

**ISOLASI ARTONIN E DARI EKSTRAK ETILASETAT KULIT  
KAYU KLUWIH (*Artocarpus communis* J.R. & G.)**

**SKRIPSI**



**Oleh:**

**ABDUL QADRI**

**K100060002**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
SURAKARTA  
2010**

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. LATAR BELAKANG MASALAH**

Tanaman merupakan sumber utama dalam pencarian obat baru. Pemanfaatan bahan tanaman mempunyai keuntungan tersendiri yaitu toksisitasnya rendah, mudah diperoleh, murah harganya dan kurang menimbulkan efek samping (Nurhuda *et al.*, 1995). Indonesia merupakan lahan penelitian obat tradisional. Salah satu tanaman yang banyak terdapat di Indonesia yaitu kluwih (*Artocarpus communis* J. R. & G.). Kulit kayu kluwih dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional yang terbukti secara empirik sebagai antikanker, antivirus, antiinflamasi, diuretik, dan antihipertensi (Ersam, 2001).

Penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa akar kluwih (*Artocarpus altilis*) mempunyai aktivitas antituberkulosis dan antiplasmodial, dan juga menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel murine P-388 leukimia (Lotulung *et al.*, 2008). Ekstrak metanol kulit batangnya mempunyai efek sitotoksik terhadap sel HeLa dengan  $IC_{50}$  19,90  $\mu\text{g/ml}$  (Khasanah, 2007). Penelitian lain menyebutkan bahwa ekstrak kloroform akar *Artocarpus altilis* memiliki aktivitas anti TBC dengan MIC 25  $\mu\text{g/ml}$  dan anti malaria pada *Plasmodium falcifarum* dengan  $IC_{50}$  3,5  $\mu\text{g/ml}$  (Boonphong *et al.* 2007).

Tanaman kluwih (*Artocarpus altilis* Park) mengandung senyawa-senyawa flavonoid, stilben dan 2-arilbenzofuran terprenilasi atau tergeranilasi dan tidak diketemukan turunan flavon dari jenis dihidrobenzosanton,

kuininodihydrobenzosanton atau furarodihydrobenzosanton (Syah, 2005). Isolasi dari kulit akar kluwih (*Artocarpus altilis* Park) yang telah dilakukan didapatkan 4 senyawa isoprenil flavonoid dengan nama morusin, artonin E, sikloartobilosanton dan artonol B yang memiliki potensi aktivitas biologis kuat sebagai senyawa antikanker (Ersam *et al.*, 2000). Oleh karena itu, tanaman kluwih perlu dikembangkan menjadi obat herbal terstandar.

Salah satu persyaratan pengembangan obat tradisional menjadi obat herbal terstandar perlu dilakukan standarisasi terhadap bahan baku (Anonim, 2004). Standarisasi meliputi penentuan kandungan *chemical marker* sebagai kontrol kualitas obat herbal yang bertanggung jawab terhadap respon biologis (Li *et al.*, 2008). Berdasarkan kategori pemilihan *chemical marker*, artonin E merupakan senyawa aktif dalam ekstrak kulit kayu kluwih yang telah terbukti memiliki beberapa aktivitas antara lain efek sitotoksik kuat terhadap 11 jenis sel tumor terutama terhadap sel P-388 (Wang *et al.*, 2004; Seo *et al.*, 2003; Suhartati *et al.*, 2001).

Berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan pengembangan metode isolasi artonin E menggunakan kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom tekan (KKT) dari tanaman kluwih (*Artocarpus communis* J. R. & G.) untuk kemudian ditentukan kemurnian menggunakan kromatografi lapis tipis dan spektra UV/Vis serta ditetapkan kadar artonin E guna menjamin mutu dan keamanan suatu produk obat herbal terstandar. Dalam jangka panjang penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang menunjang tentang artonin E

sebagai *chemical marker* dari kulit kayu kluwih (*Artocarpus communis* J. R. & G.) sebagai bahan obat herbal terstandard.

## **B. PERUMUSAN MASALAH**

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut dapat dikembangkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah metode isolasi KCV dan KKT yang dikembangkan dapat memisahkan serta memurnikan artonin E dari ekstrak etilasetat kulit kayu kluwih (*Artocarpus communis* J. R. & G.)?
2. Berapakah kadar artonin E dalam isolat yang diperoleh dari ekstrak etilasetat kulit kayu kluwih (*Artocarpus communis* J. R. & G.)?

## **C. TUJUAN PENELITIAN**

1. Mengembangkan metode isolasi KCV dan KKT senyawa artonin E dalam ekstrak etilasetat kulit kayu kluwih (*Artocarpus communis* J. R. & G.) dan menentukan kemurnian menggunakan kromatografi lapis tipis dan spektra UV/Vis.
2. Menentukan kadar artonin E dalam isolat yang diperoleh dari ekstrak etilasetat kulit kayu kluwih (*Artocarpus communis* J. R. & G.) menggunakan densitometer.

## D. TINJAUAN PUSTAKA

### 1. Tumbuhan Kluwih

#### a. Klasifikasi Tumbuhan Kluwih

Kedudukan tanaman kluwih dalam taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut:

Devisio	:	Spermatophyta
Sub divisio	:	Angiospermae
Classis	:	Dicotyledoneae
Subclasis	:	Monoclamydeae/ Apetalae
Ordo	:	Urticales
Famili	:	Moraceae
Genus	:	Artocarpus
Spesies	:	<i>Artocarpus altilis</i> (Park.) Fsb.
Sinonim	:	<i>Artocarpus communis</i> J.R. & G. A. <i>incisa</i> (Thumb.)
Nama Umum	:	Kluwih (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1994)

#### b. Nama Daerah Kluwih

Sumatera	:	Gomu (Melayu), Kulu (Aceh), Kulur (Batak), Kalawi (Minangkabau), Kaluwih (Lampung).
Jawa	:	Kelewih (Sunda), Kluwih (Jawa), Kolor (Madura).
Bali	:	Kalewih (Bali).
Nusa Tenggara	:	Kolo (Bima), Lakuf (Timor).

Sulawesi : Gamasi (Makasar), Kuloro (Selayar), Ulo (Bugis).

Maluku : Limes, Umasi (Seram), Dolai (Halmahera).

(Sutijopitopo, 1992)

c. Uraian Tanaman

Habitus : pohon, tinggi 10-25 m.

Batang : tegak, bulat, percabangan simpodial, bergetah, permukaan kasar, coklat.

Daun : tunggal, berseling, lonjong, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi bertoreh, panjang 50-70 cm, lebar 25-50 cm, pertulangan menyirip, tebal, permukaan kasar, hijau.

Bunga : tunggal, berumah satu, di ketiak daun, bunga jantan silindris, panjang 10-20 cm, kuning, bunga betina bulat, garis tengah 2-5 cm, hijau.

Buah : semu majemuk, bulat, diameter 10-20 cm, berduri lunak, hijau.

Biji : bentuk ginjal, panjang 3-5 cm, hitam.

Akar : tunggang, coklat.

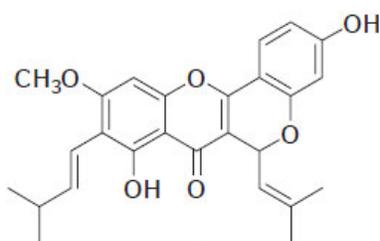
(Syamsuhidayat dan Hutapea, 1994)

d. Penelitian Sebelumnya

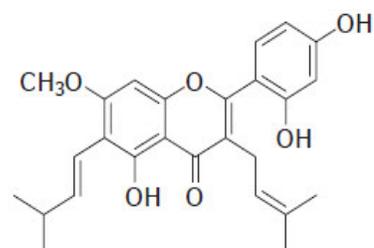
Kandungan kimia yang terdapat pada kluwih (*Artocarpus communis* J. R. & G) adalah senyawa-senyawa flavonoid, stilben dan 2-

arilbenzofuran terprenilasi atau tergeranilasi dan tidak ditemukan turunan flavon dari jenis dihidrobenzosanton, kuininodihidrobenzosanton atau furarodihidrobenzosanton yang cenderung memberikan sifat sitotoksik yang kuat (Syah, 2005).

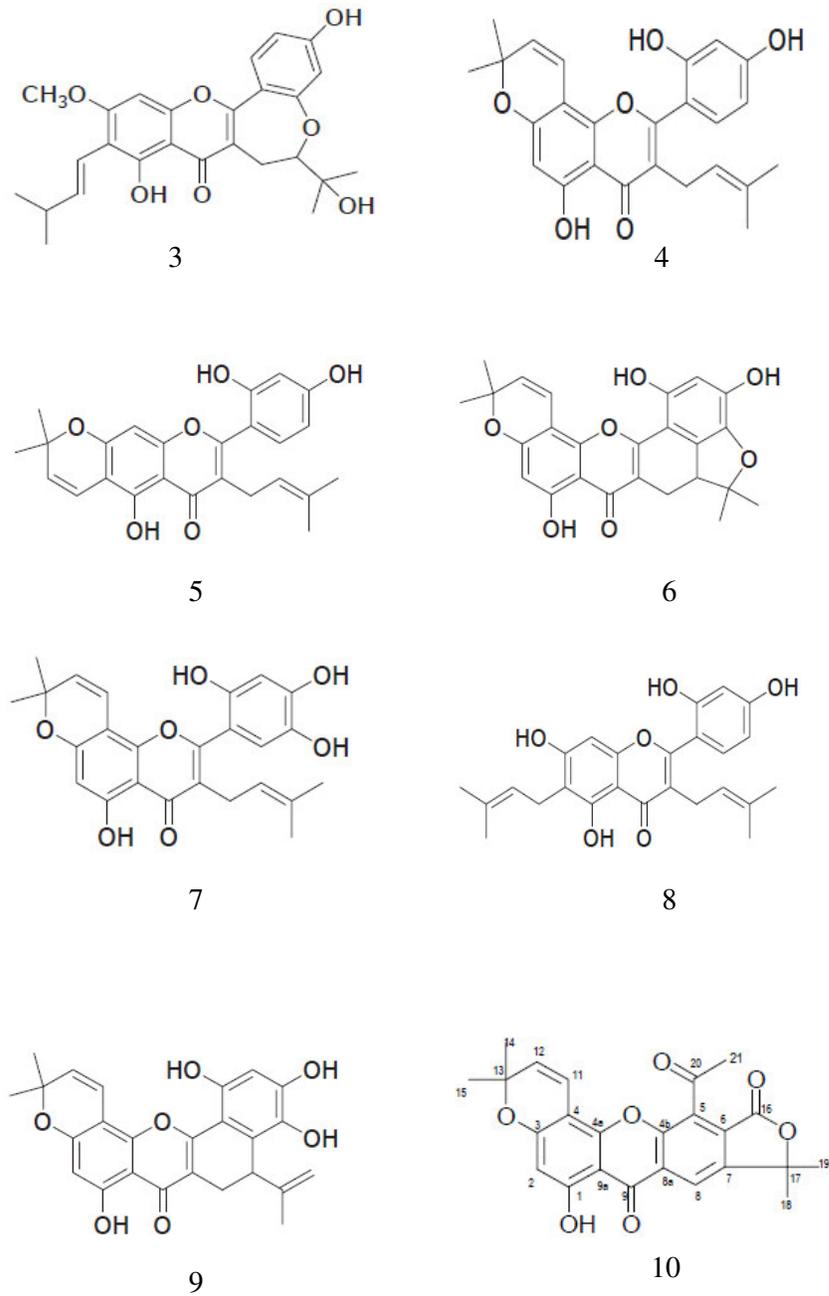
Hasil isolasi dari akar *Artocarpus altilis* mengandung sembilan prenilasi flavon yaitu dapat dilihat pada gambar 1. sikloartokarpin (1), artokarpin (2), dan khaplashin (3) yang diisolasi dari ekstrak diklorometana akar didapatkan morusin (4), kudraflavon B (5), sikloartobilosanton (6), artonin E (7), kudraflavon C (8) dan artobilosanton (9) artonol B (10) diisolasi dari akar kulit yang mempunyai aktivitas antituberkulosis, antimalaria dan sitotoksik pada sel kanker payudara (Boophong *et al.*, 2007). Hasil isolasi Kulit kayu *Artocarpus rigida* Blume mengandung sikloartobilosanton dan artonin E (7) yang mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel murine leukimia P-388. Dalam tes bioaktivitas, artonin E (7) memiliki aktivitas antimikroba terhadap *E. coli* dan *B. Subtilis* (Suhartati, T., 2001). Senyawa Artonin-E (7) dari tanaman kluwih (*Artocarpus communis* J. R. & G.) telah diketahui dapat menghambat arakhidonat 5-lipooksigenase dengan  $IC_{50}$  0,36  $\mu$ g/ml (Reddy *et al.*, 1991).



1



2



**Gambar 1.** Struktur senyawa hasil isolasi *Artocarpus altilis* Park sikloartokarpin (1), artokarpin (2), kaplasin (3), morusin (4), kudraflavon B (5), sikloartobilosanton (6), artonin E (7), kudraflavon C (8), artobilosanton (9), artonol B (10).

## 2. Obat Tradisional

Obat tradisional adalah obat-obatan yang diolah secara tradisional, turun-temurun, berdasarkan resep nenek moyang, adat-istiadat, kepercayaan, atau kebiasaan setempat, baik bersifat *magic* maupun pengetahuan tradisional. Bagian dari obat tradisional yang bisa dimanfaatkan adalah akar, rimpang, batang, buah, daun dan bunga. Bentuk obat tradisional yang banyak dijual di pasar dalam bentuk kapsul, serbuk, cair, simplisia dan tablet (Anonim, 2008).

Definisi lain tentang obat tradisional adalah obat atau obat terbungkus yang berasal dari tumbuhan, hewan, mineral dan atau sediaan genetiknya atau campuran dari bahan-bahan tersebut yang belum mempunyai data klinis dan dipergunakan dalam pengobatan berdasarkan pengalaman (Santoso, 1989 *cit* Sudiasih dan Ni Made, 1996).

Berdasarkan cara pembuatan, jenis klaim penggunaan dan tingkat pembuktian khasiat Obat Bahan Alam Indonesia (OBAI) dikelompokkan: Jamu, Obat Herbal Terstandard, dan Fitofarmaka (Anonim, 2004).

Kriteria yang harus dipenuhi tentang Ketentuan Pokok Pengelompokan dan Penandaan Obat Bahan Alam Indonesia adalah:

### a. Jamu

- 1). Aman sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan.
- 2). Klaim khasiat dibuktikan berdasarkan data empiris.
- 3). Penggunaan secara tradisional.
- 4). Memenuhi persyaratan yang berlaku.

b. Obat Herbal Terstandar

- 1). Aman sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan
- 2). Klaim khasiat dibuktikan secara ilmiah/praklinik/farmakologi.
- 3). Telah dilakukan standardisasi terhadap bahan baku (simplisia/sediaan galenik) yang digunakan dalam produk jadi.
- 4). Memenuhi persyaratan mutu yang berlaku.

c. Fitofarmaka

- 1). Aman sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan.
- 2). Klaim khasiat dibuktikan berdasarkan uji klinik.
- 3). Telah dilakukan standardisasi terhadap bahan baku (simplisia/sediaan galenik) yang digunakan dalam produk jadi.
- 4). Memenuhi persyaratan mutu yang berlaku.

(Anonim, 2004)

### 3. *Chemical marker*

*Chemical marker* atau senyawa penanda merupakan unsur yang terkandung dalam suatu bahan tumbuhan yang ditetapkan secara kimia dan untuk tujuan pengawasan (Anonim, 2004). *The European Medicines Agency* (EMA) mendefinisikan *chemical marker* merupakan suatu bahan atau kelompok bahan dari produk obat herbal yang memiliki aktivitas terapeutik. *Chemical marker* yang ideal, seharusnya merupakan senyawa yang berkontribusi efek terapeutik pada obat herbal. Delapan karakteristik *chemical marker* pada tanaman obat herbal yaitu: senyawa terapeutik, senyawa bioaktif,

senyawa sinergis, senyawa khas, senyawa dominan, senyawa berkorelasi, senyawa toksik, senyawa yang umum digunakan untuk membaca spektrum.

(Li *et al.*, 2008)

#### **4. Metode Penyarian**

Penyarian merupakan peristiwa perpindahan masa zat aktif yang semula berada didalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari. Pada umumnya, penyari akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin luas (Anonim, 1986).

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan dapat larut. Bahan mentah obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan ataupun hewan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan atau dikeringkan. Tiap-tiap bahan mentah obat disebut ekstrak, tidak mengandung hanya satu unsur saja tetapi berbagai unsur, tergantung pada obat yang digunakan dan kondisi dari ekstraksi (Ansel, 1989).

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan (Anonim, 1995). Untuk mendapatkan senyawa yang khas (zat aktif) dalam suatu tumbuhan, diperlukan metode ekstraksi yang cepat dan teliti (Harborne, 1987). Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sumber bahan alami dan senyawa yang akan diisolasi tersebut (Sarker *et al.*, 2006).

Kandungan kimia tumbuhan digolongkan berdasarkan pada asal biosintesis, sifat kelarutan dan adanya gugus fungsi tertentu (Harborne, 1987). Oleh karena itu terdapat beberapa pilihan metode penyarian, antara lain: maserasi, boiling, soxhletasi, *supercritical fluid extraction*, sublimasi, dan destilasi uap (Sarker *et al.*, 2006).

Tipe proses ekstraksi yang biasa digunakan untuk bahan tanaman, terdiri dari: pengeringan dan penghalusan bahan tanaman atau homogenasi bagian tanaman yang masih segar (daun, bunga, dan sebagainya) atau maserasi semua bagian tanaman dengan pelarut. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi antara lain: pelarut untuk ekstraksi polar (air, etanol, metanol, dan sebagainya), pelarut untuk ekstraksi semi polar (etilasetat, diklorometana, dan sebagainya), dan pelarut untuk ekstraksi non polar (*n*-heksan, petroleum eter, kloroform, dan sebagainya) (Sarker *et al.*, 2006).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat-syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) dan diaduk kembali. Waktu maserasi pada umumnya 5 hari. Setelah waktu tersebut, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan yang masuk dalam cairan telah tercapai. Dengan pengadukan dijamin keseimbangan konsentrasi bahan lebih cepat dalam cairan. Keadaan diam selama maserasi menyebabkan

turunnya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut (Voight, 1984).

Maserasi dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan kedalam bejana, dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil diaduk, kemudian diserkai dan ampasnya diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya diaduk dan diserka, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Bejana ditutup, dibiarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 2 hari, kemudian diendapan dipisahkan (Anonim, 1986).

## **5. Fraksinasi**

Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari kandungan yang lain. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa non polar akan masuk ke pelarut non polar (Harborne, 1987).

Metode fraksinasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan kromatografi kolom. Kolom diisi dengan penyerap padat sebagai fase tetap dan dialiri dengan pelarut sebagai fase gerak. Cuplikan yang akan difraksi dimasukan ke dalam kolom dan dialiri fase gerak yang akan membentuk jalur-jalur serapan dari senyawa. Bila pelarut dibiarkan mengalir melalui kolom, ia akan mengangkut senyawa-senyawa yang merupakan komponen-komponen dari campuran. Pemisahan komponen suatu campuran tergantung pada tingkat kepolaran dari fase gerak dan senyawa yang terkandung dalam campuran tersebut (Sastrohamidjojo, 2004).

Kromatografi kolom yang digunakan dalam fraksinasi ini adalah kromatografi kolom cair vakum (KCV). Metode ini merupakan modifikasi dari kromatografi kolom gravitasi dengan menambahkan vakum (penarik udara) pada bawah kolom. Dapat digunakan untuk fraksinasi atau memurnikan fraksi (Muhtadi, 2008).

Kromatografi cair vakum (KCV) pertama kali diperkenalkan oleh para ilmuwan dari Australia untuk mengatasi lamanya waktu yang dibutuhkan untuk separasi menggunakan kolom kromatografi klasik. Pada dasarnya metode ini adalah kromatografi lapis tipis preparatif yang berbentuk kolom. Aliran fase gerak dalam metode ini diaktifkan dengan bantuan kondisi vakum (Coll and Bowden, 1986). Kromatografi cair vakum pada awalnya digunakan untuk separasi senyawaan steroid dan produk-produk natural dari laut (Targett *et al.*, 1979).

Kromatografi cair vakum terdiri dari suatu corong Buchner yang memiliki kaca masir. Corong Buchner ini diisi dengan fase diam yang tingkat kehalusannya seperti yang umumnya dipakai dalam kromatografi lapis tipis (70-230 mesh). Corong Buchner yang berisi fase diam ini digunakan dalam kondisi vakum/bertekanan, yang berakibat pada kemampuan yang dihasilkan oleh kromatografi cair vakum akan sama dengan kromatografi gravitasi namun diperlukan waktu yang lebih singkat (Targett *et al.*, 1979). Cara asli yang diperkenalkan oleh Coll menggunakan corong Buchner kaca masir atau kolom pendek, sedangkan Targett menggunakan kolom yang lebih panjang untuk meningkatkan daya pisah (Hostettman *et al.*, 1986).

Kolom kromatografi dikemas kering dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Vakum dihentikan, pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke permukaan penjerap lalu divakumkan lagi. Kolom dihisap sampai kering dan sekarang siap dipakai. Cuplikan, dilarutkan dalam pelarut yang cocok, dimasukkan langsung pada bagian atas kolom atau pada lapisan prapenjerap dan dihisap perlahan-lahan ke dalam kemasan dengan memvakumkannya. Kolom, dielusi dengan campuran pelarut yang cocok, mulai dengan pelarut yang kepolarannya rendah lalu kepolaran ditingkatkan perlahan-lahan, kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi. Berbeda dengan metode yang menggunakan tekanan pada bagian atas kolom untuk meningkatkan laju aliran, mengotakatik kolom (mengubah pelarut dan sebagainya) mudah karena kepala kolom berada dalam tekanan atmosfer (Hostettman *et al.*, 1986).

## **6. Isolasi**

Faktor paling utama yang harus dipertimbangkan sebelum merancang sebuah prosedur isolasi adalah sifat alami senyawa target yang terdapat dalam suatu ekstrak atau fraksi. Gambaran umum sifat molekul yang akan diisolasi sangat membantu dalam menentukan proses isolasi meliputi kelarutan (hidrofobisitas atau hidrofilisitas), sifat asam basa, stabilitas, dan ukuran molekul. Jika mengisolasi suatu senyawa yang sudah diketahui atau dari sumber yang baru, dapat dicari informasi dari literatur mengenai sifat kromatografi senyawa target tersebut, sehingga mudah untuk menentukan metode isolasi yang sesuai. Penentuan prosedur isolasi untuk ekstrak dengan

kandungan senyawa yang sama sekali belum diketahui tipe senyawanya dapat menimbulkan kesulitan. Oleh karena itu, disarankan untuk dilakukan uji kualitatif untuk mengetahui tipe senyawa seperti: fenolik, steroid, alkaloid, flavanoid, dan sebagainya dengan menggunakan kromatografi lapis tipis atau profil kromatografi cair kinerja tinggi (Sarker *et al.*, 2006).

Metode isolasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kromatografi kolom tekan (*Flash Chromatography*). Kromatografi kolom tekan juga merupakan modifikasi dari kromatografi kolom gravitasi dengan menambahkan tekanan udara dari atas kolom dan digunakan untuk isolasi. Prinsip kromatografi kolom tekan yaitu pergerakan eluen dibantu dengan tekanan udara yang berasal pompa udara (Muhtadi, 2008).

## **7. Kromatografi Lapis Tipis dan Densitometri**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan suatu metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan terdiri atas berbutir-butir fase diam, ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita. Setelah pelat atau lapisan ditaruh didalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya, senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan/dideteksi (Stahl, 1985).

Keuntungan dari penggunaan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dalam analisis adalah:

- a. Peralatan yang digunakan relatif lebih murah.

- b. Waktu yang diperlukan dalam pemisahan senyawa obat relatif lebih cepat apabila dibandingkan dengan kromatografi kertas.
- c. Jumlah cuplikan yang digunakan relatif sedikit.

(Sastrohamidjojo, 2004)

Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam Kromatografi

Lapis Tipis (KLT) yang juga mempengaruhi harga  $R_f$  antara lain:

- a. Struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan
- b. Sifat dari penyerap dan aktivitas derajatnya
- c. Tebal dan kerataan dari lapisan penyerap
- d. Pelarut dan derajat kemurian fase gerak
- e. Derajat kejenuhan dari uap dalam bejana pengembangan yang digunakan
- f. Teknik percobaan
- g. Jumlah cuplikan yang digunakan
- h. Suhu pemisahan tetap untuk mencegah terjadinya perubahan komposisi pelarut
- i. Keseimbangan

(Sastrohamidjojo, 2004)

Penggunaan umum Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah untuk menentukan banyaknya komponen dalam campuran, identifikasi senyawa, memantau berjalannya suatu reaksi, menentukan efektifitas pemurnian, menentukan kondisi yang sesuai untuk kromatografi kolom, serta untuk memantau kromatografi kolom, melakukan *screening* sampel untuk obat.

a. Analisis kualitatif

KLT dapat digunakan untuk uji identifikasi senyawa baku. Parameter pada KLT yang digunakan untuk identifikasi adalah nilai Rf. Dua senyawa dikatakan identik jika mempunyai nilai Rf yang sama jika diukur pada kondisi KLT yang sama.

b. Analisis kuantitatif

Ada 2 cara yang digunakan untuk analisis kuantitatif dengan KLT. Pertama, bercak diukur langsung pada lempeng dengan menggunakan ukuran luas atau dengan teknik densitometri. Cara kedua adalah dengan mengerok bercak lalu menetapkan kadar senyawa yang terdapat dalam bercak tersebut dengan metode analisis yang lain misalkan dengan metode spektrofotometri.

Analisis kuantitatif dari suatu senyawa yang telah dipindahkan dengan KLT biasanya dilakukan dengan densitometer langsung pada lempeng KLT (atau secara *in situ*). Densitometer dapat bekerja secara serapan atau fluoresensi. Kebanyakan densitometer mempunyai sumber cahaya, monokromator untuk memilih panjang gelombang yang cocok, sistem untuk memfokuskan sinar pada lempeng, pengganda foton, dan rekorder (Gandjar, 2007).

## 8. Spektrofotometri UV/Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah teknik spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer melibatkan

elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis kuantitatif dibandingkan kualitatif (Mulja dan Suharman, 1995).

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet dan terlihat tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Spektra ultraviolet dan terlihat dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik. Disebabkan karena hal ini, maka serapan radiasi ultraviolet/terlihat sering dikenal sebagai spektroskopi elektronik. Dalam praktek, spektrofotometri ultraviolet digunakan terbatas pada sistem-sistem terkojugasi (Sastrohamidjojo, 2004).

Spektrofotometri ultraviolet adalah suatu gambar antara panjang gelombang atau frekuensi serapan lawan intensitas serapan (transmitasi atau absorbansi). Sering juga data ditunjukkan sebagai gambar grafik atau tabel yang menyatakan panjang gelombang lawan serapan molar atau log dari serapan molar,  $E_{\max}$  atau  $\log E_{\max}$  (Sastrohamidjojo, 2004).