

BAB I

TINJAUAN PUSTAKA

1.1. Tinjauan umum *Avicennia marina*

Klasifikasi *Avicennia marina* menurut Cronquist (1981 : 920) dan Chua (1998 : 94) adalah :

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak kelas: Asteridae

Bangsa: Lamiales

Suku : Avicenniaceae (pada Cronquist 1981 : 920 masih termasuk suku Verbenaceae).

Marga : *Avicennia*

Jenis : *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.

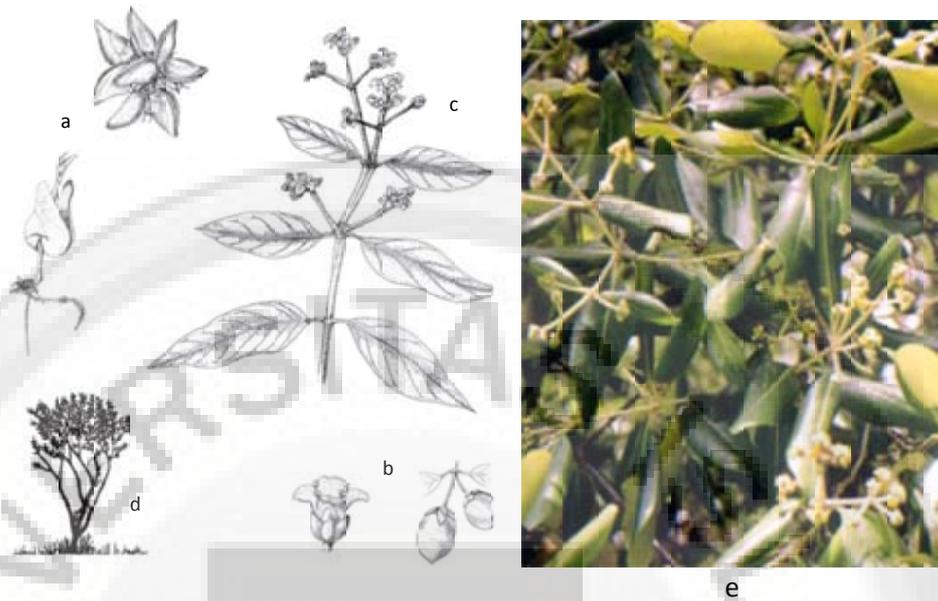
1.1.1. Sinonim

Avicennia intermedia Griffith, *Avicennia mindanaense* Elmer, *Avicennia sphaerocarpa* Staf ex Ridley (Chua, 1998 : 94).

1.1.2. Nama umum

Grey mangrove, *olive mangrove* (Inggris). Indonesia : api-api, manggi-manggi putih(Amb). Jawa : api api (Heyne, 1987 : 1688 ; Chua, 1998 : 94 ; Noor dkk., 1999 : 74).

1.1.3. Deskripsi



Gambar I.1 *Avicennia marina* (a. bunga; b. buah; c dan e. ranting berbunga; d. pohon)

(Noor dkk., 1997 : 75)

Avicennia marina (**Gambar I.1 ; I.2**) merupakan tumbuhan semak atau pohon berukuran kecil, tinggi hingga 30 m; sering kali bengkok, rantingnya hingga 5(-10) m, dimater hingga 60(-160) cm, tanpa banir tetapi sering dengan akar nafas dan banyak pneumatophor tipis. Arsitektur pohon mengikuti model Atim dengan pertumbuhan monopodial. Permukaan kulit kayu halus pecah-pecah, berlentisel, adakalanya mengeripik, keabu-abuan atau coklat kemerah-merahan, bagian dalam kulit batang berwarna keputih-putihan, memproduksi sedikit resin. Rantingnya membesar hingga ke arah buku. Daunnya dekusatus, tunggal, tepi daun rata, sedikit berdaging, seringkali bawahnya putih keabu-abuan, tanpa stipula, daunnya memiliki kelenjar garam. Perbungaan di ketiak daun atau di ujung ranting, bulir atau bongkol. Bunga biseksual tidak bertangkai; kaliks (kelopak) dibungkus oleh braktea dan brakteola, 5-lobus, mahkota bunga

aktinomorfik atau sedikit zigomorfik, berbentuk cawan, 4(-6) lobus, kuning atau kuning oranye, stamen 4-6, bergantian dengan lobus mahkota, tertanam pada dasar atau pada leher mahkota. Ovarium superus, 1 ruang 4 ovul, 1 stigma dengan 2 lobus. Buah “nut” dengan 2 katup, sering berparuh, ukuran lebar 1,5-2,0 cm, panjang 1,5-2,5 cm berwarna hijau, dalamnya berwarna hijau hingga kekuningan, permukaan buah berambut halus, vivipar, perkecambahan epigeal (Chua, 1998 : 93 dan Kitamura dkk., 2003 : 28-29).

1.1.4. Sumber dan Penyebaran geografi

Avicennia marina tersebar dari pantai timur Afrika dan Madagaskar ke India, Indo-China, Cina selatan, Taiwan, Thailand, seluruh kawasan Malesia, Kepulauan Solomon, New Caledonia, Australia dan New Zealand utara (Chua, 1998 : 94).

1.1.5. Ekologi

Avicennia merupakan elemen karakteristik mangrove paling luar di sepanjang pinggir pantai atau di darat di daerah pasang surut sungai. Mereka adalah pionir yang mampu dengan cepat beradaptasi pada suasana lumpur atau pada zona pinggir sungai. *Avicennia* sering berkelompok atau dalam tegakan murni dan sangat toleran terhadap kondisi hipersalinitas. *Avicennia marina* memiliki tingkat toleransi yang sangat tinggi terhadap bermacam macam kondisi ekologi dari salinitas, suhu, posisi intertidal dan substrat (tempat yang berbatu serta berlumpur) (Chua, 1998 : 93-94). *A.marina* tampaknya memiliki persyaratan suhu minimum yang sangat tinggi untuk pertumbuhan tunas, *A. marina* toleran

terhadap salinitas yang sangat tinggi, tumbuh pada daerah kering, paparan lumpur (Kitamura dkk., 2003 : 29).

1.1.6. Kegunaan

Resin dari kulit kayu digunakan untuk penawar gigitan ular. Di Madagaskar air rebusan daun dan kulit batang digunakan untuk penawar racun akibat keracunan ikan serta diaplikasikan untuk mengobati scabies. Pada pengobatan tradisional di Australia daun, tunas muda, dan kulit kayu digunakan untuk anodyne dan abu kayu untuk pengobatan penyakit kulit. Air rebusan dari daun api api dapat digunakan untuk mengatasi demam dan infeksi. Daunnya dapat digunakan untuk mengatasi kulit yang terbakar. Resin yang keluar dari kulit kayu digunakan sebagai alat kontrasepsi. Buah dapat dimakan. Kayu menghasilkan bahan kertas berkualitas tinggi. Daun digunakan sebagai makanan ternak. Kulit batangnya digunakan untuk penyamakan kulit, kadang-kadang digunakan untuk perawatan kulit yang terinfeksi parasit dan penyakit luka gangrens (Chua, 1998 : 92 ; Noor dkk., 1999 : 74 ; Cruz, 2008).

1.1.7. Kandungan kimia.

Beberapa iridoid glikosida dan flavonoid telah diisolasi dari bagian aerial pada *Avicennia marina*. Beberapa derivat naphtquinone telah diisolasi dari cabang dan beberapa diantaranya (avicequinone A, avicequinone C, stenorcarpoquinone B, avicenonne D dan avicennone E) menunjukkan antiproliferatif kuat dan aktivitas sitotoksik yang cukup sebagai khasiat zat antibakteri. Pada kulit kayu mengandung 0.6-2.2 % tanin (Cruz, 2008).

1.2. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam tumbuhan, bersifat basa, dan struktur kimianya mempunyai sistem cincin heterosiklik dengan nitrogen sebagai hetero atomnya. Unsur – unsur alkaloid adalah karbon, hidrogen, nitrogen dan oksigen. Alkaloid yang struktur kimianya tidak mengandung oksigen hanya ada beberapa saja. Ada pula alkaloid yang mengandung unsur lain selain keempat unsur yang telah disebutkan. Adanya nitrogen dalam lingkaran pada struktur kimia alkaloid menyebabkan alkaloid bersifat alkali (Sumardjo, 2006 : 438).

Alkaloid sering kali beracun bagi manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol sehingga digunakan secara meluas dalam bidang pengobatan. Alkaloid biasanya tanpa warna, sering kali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal, hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotina) pada suhu kamar (Sumardjo, 2006 : 438).

1.2.1. Klasifikasi alkaloid

Sistem klasifikasi alkaloid yang paling banyak diterima adalah klasifikasi menurut Hegnauer (Cordell, 1981 : 5-6). Menurutnya alkaloid dikelompokkan menjadi alkaloid sesungguhnya, protoalkaloid dan pseudoalkaloid.

a. Alkaloid sesungguhnya.

Alkaloid sesungguhnya adalah racun, senyawa tersebut menunjukkan aktifitas fisiologi yang luas, hampir tanpa terkecuali bersifat basa ; lazim

diturunkan dari racun amino; biasanya terdapat dalam tanaman sebagai garam asam organik.

b. Protoalkaloid

Protoalkaloid merupakan amino yang relatif sederhana di mana nitrogen asam amino tidak terdapat dalam cincin heterosiklik. Protoalkaloid diperoleh berdasarkan biosintesis dari asam amino yang bersifat basa. Pengertian 'amino biologis' sering digunakan untuk kelompok ini. Contoh : meskalin, ephedrin, N,N-dimetiltriptamin.

c. Pseudoalkaloid

Pseudoalkaloid tidak diturunkan dari prekursor asam amino. Senyawa biasanya bersifat basa. Ada dua seri alkaloid yang penting dalam klas ini, yaitu alkaloid stereoidal dan purin.

Menurut Cordell, 1981 klasifikasi alkaloid berdasarkan asal atau biosintesisnya yaitu :

1) Alkaloid turunan dari ornitin

Ornitin adalah salah satu bagian dari asam amino yang memiliki lima atom karbon, termasuk asam glutamat dan prolin (Cordell, 1981 : 49). Alkaloid yang diturunkan dari ornitin yaitu pitolidin, tropan, kelompok nikotin dan pirolisidin. Struktur ornitin dapat dilihat pada **Gambar I.2** (Cordell, 1981 : 80-118).

2) Alkaloid turunan dari lisin.

Homolog tertinggi berikutnya dari rangkaian asam amino lisin adalah lisin-kelompok asam piperolik yang memiliki enam atom karbon dan biosintesis lisin lebih kompleks dari ornitin. Alkaloid yang diturunkan dari lisin

yaitu pelletierin, anaferin, pseudoapeletierin, anabasin, lupinin (quinolisidin), piperidin. Bagaimanapun, ada beberapa kelompok alkaloid yang diturunkan oleh lisin yang tidak memiliki perbandingan turunan ortinin yaitu lobelin, spartein, matrin, lytrine dan licopodein (Cordell, 1981 : 138). Struktur lisin dapat dilihat pada **Gambar I.2**.

3) Alkaloid turunan dari fenilalanin dan tirosin.

Alkaloid yang diturunkan oleh asam amino fenilalanin dan tirosin sangat bermacam-macam di alam dengan bermacam-macam tipe struktur. Berikut contoh alkaloid fenilalanin yaitu meskalin, pelotine, morfin dan contoh alkaloid dari tirosin yaitu betanidin, arantotin dan securinin (Cordell, 1981 : 275). Struktur fenilalanin dan tirosin dapat dilihat pada **Gambar I.2**.

4) Alkaloid turunan dari asam antranilat.

Tumbuhan kelompok suku Rutaceae merupakan yang paling kaya kandungan alkaloid turunan asam antranilat. Alkaloid yang diturunkan oleh asam antranilat yaitu echinopsin, selain itu memiliki furan atau cincin piran yang tersambung pada cincin piridin (dictamin dan flindersin), furoquinolin, quinazolin, vasicin, alkaloid evodia : rutaecarpin dan evodimanin (Cordell, 1981 : 236).

5) Alkaloid turunan dari triptofan.

Triptofan adalah prekursor biosintesis dari beberapa alkaloid, kecuali untuk alkaloid yang paling sederhana dan jarang untuk beberapa sumber karbon. Contoh alkaloid yang diturunkan oleh triptofan yaitu alkaloid indol, tripamin,

fisostigmin, alkaloid ergot : ergotamin dan ergonovin (Cordell, 1987 : 574).

Struktur triptofan dapat dilihat pada **Gambar I.2**.

6) Alkaloid turunan dari histidin.

Histidin dan amin histamin adalah yang paling banyak mendistribusikan senyawa yang mengandung inti indazole. Contoh alkaloid yang diturunkan dari histidin yaitu casmiroedin, pilocarpin dan alkaloid lainnya : dolichotelin, longistrobin dan isolongistrobin (Cordell, 1981: 833-840). Struktur histidin dan tirosin dapat dilihat pada **Gambar I.2**.

7) Alkaloid turunan dari poliasetat.

Contoh alkaloid yang diturunkan dari poliasetat yaitu shihunine, pinidine, coniiene, carpain, dan cassin. Pada masa lalu senyawa yang mengandung nitrogen dari prekursor poliasetat masih termasuk ke dalam klasifikasi alkaloid (Cordell, 1981 : 204-213).

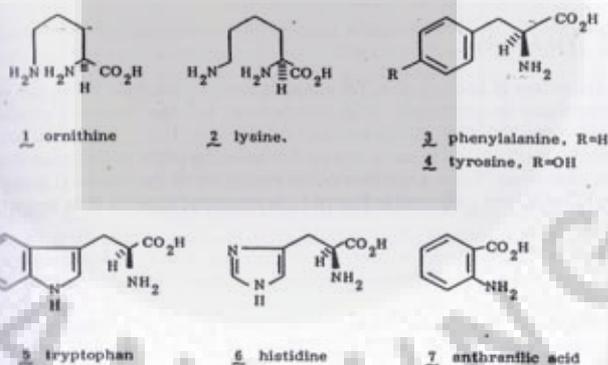
8) Alkaloid turunan dari jalur isoprenoid.

Beberapa contoh alkaloid yang memiliki turunan unit mevalonat, tetapi ada banyak alkaloid yang berasal hampir secara eksklusif dari unit terpen yang masih harus dijelaskan. Alkaloid hemiterpenoid terdiri dari 1 unit isopren yang merupakan alkaloid furoquinolin dan echinulin dan alkaloid ergot contohnya : alchorneine, pterogynin. Alkaloid monoterpenoid contohnya chaksine, alkaloid guanidin dari *Cassia lispidula* Vahl. yang linier dengan unit monoterpen. Alkaloid sesquiterpen contohnya golongan dendrobine, alkaloid nupkar : deoxinuparidin dan alkaloid celastraceous kompleks seperti maytolin. Alkaloid diterpen sejak tahun 1955 telah diteliti untuk menjelaskan struktur dan

mensintesis anggota paling penting dari senyawa ini. Alkaloid diterpen terdiri dari 3 kelas besar yaitu C-20 alkaloid, C-19 alkaloid yang memiliki banyak kelompok hidroksil atau metoksil dan alkaloid *Erythrophleum* (Cordell, 1981 : 846- 868).

9) Alkaloid turunan oleh asam nikotinat

Biosintesis alkaloid yang berasal dari asam amino non esensial yaitu asam nikotinat. Nikotin telah dianggap sebagai turunan dari asam nikotina. Terdapat 5 kelompok yang diturunkan dari asam nikotinat yaitu arekolin, ricinin, anatabin, dioscorin, dan nikotin (Cordell, 1981 : 196). Struktur fenilalanin dan tirosin dapat dilihat pada **Gambar I.2**.



Gambar I.2 Prekursor alkaloid berdasarkan biosintesisnya (Cordell, 1981 : 27)

1.2.2. Sifat Fisika dan Kimia

Kebanyakan alkaloid yang telah diisolasi berupa padatan kristal dengan titik lebur tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi (Solomon, 1983 dalam Pranata, 1997 : 97). Sedikit alkaloid berbentuk amorf dan beberapa seperti nikotin

dan koinin berupa cairan (Pranata, 1997 : 97). Kebanyakan alkaloid tidak berwarna, tetapi beberapa senyawa yang kompleks, spesies aromatis berwarna contoh berberin berwarna kuning dan betanin merah. Pada umumnya basa bebas alkaloid hanya larut dalam pelarut organik, meskipun pseudo dan protoalkaloid larut dalam air (Harjono, 1996 dalam Pranata, 1997 : 97).

Alkaloid bersifat basa. Sifat tersebut tergantung pada adanya pasangan elektron pada nitrogen. Jika gugus fungsional yang berdekatan dengan nitrogen bersifat melepaskan elektron, contoh gugus alkil, maka ketersediaan elektron pada nitrogen naik dan senyawa lebih bersifat basa. Sebaliknya bila gugus fungsional yang berdekatan bersifat menarik elektron (contoh gugus karbonil), maka ketersediaan elektron berpasangan berkurang dan pengaruh yang ditimbulkan alkaloid bersifat netral atau bahkan sedikit asam (Harjono, 1996 dalam Pranata, 1997 : 97).

1.3. Metode Ekstraksi.

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga dapat terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Depkes RI, 2000:1). Faktor utama untuk pertimbangan pada pemilihan cairan penyari adalah sebagai berikut : selektivitas, kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan dan keamanan (Depkes RI, 2000 : 9).

Teknik ekstraksi dilakukan dengan maserasi, perkolasi, refluks, soxhlet, digesti, infus dan dekok dengan menggunakan tingkat kepolaran pelarut yang

berbeda-beda. Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI, 2000 : 10-11).

1.4. Parameter Standar Ekstrak dan Simplisia

Penetapan parameter yang terstandar diharapkan mampu menunjukkan kualitas ekstrak dan simplisia baik dalam kandungan bahan aktif, kadar air, kadar abu, susut pengeringan, bobot jenis dan kadar sari larut air (Hariyati, 2005 : 4)

1.4.1. Parameter kadar air

Parameter kadar air merupakan pengukuran kandungan air yang berada didalam bahan. Penetapan kadar air dapat dilakukan dengan cara yang tepat diantara cara titrasi, destilasi atau gravimetri. Kelebihan air dalam bahan herbal akan mendorong pertumbuhan mikroba, pertumbuhan jamur atau serangga, dan kerusakan. Batas kadar air harus ditetapkan untuk setiap bahan herbal. Hal ini sangat penting untuk bahan yang mudah menyerap kelembaban atau membusuk dengan cepat oleh kandungan air. Metode *azeotroph* memberikan pengukuran langsung terhadap kandungan air dalam materi yang sedang diperiksa. Ketika sampel disuling bersama-sama dengan pelarut, seperti toluen atau xilen, kandungan air yang terdapat dalam sampel akan ditarik oleh pelarut. Air dan

pelarut disuling bersama-sama dan dipisahkan dalam tabung pendingin. Jika pelarut adalah anhidra, air akan tetap diserap di dalamnya yang mengarah ke hasil yang palsu. Oleh karena itu disarankan untuk menjenuhkan pelarut dengan air sebelum digunakan (WHO, 2011 : 33-35).

1.4.2. Parameter kadar abu.

Kadar abu dari bahan herbal ditentukan oleh tiga metode yang berbeda yang mengukur kadar abu total, kadar abu tidak larut asam dan kadar abu larut dalam air. Metode abu total dirancang untuk mengukur jumlah total bahan yang tersisa setelah pengapian. Ini mencakup "abu fisiologis", yang berasal dari jaringan tanaman itu sendiri, dan abu "non-fisiologis", yang merupakan residu dari materi asing (misalnya pasir dan tanah) yang melekat pada permukaan tanaman. Abu tidak larut asam adalah residu yang diperoleh setelah total abu ditambahkan dengan asam klorida encer, dan akan membentuk bagian yang tidak larut. Abu larut dalam air adalah perbedaan berat antara jumlah abu dan residu setelah pemanasan dari total abu yang larut dalam air (WHO, 2011 : 29).

1.4.3. Parameter susut pengeringan

Parameter susut pengeringan merupakan pengukuran hasil sisa zat setelah pengeringan pada suhu 100-105°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 akan menguap) identik dengan kadar air, yaitu kandungan air karena berada di atmosfer/lingkungan udara terbuka. Tujuannya untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang

besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Depkes RI, 2000 : 13 dan WHO, 2011 : 33)

1.4.4. Parameter Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu

Parameter senyawa terlarut dalam pelarut tertentu dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam pelarut etanol dan air untuk ditentukan jumlah solut yang identik dengan jumlah kandungan senyawa secara gravimetri, sehingga dapat memberikan gambaran awal jumlah kandungan senyawa. Tujuan parameter senyawa terlarut dalam pelarut untuk memberikan gambaran awal kandungan senyawa dalam suatu pelarut tertentu. Parameter ini terbagi menjadi dua yaitu kadar senyawa larut dalam air dan kadar senyawa larut dalam etanol (Depkes RI, 2000 : 31).

1.4.5. Parameter bobot jenis.

Penetapan bobot jenis merupakan pengukuran massa per volume pada suhu kamar tertentu (25°C) yang ditentukan dengan alat khusus piknometer atau alat lainnya. Tujuan dilakukan pengujian ini adalah memberikan batasan tentang besarnya massa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang serta memberikan gambaran kandungan kimia terlarut (Depkes RI, 2000:13-14).

1.5. Metode pemisahan dan pemurnian

Metode pemisahan alkaloid dimulai dari fraksinasi menggunakan ekstraksi cair-cair, kromatografi lapis tipis dan kromatografi preparatif.

1.5.1. Fraksinasi

Fraksinasi adalah metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi berberda susunannya. Fraksinasi diperlukan untuk memisahkan golongan utama kandungan satu dari golongan utama yang lainnya. Fraksinasi merupakan suatu proses pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran. Salah satu metode pemisahan yang digunakan yaitu ekstraksi cair-cair. Ekstraksi cair-cair merupakan suatu proses ekstraksi dimana yang digunakan adalah dua cairan yang saling tidak bercampur, umumnya digunakan pelarut air dan pelarut organik. Pada proses ini suatu senyawa akan lebih larut dalam pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang mirip, yaitu senyawa polar akan cenderung lebih larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa non polar akan cenderung lebih larut dalam pelarut polar (Harborne, 2006 : 7-8).

1.5.2. Kromatografi lapis tipis (KLT)

Teknik ini dikembangkan tahun 1938 oleh Ismailoff dan Schraiber. Adsorben dilapiskan pada lempeng kaca yang bertindak sebagai fase diam. Fase bergerak akan merayap sepanjang fase diam dan terbentuklah kromatogram. Metode ini sederhana, cepat dalam pemisahan dan sensitif. Kecepatan pemisahan tinggi dan mudah untuk memperoleh kembali senyawa-senyawa yang terpisahkan (Khopkar,2010 : 164).

Biasanya yang digunakan sebagai meteri pelapisnya adalah silika-gel, tetapi kadangkala bubuk selulosa dan tanah diatome, *kieselguhr* juga dapat digunakan. Untuk fase diam hidrofilik dapat digunakan pengikat seperti semen Paris, kanji, dispersi koloid plastik, silika terhidrasi. Sekarang ini telah banyak

tersedia kromatografi lapis tipis siap pakai yang dapat berupa gelas kaca, yang telah terlapisi, kromatotube, dan sebagainya. Kadar air dalam lapisan ini harus terkendali agar didapat hasil analisis yang sempurna (Khopkar, 2010 : 164).

Pemilihan sistem pelarut dan komposisi lapisan tipis ditentukan oleh prinsip kromatografi yang akan digunakan. Untuk meneteskan sampel yang akan dipisahkan digunakan suatu mikro-syringe (penyuntik ukuran mikro). Sampel diteteskan pada salah satu bagian tepi pelat kromatografi (sebanyak 0,01-10 μg zat). Pelarut harus non polar dan mudah menguap. Kolom-kolom dalam pelat dapat diciptakan dengan mengerok lapisan vertical searah gerakan pelarut. Teknik *ascending* digunakan untuk melaksanakan pemisahan yang dilakukan pada suhu kamar, sampai permukaan pelarut mencapai tinggi 15-18 cm. Waktu yang diperlukan antara 20-40 menit. Semua teknik yang digunakan untuk kromatografi kertas dapat dipakai juga untuk kromatografi lapis tipis. Resolusi KLT jauh lebih tinggi dari pada kromatografi kertas karena laju difusi yang luar biasa kecilnya pada lapisan pengadsorpsi (Khopkar, 2010 : 164).

Zat-zat warna dapat terlihat langsung, tetapi dapat juga digunakan reagent penyemprot untuk melihat bercak suatu zat. Untuk menempatkan posisi suatu zat, reagent dapat juga disemprotkan pada bagian tepi saja. Bagian yang lainnya dapat diperoleh kembali tanpa pengotoran dari reagen dalam pengerokan setelah pemisahan selesai (Khopkar, 2010 : 164).

Analisisnya dapat dilakukan dengan spektrofotometer UV, sinar tampak, IR atau fluoresens atau dengan reaksi dengan kolorimeter dengan reagen kromogenik (Khopkar, 2010 : 165). Aplikasi kromatografi lapis tipis sangat luas.

Senyawa-senyawa yang tidak mudah menguap serta terlalu labil untuk kromatografi cair dapat dianalisis dengan KLT. KLT dapat pula dipakai untuk memeriksa adanya zat pengotor dalam pelarut. Ahli kimia forensik menggunakan KLT untuk bermacam pemisahan. Pemakaiannya juga meluas dalam pemisahan organik (Khopkar, 2010: 165).

1.5.3. Kromatografi preparatif

Kromatografi preparatif dipakai untuk memperoleh campuran dalam jumlah yang memadai (mg sampai gram) dalam keadaan murni sehingga komponen itu dapat diidentifikasi lebih lengkap atau dipakai pada reaksi berikutnya (Gritter dkk., 1991 : 18). Ukuran pelat yang digunakan 20 x 20 cm dengan tebal 1 mm. Penotolan cuplikan merupakan tahapan yang paling menentukan dalam kromatografi preparatif dimana harus menyebarkan larutan cuplikan yang volumenya agak besar (sampai 2 mL) berbentuk pita seragam yang tipis (lebar 1 sampai 5 mm) tanpa mengganggu permukaan lapisan. Cara penotolan dapat dilakukan secara manual dan dapat dengan menggunakan alat Kontes Chromatoflex Streaker (Gritter dkk., 1991 : 142). Pengembangan pelarut kromatografi preparatif dapat menggunakan pelarut yang sama pada saat proses kromatografi lapis tipis. Sistem pelarut yang dipilih harus menghasilkan Rf rata-rata sekitar 0,3 cm. Penampak pita yang mengandung sampel pada kromatografi preparatif tidak boleh rusak. Untuk senyawa yang aromatis atau mempunyai ikatan rangkap dapat dilihat di bawah sinar UV karena lapisan kromatografi preparatif mengandung indikator fluoresensi yang dapat menyerap sinar UV 254 nm (Gritter dkk., 1991 : 145).

Pada kromatografi lapis tipis preparatif, cuplikan yang akan dipisahkan ditotolkan berupa garis pada salah satu sisi pelat lapisan besar dan dikembangkan secara tegak lurus pada garis cuplikan sehingga campuran akan terpisah menjadi beberapa pita. Pita ditampakkan dengan cara yang tidak merusak jika senyawa itu tanwarna, dan penjerap yang mengandung pita dikerok dari pelat kaca (Gritter dkk., 1991 : 146).

1.6. Metode analisis kualitatif

1.6.1. Spektrofotometri UV –Vis (Panji, 2012 : 5-7)

Spektrofotometri ini didasarkan pada serapan sinar UV tampak yang menyebabkan terjadinya transisi di antara tingkat energi elektronik molekul. Penyerapan sinar UV–tampak oleh suatu molekul akan menyebabkan transisi diantara tingkat energi elektronik dari molekul. Atas dasar ini splektrofotometri UV-Tampak juga dikenal sebagai spektrofotometri elektronik.

Transisi elektron dapat terjadi antar orbital ikatan (bonding) atau orbital anti ikatan (antibonding). Panjang gelombang sinar yang diserap sebanding dengan perbedaan tingkat energi orbital (ΔE).

Untuk eksitasi elektron ikatan σ perlu energi yang tinggi dengan nilai $\lambda=120-200$ nm. Di atas $\lambda=200$ nm, daerah eksitasi elektron dari orbital p, d, π , tersusun sistem n terkonjugasi, pengukuran mudah dilakukan sehingga spektrofotometri UV tampak diukur pada $\lambda > 200$ nm.

Kegunaan utama spektrofotometri UV tampak adalah untuk identifikasi jumlah ikatan rangkap/konjugasi aromatik. Menurut Lambert, fraksi penyerapan

sinar tidak tergantung pada I (intensitas cahaya) sedangkan Beer menyatakan bahwa serapan sebanding dengan jumlah molekul yang menyerap. Penjabaran hukum Lambert-Beer dapat ditulis :

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Dimana :

$$\begin{array}{ll} A = \text{absorbansi} & c = \text{konsentrasi (molar)} \\ \epsilon = \text{absorptivitas molar.} & b = \text{tebal kuvet (cm)} \end{array}$$

1.6.2. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)*

Spektroskopi infra merah/infra red (IR) berkaitan dengan vibrasi molekul. Energi vibrasi lebih rendah dibandingkan energi elektronik yang berkaitan dengan spektroskopi UV-Vis. Sebaliknya, panjang gelombang sinar IR lebih panjang dibandingkan dengan panjang gelombang sinar UV-vis. Jadi $E_{IR} < E_{UV}$, sedangkan $\lambda_{IR} > \lambda_{UV}$ (Panji, 2012 : 17-19).

Pada spektroskopi IR, besaran yang sering digunakan adalah bilangan gelombang (ν) dengan satuan cm^{-1} , yang merupakan kebalikan dari panjang gelombang (λ) yang memiliki satuan μm . Jadi, $\nu = 1 / \lambda$. Besaran ini sebenarnya berbeda dengan frekuensi vibrasi (ν) yang memiliki satuan det^{-1} atau hertz, karena $\nu = hc / \lambda$, dengan $h = \text{tetapan Planck } (6,626 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{det})$ dan $C = \text{kecepatan cahaya } (3,0 \times 10^8 \text{ m/det})$. Namun, untuk kemudahan pernyataan satuan, frekuensi biasa dinyatakan sebagai bilangan gelombang, karena besarnya memang berbanding lurus. Absorpsi energi pada daerah IR (bilangan gelombang $\nu = 650\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$) akan menyebabkan perubahan pada vibrasi molekul (Panji, 2012 : 17-19).

Terdapat dua jenis instrumen spektrofotometer inframerah, yakni spektrofotometer dispersif menggunakan monokromator berupa prisma dan spektrofotometer *Fourier Transform* yang menggunakan interferogram. Pada spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR) terdapat dua cermin yaitu cermin statis dan cermin dinamis. Di antara kedua cermin tersebut terdapat *beam splitter* yang diatur 45 °C dari cermin dinamis. Sinar dari sumber inframerah dilewatkan ke cermin melalui *beam splitter* (sebagian dari total radiasi kembali ke sumber). *Beam splitter* membagi sinar menjadi dua dan ditransmisikan ke cermin statis dan sebagian lagi ke cermin dinamis. Kemudian, pantulan dari kedua cermin digabungkan lagi pada *beam splitter*. Sinar yang muncul dari interferometer pada 90 °C disebut sinar transmisi dan sinar ini dideteksi oleh suatu detektor. Intensitas yang didapat dari detektor disebut interferogram. Interferogram merupakan hasil pola interferensi dari interferometer. Interferometer ini berfungsi sebagai penentu bentuk spektrum pada sampel. Teknik pengumpulan informasi spektra IR dilakukan menggunakan interferometer. Interferometer membuat semua panjang gelombang dapat melewati instrumen dan sampel, untuk menghasilkan pola interferensi yang dapat dianalisis oleh komputer dengan mengubah data menjadi suatu spektra inframerah (Rohman, 2012:15-16).