

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

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 dianalisis dengan GC dan GC-MS dengan kolom kapiler baik fasa normal maupun fasa terbalik (Cristie, dkk., 1998, Dobson, 1998, Ozgul, 2005, Sehat, dkk., 1998). Resolusi juga relatif baik bila dianalisis dengan Ag^+ HPLC dengan fasa normal atau terbalik dengan merangkai minimal tiga buah kolom (Yuruwecs dan Morehouse, 2001, Adolft, dkk., 2002, Cristie, dkk., 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 (Velleneuve, dkk., 2005), 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, dkk., 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, dkk., 2007), padahal kedua sifat ini adalah sebagai dasar pemisahan dengan kromatografi kolom.

Senyawa CLA berkhasiat untuk mencegah dan mengobati berbagai macam penyakit (Wisnu, 2003). Beberapa bioaktivitas CLA yang dipublikasikan adalah untuk mencegah dan mengobati hipertensi, kanker dan tumor, antioksidan (Paterson, 1993), anti osteoarthritis, anti peradangan (Inflamantori), antibodi dan serum, anti atheroskeloresis, dan mencegah obesitas (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).

Senyawa CLA terbatas hanya pada hewan ruminansia yang diproduksi dengan merubah linoleat yang dikonsumsi dari tumbuhan secara isomerisasi oleh enzim isomerase dari bakteri *Butyrivibrio fibrisolvens* yang terdapat dalam usus namun kadarnya rendah (Wisnu, 2003). Secara sintesis CLA juga dapat terbentuk dengan cara penambahan ikatan rangkap (desaturasi) suatu lemak melalui reaksi enzimatik, namun biaya relatif mahal. Senyawa CLA telah berhasil disintesis dengan bahan dasar risinoleat minyak jarak (Sitorus, dkk., 2009) namun masih tercampur dengan komponen lain dalam minyak jarak dan komponen lain hasil reaksi samping. Metode pemurnian yang didasarkan pada perbedaan sifat fisik tidak cocok untuk memurnikan CLA hasil sintesis karena sifat fisiknya sangat berdekatan. Penelitian ini mencoba memodifikasi pemurnian dengan kromatografi kolom yang fasa diamnya diimpregnasi dengan perak nitrat. Bila fasa diam diimpregnasi dengan perak nitrat maka dasar pemisahan adalah sifat reversible ikatan rangkap dengan ion perak dipengaruhi oleh jumlah ikatan rangkap dan geometri trans dari komponen penyusunnya (Damyonova, 2010, Neff, dkk., 1999, Cristie, dkk., 2007). Keberhasilan penelitian ini akan prospek untuk mendapatkan CLA yang setara dengan yang alami sehingga dapat menjadikan minyak jarak sebagai sumber alternatif CLA.

Pemurnian merupakan tahapan krusial baik untuk memurnikan senyawa organik hasil sintesa maupun hasil isolasi dari suatu jaringan makhluk hidup khususnya tumbuhan (fitokimia). Pemurnian sangat krusial 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 dengan fasa gerak campuran pelarut heksana dan aseton. 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.

Teknik elusi yang dilakukan adalah secara gradien dengan campuran pelarut heksana dan aseton yang diadopsi dari penelitian Rincon, dkk., (2009) yang melakukan pemisahan trigliserida GLA (*Gamma Linoleic Acid = Linolenic*) suatu trigliserida dengan tiga ketidakjenuhan (Linoleat) dari *Evening Primrose Oil* dan berbagai biji-bijian (Guil-Guerro, dkk., 2000). Hasil yang diperoleh masih belum memuaskan bila dibandingkan dengan standar CLA. Perbandingan CLA : Linoleat adalah 0,85 : 1 masih relatif kurang optimal dibanding dengan CLA standar dengan perbandingan CLA banding linoleat (1,85 : 1), dengan tingkat pencapaian adalah sebesar 77,66 %.

Pada penelitian yang sudah dilakukan eluen yang diujicobakan 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 tiga pelarut yaitu heksana, aseton dan asetonitril. Fasa diam yang digunakan hanya satu macam yaitu Silika gel 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 Silika gel dengan perak nitrat (argentonated). Dasar terjadinya pemisahan adalah fenomena dimana ikatan rangkap komponen lemak dalam DCO 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, 2010, Neff, dkk., 1999, Cristie, dkk., 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, Rincon, dkk., 2009). Kajian perbandingan pelarut dilakukan secara elusi bergradien berdasarkan kenaikan kepolaran dengan memvariasikan tiga campuran eluen yaitu heksana, asetonitril dan aseton. Pemisahan dipandu dengan KLT dan deteksi noda dengan lampu UV. Analisis dilakukan dengan gabungan GC, FTIR, dan UV, 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 Silika gel yang diimpregnasi dengan perak nitrat berdasarkan pencampuran fasa gerak / eluen antara aseton, heksana dan asetonitril.

1.3. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Berapa perbandingan campuran eluen antara aseton, heksana dan asetonitril yang optimal untuk pemurnian CLA hasil sintesis dari risinoleat minyak jarak ?
2. Berapa kemurnian CLA hasil dari metode pemurnian dengan kromatografi kolom fasa diam Silika gel yang diimpregnasi dengan perak nitrat dengan fase gerak aseton, heksana dan asetonitril ?

1.4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Menentukan perbandingan campuran eluen antara aseton, heksana dan asetonitril yang optimal untuk pemurnian CLA hasil sintesis dari risinoleat minyak jarak

2. Menentukan kadar pemurnian CLA hasil sintesis dari risinoleat minyak jarak dengan kromatografi kolom fasa diam Silika gel yang diimpregnasi dengan perak nitrat.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mendapatkan pencampuran eluen yang optimal antara aseton, heksana dan asetonitril 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 Silika gel yang diimpregnasi dengan perak nitrat.

