

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit yang tidak diketahui penyebabnya secara pasti, tetapi dipengaruhi oleh banyak faktor seperti merokok atau terkena paparan asap rokok, mengkonsumsi alkohol, sinar ultraviolet pada kulit, obesitas, diet tidak sehat, kurang aktifitas fisik dan infeksi yang berhubungan dengan kanker. Kanker dapat dicegah dengan mengurangi faktor risiko terjadinya kanker tersebut.

Seiring perkembangan dibidang kesehatan, telah ditemukan obat-obat kimia. Namun mahalnya faktor biaya yang harus dikeluarkan oleh pasien penderita penyakit kanker, terutama yang tergolong masyarakat menengah ke bawah, mendorong masyarakat untuk mencari pengobatan yang menggunakan bahan alam atau obat tradisional. Obat tradisional merupakan obat-obatan yang berasal dari alam dan telah dikenal oleh masyarakat Indonesia sejak zaman dahulu. Selain digunakan secara turun-temurun di masyarakat, obat ini lebih murah dan mudah didapat. Namun diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap tanaman yang digunakan sebagai obat, karena masih banyak tanaman yang belum diketahui toksisitasnya (Hyeronimus, 2008 dalam Muaja dkk.,2013: 115-118).

Senyawa sitotoksik adalah suatu senyawa atau zat yang dapat merusak dan sel normal dan juga sel kanker, serta digunakan untuk menghambat pertumbuhan dari sel tumor maligan (Siregar & Amalia. 2004:336). Untuk mengetahui suatu tanaman memiliki potensi sebagai antitumor (Anderson,1991:107-111) dan antikanker, maka perlu dilakukan penelitian awal. Salah satunya melalui uji sitotoksik menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

BSLT merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman. Hasil uji dengan metode BSLT telah terbukti memiliki korelasi dengan aktivitas antikanker. Selain itu, metode ini juga mudah dikerjakan, murah, cepat, dan cukup akurat (Meyer, dkk., 1982 dalam Muaja dkk,2013: 115-118). Pengujian dengan menggunakan hewan uji larva udang *Artemia salina* ini memiliki sensitivitas yang sangat tinggi terhadap senyawa sitotoksik. Oleh karena itu, metode BSLT sangat disarankan untuk pengujian toksisitas karena memiliki korelasi hingga tingkat kepercayaan 95% terhadap uji spesifik antikanker (Anderson.,1991:107-111).

Salak (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss) merupakan tanaman asli Indonesia yang buahnya sangat digemari oleh masyarakat. Salak juga diketahui memiliki banyak kandungan gizi yang baik untuk kesehatan (Schuilling & Moges; 1992: 281). Beberapa penelitian membuktikan bahwa kandungan ekstrak etanol buah dan kulit salak memiliki senyawa aktif berupa flavonoid, saponin dan tanin, serta alkaloid (Sahputra,2014). Pada penelitian yang dilakukan oleh Latuconsina (2014:180), disebutkan bahwa biji salak memiliki senyawa flavonoid saat diujikan pada pengujian aktifitas diuretik. Pada penelitian sebelumnya oleh Kanon (2012) dan Sahputra (2008) yang lebih terfokus pada kulit dan daging buahnya yang bermanfaat sebagai antidiabetes, menyebutkan adanya senyawa flavonoid

Hampir semua limbah biji salak, dibuang karena dianggap sudah tidak bermanfaat lagi. Akan tetapi, masyarakat di daerah Sumatra Utara dan Jawa mengolah biji salak dan mengkomsumsinya seperti minuman kopi. Pemanfaatan biji salak selama ini sangatlah kurang karena biji salak mempunyai tekstur yang

keras dan tidak mudah hancur, sehingga untuk mengolah biji salak ini cukup sulit. Menurut Wiryowidagdo (2000 *dalam* Kurnijasanti dkk, 2008:53) tanaman yang mengandung senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, terpenoid, polifenol pada umumnya mempunyai efek sebagai sitotoksik dan antioksidan.

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat dirumuskan masalah apakah ekstrak biji salak memiliki potensi sitotoksik, dan golongan senyawa apa yang diduga memiliki aktifitas senyawa sitotoksik.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui potensi sitotoksik dari ekstrak biji salak dan untuk mengetahui golongan senyawa yang memiliki aktifitas sitotoksik dari ekstrak biji salak.

Manfaat dari penelitian ini adalah memberitahukan informasi awal kepada masyarakat bahwa biji salak dapat juga memiliki potensi sebagai bahan alternatif obat, sehingga ke depannya masyarakat juga dapat memanfaatkan bagian dari salak yang selama ini dianggap sebagai sampah.

BAB I

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Salak

1.1.1 Klasifikasi dan Nama Umum

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
AnakKelas	: Arecidae
Bangsa	: Arecales
Suku	: Arecaceae
Marga	: <i>Salacca</i>
Jenis	: <i>Salacca zalacca</i> (Gaertn.) Voss
Sinonim	: <i>Salacca edulis</i> Reinw (Cronquist, 1981:1085).

Tanaman salak dikenal juga dengan beberapa nama di berbagai negara, diantaranya Inggris buah salak disebut dengan nama *snake fruit*. Indonesia dan Malaysia disebut salak, di Burma disebut yingan, di Thailand disebut sala (Schuilling & Moges; 1992: 281).

1.1.2 Deskripsi Tanaman

Ukuran relatif kecil, salak merupakan tanaman berumah dua, berduri, berada dekat dengan permukaan tanah dan membentuk batang. Akar salak tidak berada pada tanah yang dalam. Daun menyirip seperti sayap, memiliki panjang 3–

7 meter, daun terselubung, lembaran daun tipis dengan duri-duri tajam, tangkai dan tulang tengah daun berduri. Buah membentuk bulat sampai elips dengan biji didalamnya, berwarna kuning kecoklatan, memiliki kulit bersisik, merupakan buah jamak yang menyatu. Biji sangat keras berwarna coklat, satu buah umumnya terdiri dari 1-3 biji (Schuilling & Moges; 1992: 282).

1.1.3 Asal, penyebaran, dan ekologi

Salak tumbuh liar di Jawa barat dan Sumatra Selatan. Dan diperkirakan tanaman ini berasal dari Thailand, Malaysia dan Indonesia, selanjutnya menyebar dan diperkenalkan kenegara-negara tetangga seperti Papua Nugini, Filipina, Queensland (Australia), pulau Ponape (kepulauan Caroline) dan pulau Fiji (Schuilling & Moges; 1992: 281).

Tanaman salak tumbuh dengan baik di tanah yang subur, gembur, dan memiliki derajat keasaman tanah (pH) 4,5-7,5 dengan kondisi tanah yang kelembabannya tinggi. Di sentra produksi utama, curah hujan tahunan rata-rata antara 1700 hingga 3100 mm (Schuilling & Moges; 1992: 283).

1.1.4 Kandungan Kimia

Daging salak sangat renyah, rasanya cukup manis ketika buah sudah masak, tapi saat masih mentah rasanya asam karena adanya sedikit zat asam tannin yang terdapat didalamnya. Ketika buah sudah matang, lapisan granular tampak pada daging melekat pada biji, sedangkan masing-masing inti buah yang

belum matang terletak bebas dalam rongga dalam daging(Schuilling & Moges; 1992: 281).

Aroma yang dikeluarkan oleh salak disebabkan adanya kandungan methyl 3-methylpentanoat, sedangkan 2-methylbutanoic acid, 3-methylpentanoic, dan satu senyawa penghasil aroma lainnya menghasilkan aroma lembap(Lestari; 2013: 526).

Selain itu salak mengandung vitamin C dan betakaroten sehingga dapat sebagai obat mata dan sebagai antioksidan karena kandungan betakaroten pada buah salak 5,5 kali lebih besar dari buah mangga. Selain untuk dapat mengobati mata, salak juga dapat mengobati penderita penyakit diare, karena salak memiliki banyak serat yang terkandung pada buahnya. Selain itu salak mengandung asam klorogenat, (-)-epikatekin, dan proanthocyanidin yang bermanfaat sebagai antioksidan (Widyaningrum, 2011: 453-455).

1.1.5 Kegunaan

Salak dibudidayakan untuk dimakan atau diolah lebih lanjut bagian buahnya. Sebagian besar buah yang dikonsumsi oleh masyarakat adalah buah yang sudah matang. Di Indonesia buah salak juga diolah lebih lanjut menjadi manisan, acar, sedangkan buah yang mentah dapat untuk membuat rujak, serta salad pedas. Buah matang dapat digunakan menjadi produk makanan kalengan. Tanaman ditanam secara berderet untuk dijadikan pagar dan daun yang sangat berduri juga dipotong untuk membangun pagar; selebaran yang digunakan untuk

jerami. Kulit dari peti oles dapat digunakan untuk anyaman (Schuilling & Moges; 1992: 281).

1.2 Sitotoksik

Senyawa sitotoksik adalah suatu senyawa atau zat yang dapat merusak dan sel normal dan juga sel kanker, serta digunakan untuk menghambat pertumbuhan dari sel tumor malignan. Istilah dari toksisitas juga dapat juga digunakan untuk zat-zat yang bersifat genotoksik, mutagenik, onkogenik, teratogenik, dan zat-zat yang bersifat berbahaya lainnya (Siregar & Amalia, 2004:336). Prinsip tanaman dapat dijadikan sebagai suatu bahan antikanker apabila di dalamnya memiliki suatu senyawa sitotoksik yang selektif (Fathiyawati, 2008: 8-12).

Beberapa penelitian baru-baru ini menjelaskan tentang pengujian sitotoksik dengan menggunakan kultur sel mamalia. Metode ini dianggap lebih praktis jika dibandingkan dengan menguji langsung pada hewan untuk mengevaluasi potensi sitotoksik. Untuk pengujian sitotoksik ini, kultur yang digunakan p-388 atau kb sel yang diambil dari fase log siklus pertumbuhan yang dicampur dengan zat uji dengan berbagai uji. Setelah masa inkubasi, jumlah sel yang bertahan lalu dideterminasi dinyatakan sebagai persen negatif untuk control negatif.

Mekanisme kerja zat sitotoksik dipelajari dengan mengevaluasi cara kerjanya dalam menghambat sintesis DNA, RNA dan sintesis protein sel. Dalam percobaan yang dijelaskan di sini, kultursel p-388 dicampur dengan zat sitotoksik dalam berbagai konsentrasi. Setelah masain kubasi, ke dalam kultur ditambahkan

prekur sormakro molekul yang telah diberi label radioaktif (H atau C). Dalam percobaan penghambatan sintesis DNA, substrat yang digunakan adalah Thimidin. Dalam percobaan penghambatan sintesis RNA, substrat yang digunakan adalah Uridin dan dalam percobaan penghambatan sintesis protein, zat yang digunakan adalah leusin. Setelah diinkubasi, makromolekul diisolasi kemudian diukur dengan menggunakan spektroskopi caiskintilasi. Tingkat dari penghambatan sintetis berbanding terbalik dengan jumlah radioaktif yang bergabung dengan selmakroceluler (Steven M, dkk, dalam Thompson E.B, 1990: 273-274)

1.3 *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*

Brine Shrimp Lethality Test merupakan salah satu metode skrining untuk menentukan toksisitas suatu bahan. Metode ini sering digunakan pada *bioassay* yang bertujuan untuk mengisolasi senyawa toksik tertentu dari ekstrak. Daya bunuh suatu senyawa terhadap *A. salina* dapat digunakan skrining ekstrak tumbuhan yang mempunyai bioaktivitas dan memonitor fraksi bioaktif selama fraksinasi dan pemurnian (Fathiyawati, 2008: 8-12).

Uji toksisitas ini dapat diketahui dari jumlah kematian larva *A. salina* Leach. karena pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam pada konsentrasi yang diberikan (McLaughlin dkk., 1998; Silva dkk., 2007). Metode ini dilakukan dengan menentukan besarnya nilai LC_{50} selama 24 jam. Data tersebut dianalisis menggunakan probit analisis untuk mengetahui nilai LC_{50} . Jika nilai LC_{50} masing-masing ekstrak atau senyawa yang diuji kurang dari 1000 $\mu\text{g/mL}$ maka dianggap menunjukkan adanya aktivitas biologik, sehingga pengujian ini dapat digunakan

sebagai skrining awal terhadap senyawa bioaktif yang diduga berkhasiat sebagai antikanker (Sunarni *dkk.*, 2003; Anderson *dkk.*, 1991; Sukardiman, 2004).

Pengujian BSLT sering digunakan dalam proses pencarian senyawa bioaktif hayati karena adanya korelasi positif antara sitotoksik dengan uji BSLT tersebut. Metode ini banyak digunakan dalam tahap praskrining misalnya pada enam jenis kultur sel line tumor pada manusia di Laboratorium *Purdue Cancer Center*. Obat antikanker tersebut telah diuji dengan menggunakan metode BSLT, diantaranya Podofilotoksin dan Adriamisin. Podofilotoksin memberikan nilai LC_{50} 2,4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Meyer *dkk.*, 1982; Cutler *and* Cutler, 2000; Carballo *dkk.*, 2002). Sedangkan nilai LC_{50} Adriamisin sebesar 0,08 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Gu *dkk.*, 1995). Korelasi yang positif pun dapat ditunjukkan pada penelitian senyawa bioaktif spon *Petrosia sp.* dengan metode BSLT dan uji sitotoksitasnya terhadap sel kanker. Pada penelitian tersebut dapat diketahui bahwa senyawa yang toksik terhadap larva *A. salina* Leach. juga toksik terhadap sel kanker (Astuti *dkk.*, 2005). Oleh karena itu pengujian ini merupakan tahap awal untuk mengetahui apakah senyawa tersebut berpotensi atau tidak sebagai antikanker yang selanjutnya dapat dilakukan uji sitotoksik menggunakan biakan sel kanker. Metode BSLT memiliki keuntungan, antara lain cepat, murah, sederhana (tidak memerlukan teknik aseptik), untuk melakukannya tidak memerlukan peralatan khusus dan membutuhkan sampel yang relatif sedikit dalam pengujian.

Nilai LC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan besarnya konsentrasi suatu bahan uji yang dapat menyebabkan 50% kematian jumlah hewan uji setelah

perlakuan 24 jam. Melalui metode tersebut, pelaksanaan skrining awal suatu senyawa aktif akan berlangsung relatif cepat dengan biaya yang relatif murah. Hal ini dikarenakan hanya ekstrak atau senyawa yang memiliki aktivitas antikanker berdasarkan metode BSLT tersebut yang selanjutnya dapat diyakinkan efek antikankernya terhadap biakan sel kanker (Dwiatmaka, 2001; Mukhtar, 2007).

Selain itu metode BSLT ini memiliki keuntungan saat waktu pelaksanaan yang cepat, biaya selektif yang murah, praktis, tidak memerlukan teknik yang aseptis, sempel yang relatif sedikit, dan hasil ujinya berkorelasi baik dengan beberapa metode uji sitotoksik (Bawa,2009: 117-124; Meyer,1982: 31-34).

1.4 *Artemia salina* Leach

Artemia salina Leach. atau sering disebut *brine shrimp* adalah sejenis udang-udangan primitif yang sudah dikenal cukup lama dan oleh Linnaeus pada tahun 1778 yang diberi nama *Cancer salinus*, kemudian oleh Leach diubah menjadi *A. salina* pada tahun 1819. Hewan ini hidup planktonik di perairan yang berkadar garam tinggi (antara 15-300 per mil). Suhu yang berkisar antara 25-30°C, oksigen terlarut sekitar 3mg/L, dan pH antara 7,3–8,4. Sebagai plankton, *A. salina* tidak dapat mempertahankan diri terhadap musuh-musuhnya, karena tidak mempunyai cara maupun alat untuk mempertahankan diri. Satu-satunya kondisi yang menguntungkan dari alam adalah lingkungan hidup yang berkadar garam tinggi, karena pada kondisi tersebut pemangsanya pada umumnya sudah tidak dapat hidup lagi (Mudjiman, 1995). *A. salina* merupakan salah satu komponen penyusun ekosistem laut yang keberadaan sangat penting untuk perputaran energi

dalam rantai makanan, selain itu *A.salina Leach.* juga dapat digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan (Kanwar, 2007). Bentuk *A. salina Leach.* secara morfologi dapat dilihat pada Gambar I.1. Adapun klasifikasi *A.salina* menurut Emslie, 2003;Mudjiman, 1995; Sambali, 1990, sebagai berikut :

Kerajaan : Animalia
Divisi : Arthropoda
Kelas : Crustacea
Anak Kelas : Branchiopoda
Bangsa : Anostraca
Suku : Artemiidae
Marga : *Artemia*
Jenis : *Artemia salina* Leach.



Gambar I.1. *A. salina* Leach. (Abatzopoulos et al., 1996)

1.4.1 Deskripsi

A. salina Leach. Dewasa memiliki panjang tubuh umumnya sekitar 8-10 mm bahkan mencapai 15 mm tergantung lingkungan. Tubuhnya memanjang terdiri sedikitnya 20 segmen dan dilengkapi kira-kira 10 pasang *phyllopodia* pipih, yaitu bagian tubuh yang menyerupai daun yang bergerak dengan ritme teratur. *A. salina* dewasa berwarna putih pucat, merah muda, hijau, atau transparan dan biasanya hanya hidup beberapa bulan. Memiliki mulut dan sepasang mata pada antenanya (Emslie, 2003).

Telur *A. salina* berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh dalam keadaan basah. Warnanya coklat dan diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat. Cangkang ini berfungsi untuk melindungi embrio terhadap pengaruh kekeringan, benturan keras, sinar ultraviolet dan mempermudah pengapungan (Opinion, 2008).

1.4.2 Habitat

A. salina Leach. memiliki resistensi luar biasa pada perubahan dan mampu hidup pada variasi salinitas air yang luas dari air laut (2.9-3.5%) sampai danau garam (*the great salt lake*) (25-35%), dan masih dapat bertoleransi pada kadar garam 50% (jenuh). Beberapa ditemukan di rawa asin hanya pada pedalaman bukit pasir pantai, dan tidak pernah ditemui di lautan itu sendiri karena di lautan terlalu banyak predator. *A. salina* juga mendiami kolom-kolom evaporasi buatan manusia yang biasa digunakan untuk mendapatkan garam dari lautan. Insang membantunya agar cocok dengan kadar garam tinggi dengan absorbs dan ekskresi

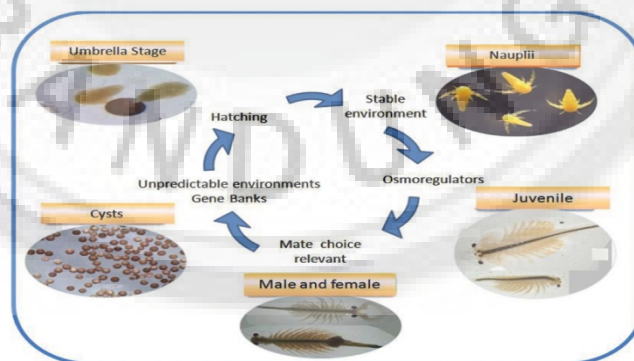
ion-ion yang dibutuhkan dan menghasilkan urin pekat dari *glandula maxillaris*. Hewan tersebut hidup pada variasi suhu air yang tinggi pula, dari 6-37°C dengan suhu optimal untuk reproduksi pada 25°C (suhu kamar). Keuntungan hidup pada lokasi berkadar garam tinggi adalah sedikitnya predator namun sumber makanannya sedikit (Emslie, 2003; Artemia Reference Center, 2007).

1.4.3 Perkembangan dan siklus hidup

A. salina Leach. dibedakan menjadi dua golongan berdasarkan cara berkembangbiaknya, antara lain perkembangbiakan secara biseksual dan partenogenesis. Keduanya dapat terjadi secara ovipar maupun ovovivipar. Pada jenis *A. salina* Leach ovovivipar, anakan yang keluar dari induknya sudah berupa arak atau burayak yang dinamakan *nauplis*, sehingga sudah langsung dapat hidup sebagai *A. salina* muda. Sedangkan pada cara ovipar, yang keluar dari induknya berupa telur bercangkang tebal yang dinamakan *siste*. Proses untuk menjadi *nauplis* masih harus melalui proses penetasan terlebih dahulu. Kondisi ovovivipar biasanya terjadi bila keadaan lingkungan cukup baik, dengan kadar garam kurang dari 150 per ml dan kandungan oksigennya cukup. Oviparitas terjadi apabila keadaan lingkungan memburuk, dengan kadar garam lebih dari 150 per mil dan kandungan oksigennya kurang. Telur ini memang dipersiapkan untuk menghadapi keadaan lingkungan yang buruk, bahkan kering. Bila keadaan lingkungan baik kembali, telur akan menetas dalam waktu 24-36 jam (Mudjiman, 1995; Kanwar, 2007). *A. salina* yang sudah dewasa dapat hidup sampai enam bulan. Sementara induk-induk betinanya akan beranak atau bertelur setiap 4-5 hari sekali,

dihasilkan 50-300 telur atau *nauplius*. *Nauplis* akan dewasa setelah berumur 14 hari, dan siap untuk berkembang biak (Mudjiman, 1995).

A.salina dapat diperjualbelikan dalam bentuk telur istirahat yang disebut kista. Kista ini berbentuk bulatan-bulatan kecil berwarna kecoklatan dengan diameter berkisar 200-300 mikron. Kista yang berkualitas baik akan menetas sekitar 18-24 jam apabila diinkubasi air yang bersalinitas 5-70 permil. Ada beberapa tahapan pada proses penetasan *A. salina* ini yaitu tahap hidrasi, tahap pecah cangkang dan tahap payung atau tahap pengeluaran. Tahap hidrasi terjadi penyerapan air sehingga kista yang diawetkan dalam bentuk kering tersebut akan menjadi bulat dan aktif bermetabolisme. Tahap selanjutnya adalah tahap pecah cangkang dan disusul tahap payung yang terjadi beberapa saat sebelum nauplius keluar dari cangkang (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Siklus hidup *A. salina* dapat dilihat pada Gambar 5 berikut.



Gambar 1.3. Siklus hidup *A. salina* Leach. (Abatzopoulos dkk., 1996).

1.4.4 Perilaku

A. salina bersifat fototaksis positif yang berarti menyukai cahaya, di alam hal tersebut dibuktikan dengan adanya gerakan tubuh menuju ke permukaan

karena sinar matahari sebagai sumber cahaya secara alami, sehingga hewan tersebut akan selalu berada di permukaan saat siang hari dan tenggelam pada malam hari. Intensitas cahaya yang terlalu tinggi dapat pula mengakibatkan respon fototaksis negatif sehingga ia akan menjauhi cahaya. *A. salina* yang baru menetas mempunyai perilaku geotaksis positif, hal ini terjadi ketika nauplius tenggelam ke bawah setelah menetas akibat efek gravitasi. Gerakan phyllopodia mendorong makanan bergerak ke anterior (lokomosi).

1.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan bahan aktif dari jaringan tumbuhan dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengestraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000: 9).

Metode ekstraksi bermacam-macam di antaranya dengan cara dingin dan dengan cara panas. Salah satu ekstraksi dengan cara dingin yaitu maserasi dan perkolasi, sedangkan ekstraksi dengan cara panas yaitu refluks, soxhlet, digesti, infus, dekok.

Pada penelitian kali ini metode ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi cara panas yaitu refluks. Prinsip dari refluks ini sendiri yaitu penarikan komponen kimia yang dilakukan dengan cara sampel dimasukkan ke dalam labu alas bulat bersama-sama dengan cairan penyari lalu dipanaskan, uap-uap cairan penyari

terkondensasi pada kondensor bola menjadi molekul-molekul cairan penyari yang akan turun kembali menuju labu alas bulat, akan menyari kembali sampel yang berada pada labu alas bulat, demikian seterusnya berlangsung secara berkesinambungan sampai penyarian sempurna, penggantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali setiap 3-4 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan

Keuntungan dari metode ini adalah digunakan untuk mengekstraksi sampel-sampel yang mempunyai tekstur kasar dan tahan pemanasan langsung. Dilain pihak kerugiannya adalah membutuhkan volume total pelarut yang besar dan sejumlah manipulasi dari operator

1.6 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi digunakan sebagai untuk memisahkan suBSLTansi campuran menjadi komponen-komponennya. Kromatografi juga merupakan pemisahan campuran senyawa menjadi senyawa murninya dan mengetahui kuantitasnya. Untuk itu, kemurnian bahan atau komposisi campuran dengan kandungan yang berbeda dapat dianalisis dengan benar. Kromatografi tidak hanya digunakan untuk kontrol kualitas, analisis bahan makanan dan lingkungan, tetapi juga kontrol dan optimasi reaksi kimia dan proses berdasarkan penentuan analitik dari kuantitas material. Teknologi yang penting untuk analisis dan pemisahan preparatif pada campuran bahan adalah prinsip dasar kromatografi. Pemisahan senyawa biasanya menggunakan beberapa tehnik kromatografi. Pemilihan teknik

kromatografi sebagian besar bergantung pada sifat kelarutan senyawa yang akan dipisahkan.

Semua kromatografi memiliki fase diam (dapat berupa padatan, atau kombinasi cairan-padatan) dan fase gerak (berupa cairan atau gas). Fase gerak mengalir melalui fase diam dan membawa komponen-komponen yang terdapat dalam campuran. Komponen-komponen yang berbeda bergerak pada laju yang berbeda.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan cara pemisahan campuran senyawa menjadi senyawa murninya dan mengetahui kuantitasnya yang menggunakan. Kromatografi juga merupakan analisis cepat yang memerlukan bahan sangat sedikit, baik penyerap maupun cuplikannya. KLT dapat digunakan untuk memisahkan senyawa – senyawa yang sifatnya hidrofobik seperti lipida – lipida dan hidrokarbon yang sukar dikerjakan dengan kromatografi kertas. KLT juga dapat berguna untuk mencari eluen untuk kromatografi kolom, analisis fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom, identifikasi senyawa secara kromatografi, dan isolasi senyawa murni skala kecil.

Pelarut yang dipilih untuk pengembang disesuaikan dengan sifat kelarutan senyawa yang dianalisis. Bahan lapisan tipis seperti silika gel adalah senyawa yang tidak bereaksi dengan pereaksi – pereaksi yang lebih reaktif seperti asam sulfat. Jel silika adalah bentuk dari silikon dioksida (silika). Atom silikon dihubungkan oleh atom oksigen dalam struktur kovalen yang besar. Namun, pada permukaan jel silika, atom silikon berlekatan pada gugus -OH. Jadi, pada permukaan jel silika terdapat ikatan Si-O-H selain Si-O-Si. Permukaan jel silika

sangat polar dan karenanya gugus -OH dapat membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa-senyawa yang sesuai disekitarnya, sebagaimana halnya gaya van der Waals dan atraksi dipol-dipol. Fase diam lainnya yang biasa digunakan adalah alumina-aluminium oksida. Atom aluminium pada permukaan juga memiliki gugus -OH. Apa yang kita sebutkan tentang gel silika kemudian digunakan serupa untuk alumina.

Nilai Rf untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan nilai Rf dari senyawa standar. Nilai Rf dapat didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik asal. Oleh karena itu bilangan Rf selalu lebih kecil dari 1,0. Nilai Rf untuk setiap warna dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa terlarut(sampel)}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Jika senyawa yang akan dideteksi tidak berwarna dilakukan penambahan senyawa kimia untuk membuat bercak-bercak menjadi tampak dengan jalan mereaksikannya dengan zat kimia sehingga menghasilkan produk yang berwarna. Dengan begitu kita dapat melihat bercak – bercak warna pada masing – masing cuplikan untuk membandingkan harga Rf dan mengetahui senyawa apa yang terdapat didalam cuplikan (Stahl, 1985:3-17)