

# BAB I

## TINJAUAN PUSTAKA

### 1.1. Cacing tanah (*Lumbricus rubellus*)

#### 1.1.1. Klasifikasi

Klasifikasi cacing tanah *Lumbricus rubellus* adalah sebagai berikut (Desportes dan Schrével, 201: 417) :

|          |   |
|----------|---|
| Kerajaan | : Animalia                              |
| Filum    | : Annelida                              |
| Kelas    | : Citellata                             |
| Bangsa   | : Haplotaxida                           |
| Suku     | : Lumbricidae                           |
| Marga    | : <i>Lumbricus</i>                      |
| Jenis    | : <i>Lumbricus rubellus</i> Hoffmeister |

#### 1.1.2. Deskripsi

Cacing tanah *L. rubellus* tergolong ke dalam kelompok binatang Avertebrata (tidak bertulang belakang) sehingga sering disebut binatang lunak. Seluruh tubuhnya tersusun atas segmen-segmen yang berbentuk cincin sehingga digolongkan dalam filum Annelida. Di setiap segmen terdapat rambut yang keras dan berukuran pendek yang juga disebut seta. Oleh karena jumlah seta pada tubuh cacing *L. rubellus* sangat sedikit maka cacing ini dimasukkan ke dalam kelas

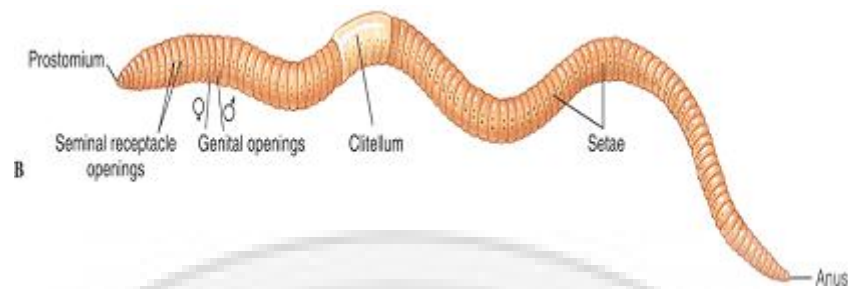
Oligochaeta. Istilah cacing tanah (*earthworm*) sendiri hanya ditujukan pada binatang kelas Oligochaeta ini (Edwards dan Bohlen, 1996:4).

Cacing tanah hidup di tempat atau tanah yang terlindung dari sinar matahari, lembap, gembur, dan mengandung banyak serasah. Habitat ini sangat spesifik bagi cacing tanah untuk tumbuh dan berkembang biak dengan baik. Marga *Lumbricus* ini sangat menyukai bahan organik yang berasal dari kotoran ternak dan sisa-sisa tumbuhan (Palungun, 2010:10).

Untuk bergerak, cacing tanah harus menggunakan otot-otot tubuhnya yang panjang dan tebal yang melingkari tubuhnya. Adanya kelenjar pada tubuhnya yang dihasilkan oleh kelenjar epidermis dapat mempermudah pergerakannya di tempat-tempat yang padat dan kasar (Palungun, 2010:14).

Cacing tanah dewasa memiliki klitelium yang merupakan alat untuk membantu perkembangbiakan. Organ ini merupakan bagian dari tubuh yang menebal dan warnanya lebih terang dari warna tubuhnya. Pada cacing yang masih muda, organ ini belum tampak karena hanya terbentuk saat cacing mencapai dewasa, sekitar 2-3 bulan (Edwards dan Bohlen, 1996:6).

Cacing tanah tidak memiliki mata, tetapi pada tubuhnya terdapat prostomium. Prostomium ini merupakan organ saraf perasa dan berbentuk seperti bibir. Prostomium terdapat di bagian depan tubuhnya. Adanya prostomium ini membuat cacing tanah peka terhadap benda-benda di sekelilingnya (Edwards dan Bohlen, 1996:25). Morfologi cacing tanah bisa dilihat pada **Gambar I.1**.



**Gambar I.1.** Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus* Hoffmeister) (Sims, 1982:7)

### 1.1.3. Kandungan Kimia

Kandungan gizi *Lumbricus rubellus* cukup tinggi, terutama kandungan proteinnya (Palungkun, 2010:20, **Tabel I.1**). Kandungan protein cacing ini ternyata lebih tinggi dari sumber protein lainnya, misalnya daging (65%) dan kacang kedelai (45%). Oleh karena itu, di Jepang, Hongaria, Thailand, Filipina, dan Amerika Serikat cacing ini juga dimanfaatkan sebagai bahan makanan manusia selain digunakan untuk ramuan obat dan bahan kosmetik (Sajuthi dkk., 2003). Di dalam ekstrak cacing tanah juga terdapat zat antipurin, antipiretik, antidota, vitamin dan beberapa enzim misalnya lumbrokinase, peroksidase, katalase dan selulose yang berkhasiat untuk pengobatan (Priosoeryanto, dkk 2001:2).

Protein yang sangat tinggi pada tubuh *Lumbricus rubellus* ini terdiri dari setidaknya sembilan asam amino esensial dan empat macam asam amino non-esensial (**Tabel I.2**). Asam amino esensial ini antara lain arginin, histidin, leusin, isoleusin, valin, metionin, fenilalanin, lisin, dan treonin. Sedangkan asam amino non-esensial ialah sistin, glisin, serin, dan tirosin (Palungkun, 2010:20).

Banyaknya asam amino yang terkandung dalam tubuh cacing tanah ini memberikan gambaran bahwa tubuhnya mengandung berbagai jenis enzim yang

sangat berguna bagi kesehatan manusia. Dari berbagai penelitian didapat bahwa *Lumbricus rubellus* mengandung enzim Lumbrokinase, peroksidase, katalase, dan selulosa (Palungkun, 2010:20).

Selain protein, kandungan gizi lainnya yang terdapat dalam tubuh cacing tanah antara lain lemak 7-10%, kalsium 0,55%, fosfor 1% (Palungkun, 2010:20, **Tabel I.1**) dan serat kasar 1,08%. Cacing tanah juga mengandung auksin yang merupakan zat perangsang tumbuh untuk tanaman (Palungkun, 2010:20).

**Tabel I.1.** Komposisi senyawa kimia cacing tanah menurut Sabine (1983)

| Senyawa Kimia | Jumlah (% bobot kering) |
|---------------|-------------------------|
| Protein       | 62-64                   |
| Lemak         | 7-10                    |
| Kalsium       | 0,55                    |
| Fosfor        | 1                       |

**Tabel I.2.** Kandungan asam amino pada cacing tanah (Palungkun, 2010:21)

| Asam Amino                    | Komposisi |
|-------------------------------|-----------|
| <b>Asam Amino Essensial</b>   |           |
| Arginin                       | 4,13      |
| Histidin                      | 1,56      |
| Isoleusin                     | 2,58      |
| Leusin                        | 4,48      |
| Lisin                         | 4,33      |
| Metionin                      | 2,18      |
| Felilalanin                   | 2,25      |
| Treonin                       | 2,95      |
| Valin                         | 3,01      |
| <b>Asam Amino Nonesensial</b> |           |
| Sistin                        | 2,29      |
| Glisin                        | 2,92      |
| Serin                         | 2,88      |
| Tirosin                       | 1,36      |

#### 1.1.4. Khasiat

Cacing tanah (*L. rubellus*) mempunyai berbagai macam aktivitas farmakologi yaitu dapat digunakan sebagai antibakteri, antipiretik, penghancur gumpalan darah, menurunkan tekanan darah tinggi, mengobati stroke, tipes, wasir, eksim, sakit maag, rematik, paru-paru basah, migrain, diare, disentri, dan sebagai bahan kosmetik (Hermawan, 2013:40).

#### 1.2. Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan suatu senyawa yang memiliki ciri khas sebagai senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam bentuk gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik (heterosiklik) (Harborne, 1987:234). Lebih dari 12.000 jenis alkaloid telah dideskripsikan sejauh ini, tetapi hanya 600 yang telah dianalisis sifat biokimia dan hanya sebagian kecil ekofisiologis. Penelitian menunjukkan alkaloid berpotensi untuk pengobatan antibakteri, antifungi, atau obat penyakit yang disebabkan virus, dan sel kanker (Rogers & Wink, 1998:268).

Dari sudut pandang aktivitas biologis, alkaloid dapat dikelompokkan menjadi (1) molekul netral atau lemah (2) alkaloid hewani (3) alkaloid bahari (4) alkaloid lumut (5) alkaloid jamur dan bakteri (6) alkaloid non-alami (modifikasi struktural atau analog (Aniszewski, 2007:6).

Berdasarkan asal mulanya (biogenesis) dan hubungannya dengan asam amino, alkaloid dibagi menjadi tiga kelas, yaitu: (1) Alkaloid sejati, (2) Proto

alkaloid, dan (3) Pseudo alkaloid. Ciri-ciri dari ketiga kelas alkaloid adalah sebagai berikut (Cordell, 1981:5-6)

### 1. Alkaloid Sejati

Alkaloid jenis ini memiliki ciri-ciri bersifat toksik, memiliki perbedaan keaktifan fisiologis yang besar, basa, biasanya mengandung atom nitrogen dalam cincin heterosiklis, turunan asam amino, dan distribusinya terbatas. Contoh dari alkaloid ini adalah morfin, kuinin, dan kokain.

### 2. Proto Alkaloid

Alkaloid jenis ini memiliki ciri-ciri mempunyai struktur amina yang sederhana, dengan atom nitrogen dari asam aminonya tidak berada dalam cincin heterosiklik. Biosintesisnya berasal dari asam amino dan basa. Contoh dari alkaloid ini adalah meskalin dan efedrin.

### 3. Pseudo Alkaloid

Alkaloid jenis ini memiliki ciri-ciri tidak diturunkan dari asam amino dan umumnya bersifat basa. Terdapat 2 jenis alkaloid penting di kelompok ini yaitu alkaloid steroid (contohnya conessin) dan purin (contohnya kafein).

#### 1.2.1. Identifikasi Alkaloid

Metode identifikasi terhadap alkaloid terdiri dari dua cara yang dapat dilakukan (Depkes RI, 1980:166-167) :

#### a. Reaksi Pengendapan

Reaksi pengendapan alkaloid dibagi menjadi 4 golongan sebagai berikut :

- Reaksi pengendapan dengan asam alikowolframat LP (larutan pereaksi), asam fosfomolibdat LP dan asam foswolframat LP, membentuk garam tidak larut.
- Reaksi pengendapan dengan Bouchardat LP dan Wagner LP, membentuk senyawa kompleks bebas.
- Reaksi pengendapan dengan Mayer LP, Dragendorff LP dan Marme LP, membentuk senyawa adisi yang tidak larut.
- Reaksi pengendapan dengan Hager, membentuk ikatan asam organik.

#### b. Reaksi Warna

Penyarian dilakukan dengan campuran eter-kloroform seperti pada cara reaksi pengendapan. Beberapa ml filtrat dipindahkan pada cawan porselen, kemudian diuapkan. Pada sisa penguapan ditambahkan 1 ml sampai 3 tetes larutan percobaan (Asam sulfat P, asam nitrat P, frohde LP dan erdmann LP).

### 1.2.2. Pemisahan Alkaloid

Ekstraksi alkaloid dilakukan berdasarkan sifat umum yang dimilikinya. Alkaloid bersifat basa dan dapat membentuk garam. Ekstraksi alkaloid dapat dilakukan dalam suasana asam, netral, atau basa. Dalam suasana netral dapat

dipakai alkohol atau air, dalam suasana asam dengan alkohol atau air yang mengandung 1-2% asam mineral dan dalam suasana basa dengan alkohol atau kloroform yang dibasakan dengan amonia (Cordell, 1981:12)

Kebanyakan alkaloid ada dalam bentuk garamnya dan garam ini biasanya larut dalam etanol 95%, pigmen gula, dan konstituen organik sekunder lainnya hampir larut secara sempurna dalam alkohol, tapi kebanyakan kompleks garam organik dan anorganik hanya sedikit yang larut. Sehingga mengurangi masalah presipitasi dan emulsifikasi pada tahap selanjutnya (Cordell, 1981:12-13).

Metode lain yang umum digunakan untuk ekstraksi alkaloid melibatkan perlakuan simplisia dengan amonia untuk mengubah garam alkaloid menjadi bentuk basa bebas, yang kemudian diekstraksi dengan pelarut organik yang sesuai. Pada cara ini alkaloid yang diperoleh tercampur dengan komponen asam dan netral, dan harus dipisahkan dengan cara asam basa, beberapa alkaloid kuarterner tidak bisa dipindahkan dengan cara ini, tetapi bisa diperoleh dengan ekstraksi menggunakan alkohol (Cordell, 1981:14).

Dengan memanfaatkan bentuk garam atau basanya, fraksinasi dilakukan dengan partisi di antara cairan asam dan pelarut organik. Emulsi atau endapan bisa teramati pada tahap ini. Setelah ekstraksi berulang dengan pelarut organik, fase air dibasakan dengan natrium karbonat, amonia atau natrium hidroksida. Dalam beberapa hal amonia membentuk alkaloid baru yang tidak terdapat asalnya. Larutan yang telah dibasakan (fase air) diekstraksi dengan pelarut organik yang sesuai biasanya kloroform, etil asetat atau benzen. Larutan basa (fase air) sisa kemungkinan mengandung alkaloid fenol dan kuarterner (Cordell, 1981:14)



### 1.3. Parameter Standar Simplisia dan Ekstrak

Parameter standar simplisia dan ekstrak dibagi atas parameter spesifik dan non spesifik. Parameter spesifik meliputi parameter identitas, organoleptik, dan senyawa terlarut dalam pelarut tertentu. Sedangkan parameter non spesifik meliputi susut pengeringan, bobot jenis, kadar air, dan kadar abu (Depkes RI, 2000:13-32).

#### 1.3.1. Parameter Spesifik

##### a. Parameter Identitas

Parameter identitas dilakukan dengan cara mendeskripsikan nama ekstrak, nama latin hewan, nama Indonesia hewan, bagian tumbuhan yang digunakan, dan nama simplisia. Tujuan parameter identitas adalah untuk memberikan identitas objektif.

##### b. Parameter organoleptik

Parameter organoleptik simplisia dilakukan dengan menggunakan panca indera untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa. Tujuan penetapan parameter organoleptik untuk pengenalan awal sederhana yang objektif mengenai bentuk, warna, bau, dan rasa dari simplisia.

##### c. Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu

Pelarut yang dilakukan dengan melarutkan ekstrak dengan pelarut alkohol atau air untuk ditentukan jumlah solut yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetri. Dalam hal tertentu dapat dikur senyawa terlarut dalam pelarut lain misalnya heksana,

dikolorometan, dan methanol. Tujuan dari pengukuran ini adalah untuk memberikan gambaran awal jumlah kandungan pada pelarut yang akan digunakan.

### 1.3.2. Parameter Non Spesifik

#### a. Susut pengeringan

Parameter susut pengeringan yaitu pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit atau sampai berat konstan, yang dinyatakan sebagai nilai prosen. Dalam hal khusus (jika bahan tidak mengandung minyak menguap atsiri dan sisa pelarut organik menguap) identik dengan kadar air, yaitu kandungan air karena berada di atmosfer lingkungan udara terbuka. Tujuan dari pengukuran ini adalah untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan.

#### b. Bobot jenis

Parameter bobot jenis adalah massa per satuan volume pada suhu kamar tertentu ( $25^{\circ}\text{C}$ ) yang ditentukan dengan alat khusus piknometer atau alat lainnya. Tujuan dari pengukuran ini adalah untuk memberikan batasan rentang besarnya massa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak khusus cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang, juga memberi gambaran kandungan kimia terlarut.

c. Kadar air

Pengukuran kadar air adalah pengukuran kandungan air yang berada didalam bahan, dilakukan dengan cara yang tepat di antara cara titrasi, destilasi, dan gravimetri. Tujuan pengukuran kadar air ini adalah untuk memberi batas minimal atau rentang besarnya kandungan air di dalam bahan.

d. Kadar abu

Prinsip pengukuran kadar abu, yaitu bahan dipanaskan pada suhu dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik. Tujuan dari pengukuran ini adalah untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak.

#### 1.4. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan kandungan senyawa kimia yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. (Depkes RI, 2000:1)

Dalam proses ekstraksi ini, bahan aktif akan terlarut oleh zat penyari yang sesuai sifat kepolarannya. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah, daya penyesuaian dengan tiap macam metode

ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna (Ansel, 1989:607).

#### 1.4.1. Ekstraksi cara dingin

##### a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan (kamar). Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan metode pencapaian konsentrasi pada kesetimbangan (Depkes RI, 2000:10).

##### b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan (Depkes RI, 2000:11).

#### 1.4.2. Ekstraksi cara panas

##### a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000:11).

##### b. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000:11).

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan berkelanjutan) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40°-50°C (Depkes RI, 2000:11).

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, suhu terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit). (Depkes RI, 2000:11).

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama  $\geq 30$  menit dan suhu sampai titik didih air (Depkes RI, 2000:11).

### 1.4.3. Prinsip dan mekanisme ekstraksi

Pada proses ekstraksi maka pada dasarnya dibedakan menjadi dua fase :

a. Fase Pencucian

Pada fase ini berlangsung percampuran cairan ekstraksi dengan simplisia obat yang akan mengakibatkan interaksi langsung antara sel-sel yang dirusak atau terusakkan karena operasi penghalusan dengan bahan pelarut. Komponen-komponen sel dengan demikian lebih mudah terambil atau tercuci oleh bahan pelarut. Dalam fase pencucian ini, sebagian bahan aktif akan berpindah ke dalam bahan pelarut. Semakin halus serbuk simplisia obat maka akan semakin optimal jalannya proses pencucian simplisia (Voigt, 1994:565)

b. Fase Ekstraksi

Dalam fase ekstraksi berlangsung proses yang lebih rumit dibanding proses dalam fase pencucian. Bahan pelarut untuk melarutkan komponen-komponen sel dalam simplisia kasar harus mampu melintasi membran dengan proses difusi. Membran sel yang mengering dan menciut yang terdapat dalam simplisia obat terlebih dahulu harus diubah dalam suatu keadaan, yang memungkinkan suatu pelintasan bahan pelarut ke dalam bagian dalam sel. Hal itu terjadi melalui pembesaran volume membran sel oleh molekul bahan pelarut. Kemampuan untuk mengikat molekul cairan oleh zat perancah selulose menyebabkan struktur perancah tersebut menjadi longgar sehingga terbentuk ruang antar miselar, yang memungkinkan bahan pelarut, mencapai ruang dalam sel. Peristiwa pembesaran volume ini dalam skala tinggi disebabkan oleh air (Voigt, 1994:565-566)

**1.5. Fraksinasi**

Fraksinasi merupakan metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi yang berbeda susunannya. Fraksinasi diperlukan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya. Fraksinasi merupakan suatu prosedur pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolarannya. Metode pemisahan yang banyak digunakan adalah metode ekstraksi cair-cair dan kromatografi (Harborne, 1987:7).

### 1.5.1. Ekstraksi Cair-cair

Ekstraksi cair-cair merupakan suatu proses pemurnian dengan prinsip melibatkan pengontakan suatu larutan dengan pelarut (*solvent*) lain yang tidak saling melarut (*immiscible*) dengan pelarut asal yang mempunyai densitas yang berbeda sehingga akan terbentuk dua fasa beberapa saat setelah penambahan *solvent*. Ekstraksi cair-cair menggunakan suatu alat berupa corong pisah. Dalam proses ekstraksi cair-cair terjadi perpindahan solut dari satu fasa ke fasa yang lain. Pada ekstraksi cair-cair, fasa yang digunakan adalah dua cairan yang tidak saling bercampur, biasanya digunakan air dan pelarut organik (Harborne, 1987: 8-9).

### 1.5.2. Kromatografi

Kromatografi merupakan cara pemisahan zat berkhasiat dan zat lain yang ada dalam sediaan, dengan jalan penyarian berfraksi, atau penyerapan, atau penukaran ion pada zat padat berpori, menggunakan cairan atau gas yang mengalir. Zat yang diperoleh dapat digunakan untuk percobaan identifikasi atau penetapan kadar. Kromatografi yang sering digunakan ialah kromatografi kolom, kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis dan kromatografi gas. Kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis umumnya lebih berguna untuk percobaan identifikasi karena cara ini khas dan mudah dilakukan untuk zat dengan jumlah sedikit. Kromatografi gas memerlukan alat yang lebih rumit, tetapi cara tersebut sangat berguna untuk percobaan identifikasi dan penetapan kadar (Depkes RI, 1989:523).

#### a. Kromatografi Kolom

Metode pemisahan kromatografi didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen di antara fase gerak dan fase diam berdasarkan tingkat kepolaran. Komponen akan bergerak lebih cepat meninggalkan kolom bila molekul-molekul komponen tersebut berinteraksi secara lemah dengan fase diam. Daya interaksi komponen yang akan dipisahkan dengan fase diam sangat menentukan tingkat keberhasilan pemisahan kromatografi.

Kolom kromatografi biasanya terbuat dari gelas, panjang kolom disesuaikan dengan jumlah komponen yang akan dianalisis dalam suatu senyawa dan lebar kolom disesuaikan dengan jumlah senyawa yang akan dianalisis. Selama proses kesetimbangan dengan pelarut, bahan pengisi kolom dibiarkan mengendap dan partikel-partikel halus yang tertinggal dalam suspensi dibuang dengan cara dekantasi dengan tujuan agar laju alir pelarut yang akan menuruni kolom tidak tersumbat oleh partikel-partikel halus (Bintang, 2010:144-146)

#### b. Kromatografi Cair Vakum

Prinsip kerja dari Kromatografi Cair Vakum (KCV) adalah adsorpsi atau serapan, sedangkan pemisahannya didasarkan pada senyawa-senyawa yang akan dipisahkan terdistribusi di antara fasa diam dan fasa gerak dalam perbandingan yang berbeda-beda. Prosedur kerja KCV menggunakan alat bantu yang berupa pompa vakum untuk mempercepat laju alir fasa gerak selama proses pemindahan zat terlarut (Sastrohamidjojo, 1985:6-9).

Kromatografi cair vakum menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju aliran fase gerak. Kolom kromatografi dikemas kering



(biasanya dengan penjerap mutu KLT 10-40  $\mu\text{m}$ ) dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Keuntungan KCV dibandingkan dengan kromatografi konvensional terletak pada jumlah fase gerak yang digunakan. Pada KCV, konsumsi fase gerak hanya 80% atau lebih sedikit dibandingkan dengan kromatografi konvensional (Hostettmann, dkk.,1995:33).

#### c. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah suatu metode pemisahan berdasarkan sifat fisikokimia. Lapisan kromatografi lapis tipis terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan, ditotolkan pada plat berupa bercak atau pita. Kemudian plat diletakkan ke dalam bejana tertutup rapat berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan), dan selanjutnya senyawa di deteksi.

Untuk campuran yang tidak diketahui, fasa diam dan fasa gerak harus dipilih dengan tepat karena keduanya bekerja sama dalam pemisahan. Hal penting lain yang harus diperhatikan adalah memilih kondisi kerja yang optimum yang meliputi sifat pengembangan dan atmosfer bejana (penjenuhan) (Stahl, 1985:3-4)

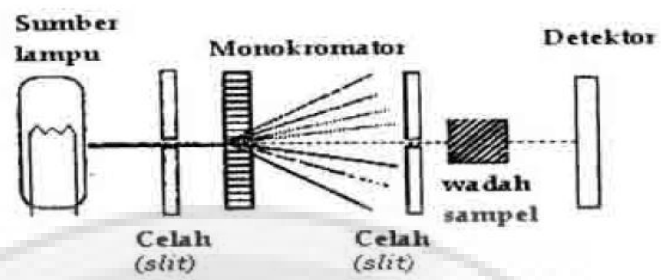
### 1.6. Spektrofotometer UV-Sinar Tampak

Absorpsi ultraviolet ataupun sinar tampak oleh suatu molekul dapat menyebabkan terjadinya eksitasi molekul tersebut dari tingkat energi dasar (*ground state*) ke tingkat eksitasi (*excited state*). Absorbansi sinar UV dan sinar tampak oleh suatu molekul umumnya menghasilkan eksitasi ikatan elektron

(*bonding*) sehingga panjang gelombang absorban maksimum dapat dikorelasikan dengan absorban UV dan sinar tampak untuk penentuan kuantitatif senyawa-senyawa yang mengandung gugus penyerap (Bintang, 2010:193).

Transisi terjadi dari keadaan vibrasional bawah pada keadaan dasar elektronik molekul ke salah satu dari sejumlah tingkat vibrasi pada keadaan tereksitasi elektronik. Transisi dari satu energi keadaan dasar ke salah satu dari sejumlah keadaan terkesitasi memberikan lebar spektrum UV (Watson, 2009:106).

Panjang gelombang UV dan sinar tampak lebih pendek dibandingkan dengan panjang gelombang infra merah. Panjang gelombang UV-sinar tampak tergantung pada mudahnya eksitasi elektron. Molekul-molekul yang memerlukan energi lebih sedikit untuk eksitasi elektron akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih panjang. Senyawa yang menyerap cahaya dalam daerah sinar tampak (senyawa berwarna) mempunyai elektron yang lebih mudah di eksitasi daripada senyawa yang menyerap pada cahaya pada gelombang UV (Supratman, 2010:10). **Gambar I.2** memperlihatkan diagram instrumen spektrofotometer UV-Sinar Tampak.



**Gambar I.2.** Diagram skematis instrumen spektrofotometer UV-sinar tampak (Gandjar & Rohman, 2007:262)

