangan mengenai jumlah setiap tipe hidrogen serta sifat lingkungan dari setiap tipe hidrogen tersebut (Sastrohamidjojo, 2001).

4). Kromatografi gas dan spektroskopi massa (GC-MS)

Kromatografi gas adalah suatu metode pemisahan dengan fasa gerak adalah gas dan fasa diam adalah zat cair dan zat padat. Kelebihan dari kromatografi gas yaitu dapat menggunakan kolom lebih panjang untuk menghasilkan efisiensi pemisahan yang tinggi. Mekanisme kerja kromatografi gas adalah gas dalam silinder baja yang bertekanan tinggi dialirkan melalui kolom

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

yang berupa fasa diam, senyawa dalam bentuk cairan dipisahkan dengan cara disuntikkan ke dalam aliran gas tersebut, kemudian senyawa tersebut dibawa oleh gas pembawa ke dalam kolom dan di dalam kolom tersebut terjadi proses pemisahan, komponen-komponen senyawa yang telah terpisah dideteksi dengan menggunakan suatu detektor spektroskopi massa (Hendayana, 2006).

Detektor ini merupakan jenis detektor yang paling terkenal dalam kromatografi gas. Spektroskopi massa disambungkan dengan keluaran kromatografi gas. Ketika gas solut memasuki spektrometer massa maka molekul senyawa organik ditembaki dengan elektron berenergi tinggi sehingga molekul tersebut pecah menjadi molekul yang lebih kecil. Pecahan molekul terdeteksi berdasarkan massanya yang digambarkan sebagai spektra massa. Setiap komponen campuran yang telah terpisahkan dengan kromatografi gas akan tergambar dalam satu spektra massa (Hendayana, 2006). Spektrum massa merupakan rangkaian puncak-puncak yang berbeda-beda tingginya (Khopkar, 2003). Spektrofotometer massa memulai analisis dengan cara mengionisasi suatu sampel dan ion yang dihasilkan dipisahkan, kemudian diplot sebagai perbandingan massa terhadap muatan (m/z atau m/e) versus kelimpahan relatif (relative abundance, %). Ion molekul M^+ cendrung tidak stabil dan biasanya terurai menjadi sepasang pecahan atau fragmen yang dapat berupa radikal dan ion atau molekul kecil dan radikal kation (Sastrohamidjojo, 2001). Kombinasi kromatografi gas dan spektroskopi massa dikenal dengan sebutan GC-MS.dentifikasi struktur molekul senyawa berdasarkan massa (Hendayana, 2006).

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/