

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1 Radiasi Matahari

Sinar Ultraviolet memiliki spektrum yang berbeda dan terbagi menjadi tiga sinar yaitu UV-A, sinar UV-B dan sinar UV-C. Spektrum ultraviolet yang sampai ke bumi yaitu UV-A dengan panjang gelombang 320–400 nm menyebabkan tanning atau kulit tampak kecoklatan dan UV-B dengan panjang gelombang 290–320 nm menyebabkan eritema atau kulit tampak kemerahan. Sedangkan UV-C dengan panjang gelombang yang lebih kecil dari 290 nm tidak sampai ke bumi karena tersaring oleh ozon.

UV-B dengan panjang gelombang 290–320 nm lebih efektif menyebabkan kerusakan kulit dibandingkan UV-A karena sinar ultraviolet pada daerah UV-B memiliki kekuatan 1000 kali lebih kuat. Pemaparan UV-B ini dapat membahayakan kulit manusia, karena kerusakan kulit dapat terjadi segera setelah pemaparan yang ditandai dengan gejala eritema atau kulit terbakar selain terjadi hal tersebut dampak yang terjadi dalam jangka panjang dan paparan sinar matahari yang berlebihan antara lain penuaan dini kulit dan kemungkinan kanker kulit (Ika, 2011).

Dalam beberapa hal sinar matahari bermanfaat untuk manusia yaitu di antaranya untuk mensintesis vitamin D, memberikan penerangan untuk kehidupan, dan sumber energi. Namun disamping manfaat tersebut, sinar matahari dapat merugikan manusia apabila terpapar pada kulit terlalu lama (Lim dan Draelos, 2009). Sinar matahari terdiri atas sinar inframerah, sinar tampak, dan sinar UV. Sinar UV terdiri dari:

a. Sinar UV-A

Merupakan radiasi UV yang mempunyai panjang gelombang 320-400 nm dengan efektivitas tertinggi pada panjang gelombang 340m. Daerah UV ini bertanggung jawab terhadap perubahan warna kulit secara langsung menjadi lebih gelap tanpa menimbulkan kemerahan. UV A dibagi menjadi 2 yaitu :

- 1) UV A I = Panjang gelombang 340-400 nm
 - 2) UV A II = Panjang gelombang 320-340 nm
- (Barel dkk, 2009).

b. Sinar UV-B

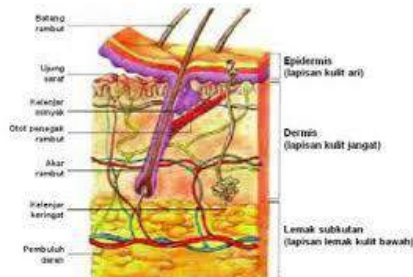
Sinar UV-B disebut juga radiasi sengatan matahari (sunburn) atau radiasi UV sedang, mempunyai daerah panjang gelombang 290-320 nm dengan puncak efektivitas pada 297,6 nm. Sinar UV-B adalah daerah UV eritemogenik yang lebih efektif menimbulkan eritema pada tanning. Radiasi UV-B menimbulkan tanning lambat yang ditandai dengan peningkatan aktivitas dan jumlah melanosit. Paparan tunggal dapat meningkatnya aktifitas melanosit sedangkan paparan yang berulang dapat peningkatan jumlah melanosit. Radiasi UV-B dalam jangka waktu yang lama juga menimbulkan kemerahan dan nyeri pada kulit (Tahir dkk., 2002; FDA, 2003).

c. Sinar UV-C

Radiasi sinar UV-C merupakan gelombang radiasi UV pendek atau radiasi germisidal, mempunyai panjang gelombang 200-290 nm. Radiasi UV-C dapat menyebabkan kerusakan jaringan, akan tetapi sinar UV ini sebagian besar telah tersaring oleh lapisan ozon di atmosfer. UV-C tidak merangsang pencoklatan kulit, tetapi dapat menyebabkan eritema (FDA, 2003).

II.2 Kulit

Kulit adalah selimut yang menutupi permukaan tubuh dan memiliki fungsi utama sebagai pelindung dari berbagai macam gangguan dan rangsangan luar. Luas kulit pada manusia rata-rata ± 2 meter persegi, dengan berat 10 kg jika dengan lemaknya atau 4 kg jika tanpa lemak. Kulit terbagi atas 2 lapisan utama, yaitu epidermis (kulit ari) sebagai lapisan yang paling luar dan Dermis (korium, kutis, kulit jangat). Sedangkan subkutis atau jaringan lemak terletak dibawah dermis (Tranggono dan Latifah, 2007).



Gambar 2.1 Struktur Kulit (James dkk, 2006)

II.1.1 Anatomi Kulit

Pembagian kulit secara garis besar tersusun atas tiga lapisan utama, yaitu (Djuanda, 2007) :

a. Epidermis

Lapisan epidermis terdiri atas :

- 1) Lapisan basal atau stratum germinativum. Lapisan basal merupakan lapisan epidermis paling bawah dan berbatas dengan dermis. Dalam lapisan basal terdapat melanosit. Melanosit adalah

sel dendritik yang membentuk melanin. Melanin berfungsi melindungi kulit terhadap sinar matahari.

- 2) Lapisan malpighi atau stratum spinosum. Lapisan malpighi atau disebut juga prickle cell layer (lapisan akanta) merupakan lapisan epidermis yang paling kuat dan tebal. Terdiri dari beberapa lapis sel yang berbentuk poligonal yang besarnya berbeda-beda akibat adanya mitosis serta sel ini makin dekat ke permukaan makin gepeng bentuknya. Pada lapisan ini banyak mengandung glikogen.
- 3) Lapisan granular atau stratum granulosum (Lapisan Keratohialin). Lapisan granular terdiri dari 2 atau 3 lapis sel gepeng, berisi butir-butir (granul) keratohialin yang basofilik. Stratum granulosum juga tampak jelas di telapak tangan dan kaki.
- 4) Lapisan lusidum atau stratum lusidum. Lapisan lusidum terletak tepat di bawah lapisan korneum. Terdiri dari selsel gepeng tanpa inti dengan protoplasma yang berubah menjadi protein yang disebut eleidin.
- 5) Lapisan tanduk atau stratum korneum. Lapisan tanduk merupakan lapisan terluar yang terdiri dari beberapa lapis sel-sel gepeng yang mati, tidak berinti, dan protoplasmanya telah berubah menjadi keratin. Pada permukaan lapisan ini sel-sel mati terus menerus mengelupas tanpa terlihat.

b. Dermis

Lapisan dermis adalah lapisan dibawah epidermis yang jauh lebih tebal daripada epidermis. Terdiri dari lapisan elastis dan fibrosa padat dengan elemen-elemen selular dan folikel rambut. Secara garis besar dibagi menjadi dua bagian yakni:

- 1) Pars papilare, yaitu bagian yang menonjol ke epidermis dan berisi ujung serabut saraf dan pembuluh darah.

2) Pars retikulare, yaitu bagian di bawahnya yang menonjol ke arah subkutan. Bagian ini terdiri atas serabut-serabut penunjang seperti serabut kolagen, elastin, dan retikulin. Lapisan ini mengandung pembuluh darah, saraf, rambut, kelenjar keringat, dan kelenjar sebacea.

c. Hipodermis

Lapisan ini merupakan lanjutan dermis, tidak ada garis tegas yang memisahkan dermis dan hipodermis. Terdiri dari jaringan ikat longgar berisi sel-sel lemak di dalamnya. Sel-sel lemak merupakan sel bulat, besar, dengan inti terdesak ke pinggir sitoplasma lemak yang bertambah. Jaringan subkutan mengandung syaraf, pembuluh darah dan limfe, kantung rambut, dan di lapisan atas jaringan subkutan terdapat kelenjar keringat. Fungsi jaringan subkutan adalah penyekat panas, bantalan terhadap trauma, dan tempat penumpukan energi.

II.2.2 Fungsi kulit

a. Fungsi proteksi

Kulit menjaga bagian dalam tubuh terhadap gangguan fisik atau mekanik (tarikan, gesekan, dan tekanan), gangguan kimia (zat-zat kimia yang iritan), dan gagguan bersifat panas (radiasi, sinar ultraviolet), dan gangguan infeksi luar.

b. Fungsi absorpsi

Kulit yang sehat tidak mudah menyerap air, larutan dan benda padat tetapi cairan yang mudah menguap lebih mudah diserap, begitupun yang larut lemak. Permeabilitas kulit terhadap O₂, CO₂ dan uap air memungkinkan kulit ikut mengambil bagian pada fungsi respirasi. Kemampuan absorpsi kulit dipengaruhi oleh tebal tipisnya kulit, hidrasi, kelembaban, metabolisme dan jenis vehikulum.

c. Fungsi ekskresi

Kelenjar kulit mengeluarkan zat-zat yang tidak berguna lagi atau sisa metabolisme dalam tubuh berupa NaCl, urea, asam urat, dan amonia.

d. Fungsi persepsi

Kulit mengandung ujung-ujung saraf sensorik di dermis dan subkutis sehingga kulit mampu mengenali rangsangan yang diberikan. Rangsangan panas diperankan oleh badan ruffini di dermis dan subkutis, rangsangan dingin diperankan oleh badan krause yang terletak di dermis, rangsangan rabaan diperankan oleh badan meissner yang terletak di papila dermis, dan rangsangan tekanan diperankan oleh badan paccini di epidermis.

e. Fungsi pengaturan suhu tubuh (termoregulasi)

Kulit melakukan fungsi ini dengan cara mengekskresikan keringat dan mengerutkan (otot berkontraksi) pembuluh darah kulit. Di waktu suhu dingin, peredaran darah di kulit berkurang guna mempertahankan suhu badan. Pada waktu suhu panas, peredaran darah di kulit meningkat dan terjadi penguapan keringat dari kelenjar keringat sehingga suhu tubuh dapat dijaga tidak terlalu panas.

f. Fungsi pembentukan pigmen

Sel pembentuk pigmen (melanosit) terletak di lapisan basal dan sel ini berasal dari rigi saraf. Jumlah melanosit dan jumlah serta besarnya butiran pigmen (melanosomes) menentukan warna kulit ras maupun individu.

g. Fungsi kreatiniasi

Fungsi ini memberi perlindungan kulit terhadap infeksi secara mekanis fisiologik.

h. Fungsi pembentukan/sintesis vitamin D

II.2.3 Respon kulit terhadap Paparan Sinar UV

Kulit yang terpapar radiasi sinar UV akan mengalami kerusakan, tingkat kerusakan pada kulit akibat paparan radiasi bergantung pada berbagai faktor yang meliputi jenis radiasi, besar dosis, luas kulit yang terkena radiasi dan karakteristik kualitas kulit seperti tekstur, umur, warna, ketebalan dan lokasi kulit (Alatas, 1998). Setelah pemaparan sinar matahari, kulit akan segera mengalami fase penggelapan (tanning). Hal tersebut disebabkan oleh oksidasi pigmen melanin yang telah berada dipermukaan kulit (stratum corneum), akan tetapi akan kembali ke warna normal dalam beberapa jam. Respon ini dilakukan oleh UV-A dan sinar tampak (Mitsui, 1997).

Pada beberapa jam setelah terpapar sinar UV kulit akan mengalami kemerahan, mencapai puncaknya setelah 8 jam dan kemudian akan berkurang secara bertahap. Fase ini disebut dengan *sunburn* atau *eritema*. Daerah panjang gelombang yang dapat menyebabkan *sunburn* adalah daerah panjang gelombang 290-320 UV-B) (Mitsui, 1997).

Eritema adalah suatu proses perubahan warna kulit menjadi kemerahan, sebagai akibat kerusakan pada kulit yang segera terlihat setelah terkena radiasi. Derajat keparahan eritema merupakan indikator tingkat kerusakan pada epidermis. Eritema akibat radiasi terjadi dalam dua tahap yaitu eritema awal yang biasanya muncul dalam waktu beberapa menit atau jam setelah terkena radiasi dan eritema kedua yang muncul dalam waktu 2-3 minggu.

Tahapan perkembangan gejala eritema dapat dibagi dalam 3 fase yaitu memerahnya kulit dan lepasnya sel-sel epidermis. Dalam waktu

beberapa jam setelah paparan, kulit menjadi merah yang mencapai puncaknya setelah 24 jam. Keadaan ini kemudian di ikuti dengan penurunan intensitas kemerahan kulit secara bertahap selama 2-3 hari. Hal ini terjadi karena pelebaran pembuluh darah dan juga kerusakan pada kapiler-kapiler darah. Mulai hari ke 8 sampai 14 bagian kulit yang memerah tersebut mengalami pengerutan dan mengalami penyembuhan dalam waktu satu bulan. Proses pelepasan sel-sel epidermis kulit mulai terjadi pada hari ke 35 yang menyebabkan menipisnya lapisan epidermis (Alatas, 1998; Soeratri dkk, 2005).

Tingkat kerusakan eritema sangat bervariasi pada setiap individu, bergantung pada kandungan pigmen, ketebalan kulit, suhu tubuh dan aktivitas individu. Efek radiasi dosis tinggi terhadap pembuluh darah semula terlihat sebagai eritema dan kemudian timbul lesi-lesi kecil atau besar (Alatas, 1998).

Respon akut terhadap sinar UV pada setiap individu berbeda-beda. Dosis minimal eritema (MED) adalah merupakan nilai yang digunakan untuk menunjukan sensitifitas akut pada individu. MED merupakan jumlah minimal sinar UV yang dibutuhkan untuk menyebabkan eritema ketika seseorang terpapar sinar UV. Maka, individu dengan sensitivitas yang tinggi memiliki MED yang rendah karena hanya sejumlah kecil dari sinar UV yang dapat menyebabkan eritema pada kulit (Mitsui, 1997). Respon kronik kulit terhadap sinar UV berupa kulit gelap, kasar, dan berkerut. Apabila dalam kodisinya memburuk dapat menyebabkan terjadinya kanker kulit (Mitsui, 1997).

II.2.4 Perlindungan Alami Kulit

Kulit memiliki dua mekanisme penting dalam menangkal radiasi sinar UV secara alami, yaitu dengan cara penebalan stratum corneum dan pembentukan melanin dari melanosit. Paparan sinar UV menyebabkan stratum corneum menebal tiga kali lipat, sel-sel yang menebal tersebut akan menyerap, memantulkan, dan menghamburkan radiasi sinar UV. Lapisan epidermis yang menebal memiliki toleransi yang tinggi terhadap radiasi sinar UV daripada lapisan epidermis yang tipis (Harry, 1982; Edlich dkk., 2004).

Pada lapisan epidermis yaitu di stratum germinativum terdapat melanosit yang akan memproduksi melanin sebagai perlindungan terhadap sinar UV. Fotosintesis kulit dipengaruhi oleh jumlah melanin yang di produksi. Pada ras Kaukasia memiliki jumlah melanin yang sedikit dan banyak ditemukan kasus kanker kulit dibandingkan dengan ras lain yang memiliki kulit gelap (Mitsui, 1997; Edlich dkk., 2004).

II.3 Pengertian Kosmetik

Kosmetik adalah bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia (epidermis, rambut, kuku, bibir dan organ genital bagian luar) atau gigi dan mukosa mulut terutama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan dan atau memperbaiki bau badan atau melindungi atau memelihara tubuh pada kondisi baik (BPOM, 2007).

II.3.1 Penggolongan Kosmetik

Penggolongan kosmetik berdasarkan Keputusan Deputi Bidang Pengawasan Obat Tradisional, Kosmetik dan Produk Komplemen Nomor: PO.01.04.42.4082 tentang Pedoman Tata Cara Pendaftaran dan Penilaian Kosmetik, berdasarkan bahan dan penggunaannya serta untuk penilaian, kosmetik dibagi menjadi 2 (dua) golongan, yaitu:

- a. Kosmetik golongan I, adalah:
 - 1) Kosmetik yang digunakan untuk bayi;
 - 2) Kosmetik yang digunakan disekitar mata, rongga mulut dan mukosa lainnya;
 - 3) Kosmetika yang mengandung bahan dengan persyaratan kadar dan penandaan;
 - 4) Kosmetik yang mengandung bahan dan fungsinya belum lazim serta belum diketahui keamanan dan kemanfaatannya.
- b. Kosmetik golongan II adalah kosmetik yang tidak termasuk golongan I.

II.4 Tabir Surya

Tabir surya adalah suatu sediaan yang mengandung senyawa kimia yang dapat menyerap, menghamburkan atau memantulkan sinar UV yang mengenai kulit sehingga dapat digunakan untuk melindungi fungsi dan struktur kulit manusia dari kerusakan akibat sinar UV (FDA, 2003). Produk tabir surya memiliki peranan untuk mengurangi dosis radiasi UV sehingga dapat mencegah kerusakan kulit. Tabir surya topikal dapat dibuat dalam sediaan salep gel, *lotion*, krim atau *spray* (Ditjen POM, 1985; Draelos dan Thaman, 2006).

Suatu tabir surya mengandung senyawa yang dapat melindungi kulit dari pengaruh buruk sinar ultraviolet (UV) dimana mekanisme kerjanya yang dapat dibagi menjadi dua yaitu secara fisik dengan memantulkan dan membiaskan sinar UV yang mengenai kulit dan secara kimia dengan cara menyerap sinar UV yang dipancarkan matahari. Sinar UV adalah bagian dari sinar matahari yang merupakan suatu gelombang elektromagnetik yang secara umum terbagi ke dalam 3 kategori berdasarkan panjang gelombang, yaitu UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm), dan UV-C (200-280 nm) (Prasiddha, 2015).

Radiasi UV kecil bermanfaat untuk sintesis vitamin D dalam tubuh tetapi paparan yang berlebihan dapat menyebabkan kulit terbakar dan efek berbahayanya yaitu sintesis radikal bebas yang memicu eritema dan katarak. Saat sinar UV menerpa suatu benda terus-menerus, elektron atom benda tersebut akan meloncat dari orbitnya yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas. Sinar UV-B dapat juga menyebabkan kerusakan pada DNA sel sehingga memicu pertumbuhan kanker kulit (Prasiddha, 2015).

Senyawa dalam tabir surya mampu melindungi kulit karena adanya ikatan yang dapat saling berkonjugasi sehingga ikatan tersebut akan beresonansi saat terpapar sinar UV sehingga akan menurunkan energi dan bersifat melindungi kulit. Contoh senyawa yang biasa digunakan dalam tabir surya antara lain turunan salisilat, turunan sinamat, phenylbenzimidazole sulfonic acid (PBSA). Senyawa dari turunan alkil sinamat dalam tabir surya memiliki kemampuan dalam menyerap sinar UV dikarenakan adanya ikatan konjugasi pada gugus fungsi benzena dan gugus fungsi karbonil (Prasiddha, 2015).

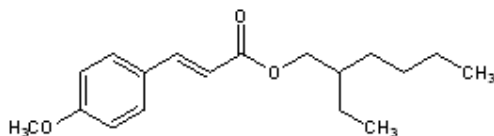
II.5 Lotion

Lotion merupakan preparat cair yang dimaksudkan untuk pemakaian luar pada kulit. Kebanyakan *lotion* mengandung bahan serbuk halus yang tidak larut dalam media dispersi dan disuspensikan dengan menggunakan zat pensuspensi dan zat pendispersi. *Lotion* lain sebagai bahan cair fase terdispersi yang tidak bercampur dengan bahan pembawa dan biasanya menyebar dengan bantuan zat pengemulsi atau bahan penstabil lain yang sesuai (Ansel, HC 1989).

Pada umumnya pembawa dari *lotion* adalah air. *Lotion* dimaksudkan untuk digunakan pada kulit sebagai pelindung atau untuk obat karena sifat bahan-bahannya. Kecairannya memungkinkan pemakaian yang merata dan cepat pada permukaan kulit yang luas *lotion* dimaksudkan segera kering setelah pemakaian dan meninggalkan lapisan tipis dari komponen obat pada permukaan kulit (Ansel, HC 1989).

II.6 Oktil Metoksisinamat

Struktur Oktil Metoksisinamat



Gambar 2.2 Struktur *Octyl Methoxycinnamate* (Sweetman, 2002)

Oktil metoksisinamat memiliki rumus molekul $C_{18}H_{26}O_3$ dan BM 290. Oktil metoksisinamat merupakan minyak berwarna kuning pucat, tidak larut dalam air. Oktil metoksisinamat adalah turunan sinamat tersubstitusi, digunakan untuk aplokasi topikal tabir surya. Tabir surya golongan sinamat secara efektif menyerap cahaya sepanjang rentang radiasi UV-B (spesifik pada panjang gelombang 280-320 nm) dan tidak menyerap radiasi UV-A (Sweetman, 2002). Struktur oktil metoksisinamat dapat dilihat pada gambar 2.2.

II.7 Kromatografi

Kromatografi pertama kali dikembangkan oleh seorang ahli botani Rusia Michael Tswett pada tahun 1903 untuk memisahkan pigmen berwarna dalam tanaman dengan cara perkolasi ekstrak petroleum eter dalam kolom gelas yang berisi kalsium karbonat (Johnson dan Stevenson, 1991).

Teknik kromatografi telah berkembang dan telah digunakan untuk memisahkan berbagai macam komponen yang kompleks, baik komponen organik maupun komponen anorganik. Saat ini kromatografi merupakan teknik pemisahan yang paling umum dan paling sering digunakan dalam bidang kimia untuk melakukan analisis, baik analisis kualitatif, kuantitatif atau preparative dalam bidang farmasi. (Gandjar dan Rohman, 2007).

II.7.1 Pembagian Kromatografi

Kromatografi dapat dibedakan atas berbagai macam, tergantung pada pengelompokannya. Berdasarkan pada mekanisme pemisahannya, kromatografi dibedakan menjadi:

- a. kromatografi adsorpsi;
- b. kromatografi partisi;
- c. kromatografi pasangan ion;
- d. kromatografi penukar ion
- e. kromatografi eksklusi ukuran dan
- f. kromatografi afinitas (Rohman, 2009).

Berdasarkan alat yang digunakan, kromatografi dapat dibagi atas :

- a. kromatografi kertas;
- b. kromatografi lapis tipis, yang keduanya sering disebut kromatografi planar
- c. kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dan
- d. kromatografi gas (KG). Bentuk kromatografi yang paling awal adalah kromatografi kolom yang digunakan untuk pemisahan sampel dalam jumlah yang besar (Rohman, 2009).

II.8 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) atau biasa juga disebut dengan HPLC (High Performance Liquid Chromatography) dikembangkan pada akhir tahun 1960-an dan awal tahun 1970-an. Saat ini, KCKT merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis bahan obat (Rohman, 2009).

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) merupakan teknik yang mana solute atau zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, dikarenakan solute-solute ini melewati suatu kolom kromatografi. Pemisahan solute-solute ini diatur oleh distribusi solute dalam fase gerak dan fase diam. Penggunaan kromatografi cair secara sukses terhadap suatu masalah yang dihadapi membutuhkan penggabungan

secara tepat dari berbagai macam kondisi operasional seperti jenis kolom, fase gerak, panjang dan diameter kolom, kecepatan alir fase gerak, suhu kolom, dan ukuran sampel (Gandjar dan Rohman, 2007).

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) merupakan sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi karena didukung oleh kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi, dan detektor yang sangat sensitif dan beragam sehingga mampu menganalisa berbagai cuplikan secara kualitatif maupun kuantitatif, baik dalam komponen tunggal maupun campuran (Ditjen POM, 1995).

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi merupakan jenis yang khusus dari kromatografi kolom. Berbeda dengan kromatografi gas, metode ini menggunakan cairan dengan tekanan tinggi sebagai fase mobil (fase gerak) sebagai pengganti gas. Metode ini dapat dibedakan dari kromatografi kolom klasik oleh empat sifat yang khas yaitu:

- a. Menggunakan kolom pendek untuk mempersingkat waktu.
- b. Menggunakan kolom sempit dengan diameter antara 1 sampai 3 mm, untuk memungkinkan pemisahan dalam jumlah mikro.
- c. Ukuran partikel bahan sorpsi (penyerap) terletak dibawah 50 μm , hingga akan tercapai suatu bilangan dasar teoritik yang tinggi.
- d. Pelarut elusi dialirkan kedalam kolom dengan tekanan untuk mengkompensasikan tekanan arus di dalam kolom (Roth, 1998).

Menurut Synder (1979), banyak kelebihan metode kromatografi cair kinerja tinggi dibandingkan dengan metode lainnya. Beberapa kelebihan kromatografi cair kinerja tinggi antara lain:

- a. Mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran.

- b. Mudah melaksanakannya.
- c. Kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi.
- d. Dapat dihindari terjadinya dekomposisi/kerusakan bahan yang dianalisis.
- e. Resolusi yang baik.
- f. Dapat digunakan bermacam-macam detektor.
- g. Kolom dapat dipergunakan kembali.

II.8.1 Klasifikasi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Klasifikasi kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) berdasarkan pada sifat fase diam yaitu:

a. Kromatografi Absorpsi

Pemisahan kromatografi adsorpsi menggunakan fase diam silika gel atau alumina, meskipun demikian sekitar 90% kromatografi ini memakai silika gel sebagai fase diamnya. Fase geraknya berupa pelarut non polar yang ditambah dengan pelarut polar seperti air atau alkohol rantai pendek untuk meningkatkan kemampuan elusinya sehingga tidak timbul pengekoran puncak, seperti n-heksana ditambah metanol. Jenis KCKT ini sesuai untuk pemisahan-pemisahan campuran isomer struktur dan untuk pemisahan solut dengan gugus fungsional yang berbeda (Gandjar dan Rohman, 2007).

b. Kromatografi Partisi

Kromatografi jenis ini disebut juga dengan kromatografi fase terikat. Kebanyakan fase diamnya adalah silika yang dimodifikasi secara kimiawi atau fase terikat. Sejauh ini yang digunakan untuk memodifikasi silika adalah hidrokarbon-hidrokarbon non polar seperti oktadesilsilana, oktilsilana, atau dengan fenil. Fase diam yang paling populer digunakan adalah oktadesilsilana (ODS atau C18) dan

kebanyakan pemisahannya adalah dengan fase terbalik. Sedangkan fase gerak adalah campuran asetonitril atau metanol dengan air atau dengan larutan buffer (Gandjar dan Rohman, 2007).

Ditinjau dari jenis fase diam dan fase gerak, maka kromatografi partisi dapat dibedakan atas:

1) Kromatografi Fase Normal

Kromatografi fase normal (fase diam lebih polar daripada fase gerak), kemampuan elusi meningkat dengan meningkatnya polaritas pelarut. Fase gerak ini biasanya tidak polar. Dietil eter, benzen, hidrokarbon lurus seperti pentana, heksana, heptana maupun iso-oktana sering digunakan. Halida alifatik seperti diklorometana, dikloroetana, butilklorida dan kloroform juga digunakan. Umumnya gas terlarut tidak menimbulkan masalah pada fase normal (Gandjar dan Rohman, 2007).

2) Kromatografi Fase Terbalik

Kromatografi fase terbalik (fase diam kurang polar daripada fase gerak), kemampuan elusi menurun dengan meningkatnya polaritas pelarut. Kandungan utama fase gerak fase terbalik adalah air. Pelarut yang dapat campur dengan air seperti metanol, etanol, asetonitril, dioksan, tetrahidrofuran dan dimetilformamida ditambahkan untuk mengatur kepolaran fase gerak. Dapat ditambahkan pula asam, basa, deterjan dan/atau surfaktan. Mutu air harus tinggi baik air destilasi maupun air mineral (Gandjar dan Rohman, 2007).

3) Kromatografi Penukar Ion

KCKT penukar ion menggunakan fase diam yang dapat menukar kation atau anion dengan suatu fase gerak. Ada banyak penukar

ion yang beredar di pasaran, meskipun demikian yang paling luas penggunaannya adalah polistiren resin (Gandjar dan Rohman, 2007).

Tehnik ini tergantung pada penukaran (adsorpsi) ion-ion diantara fase gerak dan tempat-tempat berion dari kemasan. Kebanyakan resin-resin berasal dari polimer stiren divinilbenzen dimana gugus-gugus fungsinya telah ditambah. Resin-resin tipe asam sulfonat dan amin kuarterner merupakan jenis resin pilihan paling baik dan banyak digunakan. Keduanya, fase terikat dan resin telah digunakan. Tehnik ini dipakai secara luas dalam life sciences dan dikenal secara khas untuk pemisahan asam-asam amino. Tehnik ini dapat dipakai untuk keduanya, kation-kation dan anion-anion (Johnson dan Stevenson, 1991).

4) Kromatografi Eksklusi

Kromatografi ini disebut juga dengan kromatografi permiasi gel dan dapat digunakan untuk memisahkan atau menganalisis senyawa dengan berat molekul lebih besar dari 2000 Dalton. Fase diam yang digunakan dapat berupa silica atau polimer yang bersifat porus sehingga solute dapat melewati porus atau berdifusi melewati fase diam (Gandjar dan Rohman, 2007).

Teknik ini unik karena dalam pemisahan didasarkan pada ukuran molekul dari solut. Kemasan adalah suatu gel dengan suatu permukaan berlubang-lubang sangat kecil yang inert. Molekul-molekul kecil dapat masuk ke dalam jaringan dan ditahan dalam fase gerak yang menggenang. Molekul-molekul yang lebih esar 18 tidak dapat masuk ke dalam jaringan dan lewat melalui kolom tanpa ditahan (Johnson dan Stevenson, 1991).

II.8.2 Instrumentasi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Bagan instrumentasi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dapat dilihat pada lampiran. Instrumentasi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) pada dasarnya terdiri atas enam komponen pokok yaitu:

a. Wadah Fase Gerak

Wadah fase gerak yang digunakan harus bersih. Wadah pelarut kosong ataupun labu laboratorium dapat digunakan sebagai wadah fase gerak. Wadah ini biasanya dapat menampung fase gerak antara 1 sampai 2 liter pelarut (Gandjar dan Rohman, 2007).

b. Pompa

Pompa yang cocok untuk KCKT mempunyai beberapa ciri yaitu : pompa harus dibuat dari bahan yang lembam terhadap semua macam pelarut, mampu menghasilkan tekanan sampai 5000-6000 psi pada kecepatan alir sampai 3 ml/menit, sedangkan jika untuk skala preparative perlu kecepatan alir sampai 20 ml/menit, dan menghantarkan aliran pelarut yang tetap dan terulang ke dalam kolom. Ada tiga macam jenis pompa yang banyak dipakai pada KCKT antara lain:

- 1) Reciprocating Pumps
- 2) Displacement Pumps (Syringe Pumps)
- 3) Pneumatic Pumps (Constant Pressure Pumps) (Gritter, 1991).

c. Injektor

Sampel-sampel cair dan larutan disuntikkan secara langsung ke dalam fase gerak yang mengalir dibawah tekanan menuju kolom menggunakan alat penyuntik (injektor). Ada tiga macam sistem injektor pada KCKT yaitu :

- 1) Injektor dengan memakai diafragma (septum)

- 2) Injektor tanpa septum
- 3) Injektor dengan pipa dosis (Mulja dan Suharman, 1995).

d. Kolom

Kolom merupakan komponen yang vital pada analisis kromatografi. Keberhasilan atau kegagalan analisis bergantung pada pilihan kolom dan kondisi kerja yang tepat. Kolom pada kromatografi cair kinerja tinggi merupakan bagian yang sangat penting, karena proses separasi (pemisahan) komponen-komponen sampel akan terjadi di dalam kolom. Kolom akan menjadi kunci penentu keberhasilan pemisahan komponen-komponen sampel serta hasil akhir analisis dengan KCKT. Dianjurkan untuk memasang penyaring 2 μm di jalur antara penyuntik dan kolom untuk menahan partikel yang dibawa fase gerak dan memperjang umur dari kolom (Mulja & Suharman, 1995).

e. Detektor

Detektor diperlukan untuk mengindera adanya komponen cuplikan di dalam efluen kolom dan mengukur jumlahnya. Detektor yang baik sangat peka, tidak banyak berderau, rentang tanggapan liniernya lebar, dan menanggapi semua jenis senyawa. Kita menginginkan pula detektor yang kurang peka terhadap perubahan aliran dan suhu, tetapi hal itu selalu tidak terpenuhi. Detektor pada KCKT dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu:

- 1) Detektor universal yaitu detektor yang mampu mendeteksi zat secara umum, tidak bersifat spesifik, dan tidak bersifat selektif seperti detektor indeks bias dan spektrofotometri massa.
- 2) Detektor yang spesifik yang hanya akan mendeteksi analit secara spesifik dan selektif, seperti detektor UV-Vis, detektor fluoresensi, dan elektrokimia. (Mulja & Suharman, 1995).

f. Komputer, Integrator, atau Rekorder

Alat pengumpul data seperti computer, integrator , atau recorder, dihubungkan dengan detektor. Alat ini akan mengukur sinyal elektronik yang dihasilkan oleh detektor lalu memplotkannya sebagai suatu kromatogram yang selanjutnya dapat dievaluasi oleh seorang analis (Gandjar dan Rohman, 2007).