

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Tumbuhan Halay (*Alstonia Spectabilis R. Br*)

Tumbuhan Halay (*Alstonia Spectabilis R. Br*) merupakan tumbuhan yang tergolong pepohonan tinggi dan berbatang besar yang dapat dimanfaatkan untuk bahan bangunan. Ekstrak kulit tumbuhan halay dapat digunakan sebagai obat yang dapat menyembuhkan penyakit malaria. Hal ini dilakukan oleh masyarakat pedesaan di Sumba (Pote, 2002).



Gambar 2.1. Tumbuhan Halay (*Alstonia Spectabilis R. Br*)

(Sumber: Data primer)

Tumbuhan Halay (*Alstonia Spectabilis R. Br*) termasuk famili Apocynaceae (Hasil Penelitian Ekspedisi Sumba, 1992), sehingga berdasarkan taksonomi tumbuhan dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Devisi	: spermatophyta
Sub devisi	: angiospermae
Kelas	: dicotyledoneae
Ordo	: apocynales
Famili	: apocynaceae
Genus	: <i>Alstonia</i>
Spesies	: <i>Alstonia Spectabilis R. Br</i>

Famili Apocynaceae terdiri dari 250 genus dan 2000 spesies, yang tersebar didaerah tropika dan sub-tropika, dan hanya sedikit dari genus dan spesies tersebut yang terdapat di daerah beriklim sedang. Tanaman dari Apocynaceae sering beracun dan banyak mengandung senyawa alkaloid, terutama dalam biji dan getah. Beberapa spesies merupakan sumber obat, insektisida, serat dan karet (Wuart, 2006).

Alstonia merupakan salah satu genus dari famili Apocynaceae. Genus *Alstonia* terdiri dari sejumlah pohon perdu yang memiliki persebaran yang luas. *Alstonia* atau yang di Barat dikenal dengan *devils tree* terdiri dari sekitar 40 hingga 60 spesies. Genus ini terdapat didaerah tropis dan subtropis di Afrika, Amerika Tengah, Asia Tenggara dan Australia (Sutomo dan Mukaromah, 2006). Dari 19 spesies *Alstonia* tersebar di wilayah Malaysia, Singapura, Indonesia, Brunei, Filipina dan Papua Nugini (Sidiyasa, 1998).

Tumbuhan Halay (*Alstonia Spectabilis R. Br*) merupakan tanaman berukuran sedang. Tinggi 8-10 m, kulit batang sedikit gelap dan bergetah seperti susu. Daun tunggal, berhadapan atau melingkar, bentuk elip melebar, urat daun

jelas, perbungaan terminal, tersusun malai, bunga berukuran kecil. Mahkota bunga putih, kuncup terpuntir pada ujung. Buah bulat memanjang, diameter 4 mm dan tumbuh berpasangan. Tumbuhan Halay (*Alstonia Spectabilis R. Br*) tersebar luas di wilayah Nusa Tenggara Timur seperti Sumba Barat Daya (ello), Malaka (kroti), Lembata (ritta), Kodi (halai).

2.2 Senyawa Metabolit Sekunder Pada Kulit Batang Tumbuhan Halay

(Alstonia Spectabilis R. Br)

Tumbuhan mengandung senyawa metabolit sekunder. Senyawa ini berfungsi sebagai sistem pertahanan diri pada tumbuhan. Tumbuhan Halay (*Alstonia Spectabilis R. Br*) mengandung senyawa alkaloid (Pote, 2002).

2.2.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang bersifat basa dengan satu atau lebih atom nitrogen yang umumnya berada dalam gabungan sistem siklik. Golongan senyawa ini biasanya memiliki aktivitas farmakologis pada manusia dan hewan. Ciri-ciri alkaloid umumnya berbentuk padat (kristal), meskipun dalam suhu kamar ada yang cair (misalkan nikotin), memutar bidang polarisasi, berasa pahit, bentuk garam larut dalam air dan larut dalam pelarut organik dalam bentuk bebas atau basanya (Harborne, 1997).

Sebagian besar alkaloid yang ditemukan di alam umumnya mempunyai keaktifan fisiologis tertentu, ada yang beracun dan ada juga yang digunakan untuk obat. Contohnya morfin dan striknin merupakan senyawa alkaloid yang terkenal memiliki efek fisiologis dan psikologis. Sifat-sifat fisiologis alkaloid menarik

perhatian para ahli kimia. Pada tumbuhan, alkaloid dapat ditemukan dibagian biji, daun, ranting dan kulit batang. Kadar alkaloid dalam jaringan tumbuhan kurang dari 1% akan tetapi kulit batang dari tumbuhan kadang-kadang mengandung 10-15% alkaloid seperti kulit batang kina yang mengandung sekitar 10% kuinin (Sjamsul Arifin Achmad, 1986).

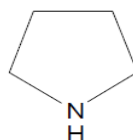
Metode yang biasa digunakan untuk pemurnian dan karakterisasi senyawa alkaloid yaitu mengandalkan sifat kimia alkaloid yaitu kebasaannya dan pendekatan khusus harus dikembangkan untuk beberapa alkaloid (seperti rutaekarpina, kolkisina, risinina) yang tidak bersifat basa. Alkaloid diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan tumbuhan menggunakan asam yang melarutkan alkaloid sebagai garam atau bahan tumbuhan dapat dibasakan dengan natrium karbonat dan sebagainya lalu basa bebas diekstraksi dengan pelarut organik seperti kloroform, eter dan sebagainya. Beberapa alkaloid sintesis dapat terbentuk jika menggunakan pelarut yang reaktif. Untuk alkaloid yang dapat menguap seperti nikotina dapat dimurnikan dengan cara penyulingan uap dari larutan yang dibasakan. Larutan dalam air yang bersifat asam dan mengandung alkaloid dapat dibasakan kemudian diekstraksi dengan pelarut organik sehingga senyawa netral dan asam yang mudah larut dalam air tertinggal dalam air (Padmawinata, 1995).

Menurut *Meyer's Conversation Lexicions* (1896), alkaloid terjadi secara karakteristik didalam tumbuh-tumbuhan dan sering dibedakan berdasarkan kereaktifan fisiologi yang khas. Senyawa alkaloid terdiri atas karbon, hidrogen dan nitrogen, sebagian besar diantaranya mengandung oksigen. Sesuai dengan namanya yang mirip dengan alkali (bersifat basa) dikarenakan adanya sepasang

elektron bebas yang terdapat pada nitrogen sehingga dapat mendonorkan sepasang elektronnya. Mendefenisikan alkaloid tunggal sulit dilakukan dan sudah berjalan selama bertahun-tahun. Berdasarkan kemajuan ilmu pengetahuan, istilah senyawa alkaloid yang beragam harus ditinggalkan (Hesse, 1981).

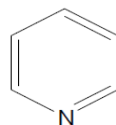
Menurut Evans (1996), secara umum alkaloid dapat digolongkan berdasarkan strukturnya menjadi alkaloid heterosiklik dan alkaloid non heterosiklik. Atom N pada alkaloid non heterosiklik dapat berupa atom N primer (meskalin), sekunder (efedrin), tersier (atropin) dan kuartener (tubokurarin). Sedangkan alkaloid heterosiklik dapat diklasifikasikan lagi berdasarkan struktur cincin yang dimilikinya yakni pirol atau pirolidin (higrin), pirolizidin (seneklonin), piridin dan piperidin (piperin, lobelin), tropan (kokain), kuinolin (kuinin, kuinidin), aporfin (boldin), kuinolizidin (spartein), indol atau benzopirol (ergometrin), indilizidin (swainsonin), imidazol (pilocarpin), purin (kafein), steroidal (solanidin), dan terpenoid (akonitin) (Cahyan, 2012).

1. Alkaloid pirolidin yaitu alkaloid yang mengandung inti pirolidin.



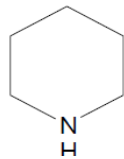
Gambar 2.2 Struktur Pirolidin

2. Alkaloid piridin yaitu alkaloid yang mengandung inti piridin



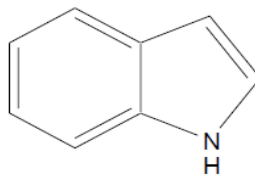
Gambar 2.3 Struktur piridin

3. Alkaloid piperidin yaitu alkaloid yang mengandung inti piperidin



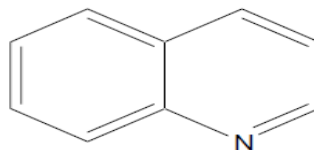
Gambar 2. 4 Struktur piperidin

4. Alkaloid indol yaitu alkaloid yang mengandung gugus indol dan turunannya



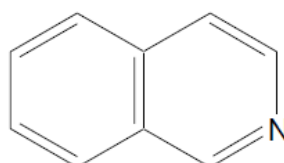
Gambar 2. 5 Struktur indol

5. Alkaloid kuinolin yaitu alkaloid yang mengandung inti kuinolin dan turunannya



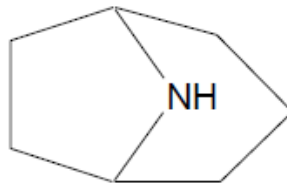
Gambar 2. 6 Struktur kuinolin

6. Alkaloid isokuinolin yaitu alkaloid yang mengandung inti isokuinolin dan turunannya



Gambar 2. 7 Struktur isokuinolin

7. Alkaloid tropana yaitu alkaloid yang mengandung inti tropan



Gambar 2.8 Struktur tropana

Alkaloid juga dapat diklasifikasikan berdasarkan jenis tumbuhan seperti alkaloid tembakau, alkaloid amaryllidaceae, alkaloid erythrina dan sebagainya. Alkaloid tertentu tidak hanya ditemukan pada satu suku tumbuhan tertentu saja, seperti nikotin yang tidak hanya ditemukan pada tumbuhan jenis tembakau suku *solanaceae* tetapi ditemukan juga pada tumbuhan lain yang termasuk dalam jenis tumbuhan tembakau. Cara ini memiliki kelemahan yaitu alkaloid yang berasal dari tumbuhan tertentu dapat memiliki struktur yang berbeda (Astuti, 2007).

Alkaloid juga dapat diklasifikasikan berdasarkan asal usul biogenesisnya. Dengan cara ini dapat menjelaskan antara berbagai alkaloid yang diklasifikasikan berdasarkan jenis cincin heterosiklik. Percobaan-percobaan biosintesis menunjukkan bahwa alkaloid hanya berasal dari beberapa asam amino tertentu saja. Alkaloid dibedakan menjadi tiga macam yaitu alkaloid alisiklik, alkaloid aromatik jenis fenilalanin dan alkaloid aromatik jenis indol.

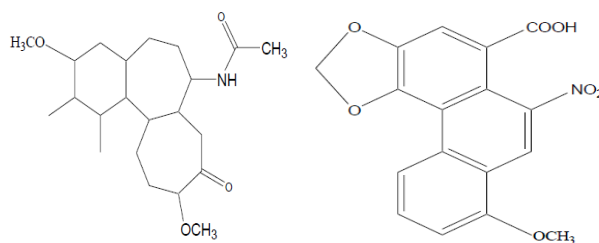
- a. Alkaloid alisiklik adalah alkaloid yang berasal dari asam-asam amino ornitin dan lisin.
- b. Alkaloid aromatik jenis fenilalanin adalah alkaloid yang berasal dari fenilalanin, tirosin dan 3,4-dihidroksifenilalanin.

c. Alkaloid aromatik jenis indol adalah alkaloid yang berasal dari triptofan (Sjamsul Arifin Achmad, 1986).

Secara kimia alkaloid bersifat heterogen dan banyak sehingga alkaloid sukar diidentifikasi dalam ekstrak tumbuhan dengan menggunakan kromatografi tunggal. Berdasarkan proses biosintesisnya dan hubungannya dengan asam amino, senyawa alkaloid dapat dikelompokkan menjadi alkaloid sesungguhnya (true alkaloid), proto alkaloid dan pseudo alkaloid (Sabirin Matsjeh, 2002).

1. True alkaloid

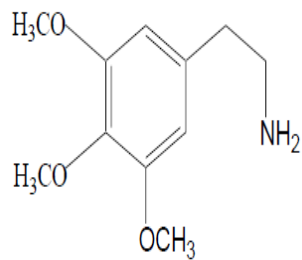
Ciri-ciri alkaloid ini yaitu basa, toksik, keaktifan fisiologi besar, biasanya mengandung atom nitrogen didalam cincin heterosiklik, turunan asam amino, distribusinya terbatas dan biasanya terbentuk didalam tumbuhan sebagai garam dan asam organik. Senyawa alkaloid yang tidak bersifat basa, tidak mempunyai cincin heterosiklik dan termasuk alkaloid kuartener yang cenderung bersifat asam seperti kolkhisina dan asam aristolosit.



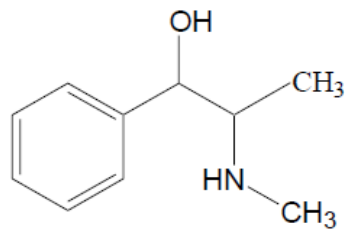
Gambar 2. 9 Struktur kolkhisina Gambar 2.10 struktur aristolosit

2. Proto alkaloid

Ciri-ciri alkaloid ini yaitu memiliki struktur asam amino sederhana dimana atom nitrogen asam aminonya tidak berada dalam cincin heterosiklik, biosintesis berasal dari asam amino dan basa seperti meskalin dan efedrin.



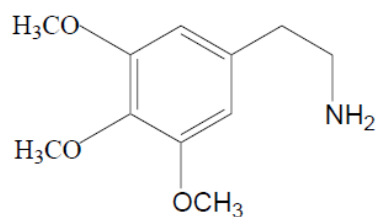
Gambar 2.11 Struktur meskalin



Gambar 2.12 Struktur efedrin

3. Pseudo alkaloid

Ciri-ciri alkaloid ini tidak diturunkan dari asam amino dan umumnya bersifat basa seperti kafein.



Gambar 2.13 Struktur kafein

2.2.2 Sifat-sifat Senyawa Alkaloid

2.2.2.1 Sifat fisik

Beberapa senyawa alkaloid yang telah diisolasi mempunyai sifat fisik yang berbeda dan berupa padatan kristal garam dengan titik lebur tertentu. Seperti kokain yang memiliki titik lebur 98⁰C adalah jenis alkaloid yang ditemukan pada

tanaman *efroxilum coca*. Namun, ada beberapa golongan alkaloid yang memiliki bentuk tidak teratur (amorf) dan ada yang berupa cairan seperti nikotin dan koniin. Kebanyakan senyawa alkaloid yang lain tidak berwarna tetapi ada senyawa alkaloid yang kompleks mempunyai warna seperti spesies aromatik, misalnya berberin berwarna kuning dan betanin warna merah. Pada umumnya basa bebas alkaloid hanya larut dalam pelarut organik, meskipun beberapa pseudoalkaloid dan protoalkaloid larut dalam air. Garam alkaloid dan alkaloid kuartener sangat larut dalam air.

2.2.2.2 Sifat kimia

Sebagian besar senyawa alkaloid bersifat basa tergantung adanya pasangan elektron bebas pada atom nitrogen, apabila suatu gugus fungsional berdekatan dengan nitrogen bersifat pendorong elektron misalnya gugus alkil, maka elektron pada atom nitrogen akan naik yang mengakibatkan senyawa tersebut lebih bersifat basa. Hingga trietilamin lebih basa daripada dietilamin dan senyawa dietilamin lebih basa daripada senyawa etilamin. Sebaliknya, bila gugus fungsional yang berdekatan bersifat menarik elektron misalnya gugus karbonil, maka ketersediaan pasangan elektron berkurang dan pengaruh yang ditimbulkan akan menyebabkan alkaloid bersifat netral dan bahkan sedikit asam. Contohnya senyawa yang mengandung gugus amida.

Sifat kebasaaan alkaloid menyebabkan senyawa ini mudah mengalami dekomposisi terutama saat panas dan sinar dengan adanya oksigen. Hasil reaksi berupa N-oksida. Dekomposisi senyawa alkaloid selama atau setelah isolasi dapat menimbulkan berbagai persoalan jika penyimpanan dalam waktu yang cukup

lama. Proses pembentukan garam dengan senyawa organik (tartar, sitrat) atau anorganik (asam hidroklorida atau sulfat) sering mencegah dekomposisi. Hal inilah yang menyebabkan perdagangan senyawa alkaloid dalam bentuk garam.

2.3 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder

2.3.1 Ekstraksi dan Maserasi

2.3.1.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan pemisahan komponen senyawa organik yang dapat larut sehingga terpisah dengan komponen senyawa yang tidak larut dalam pelarut tertentu. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi merupakan pelarut yang bersifat optimal untuk menarik senyawa yang dimaksud sehingga dapat dipisahkan dari kandungan senyawa lain dan dapat menghasilkan ekstrak yang hanya mengandung sebagian besar senyawa yang diinginkan (Depkes, 2000).

2.3.1.2 Maserasi

Senyawa organik yang telah diisolasi dari bahan alam dilakukan analisis. Bahan alam yang dimaksudkan adalah bagian tumbuhan yang telah dipilih untuk dilakukan isolasi.

Beberapa teknik isolasi yang biasa digunakan yaitu maserasi, perkolasi dan ekstraksi. Penelitian ini teknik isolasi yang digunakan adalah maserasi. Maserasi adalah proses perendaman sampel dalam pelarut yang sesuai beberapa kali selama 3-5 hari. Pelarut akan menembus dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan akan larut karena memiliki perbedaan konsentrasi antara zat aktif yang berada dalam sel dengan diluar sel maka larutan yang memiliki kepekatan

akan terdesak keluar. Untuk mendapatkan konsentrasi keseimbangan antara larutan dalam sel dengan larutan di luar sel, maka peristiwa ini harus dilakukan berulang-ulang. Metode maserasi memiliki keuntungan yaitu teknik pengerjaan dan alat yang digunakan sederhana dan dapat digunakan dalam mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil.

Pemilihan pelarut yang digunakan untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut akibat kontak langsung dan waktu yang cukup lama dengan sampel (Djarwis, 2004).

Kekurangan metode maserasi ini yaitu membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang akan disolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Manjang, 2004).

Pemilihan pelarut organik yang digunakan dalam proses ekstraksi komponen aktif merupakan faktor penting untuk mencapai tujuan dan sasaran ekstraksi komponen dan dapat memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut.

Tabel 2.1 Konstanta Dielektrikum dan Tingkat Kelarutan Beberapa Pelarut

Jenis pelarut	Konstanta Dielektrikum	Tingkat kelarutan dalam air	Titik didih(°C)
Heksana	1,9	TL	68,7
Petroleum Eter	2,28	TL	60
Kloroform	4,81	S	61,3
Etil Asetat	6,02	S	77,1
Metil klorida	9,08	S	39,75
Etanol	24,30	L	78,5
Metanol	33,60	L	64
Air	78,4	L	100

Keterangan: TL= tidak larut; S= sedikit; L=larut dalam berbagai proporsi

Sumber : Fesenden dan Fesenden (1997), dan Mulyono (2009).

2.3.2 Fraksinasi

Fraksinasi adalah cara pemisahan ekstrak hasil maserasi yang telah diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental. Fraksinasi menggunakan berbagai pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda, sehingga masing-masing pelarut mengandung senyawa dengan kepolaran yang berbeda pula (Akhsanita, 2012).

Senyawa yang bersifat polar akan tertarik ke pelarut polar, senyawa yang bersifat semi polar akan tertarik akan tertarik ke pelarut semi polar dan senyawa yang bersifat non polar akan tertarik ke pelarut non polar. Etil asetat, n-heksana

dan n-butanol adalah jenis pelarut yang biasa digunakan untuk fraksinasi. Untuk menarik senyawa polar digunakan pelarut n-butanol, untuk menarik senyawa non polar dan menarik lemak digunakan pelarut n-heksana sedangkan untuk menarik senyawa semi polar digunakan pelarut etil asetat.

2.3.3 Kromatografi

2.3.3.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi merupakan teknik pemisahan campuran zat berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi pada masing-masing komponen yaitu fase diam dibawah pengaruh pelarut fase gerak. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat dipakai dengan dua tujuan yaitu sebagai metode untuk mencapai hasil kualitatif, kuantitatif ataupun preparatif dan dipakai untuk menjajaki sistem pelarut dan sistem penyangga yang akan dipakai pada kromatografi kolom dan kromatografi cair kinerja tinggi/KCKT (Gritter, 1991). Analisis dari KLT dapat membantu menentukan pelarut terbaik apa yang akan dipakai dan berapa perbandingan antar pelarut yang akan digunakan sebagai fasa gerak dalam kromatografi kolom. Pada KLT, fase diam berupa lapisan tipis adsorben yang dilapisi pada bahan yang inert sebagai penyangga.

Fase diam yang umum digunakan adalah silika gel, dimana senyawa polar akan memiliki afinitas besar terhadap fase gerak, dan bermigrasi lambat ke atas tidak seperti halnya pelarut. Plat silika ($\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) memiliki sifat elektropositif yang menyebabkan fase diam bersifat sangat polar. Semakin polar suatu molekul yang akan dipisahkan maka akan semakin kuat menarik fase diam tersebut.

Larutan sampel ditotolkan pada plat dengan pipet mikro atau injektor pada jarak 1-2 cm dari batas plat. Setelah kering plat siap untuk dikembangkan dengan fasa gerak sampai pada batas tertentu. Proses pengembangan dikerjakan dalam wadah tertutup yang diisi eluen dan telah dijenuhi uap eluen agar dihasilkan pemisahan yang baik (Anwar, 1994).

Langkah selanjutnya yaitu mengeringkan sisa eluen dalam plat, kemudian melakukan identifikasi yang dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu:

1. Deteksi bercak dengan cara fisika yaitu menggunakan sinar UV. Pendeteksian dengan sinar UV akan menghasilkan penampakan senyawa yang akan mengalami fluoresensi. Senyawa yang mengadsorpsi sinar UV akan tampak sebagai daerah gelap di bawah UV. Panjang gelombang UV yang sering digunakan yaitu 254 nm sampai 366 nm.
2. Deteksi bercak dengan cara kimia yaitu dengan mereaksikan bercak menggunakan pereaksi spesifik melalui penyemprotan lalu dipanaskan dengan tujuan untuk mengoksidasi sampel organik yang akan tampak sebagai bercak berwarna. Mendeteksi suatu senyawa alkaloid dengan KLT dapat dilakukan dengan metode visualiasi yang umum digunakan adalah Dragendorff dan serium sulfat. Pereaksi Dragendorff digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa alkaloid (N tersier) dalam campuran yang ditandai dengan adanya noda berwarna *orange* pada hasil uji KLT. Pereaksi serium sulfat digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa organik dalam sampel yang ditandai timbulnya noda berwarna coklat kehitaman.

Distribusi komponen senyawa sampel dihitung dengan membandingkan jarak elusi yang ditempuh senyawa dengan jarak tempuh eluen yang biasa disebut R_f (faktor retensi):

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

KLT mempunyai beberapa keuntungan yaitu waktu yang dibutuhkan tidak lama (2-5 menit) dan sampel yang dipakai hanya sedikit sekali (2-20 μg). Kerugiannya yaitu tidak efektif untuk skala industri. Walaupun lembaran KLT yang digunakan lebih lebar dan tebal, pemisahannya sering dibatasi hanya sampai beberapa miligram sampel saja (Mayo, 2000).

2.3.3.2 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom merupakan teknik pemisahan berdasarkan daya adsorpsi dari suatu adsorben terhadap hasil isolasi dan juga zat pengotornya. Prinsip kerja kromatografi kolom yaitu masing-masing kolom memiliki daya serap yang berbeda (Lubis, 2011). Cara menggunakan pelarut yaitu dimulai dengan pelarut yang memiliki kepolaran rendah sampai dengan pelarut yang tingkat kepolarannya tinggi (Umthong, Phuwapraisirisan, Puthong, & Chanchao, 2011).

Pemisahan komponen menggunakan kromatografi kolom dilakukan dengan cara kolom diisi fase stasioner dan cairan (pereaksi) sebagai fase mobile supaya mengetahui berapa banyak komponen contoh yang keluar melalui kolom. Adsorben yang dimasukkan dalam kolom dalam bentuk larutan dan partikel dibiarkan mengendap. Tujuan penggunaan kromatografi kolom yaitu untuk

mengetahui komponen senyawa yang dapat terpisah dan mengetahui senyawa aktifnya (Hayani, 2007).

2.4 Karakterisasi Senyawa Alkaloid

2.4.1 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis diperlukan dalam elusidasi struktur suatu senyawa. Kegunaan spektrofotometer UV-Vis terletak pada kemampuannya mengukur jumlah ikatan rangkap atau konjugasi aromatik dalam suatu molekul (Supratman, 2010). Informasi yang dapat diperoleh dari alat ini yaitu salah satunya diperoleh panjang gelombang maksimum suatu senyawa (Harmita, 2007). Panjang gelombang cahaya ultraviolet adalah rentang antara 200-400 nm, sedangkan tampak berjangka 400 nm (ungu) ke 750 nm (merah) (Supratman, 2010). Maka dari itu, hanya senyawa yang membentuk spektrum di rentang panjang gelombang tersebut yang dapat diperiksa dengan spektrofotometer UV-Vis.

Komponen spektrofotometer ultraviolet-cahaya tampak terdiri atas:

1. Sumber cahaya

Sumber cahaya yang biasa digunakan adalah lampu wolfram. Lampu hydrogen atau lampu deuterium digunakan untuk sumber pada daerah ultraviolet.

2. Monokromator

Monokromator digunakan untuk memperoleh sumber cahaya yang monokromatis, dapat berupa prisma atau grating.

3. Sel absorpsi

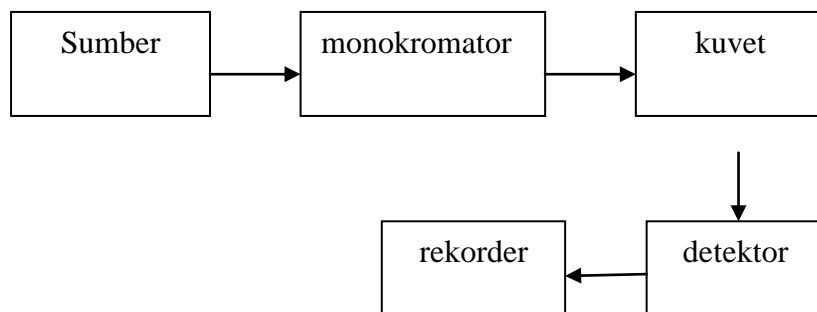
Pada daerah cahaya tampak dapat digunakan kuvet kaca tetapi pada daerah UV harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini.

4. Detektor

Detektor memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang.

5. Rekorder

Secara sistematis komponen spektrofotometer UV-Vis sebagai berikut:



Keuntungan dari spektroskopi UV adalah dapat menentukan gugus karakteristik dalam molekul-molekul yang sangat kompleks. Parameter yang diperoleh dari spektroskopi UV adalah harga panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) dan absorban (A) dari senyawa yang dianalisa (Silverstein, dkk (1991)).

Istilah-istilah terkait senyawa yang mampu memberikan serapan di daerah UV-Vis yaitu dikenal dengan kromofor dan auksokrom. Kromofor (*chromophore*) merupakan suatu gugus kovalen tak jenuh yang bertanggung jawab terhadap serapan elektronik (gugus fungsi yang menyerap radiasi pada daerah ultraviolet). Struktur kromofor ini memiliki ikatan rangkap terkonjugasi seperti

benzena, diena dan dienon. Auksokrom(*auxochrome*) adalah gugus jenuh yang bila terikat suatu kromofor akan mempengaruhi panjang gelombang (λ) intensitas serapan maksimum -OH, -NH₂, -NO₂, -Cl(Kosela, 2010).

Tabel 2.2 Serapan maksimal substansi benzena Ph-R

R	λ maks nm(ϵ) (pelarut H ₂ O atau MeOH)					
-H	203	(7400)	254	(204)		
-NH ₃ ⁺	203	(7500)	254	(160)		
-Me	206	(7000)	261	(225)		
-I	207	(7000)	257	(700)		
-Cl	209	(7400)	263	(190)		
-Br	210	(7900)	261	(192)		
-OH	210	(6200)	270	(1450)		
-Ome	217	(6400)	269	(1480)		
-SO ₂ NH ₂	217	(9700)	264	(740)		
-CN	224	(13000)	271	(1000)		
-CO ₂ ⁻	224	(8700)	268	(560)		
-COOH	230	(11600)	273	(970)		
-NH ₂	230	(8600)	280	(1430)		
-CHO	249	(11400)				
-CH=CH ₂	248	(14000)	282	(750)	291	(500)
-Oph	255	(11000)	272	(2000)	278	(1800)
-NO ₂	251	(7800)				

Sumber : Dachriyanus(2004)

2.4.2 Spektrofotometer Inframerah (IR)

Spektrofotometer IR dapat digunakan untuk menganalisis gugus fungsional senyawa organik dan anorganik. Analisis spektrofotometer IR dibagi menjadi dua bagian yaitu:

1. Identifikasi dengan sidik jari

Cara mengidentifikasi senyawa yang tidak dikenal yaitu dengan membandingkan spektrum dengan spektrum standar yang dibuat pada kondisi yang sama. Senyawa-senyawa yang memberikan spektrum yang sama adalah identik. Daerah yang mengandung sejumlah besar vibrasi tertentu yang tidak dapat dibaca berkisar antara $900-1400\text{ cm}^{-1}$ sering disebut dengan daerah sidik jari.

2. Identifikasi gugus fungsional

Senyawa yang belum diketahui gugus fungsionalnya dapat diidentifikasi dengan membandingkan antara hasil yang diperoleh dengan percobaan dengan tabel data korelasi spektra IR.

Spektrum IR merupakan bagian dari spektrum elektromagnetik yang memiliki frekuensi dibawah cahaya tampak. Daerah spektrum IR dengan panjang gelombang $2,5-15\ \mu\text{m}$, dimana penyerapan cahaya di daerah tersebut menyebabkan perubahan energi getaran molekul pada keadaan dasarnya. Transisi getaran akan terkait pada putaran atom disekitar ikatan kimia. Hal ini analog dengan transisi elektronik pada penyerapan energi ultraviolet yang juga menghasilkan transisi getaran dan putaran (Cairns, 2004).

Spektrum IR menghasilkan kurva absis berupa bilangan gelombang dan ordinat berupa intensitas serapan. Hal yang harus diperhatikan dalam menganalisis kurva spektrum ini adalah bilangan gelombang, bentuk puncak serapan (sempit, tajam atau melebar) dan intensitas puncak serapan (kuat, sedang atau lemah) (Kosela, 2010).

Setiap puncak pada spektrum IR dapat diterjemahkan sebagai suatu ikatan atau gugus fungsi tertentu didalam molekul. Spektrum IR merupakan spektrum yang memungkinkan terdapat 20 hingga 30 puncak yang berada dalam satu spektrum. Akan tetapi, karakterisasi pada senyawa kimia yang belum diketahui dapat ditentukan dengan lebih mudah karena beberapa gugus fungsi selalu tampak pada daerah spektrum IR yang sama pada kekuatan ikatan dan massa atom pada suatu ikatan kimia. Oleh karena itu, spektra IR dapat digunakan untuk mengidentifikasi gugus molekul dalam suatu molekul (Supratman, 2010).

Tabel 2.3 Daftar bilangan gelombang dari berbagai jenis ikatan

Bilangan gelombang (ν , cm^{-1})	Jenis Ikatan
3750-3000	Regang O-H
3100-3000	Alkena(rentangan)
1000-650	(serapan luar bidang)
3159-30150	Aromatik(rentangan)
900-650	(Serapan keluar bidang)
330	Alkuna
3000-2700	Regang- CH_3 , $-\text{CH}_2-$, C-H, C-H aldehyd
2900-2800	Aldehyd
1680-1600	C=C alkena
1600-1475	Aromatik
2400-2100	Regang $-\text{C}\equiv\text{C}-$, $\text{C}\equiv\text{N}$
2250-2100	$\text{C}\equiv\text{C}$ alkuna
1900-1650	Regang C=O (asam, aldehyd, keton, amida, ester, anhidrida)
1675-1500	Regang C=C (aromatik dan alifatik), C=N
1475-1300	C-H bending
1020-1250	Regang C-N
1000-650	Tekuk C-H aromatik
570-630	$-\text{N}-\text{C}=\text{N}$
3650-3600	-Bebas

Sumber : Sastrohamidjojo (1991)

