

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Pada dasarnya kita sebagai makhluk ciptaan Tuhan tidak akan lepas dari makanan. Setiap hari bahkan setiap saat, makanan senantiasa tampil sebagai menu utama. Menurut buku yang ditulis oleh Suwasono, 2020 Makanan adalah bahan, biasanya berasal dari hewan atau tumbuhan yang dimakan oleh makhluk hidup untuk mendapatkan tenaga dan nutrisi. Makanan yang dibutuhkan manusia biasanya diperoleh dari hasil bertani atau berkebun yang meliputi sumber hewan dan tumbuhan.

Menurut Azulaidin (2021) Jumlah penduduk yang terus berkembang, maka jumlah produksi makanan pun harus terus bertambah untuk mencukupi jumlah penduduk, apabila kecukupan pangan harus terus dicapai. Permasalahan yang timbul kemudian dapat disebabkan karena kualitas maupun kuantitas suatu bahan pangan, hal ini tidak boleh terjadi karena tujuan manusia mendapatkan makanan agar energi terpenuhi sehingga dapat bertahan hidup dan tidak menjadi sakit.

Pada umumnya bahan makanan mengandung beberapa unsur atau senyawa seperti air, karbohidrat, protein, lemak, vitamin, enzim, pigmen dan lain – lain. Makanan diperlukan untuk kehidupan karena makanan merupakan salah satu kebutuhan pokok bagi kehidupan manusia. Makanan berfungsi untuk memelihara proses tubuh dalam pertumbuhan atau perkembangan serta mengganti jaringan tubuh yang rusak, memperoleh energi untuk melakukan aktivitas sehari – hari, mengatur metabolisme dan berbagai keseimbangan air, mineral dan cairan tubuh yang lain, dan juga berperan di dalam mekanisme pertahanan tubuh terhadap berbagai penyakit (Suwasono, 2020).

2.1 Bahan Tambah Pangan (BTP)

Parida (2023) menyatakan adakalanya makanan yang tersedia tidak mempunyai bentuk dan tampilan yang menarik meskipun kandungan gizinya tinggi, dengan arti lain kualitas dari suatu produk makanan sangat ditentukan oleh tingkat kesukaan konsumen terhadap makanan tersebut. Sehingga banyak pedagang makanan maupun minuman menambahkan Bahan Tambahan Pangan (BTP) yang dilarang, salah satunya yaitu bahan pewarna kimia atau sintesis yang tidak seharusnya

ditambahkan kedalam makanan dan minuman yang berguna untuk menarik pembeli (Bialangi et al., 2023).

Dalam Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 033 Tahun 2012 tentang Bahan Tambahan Pangan (Berita Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 757), disebutkan syarat bahan tambahan pangan yang digunakan tidak dimaksudkan untuk dikonsumsi secara langsung dan atau tidak diperlakukan sebagai bahan baku pangan, dapat mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi, yang sengaja ditambahkan kedalam pangan untuk tujuan teknologis pada pembuatan, pengolahan, perlakuan, pengepakan, pengemasan, penyimpanan dan atau pengangkutan pangan untuk menghasilkan dan diharapkan menghasilkan suatu komponen atau mempengaruhi sifat pangan tersebut, baik secara langsung atau tidak langsung dan tidak termasuk cemaran atau bahan yang ditambahkan kedalam pangan untuk mempertahankan atau meningkatkan nilai gizi. Bahan berbahaya yang paling banyak ditambahkan pada makanan dan minuman ialah bahan pewarna sintesis atau bahan pewarna kimia (Rosyida, 2014).

2.2 Bahan Pewarna

Menurut buku yang ditulis oleh Kusuma (2017) Warna merupakan salah satu kriteria dasar untuk menentukan kualitas suatu benda termasuk juga makanan, antara lain warna dapat memberikan petunjuk mengenai perubahan kimia dalam makanan tersebut, sehingga warna dari suatu produk makanan atau minuman merupakan salah satu ciri yang sangat penting. Bahan pewarna kadang – kadang ditambahkan ke dalam makanan untuk membantu mengenali identitas dan karakteristik suatu makanan, mempertegas warna alami dari makanan, untuk mengoreksi variasi alami dalam makanan, menjaga keragaman warna, dimana variasi tersebut biasa terjadi pada intensitas warna dan memperbaiki penampilan makanan yang mengalami perubahan warna alaminya selama proses pengolahan maupun penyimpanan (Rahmadhi, 2021).

Secara umum bahan pewarna yang sering digunakan dalam makanan olahan terbagi atas pewarna sintesis (buatan) dan pewarna natural (alami). Namun penggunaan pewarna makanan alami semakin lama semakin ditinggalkan produsen makanan. Hal ini disebabkan oleh karena kurang praktis dalam pemakaiannya terkait dengan belum adanya pewarna alami yang dijual di pasaran sehingga produsen makanan harus membuat sendiri pewarna makanan yang dibutuhkan tersebut. Disamping itu kelemahan dari penggunaan pewarna alami adalah warna yang kurang stabil yang bisa disebabkan oleh perubahan pH, proses oksidasi, pengaruh cahaya dan pemanasan,

sehingga intensitas warnanya sering berkurang selama proses pembuatan makanan. Akibatnya produsen makanan banyak yang beralih ke pewarna makanan sintetis (Handayani & Larasati, 2018).

2.3 Bahan Pewarna Sintesis

Menurut Fardani (2023) Pewarna sintetis adalah pewarna yang berasal dari bahan kimia yang sering digunakan sebagai pewarna tekstil, cat, printing dan lainnya. Pewarna sintetis tersebut berdampak buruk bagi kesehatan manusia, seperti iritasi mata, iritasi kulit, kerusakan hati, mutagenik dan karsinogenik. Zat warna sintetis diciptakan untuk berbagai jenis keperluan misalnya untuk tekstil, kulit, peralatan rumah tangga dan sebagainya. Proses pembuatan zat warna sintesis biasanya melalui perlakuan pemberian asam sulfat atau asam nitrat yang seringkali terkontaminasi oleh arsen atau logam berat lain yang bersifat racun.

Tabel 2. 1 Macam – macam Pewarna Sintesis yang sering ditambahkan pada Makanan ataupun Minuman

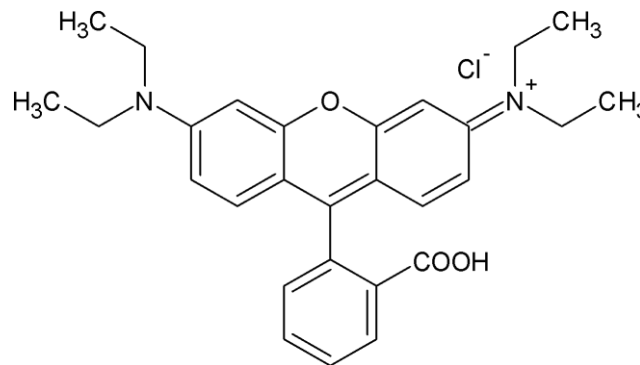
Pewarna	Nomor Indeks Warna (C.I.No)
<i>Auramine (Food Yellow No.14)</i>	41000
<i>Butter Yellow (Basic Orange No.12)</i>	11020
<i>Chrysoidine (Basic Violet No.14)</i>	11270
<i>Chrysoine (Food Yellow No.8)</i>	14270
<i>Citrus Red No.2</i>	12156
<i>Fast Red E (Food Red No.4)</i>	16045
<i>Guinea Green B (Food Red No.5)</i>	42085
<i>Magenta (Acid Green No.3)</i>	42510
<i>Methanil Yellow (Food Yellow No.2)</i>	13065
<i>Oil Oranges SS (Solvent Yellow No.2)</i>	12100
<i>Oil Oranges SS (Solvent Yellow No.5)</i>	12140
<i>Oil Yellow AB (Solvent Yellow No.5)</i>	11380
<i>Oil Yellow AB (Solvent Yellow No.6)</i>	11390
<i>Ponceau 3 R (Red G)</i>	16155
<i>Ponceau SX (Food Red No.1)</i>	14700

<i>Ponceau 6R (Food Red No.8)</i>	16290
<i>Rhodamine B (Food Red No.1)</i>	45170
<i>Sudan I (Solvent Yellow No.2)</i>	12055
<i>Searlet GN (Food Red No.2)</i>	14815
<i>Violet 6B</i>	442640

2.4 Rodhamine B

Rhodamine B merupakan zat warna sintetik berbentuk serbuk kristal berwarna kehijauan, berwarna merah keunguan dalam bentuk terlarut pada konsentrasi tinggi dan berwarna merah terang pada konsentrasi rendah (Raihanaton et al., 2020). Pemerian rhodamine B yaitu hablur hijau atau serbuk ungu kemerahan dan berfluoresensi. Rhodamin B sangat mudah larut dalam air dan dalam alkohol; sukar larut dalam asam encer dan dalam larutan alkali. Rhodamine B digunakan sebagai pewarna untuk sutra, wol, nilon, serat asetat, kertas, tinta dan pernis, sabun, pewarna kayu, bulu, kulit dan pewarna untuk keramik (Khumaeni et al., 2021).

2.4.1 Struktur Rhodamine B



Gambar 2. 1 Struktur Rhodamine B

Rumus kimia : $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$

Berat molekul : 479

Nama kimia : Tetraetil Rhodamine: D&C Basic Violet 10; C.I.45170

Pemerian : hablur berwarna hijau atau serbuk ungu kemerahan

Kelarutan : Sangat mudah larut dalam air, menghasilkan larutan merah kebiruan dan berfluoresensi kuat jika diencerka. Sangat mudah larut dalam etanol, sukar larut dalam asam encer dan dalam larutan alkali. Larut dalam asam kuat, membentuk senyawa dengan kompleks *antimony* berwarna merah muda yang larut dalam *isopropyl eter*.

Rhodamin B memiliki gugus karboksil dengan pasangan elektron bebas dan gugus amina pada struktur molekulnya. Gugus karboksil dan amina ini akan membentuk ikatan hidrogen intermolekular dengan pelarut polar sehingga akan mudah larut dalam pelarut polar, maka digunakan campuran fase gerak polar agar dapat mengelusi Rhodamine B dengan baik (Febrianti et al., 2023).

Menurut Wulandari et al., 2022 tata cara analisis Rhodamine B dengan KLT diawali dengan menotolkan alikuot kecil sampel pada salah satu ujung fase diam (lempeng KLT), untuk membentuk zona awal. Kemudian sampel dikeringkan. Ujung fase diam yang terdapat zona awal dicelupkan ke dalam fase gerak (pelarut tunggal ataupun campuran dua sampai empat pelarut murni) di dalam chamber. Jika fase diam dan fase gerak dipilih dengan benar, campuran komponen-komponen sampel bermigrasi dengan kecepatan yang berbeda selama pergerakan fase gerak melalui fase diam. Hal ini disebut dengan pengembangan kromatogram. Dila & Santoso, (2019) menyatakan bahwa ketika fase gerak telah bergerak sampai jarak yang diinginkan, fase diam diambil, fase gerak yang terjebak dalam lempeng dikeringkan, dan zona yang dihasilkan dideteksi secara langsung (*visual*) atau di bawah sinar *ultraviolet* (UV) baik dengan atau tanpa penambahan pereaksi penampak noda yang cocok.

2.5 Metode Pemisahan Analisis Rhodamin B

Aspek penting dalam bidang analisis yaitu metode pemisahan karena kebanyakan sampel yang akan dianalisis berupa campuran. Untuk memperoleh senyawa murni dari suatu campuran, harus dilakukan proses pemisahan. Berbagai teknik pemisahan dapat diterapkan untuk memisahkan campuran diantaranya ekstraksi, destilasi, kristalisasi dan kromatografi (L. Wulandari, 2011).

2.5.1 Jenis – Jenis Metode Pemisahan

Metode pemisahan pada kromatografi sangat tergantung dari jenis fase diam yang digunakan. Jenis fase diam yang digunakan menentukan interaksi yang terjadi antara analit dengan fase diam dan fase gerak. Metode pemisahan pada kromatografi terbagi menjadi :

a. Pemisahan berdasarkan polaritas

Metode pemisahan berdasarkan polaritas, senyawa-senyawa terpisah karena perbedaan polaritas. Afinitas analit terhadap fase diam dan fase gerak tergantung kedekatan polaritas analit terhadap fase diam dan fase gerak (*like dissolve like*). Analit akan cenderung larut dalam fase dengan polaritas sama. Analit akan berpartisi diantara dua fase yaitu fase padat-cair dan fase cair-cair. Ketika analit berpartisi antara fase padat dan cair faktor utama pemisahan adalah adsorpsi. Sedangkan bila analit berpartisi antara fase cair dan fase cair, faktor utama pemisahan adalah kelarutan. Prinsip pemisahan dimana analit terpisah karena afinitas terhadap fase padat dan fase cair biasa disebut dengan adsorpsi dan metode kromatografinya biasa disebut kromatografi adsorpsi. Sedangkan prinsip pemisahan dimana analit terpisah karena afinitas terhadap fase cair dan fase cair disebut dengan partisi dan metode kromatografinya biasa disebut kromatografi cair.

b. Pemisahan berdasarkan muatan ion

Pemisahan berdasarkan muatan ion dipengaruhi oleh jumlah ionisasi senyawa, pH lingkungan dan keberadaan ion lain. Pemisahan yang disebabkan oleh kompetisi senyawa-senyawa dalam sampel dengan sisi resin yang bermuatan sehingga terjadi penggabungan ion-ion dengan muatan yang berlawanan disebut kromatografi penukar ion. Pemisahan yang terjadi karena perbedaan arah dan kecepatan pergerakan senyawa - senyawa dalam sampel karena perbedaan jenis dan intensitas muatan ion dalam medan listrik disebut *elektroforesis*.

c. Pemisahan berdasarkan ukuran molekul

Ukuran molekul suatu senyawa mempengaruhi difusi senyawa-senyawa melewati pori-pori fase diam. Pemisahan terjadi karena perbedaan difusi senyawa-senyawa melewati pori-pori fase diam dengan ukuran pori-pori yang bervariasi. Senyawa dengan ukuran molekul besar hanya berdifusi kedalam pori-pori fase diam yang berukuran besar, sedangkan senyawa dengan ukuran molekul kecil akan berdifusi ke dalam semua pori-pori fase diam, sehingga terjadi perbedaan kecepatan pergerakan molekul melewati fase diam. Senyawa dengan ukuran molekul besar memiliki kecepatan yang lebih besar dibanding senyawa dengan ukuran molekul kecil. Metode pemisahan ini biasa disebut dengan kromatografi permeasi gel.

d. Pemisahan berdasarkan bentukan spesifik

Pemisahan senyawa berdasarkan bentukan yang spesifik melibatkan ikatan kompleks yang spesifik antara senyawa sampel dengan fase diam. Ikatan ini sangat selektif seperti ikatan antara antigen dan antibody atau ikatan antara enzim dengan substrat. Pemisahan ini biasa disebut dengan kromatografi afinitas. Fase diam KLT dengan sorben yang memiliki bentukan spesifik dengan selektifitas tinggi dalam bentuk lempeng siap pakai belum tersedia dipasaran (L. Wulandari, 2011)

Menurut Mayangsari, 2017, Kromatografi adalah Teknik pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas) yang menyebabkan terjadinya perbedaan migrasi dari masing-masing komponen. Perbedaan migrasi merupakan hasil dari perbedaan tingkat afinitas masing-masing komponen dalam fase diam dan fase gerak. Afinitas senyawa dalam fase diam dan fase gerak ditentukan oleh sifat fisika kimia dari masing-masing senyawa.

2.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis telah menjadi bagian dari teknik analisis rutin pada laboratorium analisis dan pengembangan produk karena memiliki beberapa keuntungan. Keuntungan utama metode analisis kromatografi lapis tipis dibandingkan metode analisis kromatografi cair kinerja tinggi adalah analisis beberapa sampel dapat dilakukan secara simultan dengan menggunakan fase gerak dalam jumlah kecil sehingga lebih hemat waktu dan biaya analisis serta lebih ramah lingkungan.

Teknik pemisahannya sederhana dengan peralatan yang minimal. Peralatan dan bahan yang dibutuhkan untuk melaksanakan pemisahan dan analisis sampel dengan metode KLT cukup sederhana yaitu sebuah bejana tertutup (*chamber*) yang berisi pelarut dan lempeng KLT. Dengan optimasi metode dan menggunakan instrument komersial yang tersedia, pemisahan yang efisien dan kuantifikasi yang akurat dapat dicapai (Rubiyanto, 2017).

Menurut L. Wulandari, 2011, Perbedaan migrasi merupakan hasil dari perbedaan tingkat afinitas masing-masing komponen dalam fase diam dan fase gerak. Berbagai mekanisme pemisahan terlibat dalam penentuan kecepatan migrasi. Kecepatan migrasi komponen sampel tergantung pada sifat fisika kimia dari fase diam, fase gerak dan komponen sampel. Retensi dan selektivitas kromatografi juga ditentukan oleh interaksi antara fase diam, fase gerak dan komponen sampel yang berupa ikatan hidrogen, pasangan elektron donor atau pasangan elektron-akseptor (*transfer karge*), ikatan ion-ion, ikatan ion-dipol, dan ikatan van der Waals.

2.6.1 Faktor – faktor yang Mempengaruhi Perbedaan Migrasi

1. Gaya Gravitasi

Adanya gaya gravitasi yaitu gaya yang menarik benda selalu menuju ke bawah, elektrokinetik yaitu pergerakan molekul karena adanya listrik dan hidrodinamik yaitu pergerakan suatu cairan, dapat mendorong pergerakan molekul analit sehingga mempercepat migrasi analit.

2. Elektrokinetik

Adanya gerakan partikel yang bermuatan. Muatan pada partikel timbul akibat ionisasi dalam pelarut polar. Partikel-partikel yang telah bermuatan bergerak sesuai lingkungannya atau sesuai medium di sekitarnya.

3. Adsorpsi

Adanya sifat adsorpsi yaitu suatu proses yang terjadi ketika suatu fluida, cairan maupun gas pada suatu padatan atau cairan (zat penjerap, sorben) dan membentuk suatu lapisan tipis pada permukaan, adanya kelarutan analit, adanya ikatan kimia dan atau interaksi ion antara analit fase diam dan fase gerak dapat menghambat pergerakan molekul analit.

4. Kelarutan

Adanya kemampuan suatu zat kimia tertentu, zat terlarut, untuk larut dalam suatu pelarut.

5. Ikatan Kimia

Adanya gaya yang mengikat dua atom atau lebih untuk membuat senyawa atau molekul kimia. Ikatan itulah yang akan menjaga atom tetap bersama dalam suatu senyawa yang dihasilkan.

6. Interaksi Ion

Adanya interaksi antar molekul antara ion dengan pelarut polar (L. Wulandari, 2011).

2.6.2 Fase Diam

Menurut Rubiyanto (2017) Metode pemisahan pada kromatografi sangat tergantung dari jenis fase diam yang digunakan. Jenis fase diam yang digunakan menentukan interaksi yang terjadi antara analit dengan fase diam dan fase gerak. Pendukung sorben yang paling umum digunakan pada lempeng KLT adalah aluminium foil, film plastik dan piring kaca. Lempeng tersebut digunakan untuk berbagai tujuan dan penanganan masing-masing jenis pendukung sorben

berbeda-beda. Film plastik jarang digunakan karena tidak tahan pemanasan. Pendukung sorben yang banyak digunakan adalah aluminium foil (L. Wulandari, 2011).

Fase diam berupa lapisan padat pada sebuah lempengan tidak berpori (*non-porous*) di dalam KLT biasanya disebut dengan adsorbent, meskipun fase diam yang lain mungkin bisa juga digunakan dalam KLT yang tidak melibatkan adsorpsi sebagai mekanisme primer atau hanya merupakan mekanisme sorpsi. Dalam KLT bahan penyerap yang umum adalah silika gel, aluminium oksida, selulosa dan turunannya serta poliamida. Silika gel paling banyak digunakan dan dipakai untuk campuran senyawa lipofil maupun senyawa hidrofil (Santali et al., 2014).

Penelitian ini menggunakan fase diam berupa silika gel GF254 yang memiliki sifat relatif polar, mengandung silika dengan gypsum sebagai agen pengikat, dan indikator fluoresen yang dapat berfluoresensi. Silika gel memiliki gugus hidroksil yang dapat membentuk ikatan sehingga dapat menyerap dan mengikat sampel di permukaan. Silika gel GF 254 merupakan plat yang dapat menghasilkan fluoresensi pada panjang gelombang 254 nm karena adanya gugus kromofor pada noda. Gugus kromofor adalah gugus yang dapat menghasilkan warna.

2.6.3 Fase Gerak

Pemilihan fase gerak atau eluen merupakan faktor yang paling berpengaruh pada sistem KLT. Fase gerak terdapat dari satu pelarut atau campuran dua sampai enam pelarut. Campuran pelarut harus saling sampur dan tidak ada tanda-tanda kekeruhan. Pemilihan fase gerak baik tunggal maupun campuran tergantung pada pelarut yang dianalisis dan fase diam yang digunakan. Bila fase diam telah ditentukan maka memilih fase gerak dapat berpedoman pada kekuatan elusi fase gerak tersebut (Rahayu, 2010).

Fungsi fase gerak dalam KLT:

- a. Untuk melarutkan campuran zat
- b. Untuk mengangkat atau membawa komponen yang akan dipisahkan melewati sorben fase diam sehingga noda memiliki R_f dalam rentang yang dipersyaratkan
- c. Untuk memberikan selektivitas yang memadai untuk campuran senyawa yang akan dipisahkan (L. Wulandari, 2011).

Pemilihan fase gerak yang cocok dapat dilakukan melalui tahapan optimasi fase gerak. Optimasi fase gerak diawali dengan menentukan sifat fisika kimia analit yang akan

dianalisis dan jenis sorben fase diam yang digunakan. Misalnya sorben dengan prinsip pemisahan berdasarkan muatan ion diperlukan data tentang jenis dan intensitas muatan ion analit dalam pemilihan komposisi fase gerak. Pada sorben dengan prinsip pemisahan berdasarkan polaritas dibutuhkan nilai koefisien partisi (P atau log P) dan tetapan disosiasi (pKa) analit dalam penentuan fase gerak. Nilai koefisien partisi analit digunakan untuk menentukan afinitas analit terhadap fase diam dan fase gerak (L. Wulandari, 2011).

Fase Gerak juga harus memenuhi persyaratan sebagai berikut:

- a. Memiliki kemurnian yang stabil
- b. Memiliki viskositas rendah
- c. Memiliki partisi isothermal yang linier
- d. Tekanan uap yang tidak terlalu rendah atau tidak terlalu tinggi
- e. Toksisitas serendah mungkin (Widwiasuti, 2022).

Fase Gerak yang bersifat polar akan memiliki afinitas tinggi terhadap pelarut polar dan afinitasnya rendah terhadap pelarut non polar. Sebaliknya analit yang bersifat non polar akan memiliki afinitas tinggi terhadap pelarut non polar dan afinitasnya rendah terhadap pelarut polar. Pencarian fase gerak berdasarkan pustaka yang ada juga dapat membantu tahapan optimasi fase gerak. Fase gerak dari pustaka dapat dimodifikasi untuk mendapatkan pemisahan yang efisien. Bila noda yang dihasilkan belum bagus (noda masih berekor atau belum simetris), fase gerak dapat dimodifikasi dengan menambahkan sedikit asam atau basa sehingga merubah pH fase gerak (Rubiyanto, 2017).

Tabel 2. 2 Pelarut Dan Indeks Polaritas

Pelarut	Indeks Polaritas
Aseton	5,1
n – Butanol	4,0
Asam Asetat	6,2
Ammonia	7,72
n-Heksana	0,1
Air	9,0

Menurut Sari et al., (2022) Penggunaan fase gerak yang bersifat polar ini berkaitan dengan sifat kebanyakan zat warna yang bersifat polar termasuk Rhodamine B. Oleh karenanya digunakan fase gerak yang bersifat polar ini agar dapat mengelusi Rhodamine B dengan baik sebab Rhodamine B juga bersifat polar. Pada pencampuran pelarut sangat polar dengan pelarut sangat non polar sebaiknya ditambah satu pelarut lagi yaitu pelarut semipolar sehingga fase gerak yang terbentuk dapat bercampur dengan baik (tidak terlihat adanya kekeruhan)

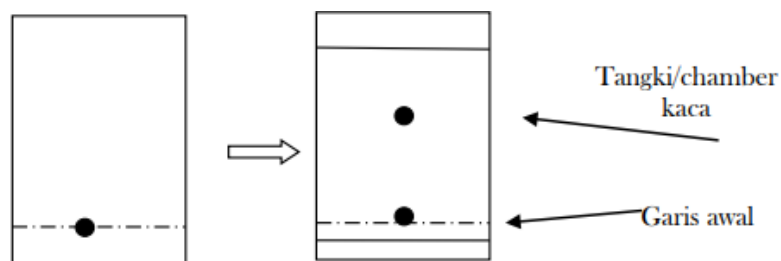
Fase gerak yang digunakan pada penelitian bersifat polar, Menurut Aldama, (2023) Aseton bersifat polar dikarenakan Aseton memiliki gugus fungsi keton (C rangkap dua O). Gugus keton inilah yg menyebabkan aseton bersifat polar. Atom O pada gugus keton bersifat elektronegatif sehingga cenderung menarik elektron dari atom C. Adanya perbedaan keelektronegatifan inilah yg menyebabkan aseton bersifat polar. Alasan lain adalah karena aseton berpotensi membentuk ikatan hidrogen yang merupakan indikasi bahwa dia senyawa polar. Pada Ammonia, adanya gugus amino akan membuat amonia bersifat polar dan ammonia berguna untuk mengatur pH pada suasana asam, sedangkan pada n-Heksana merupakan senyawa hidrokarbon jenuh adalah hidrokarbon yanghanya memiliki ikatan tunggal. Senyawa hidrokarbon jenuh adalah senyawa hidrokarbon yang sederhana karena tidak memiliki ikatan rangkap dalam molekulnya (Sari et al., 2022). Menurut Epinur et al., n.d. n-Heksana bersifat nonpolar karena terdiri dari atom karbon dan hidrogen yangterikat bersama dengan ikatan kovalen nonpolar. Susunan simetris atom-atom ini dalam molekul heksana menghasilkan distribusi muatan yang seimbang, yang mengarah ke sifat nonpolar secara keseluruhan. Artinya tidak terjadi pemisahan muatan yang signifikan di dalam molekul, sehingga mengakibatkan kurangnya momen dipol permanen dan menjadikannya nonpolar. Pemilihan n-heksana untuk campuran dare gerak ini dikarenakan pada SNI terdapat n-butanol yang bersifat nonpolar sama seperti n-heksana.

2.6.4 Elusidasi

Proses perpindahan senyawa dengan pelarut disebut sebagai elusi dan pelarut yang digunakan adalah elusi pelarut. Prosedur keseluruhan ini disebut sebagai "mengembangkan" pelat KLT. Pengembangan KLT atau biasa disebut dengan Elusi, elusi dipengaruhi oleh chamber yang digunakan dan kejenuhan dalam chamber. Metode pengembangan yang dipilih tergantung tujuan analisis yang ingin dicapai dan ketersediaan alat di laboratorium (L. Wulandari, 2011).

Pelarut yang dielusi juga harus menunjukkan selektivitas yang baik dalam kemampuannya untuk melarutkan atau mendesorpsi zat-zat yang dipisahkan. Kelarutan berbagai senyawa dalam pelarut yang mengelusi berperan penting peran penting dalam seberapa cepat mereka bergerak ke atas pelat KLT (Berek, 2000).

Lempengan yang sudah diberi spot-spot kemudian disimpan dalam sebuah tank yang berisi pelarut (*eluting solvent*) atau fase gerak (*mobile phase*) yang akan bergerak pada permukaan KLT. Solute harus diaplikasikan pada jarak yang sudah ditentukan jaraknya dari bawah lempeng KLT, yang biasa disebut batas awal (*origin*).

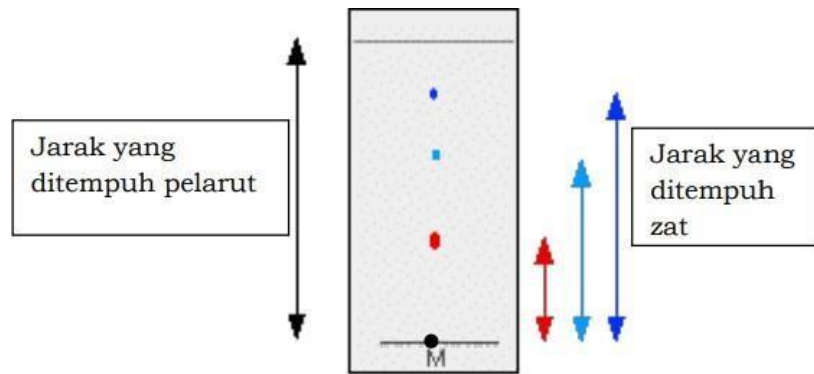


Gambar 2. 2 Ilustrasi Proses Elusi

Hal ini dimulai dengan campuran senyawa yang awalnya dibuatkan spot sebagai titik awal, dengan bantuan fase bergerak spot mengalami pemisahan dan masing-masing komponen bergerak sendiri-sendiri. Jarak yang ditempuh spot-spot pada permukaan plat KLT diukur dan dengan menggunakan persamaan dapat dihitung besarnya nilai R_f .

2.6.5 Nilai Faktor Retardasi (R_f)

Pada kromatografi lapis tipis dikenal istilah atau pengertian faktor retardasi atau (R_f), nilai R_f merupakan perbandingan jarak yang ditempuh fase gerak pada plat KLT. Nilai R_f dapat dijadikan penentu dalam identifikasi senyawa. Senyawa yang memiliki R_f yang lebih besar berarti memiliki kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Jika R_f terlalu tinggi, maka kepolaran fase gerak harus dikurangi. Sebaliknya jika R_f terlalu rendah maka kepolaran harus ditambah (L. Wulandari, 2011).



Gambar 2. 3 Hasil Elusi untuk menghitung Nilai Rf

Faktor retardasi (Retardation faktor = Rf) adalah parameter yang digunakan untuk menggambarkan migrasi senyawa dalam KLT. Nilai Rf merupakan parameter yang menyatakan posisi noda pada fase diam setelah dielusi (L. Wulandari, 2011).

Adapun rumus menghitung nilai factor retedasi (Rf) :

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh komponen (zat)}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$