

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Linoleat (omega-6) dan linoleat terkonjugasi (Conjugated Linoleic Acid = CLA) sangat terbatas sebarannya di alam sebagai nabati dan hewani padahal keduanya merupakan lemak esensial (Mawarni 2006). Sebagai nabati linoleat terdapat dalam biji bunga matahari, kedelai, kemiri (Barus, 2007) dan beberapa tumbuhan khas Turki (Ozgul–Yucel, 2005). CLA secara biosintesa dihasilkan dari linoleat oleh enzim isomerase yang pada usus ternak ruminansia dikatalisis oleh enzim linoleat isomerasi dari bakteri *Butyrivibrio fibrisolvens*. Senyawa CLA (Conjugated Linoleic Acid) hasil sintesis dari risinoleat minyak jarak masih tercampur dengan komponen lain sesuai dengan komposisi minyak jarak dari hasil samping reaksi dehidrasi dan isomerasi. Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa CLA dapat dipisahkan dengan resolusi yang tinggi bila dianalisa dengan GC dan GC-MS dengan kolom kapiler baik fasa normal maupun fasa terbalik (Cristie et al, 2000, Dobson, 1998, Ozgul 2005 dan Sehat et al, 1998). Resolusi juga relative baik bila dianalisis dengan Ag^+ HPLC dengan fasa normal atau terbalik dengan merangkai minimal tiga buah kolom (Yuruwecs dan Morehouse, 2001, Adolft et al, 2002, Vereshhchagin dan Pchelkin, 2003 dan Cristie et al, 2007).

Analisis dengan GC dan GC-MS tidak Preparatif dan harus melalui derivatisasi sehingga pemisahan CLA tidak cocok dilakukan dengan cara tersebut. Selanjutnya walaupun HPLC adalah Preparatif namun hanya dalam skala kecil dan harga peralatannya pun sangat mahal. Pemisahan dengan fraksi urea akan menghasilkan CLA dengan kemurnian yang tinggi (Vellenueve et al, 1995), namun dalam bentuk asam lemak sehingga esensialitasnya berubah bila dibandingkan dengan dalam bentuk trigliserida. Pemisahan isomer CLA juga dilakukan dengan teknik fraksinasi solven dengan hasil yang cukup baik, namun pelarut dan desain reaktornya sangat mahal (Hidetaka et al, 2006 dan Uehara et al, 2006). Pemisahan dengan kromatografi kolom dengan fasa diam Silika gel dan

alumina tidak optimal karena komponen pengotor dan CLA mempunyai sifat fisik dan kimia yang berdekatan (*Cristie et al, 2007*), padahal kedua sifat ini adalah sebagai dasar pemisahan dengan kromatografi kolom.

Senyawa CLA berkhasiat untuk mencegah dan mengobati berbagai macam penyakit (*Fernie, 2003, Saebo, 2003, dan Wisnu, 2003*). Beberapa bioaktivitas CLA yang dipublikasikan adalah untuk mencegah dan mengobati hipertensi (*Nagao et al., 2003*), Kanker dan Tumor (*Field et al., 2004*), Antioksidan (*Paterson, 2000, Liangli, 2001 dan Liangli et al. 2002*), Anti osteoarthritis (*Shen et al., 2004*), Anti peradangan (Inflamantori) (*Bangsaganya et al., 2002*), Antibodi dan serum (*Petridou et al, 2003*), Anti atheroskeloresis (*Mc Leod et al., 2004*), dan mencegah obesitas (*Malpuegch et al., 2004 dan Mawarni., 2006*). Selanjutnya CLA diyakini dapat juga berfungsi seperti PUFA (Poly Unsaturated Fatty Acid) seperti DHA (Decosa Heksanoat Acid) dan EPA (Eicosa Pentanoic Acid) yang berperan dalam perkembangan otak balita dan kesehatan indera mata (*Brahmana, 1989*).

Pemurnian dilakukan agar identifikasi dan pelacakan (eludasi struktur) hasil dapat dilakukan dengan akurat. Sintesa senyawa CLA dari risinoleat telah dilakukan dan telah dicoba dimurnikan dengan kromatografi kolom yang dimodifikasi yaitu dengan mengimpregnasi fasa diam Silika gel dengan perak nitrat. Dasar terjadinya pemisahan adalah fenomena dimana ikatan rangkap komponen lemak hasil CLA dapat membentuk ikatan koordinasi antara orbital kosong dari ion perak (Ag^+) dengan ikatan rangkap sebagai ligan yang reversibel dengan ion perak.

Pada penelitian yang sudah dilakukan eluen yang diuji cobakan adalah memanipulasi kepolaran dengan memvariasikan dua pelarut yaitu heksana dan aseton dengan fasa diam silika gel yang diimpregnasi perak nitrat. Diperkirakan kepolaran pelarut belum sesuai, maka dalam penelitian ini akan dicobakan pemurnian dengan memanipulasi pelarut dengan variasi 3 pelarut yaitu heksana, aseton dan asetonitril dan variasi 2 pelarut yaitu heksana dan asetonitril. Fasa diam yang digunakan hanya satu macam yaitu alumina yang diimpregnasi dengan

perak nitrat. Diharapkan akan didapatkan kemurnian CLA yang setara dengan standar dengan deviasi $\pm 5\%$.

Dalam penelitian ini direncanakan pemisahan CLA dengan kromatografi kolom yang dimodifikasi yaitu dengan mengimpregnasi satu jenis fasa diam yaitu alumina dengan perak nitrat (argentonated). Dasar terjadinya pemisahan adalah fenomena dimana ikatan rangkap komponen lemak dalam DCO (Dehydrated Castor Oil) dapat membentuk ikatan koordinasi yang reversible dengan ion perak melalui kompleks EDA (electron donor acceptor) yang analog dengan dasar yang digunakan dengan analisis pada Ag^+ HPLC. Sifat reversibel ikatan rangkap dengan ion perak dipengaruhi oleh jumlah ikatan rangkap dengan geometri trans dari komponen penyusunnya (*Damyonova, 2006, Neff et al, 1999 dan Cristie et al, 2007*), sehingga waktu elusi setiap komponen akan berbeda. Cara elusi yang dilakukan adalah elusi bergradien dengan memvariasikan campuran pelarut heksana, asetonitril dan aseton. Kondisi ini telah dicobakan untuk memisahkan trigliserida GLA (Gamma Linoleic Acid) suatu trigliserida dengan tiga ketidakjenuhan (Linoleat) dari Evening Primrose Oil (EPO) dan berbagai bijian tumbuhan dengan hasil yang baik (*Guel – Guerro, 2000 dan Rincon et al., 2009*). Kajian perbandingan pelarut dilakukan secara elusi bergradien berdasarkan kenaikan kepolaran dengan memvariasikan dua dan tiga campuran eluen heksana, asetonitril dan aseton. Pemisahan dipandu dengan KLT dan deteksi noda dengan lampu UV. Analisis dilakukan dengan gabungan GC sedangkan penentuan komposisi dengan GC-MS yang dibandingkan dengan standar.

1.2. Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi pada pemurnian CLA hasil sintesis dari risinoleat minyak jarak dengan kromatografi kolom fasa diam alumina yang diimpregnasi dengan perak nitrat berdasarkan perbandingan fasa gerak / eluen dengan 3 variasi antara aseton, heksana dan asetonitril dan fasa gerak/eluen dengan 2 variasi larutan antara heksana dan asetonitril.

1.3. Rumusan Masalah

Adapun yang menjadi rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Berapa perbandingan eluen dengan variasi 3 pelarut antara heksana, aseton, dan asetonitril serta eluen dengan variasi 2 pelarut antara heksana dan asetonitril yang paling optimal untuk pemurnian CLA hasil sintesis dari risinoleat minyak jarak.
2. Berapa tingkat kemurnian CLA hasil dari metode pemurnian dengan kromatografi kolom fasa diam alumina yang diimpregnasi dengan perak nitrat dengan fase gerak perbandingan 3 pelarut yaitu aseton, heksana dan asetonitril dan variasi 2 pelarut yaitu heksana dan asetonitril.

1.4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui perbandingan paling optimal antara eluen dengan variasi 3 pelarut dan variasi 2 pelarut untuk pemurnian CLA hasil sintesis dari risinoleat minyak jarak
2. Mengetahui pemurnian CLA hasil sintesis dari risinoleat minyak jarak dengan kromatografi kolom fasa diam alumina yang diimpregnasi dengan perak nitrat.

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk :

1. Mendapatkan perbandingan eluen dengan 3 variasi pelarut dan eluen dengan 2 variasi pelarut yang paling optimal untuk pemurnian CLA hasil sintesis dari risinoleat minyak jarak.
2. Memperoleh metode pemurnian yang optimal untuk memurnikan CLA baik hasil sintesa dari bahan baku lain maupun hasil isolasi.
3. Memberikan informasi mengenai pemurnian CLA hasil sintesis dari risinoleat minyak jarak dengan kromatografi kolom fasa diam alumina yang diimpregnasi dengan perak nitrat.