

**FRAKSINASI SENYAWA AKTIF BEREFEK  
MUKOLITIK DARI EKSTRAK HEKSAN DAUN PARE  
(*Momordica charantia* L.)**

**ALFRED YUSUF**

**N111 08 010**



**PROGRAM STUDI FARMASI**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2013**

**FRAKSINASI SENYAWA AKTIF BEREFEK  
MUKOLITIK DARI EKSTRAK HEKSAN DAUN PARE  
(*Momordica charantia* L.)**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2013**

**FRAKSINASI SENYAWA AKTIF BEREFEK  
MUKOLITIK DARI EKSTRAK HEKSAN DAUN PARE  
(*Momordica charantia* L.)**

**ALFRED YUSUF**

**N111 08 010**



**Disetujui oleh :**

**Pembimbing Utama**

**Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.**  
**NIP. 19641231 199002 1 005**

**Pembimbing Pertama**

**Pembimbing Kedua**

**Dr. Mufidah, S.Si., M.Si., Apt.**  
**NIP. 19730309 199903 2 002**

**Dr. Hj. Sartini, S.Si., M.Si., Apt.**  
**NIP.19611111 198703 2 001**

**Pada tanggal, 31 Juli 2013**

**PENGESAHAN  
FRAKSINASI SENYAWA AKTIF BEREFEK  
MUKOLITIK DARI EKSTRAK HEKSAN DAUN PARE  
(*Momordica charantia* L.)**

**ALFRED YUSUF  
N111 08 010**

**Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
Pada tanggal 31 Juli 2013**

**Panitia Penguji Skripsi**

1. Ketua  
Drs. Abdul Muzakkir Rewa, M.Si., Apt. : .....
2. Sekretaris  
Usmar, S.Si., M.Si, Apt. : .....
3. Ex Officio  
Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. : .....
4. Ex Officio  
Dr. Mufidah, S.Si., M.Si., Apt. : .....
5. Ex Officio :  
Dr. Hj. Sartini, S.Si., M.Si., Apt : .....
6. Anggota  
Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. : .....

**Mengetahui :  
Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Hasanuddin**

**Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt.  
NIP. 19560114 198601 2 001**

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini adalah karya nyata sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, 31 Juli 2013

Penyusun

Alfred Yusuf

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala pujian, hormat dan kemuliaan hanya kepada Tuhan Yesus yang senantiasa nyata dalam kehidupan kita karena hanya atas limpahan kasih dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar kesarjanaan pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

Penghormatan dan terima kasih yang setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada Ayahanda Yusuf, S.Pd. dan Ibunda Lebok atas doa yang tiada putusnya, kasih sayang, dukungan, dan ketulusan hati untuk tidak pernah menyerah sehingga penulis bisa menyelesaikan kuliah sampai saat ini. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada saudara-saudaraku yang tercinta Kakak Milda, Adik Anti dan Nobel untuk dukungan dan sukacita yang boleh penulis alami bersama mereka.

Dalam penyusunan skripsi ini tentu ada banyak kendala yang penulis alami. Namun, berkat dukungan dan bantuan berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus mengucapkan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si.,Apt. sebagai pembimbing utama, Ibu Dr. Mufidah, S.Si., M.Si.,Apt. sebagai pembimbing pertama dan Ibu Dr. Hj. Sartini, S.Si., M.Si.,Apt. sebagai pembimbing kedua.

2. Dekan Fakultas Farmasi, Ibu Prof. Dr. Elly Wahyuddin, DEA., Apt., Wakil Dekan I Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt., Wakil Dekan II Ibu Prof.Dr.rer.nat. Hj. Marianti A. Manggau, Apt., Wakil Dekan III Bapak Drs. Abd. Muzakkir Rewa, M.Si., Apt., dan Almarhum Bapak Drs. Kusharyono, MS.,Apt. sebagai penasehat akademik.
3. Bapak dan Ibu dosen serta staf pegawai pada Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
4. Terima kasih juga buat teman-teman seperjuangan dalam penelitian ini Wahyudiana Tahir, Dwi Astuti, Multi Sri Megawati, Dian Ekawati, Muhammad Raihan terimakasih telah menjadi partner yang setia, mendengarkan keluh, kesah, kegalauan, dan suka duka penulis mulai dari awal hingga selesainya penulisan skripsi ini. Terima kasih juga buat Anti, Ais, Angela yang senantiasa memberikan dukungan dan candaan selama penelitian ini.
5. Kepada saudara-saudaraku angkatan 2008 (STEROID) Fakultas Farmasi UNHAS terkhusus buat Ferliem, Dwi Wahyudi, Suswanda Surya, Fajrin Raharjo, Hasanuddin, Made Sandi, Purwalinggar, Rahmawati Mastura, A. Karyawati, Rahmatun Sahra serta teman-teman semua terima kasih banyak atas semua persaudaraan dan persahabatan yang telah kalian tuliskan dalam episode perjalanan hidup penulis.

6. Seluruh komponen persekutuan PMKO Filadelfia Mipa\_Farmasi Unhas yang boleh menjadi rekan-rekan sepelayanan dan juga terus memberikan doa dan motivasi dalam studi dan pelayanan. Terkhusus untuk teman-teman PA Firdaus dan Petra Kak Soni, Agus Wahyudi, Johan, Daud terima kasih untuk kebersamaan dan proses berbagi suka maupun duka.
7. Terima kasih juga buat saudara-saudaraku Semani Crew Pua' Aris, Pua' Dian, Pua' Daen, Pua' Abner, Tanta Handa yang menjadi tempat untuk saling berbagi.
8. Kepada seluruh pihak yang tidak sempat disebutkan yang telah turut dalam penyelesaian penelitian ini.

Penulis sangat menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari bentuk kesempurnaan sehingga saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan oleh penulis kedepannya. Akhir kata penulis berharap karya kecil yang penulis persembahkan ini dapat memberikan manfaat bagi ilmu pengetahuan dimasa yang akan datang. Amin.

Makassar, 31 Juli 2013

Penulis



## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang fraksinasi senyawa aktif yang berefek mukolitik dari ekstrak heksan daun pare (*Momordica charantia* L.). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan fraksinasi senyawa aktif yang berefek mukolitik dari ekstrak heksan daun pare (*Momordica charantia* L.). Daun pare (*Momordica charantia* L.) diekstraksi dengan menggunakan pelarut heksan. Ekstrak yang diperoleh kemudian difraksinasi dengan eluen campuran heksan-etil asetat dengan kepolaran yang semakin meningkat sehingga diperoleh 4 fraksi yaitu fraksi I, II, III dan IV. Kemudian diuji aktivitas mukolitiknya pada konsentrasi 0,25% dan 1% b/b. Uji aktivitas mukolitiknya dilakukan secara *in vitro* yang berdasarkan waktu alir larutan uji menggunakan viskometer Ostwald. Diperoleh data bahwa fraksi I paling aktif dari fraksi yang lain. Selanjutnya fraksi I difraksinasi dengan campuran eluen heksan-etil asetat dengan kepolaran yang semakin meningkat. Diperoleh 4 subfraksi yaitu subfraksi F-Ia, F-Ib, F-Ic dan F-Id. Kemudian subfraksi tersebut diuji aktivitas mukolitiknya dan diperoleh data bahwa subfraksi F-Ia adalah subfraksi yang paling aktif dari subfraksi yang lain. Subfraksi F-Ia selanjutnya dikarakterisasi dengan menggunakan alat KCKT. Diperoleh data bahwa ada satu peak pada panjang gelombang 254 nm dengan luas area terbesar dengan waktu retensi 13,476 menit dan pada panjang gelombang 366 nm ada satu peak dengan luas area terbesar dengan waktu retensi 3,219 menit yang dapat diusulkan sebagai senyawa utama yang berefek mukolitik.

Kata kunci: Daun pare, heksan, mukolitik, fraksi, KCKT.

## ABSTRACT

Study of fractionation of mucolitic active compound from leaves extract bitter melon (*Momordica charantia* L.) has been done. The purpose of this study was to fractionation the active compound which effective as mucolitic from pare leaves extract (*Momordica charantia* L.). Pare leaves (*Momordica charantia* L.) extracted with hexane. Crude extract were fractionated with the mixture of hexane-ethyl acetate on increased polarity and derived 4 fractions (I, II, III, and IV). The fractions then tested for the mucolitic activity on the concentration 0,25% and 1%w/w. The mucolitic test were done in vitro based on the viscosity of the test solution on Ostwald viscometer. The data collected showed that fraction I is the most active fraction and then fractionated with the mixture of hexane-ethyl acetate on increased polarity. The result were 4 subfraction (F-Ia, F-Ib, F-Ic and F-Id). Those subfraction were tested for the mucolitic activity and the data showed that the F-Ia subfraction was the most active of all. Subfraction F-Ia then were characterized with the HPLC and showed that there is one peak on 254 nm with the widest area at retention time of 13.476 minutes and another peak on 366 nm at retention time of 3.219 minutes which could be assumed as the active compound effective as mucolitic.

Keyword: Pare leaves, hexane, mucolitic, fraction, HPLC.

## DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
SURAT PERNYATAAN.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK .....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
DAFTAR SINGKATAN .....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
II.1 Uraian Tanaman Pare .....	3
II.1.1 Klasifikasi Tanaman .....	3
II.1.2 Nama Lokal .....	3
II.1.3 Morfologi Tumbuhan .....	4
II.1.4 Tempat Tumbuh .....	5
II.1.5 Kandungan Kimia .....	6
II.1.6 Kegunaan .....	6
II.2 Metode Ekstraksi Bahan Alam .....	7

II.2.1 Tujuan Ekstraksi.....	7
II.2.2 Jenis-Jenis Ekstraksi.....	7
II.3 Metode Pemisahan .....	8
II.3.1 Kromatografi Lapis Tipis.....	8
II.3.2 Kromatografi Cair Vakum .....	9
II.4 Mukolitik .....	10
II.5 Uji Efek Mukolitik.....	12
II.5.1 Prinsip Metode .....	12
II.5.2 Evaluasi Pengujian.....	13
II.6 Viskositas.....	14
II.7 Metode Analisis .....	17
II.7.1 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi .....	17
II.7.2 Penggunaan, Keuntungan dan Keterbatasan KCKT.....	18
II.7.3 Sistem Peralatan KCKT .....	20
II.7.4 Interpretasi Data.....	24
II.7.5 Profil Puncak dan Pelebaran Puncak.....	26
BAB III METODE PENELITIAN.....	27
III.1 Alat dan Bahan.....	27
III.2 Penyiapan Bahan Penelitian .....	27
III.3 Ekstraksi dan Fraksinasi Sampel .....	28
III.3.1 Ekstraksi Sampel.....	28
III.3.2 Fraksinasi Sampel.....	28
III.4 Uji Mukolitik .....	29
III.4.1 Pengumpulan Mukus Usus Sapi .....	29
III.4.2 Pembuatan Larutan Dapar Fosfat.....	29

III.4.3 Pembuatan Larutan 20%b/b .....	29
III.4.4 Pembuatan Kontrol Negatif .....	29
III.4.5 Pembuatan Kontrol Positif.....	30
III.4.6 Pembuatan Larutan Uji.....	30
III.4.7 Uji Aktivitas Mukolitik.....	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	32
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	39
V.1 Kesimpulan .....	39
V.2 Saran .....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN .....	43

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Asetilsistein.....	11
2. Viskometer Ostwald .....	16
3. Profil KLT ekstrak heksan daun pare ( <i>Momordica charantia</i> L.) .....	32
4. Profil KLT subfraksi I ekstrak heksan daun pare ( <i>Momordica charantia</i> L.).....	35

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tabel data hasil pengujian aktivitas mukolitik hasil fraksinasi ekstrak heksan Daun Pare ( <i>Momordica charantia</i> L.).....	33
2. Tabel data hasil pengujian aktivitas mukolitik ekstrak heksan Daun Pare ( <i>Momordica charantia</i> L.) .....	35
3. Tabel data hasil profil subfraksi Ia ekstrak heksan Daun Pare ( <i>Momordica charantia</i> L.).....	37

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja.....	42
2. Skema Kerja Uji Aktivitas Mukolitik.....	43
3. Perhitungan Aktivitas Mukolitik.....	44
4. Foto Pengujian.....	62
5. Analisis Data.....	63
6. Profil KLT Ekstrak Heksan Daun Pare ( <i>Momordica charantia</i> L.).....	70
7. Profil KLT Fraksi I Ekstrak Heksan Daun Pare ( <i>Momordica charantia</i> L.).....	71
8. Profil KCKT Subfraksi Ia.....	72



## DAFTAR SINGKATAN

BJ	: bobot jenis
BNJ	: beda nyata jelas
Cps	: centipoises
FT-IR	: fourier transform infrared
HPLC	: high performance liquid chromatography
KCKT	: kromatografi cair kinerja tinggi
LC	: liquid chromatography
MS	: mass spectrometer
pH	: power of hydrogen
SH	: sulfhidril
TFA	: trifluoro acetic acid
UV	: ultraviolet

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

Batuk adalah suatu refleks fisiologi pada keadaan sehat maupun sakit dan dapat ditimbulkan oleh berbagai sebab. Refleks batuk lazimnya diakibatkan oleh rangsangan dari selaput lendir saluran pernapasan yang terletak di beberapa bagian dari tenggorokan (1). Refleks batuk ini terjadi akibat terangsangnya reseptor batuk yang terdapat di saluran nafas ataupun diluar saluran nafas oleh rangsangan yang bersifat kimiawi maupun mekanis. Rangsangan yang dapat mencetuskan batuk antara lain udara dingin, benda asing seperti debu, radang atau edema mukosa saluran nafas, tekanan terhadap saluran nafas misalnya oleh tumor, lendir pada saluran nafas, kontraksi pada saluran nafas (2).

Ada dua jenis batuk yaitu batuk produktif dan batuk non-produktif. Batuk produktif merupakan suatu mekanisme perlindungan dengan fungsi mengeluarkan zat-zat asing seperti kuman, debu dan dahak dari batang tenggorokan. Untuk meringankan dan mengurangi frekuensi batuk maka diberikan terapi simptomatis dengan obat-obat pereda batuk. Salah satu zat yang dapat digunakan adalah mukolitik. Mukolitik memiliki gugus sulfhidril (-SH) bebas dan berdaya mengurangi kekentalan dahak. Zat mukolitik lainnya adalah bromheksin dan ambroksol yang bekerja dengan jalan memutuskan serat-serat mukopolisakarida (3).

Daun pare merupakan salah satu diantara sekian banyak tumbuhan obat yang digunakan sebagai obat batuk. Salah satu mekanisme

pengobatan batuk dengan menggunakan mukolitik. Khasiat daun pare antara lain untuk mengatasi disentri, bisul, kencing manis, kencing nanah, batuk, kanker, radang tenggorokan, menambah nafsu makan, pelancar ASI, radang kulit bernanah (4).

*Momordica charantia* L. banyak mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya adalah senyawa metabolit sekunder turunan triterpenoid, senyawa metabolit sekunder turunan flavonoid, dan senyawa metabolit sekunder turunan steroid. Senyawa-senyawa metabolit sekunder tersebut berupa glikosida ataupun aglikon. Selain senyawa metabolit sekunder *Momordica charantia* L. pun mengandung senyawa fenolik seperti polifenol, senyawa asam lemak yaitu asam butirat, asam palmitat, asam linoleat, dan asam stearat serta mengandung protein (5).

Daun pare (*Momordica charantia* L.) memiliki manfaat untuk mengobati batuk khususnya batuk berdahak maka dilakukanlah kegiatan penelitian ini. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan fraksinasi senyawa aktif yang berefek mukolitik dari ekstrak heksan daun pare (*Momordica charantia* L.). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai senyawa mukolitik yang terdapat dalam daun pare (*Momordica charantia* L.).

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Uraian Tanaman Pare

##### II.1.1 Klasifikasi

- Dunia : Plantae
- Divisi : Spermatophyta
- Anak divisi : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledoneae
- Anak kelas : Dialypetalae
- Bangsa : Cucurbitales
- Keluarga : Cucurbitaceae
- Marga : Momordica
- Jenis : *Momordica charantia* L. (6,7).

##### II.1.2 Nama Lokal Tanaman Pare

Sumatera (prieu, peria, foria, pepare, kambah, poria), Jawa (paria, pare pahit, pare, pepareh), Nusa Tenggara (paya, paria, truwuk, paita, paliale, pania, pepule), Sulawesi (paya, pudu, bentu, paria, belenggede, palia), Maluku (apariane, papari, kakriane, taparipong, papariano, popare, peppare) (5).

### II.1.3 Morfologi (6,8,9).

**Batang :** batang berusuk lima, panjang 2-5 m, yang muda berambut rapat. Bertangkai yang panjangnya 1,5-5,3 cm, letak berseling, bentuknya bulat panjang dengan panjang 3,5-8,5 cm, lebar 4 cm, berbagi menjari 5-7, pangkal berbentuk jantung, warnanya hijau tua, yang muda berambut cukup rapat.

**Daun :** daun tunggal dengan panjang 3,5-8,5 cm, lebar 4 cm, berbagi menjari 5-7, pangkal berbentuk jantung, garis tengah 4-17 cm berbintik-bintik tembus cahaya, taju bergigi kasar hingga berlekuk menyirip, warnanya hijau tua. Daun pare yang tumbuh liar disebut daun tudung yang lebih berkhasiat sebagai obat.

**Bunga :** tangkai bunga 5-15 cm dekat pangkalnya dengan daun pelindung berbentuk jantung hingga ginjal, kelopak bentuk lonceng dengan banyak rusuk atau tulang membujur yang berakhir pada 2-3 sisik yang melengkung ke bawah. Mahkota berbentuk roda, taju berbentuk memanjang hingga bulat telur terbalik, bertulang 1,5-2 X 1,3 cm, bunga jantan benang sari 3, kepala sari orange, semula bergandengan satu dengan lainnya kemudian lepas, bakal buah berparuh panjang, berduri tempel, halus dan

berambut panjang, putik 3, berlekuk 2 dalam atau 1 diantaranya utuh.

Buah : buah bulat memanjang berbentuk seperti silindris, permukaan buahnya berbintil-bintil tidak beraturan dengan panjang 8-30 cm, warna buah hijau dan jika sudah masak jika dipecah akan berwarna orange dengan 3 katup.

Biji : biji banyak, berwarna coklat kekuningan pucat.

#### II.1.4 Tempat Tumbuh

Tanaman pare (*Momordica charantia* L.) adalah sejenis tanaman menjalar dengan buahnya panjang bergerigi dan runcing ujungnya. Pare banyak terdapat di daerah tropika, tumbuh baik di dataran rendah dan dapat ditemukan tumbuh liar di tanah terlantar, tegalan, serta dibudidayakan atau ditanam di pekarangan dengan dirambatkan di pagar, untuk diambil buahnya. Tanaman ini tidak memerlukan banyak sinar matahari, sehingga dapat tumbuh subur di tempat-tempat yang agak terlindung. Tanaman setahun, merambat atau memanjat dengan alat pembelit atau sulur dengan karakteristik umum berbentuk spiral, banyak bercabang, dan berbau tidak enak. Tanaman pare mempunyai biji banyak, coklat kekuningan, bentuknya pipih memanjang, keras (9,10,11).

Ada 3 jenis tanaman pare, yaitu pare gajah, pare kodok dan pare hutan. Pare gajah berdaging tebal, warnanya hijau muda atau keputihan,

bentuknya besar dan panjang dan rasanya tidak begitu pahit. Pare kodok buahnya bulat pendek, rasanya pahit. Pare hutan adalah pare yang tumbuh liar, buahnya kecil-kecil dan rasanya pahit. Buah pare yang digunakan pada penelitian ini adalah jenis pare gajah. Untuk memperoleh buah yang panjang dan lurus, biasanya pada ujung buah yang masih kecil digantungkan batu. Daun dari pare yang tumbuh liar, dinamakan daun tundung. Daun ini dikatakan lebih berkhasiat bila digunakan untuk pengobatan. Daun dan buahnya yang masih muda dapat dimakan sebagai lalapan mentah atau setelah dikukus terlebih dahulu, lalu dimasak sebagai sayuran, tumis, sambal goreng, serta gado-gado. Tanaman ini juga dapat digunakan untuk membunuh serangga. Perbanyakan atau pembudidayaan tanaman pare dilakukan dengan biji (9,11).

#### II.1.5 Kandungan Kimia

Daun pare mengandung momordisina, momordina, flavonoid, polifenol, saponin, terpen, vitamin A, dan C serta minyak lemak yang terdiri dari asam oleat, asam linoleat, asam stearat dan L. oleostearat (9,12,13,14).

#### II.1.6 Kegunaan

Daun pare digunakan pada disentri, kencing manis, membangkitkan nafsu makan, nifas, pelancar ASI, sakit liver, bisul (obat luar) digunakan 1 buah segar lalu dilumatkan dan diborehkan, radang kulit bernanah (obat luar). Sedangkan akar pare digunakan pada disentri amoeba (9,13,15).

## **II.2 Metode Ekstraksi Bahan Alam (16)**

### **II.2.1 Tujuan Ekstraksi**

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen-komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan dengan menggunakan pelarut organik tertentu. Proses ekstraksi ini berdasarkan pada kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan antara konsentrasi di dalam dan konsentrasi di luar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif ke luar sel. Proses ini berlangsung secara terus-menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel.

### **II.2.2 Jenis-Jenis Ekstraksi**

Proses ekstraksi dapat dilakuakn secara panas dan dingin. Ekstraksi secara panasi yaitu dengan metode refluks dan destilasi uap air sedangkan ekstraksi dingin yaitu dengan maserasi, perkolasi dan sokhletasi.

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam 10 bagian serbuk simplisia dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil berulag-ulang diaduk. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplissia sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan



konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam dan di luar sel. Cairan penyari akan meneembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel maka larutan yang terpekat didesak keluar sel sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam sel dan diluar sel.

## **II.3 Metode Pemisahan**

### **II.3.1 Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi merupakan teknik pemisahan dengan menggunakan fase diam dan fase gerak. Kromatografi dapat digunakan untuk tujuan analisis kualitatif dan analisis kuantitatif serta dapat digunakan untuk tujuan preparatif. Kromatografi lapis tipis merupakan bentuk kromatografi planar selain kromatografi kertas dan elektroforesis. Fase diamnya berupa lapisan yang seragam pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium atau pelat plastik. Prinsipnya sangat sederhana yakni campuran solut yang akan dipisahkan ditotolkan pada permukaan lempeng tipis lalu dikembangkan didalam chamber menggunakan fase gerak yang sesuai. Kekuatan interaksi yang berbeda antara molekul solut dengan fase diam atau fase gerak akan menghasilkan mobilitas dan pemisahan yang berbeda (16).

### **II.3.2 Kromatografi Cair Vakum**

Kromatografi cair vakum dapat diartikan sebagai suatu proses yang dilakukan pada suatu kolom pendek dengan pengisapan untuk

mempercepat aliran pelarut. Fase diam (sorben) dipadatkan di dalam kolom pendek atau corong Buchner. Sorben dipadatkan dengan mengetuk pinggir kolom pada saat pengisian kemudian menekan lapisan atas sorben dengan benda yang memiliki permukaan yang rata sambil terus diisap dengan pompa vakum. Pemadatan diselesaikan dengan melepas alat vakum lalu menuangkan pelarut dengan kepolaran rendah melalui permukaan sorben lalu diisap dengan pompa vakum. Pemadatan kolom tepat bila aliran pelarut membentuk garis mendatar, jika tidak sorben harus dikeringkan, dipadatkan ulang, lalu diuji kembali. Ketika semua pelarut telah melewati kolom, sisa pelarut yang terperangkap di antara partikel sorben harus dikeluarkan melalui pengisapan.

Sampel yang telah dilarutkan di dalam pelarut yang cocok atau yang telah dicampur dengan sejumlah kecil sorben atau bahan inert diletakkan di atas padatan sorben. Jika menggunakan larutan sampel, pelarut harus diisap ke dalam padatan kolom. Sepotong kertas saring dengan diameter yang sama dengan diameter kolom ditempatkan di atas sorben untuk menghindari kekacauan sorben pada saat penambahan pelarut. Kemudian kolom dielusui dengan campuran pelarut dengan meningkatkan kepolaran pelarut secara berangsur-angsur. Sebelum pelarut selanjutnya dimasukkan, sorben harus diisap sampai kering dan eluen berisi fraksi sampel dikumpulkan dalam tabung reaksi atau labu erlenmeyer (17).

Kromatografi vakum memiliki keuntungan tersendiri yaitu sederhana, cepat, dan tepat. Jumlah maksimal sampel yang digunakan hampir sama

dengan kromatografi kilat. Akan tetapi, tidak jarang digunakan sampel melebihi muatan untuk memisahkan campuran sederhana atau untuk menyederhanakan campuran senyawa untuk pemisahan yang lebih lanjut. Pada kondisi ini, muatan sampel dapat mencapai 10% (b/b) atau lebih dari massa sorbent. Jika dibandingkan dengan kromatografi kilat, pergantian pelarut lebih mudah karena bagian atas kolom memiliki tekanan atmosfer (17).

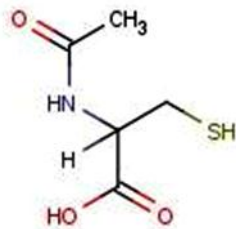
#### **II.4. Mukolitik**

Mukolitika adalah obat-obat yang dapat membantu menurunkan viskositas sputum, khususnya dari saluran nafas bagian bawah. Sehingga mengubah sifat fisika kimia dari mukus yang menyebabkan viskositas mukus menurun dan akan lebih mudah untuk dibatukkan. Obat ini dapat meringankan pernafasan, sesak nafas dan terutama pada serangan asma hebat yang dapat mematikan jika sumbatan lendir sedemikian kentalnya, sehingga tidak dapat dikeluarkan (3).

Mukolitika memiliki gugus sulfhidril (-SH) bebas dan berdaya mengurangi kekentalan dahak (mukus=lendir, lisis=larut) dan mengeluarkannya. Senyawa sistein membuka jembatan disulfida diantara makromolekul yang terdapat dalam dahak. Bromheksin dan ambroksol bekerja dengan jalan memutuskan serat-serat mukopolisakarida (3).

Asetilsistein dan bromheksin adalah obat yang bekerja sebagai mukolitik. Asetilsistein menurunkan viskositas lendir bronkhus dengan memutuskan jembatan disulfida protein dari molekul lendir. Metabolit

utama bromheksin yaitu ambroksol diduga mempunyai kerja mukolitik dengan kemungkinan kerjanya menstimulasi pembentukan zat aktif permukaan (surfaktan), sehingga adhesi lendir pada epitel bronkhus akan berkurang (18).



Gambar 1. Asetilsistein (Fluimucil<sup>®</sup>, Mucolytikum Lappe<sup>®</sup>)

Mukolitika memiliki gugus sulfhidril (-SH) bebas dan berdaya mengurangi kekentalan dahak dan mengeluarkannya. Senyawa sistein dan mesna membuka jembatan disulfide diantara makromolekul yang terdapat dalam dahak. Bromheksin dan ambroksol bekerja dengan jalan memutuskan serat-serat mukopolisakarida. Mukolitika digunakan dengan efektif pada batuk dengan dahak yang kental sekali seperti pada bronchitis, emfisema, dan mucoviscidosis. Zat-zat ini mempermudah pengeluaran dahak yang telah menjadi lebih encer melalui proses batuk atau dengan bantuan gerakan silia dari epitel. Tetapi pada umumnya zat-zat ini tidak berguna bila gerakan silia terganggu misalnya pada perokok atau akibat infeksi (3).

## **II.5 Uji Efek Mukolitik**

### **II.5.1 Prinsip Metode (19)**

Larutan mukus dipaparkan pada pH=7, di tambahkan sediaan obat dengan konsentrasi tertentu, lalu diinkubasi pada 37<sup>0</sup>C selama 1 jam. Viskositas dan bobot jenis larutan diukur dengan alat viskometer dan piknometer. Bahan-bahan yang digunakan adalah sediaan obat yang di uji, mukus lambung atau usus sapi, zat pembanding asetilsistein.

Salah satu viskometer yang digunakan untuk uji viskositas berdasarkan sifat alirnya adalah viskometer kapiler dimana viskositas cairan Newton dapat ditentukan dengan mengukur waktu yang dibutuhkan bagi cairan tersebut untuk lewat antara dua tanda ketika mengalir karena gravitasi melalui suatu tabung kapiler vertikal, contohnya viskometer Oswald.

Waktu yang dibutuhkan oleh zat cair yang diselidiki untuk mengalir diantara dua tanda tersebut dibandingkan dengan waktu yang dibutuhkan oleh zat cair yang telah diketahui viskositasnya (biasanya air).

### **II.5.2 Evaluasi Pengujian**

Viskositas dari cairan Newton bisa ditentukan dengan mengukur waktu yang dibutuhkan bagi cairan tersebut untuk lewat antara dua tanda ketika ia mengalir karena gravitasi melalui suatu tabung kapiler vertikal yang dikenal sebagai viskometer Ostwald. Waktu alir dari cairan yang diuji dibandingkan dengan waktu yang dibutuhkan bagi suatu cairan yang

viskositasnya sudah diketahui (biasanya air) untuk lewat antara dua tanda tersebut. Jika  $\eta_1$  dan  $\eta_2$  masing-masing adalah viskositas dari cairan yang tidak diketahui dan cairan standar,  $\rho_1$  dan  $\rho_2$  merupakan kerapatan dari masing-masing cairan serta  $t_1$  dan  $t_2$  adalah waktu alir dalam detik. Viskositas absolut dari cairan yang tidak diketahui,  $\eta_1$  ditentukan dengan mensubstitusi harga percobaan dalam persamaan:

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{\rho_1 t_1}{\rho_2 t_2}$$

Perhitungan viskositas untuk semua larutan dilakukan dengan memakai rumus :

$$\text{Viskositas} = \frac{\text{Rata-rata } t \text{ cuplikan} \times \text{BJ cuplikan}}{\text{Rata-rata } t \text{ air suling} \times \text{BJ air suling}} \times \text{viskositas air suling}$$

Keterangan :

t = waktu yang dibutuhkan oleh cuplikan untuk mengalir dalam detik

BJ = bobot jenis (gram/ml)

Potensi larutan uji dihitung maknanya secara statistik (20,21).

## II.6 Viskositas (4)

Viskositas adalah suatu ungkapan yang menyatakan tahanan yang mencegah zat cair untuk mengalir. Makin tinggi viskositasnya, maka makin besar tahanannya, maka jika suatu zat/bahan diklasifikasikan menurut tipe alir dan diformasinya, maka pada umumnya zat dapat dibagi menjadi dua kategori, yaitu: sistem newton dan sistem non newton. Pemilihannya

tergantung dari apakah sifat alirnya sesuai dengan hukum alir newton atau tidak.

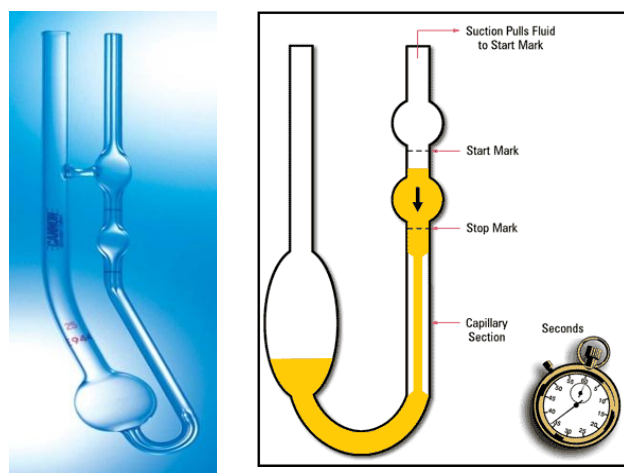
a. Zat dengan Sistem Newton

Viskosititas adalah suatu pernyataan yang menyatakan tahanan yang mencegah zat cair untuk mengalir. Makin tinggi viskositas, akan makin besar tahanannya. Makin tinggi viskositas suatu zat cair, makin besar gaya per satuan luas (tekanan geser) yang dibutuhkan untuk menghasilkan kecepatan geser tertentu.

Kurva yang menggambarkan sifat alir dinamakan reogram. Reogram diperoleh dengan menyatakan  $F$  terhadap  $G$  yang untuk sistem Newton memiliki koefisien viskositas konstan yang tidak bergantung dari jumlah absolute tegangan geser yang terdapat atau dari turunnya geseran yang berkuasa. Untuk menentukan viskositas cairan Newton dapat digunakan semua alat pengukur viskositas, misalnya viskometer Ostwald, Hoppler, Brookfield, dan Stormer. Satuan viskositas adalah poise, yaitu gaya gesek yang diperlukan untuk menghasilkan kecepatan  $1 \text{ cm/dt}$  antara 2 bidang paralel dari zat cair yang luasnya  $1 \text{ cm}^2$  dan dipisahkan oleh jarak  $1 \text{ cm}$ . Pada zat yang beraliran Newton besarnya viskositas suatu cairan berbanding lurus dengan gaya per satuan luas (*shearing stress*) yang diperlukan untuk menghasilkan suatu *rate of share* tertentu.

Viskositas sistem Newton menggambarkan suatu konstanta materi yang semata-mata tergantung dari suhu dan dalam praktek ukuran yang dapat diabaikan dari tekanan organik, karbondioksida (misalnya paraffin

cairan kental dan paraffin cairan encer), gliserol, malam cairan kental dan malam cairan encer seperti juga minyak lemak. Tetapi juga sistem yang pada suhu kamar adalah kekentalan struktur, seperti lemak dan vaselin, memiliki sikap aliran kekentalan ideal dalam keadaan lebur. Lagi pula sikap rheologis dari sistem banyak bahan juga tergantung dari konsentrasi bahan.



Gambar 2. Viskometer Ostwald

#### b. Zat Dengan Sistem Non Newton

Zat bukan Newton adalah zat yang tidak mengikuti persamaan alur Newton. Termasuk di dalamnya adalah sistem disperse heterogen cair dan padat seperti larutan koloidal, emulsi, suspensi cair, salep, dan produk yang serupa. Bilaman a bahan bukan Newton dianalisa di dalam viskometer dan hasilnya dibuat grafik, akan dihasilkan berbagai kurva konsistensi yang mewakili tiga kelas aliran, yaitu plastik, pseudoplastik, dan dilatan.



Waktu yang dibutuhkan oleh zat cair yang diselidiki untuk mengalir diantara dua tanda tersebut dibandingkan dengan waktu yang dibutuhkan oleh zat cair yang telah diketahui viskositasnya (biasanya air).

## **II.7 Metode Analisis**

### **II.7.1 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi**

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau biasa juga disebut dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dikembangkan pada akhir tahun 1960 dan awal tahun 1970 oleh Csaba Horvat. KCKT merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel pada sejumlah bidang antara lain: farmasi, lingkungan, bioteknologi, polimer, dan industri makanan. (22,23).

Di dunia internasional KCKT dikenal dengan HPLC atau lebih singkat LC (*Liquid Chromatography*). Pernyataan *High Performance* dihubungkan dengan kinerjanya yang tinggi dengan kolom yang panjangnya hanya 5-25 cm memberikan pemisahan yang baik (24).

Berbeda dengan analisis dengan KLT, sistem KCKT untuk analisis senyawa alami adalah sistem terbalik yakni fase diam nonpolar sedangkan fase gerak adalah polar. Umumnya untuk analisis senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan digunakan KCKT tipe fase terbalik yakni menggunakan fase diam nonpolar seperti C18 (*oktadesil silica* atau ODS). Biasanya fase gerak yang digunakan adalah kombinasi antara air, metanol, asetonitril dengan modifikasi keasaman dengan asam formiat,

TFA (*tri fluoro acetic acid*) atau asam fosfat dengan pH tertentu. Di dalam KCKT ada dua sistem fase gerak yang digunakan yaitu sistem isokratik (komposisi fase gerak tetap sama selama elusi) dan gradient (komposisi fase gerak berubah-ubah selama elusi) (25).

Prinsip kerja KCKT sebenarnya tidak berbeda dengan prinsip-prinsip kromatografi yang lain yaitu pemisahan komponen-komponen sampel dengan cara melewatkan sampel pada suatu kolom yang selanjutnya dilakukan pengukuran kadar masing-masing komponen-komponen tersebut dengan suatu detektor. Kerja detektor bermacam-macam tetapi pada dasarnya membandingkan respon dari komponen sampel dengan respon dari larutan standar (26).

#### II.7.2 Penggunaan, Keuntungan, dan Keterbatasan Metode KCKT

Kegunaan umum KCKT adalah untuk pemisahan sejumlah senyawa organik, anorganik, maupun senyawa biologis, analisis ketidakmurnian (*impurities*), analisis senyawa-senyawa tidak mudah menguap (*non-volatil*), penentuan molekul-molekul netral, ionik, maupun zwitter ion, isolasi dan pemurnian senyawa, pemisahan dan senyawa-senyawa dalam jumlah sekelumit (*trace elements*) dalam jumlah banyak dan dalam skala proses industri. KCKT paling sering digunakan untuk menetapkan kadar senyawa-senyawa tertentu seperti asam-asam amino, asam-asam nukleat, dan protein-protein dalam cairan fisiologis, menentukan kadar-kadar senyawa akibat obat, produk hasil samping proses sintesis, atau produk-produk degradasi dalam sediaan farmasi, memonitor sampel-

sampel yang berasal dari lingkungan, memurnikan senyawa dalam suatu campuran, memisahkan campuran, kontrol kualitas, dan mengikuti jalannya reaksi sintesis (24).

KCKT mempunyai beberapa keunggulan seperti (26):

1. Waktu analisisnya relatif singkat berkisar 5-30 menit.
2. KCKT dapat digunakan untuk analisis kuantitatif dengan presisi yang tinggi dengan koefisien variasi dapat kurang dari 1%.
3. KCKT juga merupakan teknik analisis yang peka.
4. Kolom dapat dipakai kembali. Berbeda dengan kromatografi cair klasik, kolom KCKT dapat dipakai kembali. Banyak analisis dapat dilakukan pada kolom yang sama sebelum kolom itu harus diganti.
5. Ideal untuk molekul besar dan ion. Secara khusus senyawa model ini tidak dapat dipisahkan dengan kromatografi gas karena keatsiriannya rendah.
6. Detektor KCKT dapat divariasikan, disesuaikan dengan senyawa yang akan dianalisis.
7. Ketepatan dan ketelitiannya yang relatif tinggi di jajaran teknik analisis fisiko-kimia.
8. Banyak pilihan fase gerak dari derajat polaritas KCKT
9. Dapat terpadu dengan instrument multiplek yang melahirkan konsep instrument terpadu (hyphenated instrument) seperti LC-MS atau LC/FT-IR/MS

Keterbatasan metode KCKT adalah tidak dapat mengidentifikasi senyawa kecuali jika KCKT dihubungkan dengan spektrometer massa (MS). Keterbatasan lainnya adalah jika sampelnya sangat kompleks maka resolusi yang baik sulit diperoleh (27).

### II.7.3 Sistem Peralatan KCKT (25)

Instrumentasi KCKT pada dasarnya terdiri atas : wadah fase gerak, pompa, alat untuk memasukkan sampel (tempat injeksi), kolom, detektor, wadah penampung buangan fase gerak, dan suatu komputer atau integrator perekam.

#### 1. Wadah Fase Gerak dan Fase Gerak

Wadah fase gerak harus bersih dan lembam (inert). Wadah pelarut kosong ataupun labu laboratorium dapat digunakan sebagai wadah fase gerak. Wadah ini biasanya dapat menampung fase gerak antara 1-2 liter pelarut.

Fase gerak atau eluen biasanya terdiri atas campuran yang dapat bercampur yang secara keseluruhan berperan dalam daya elusi dan resolusi. Daya elusi dan resolusi ini ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fase diam dan sifat-sifat komponen sampel. Untuk fase normal (fase diam polar daripada fase gerak), kemampuan elusi meningkat dengan meningkatnya polaritas pelarut, sementara untuk fase terbluk (fase diam kurang polar daripada fase gerak), kemampuan elusi menurun dengan meningkatnya polaritas pelarut. Fase gerak sebelum digunakan harus disaring terlebih dahulu untuk menghindari partikel-

partikel kecil. Selain itu, adanya gas dalam fase gerak juga harus dihilangkan, sebab adanya gas akan berkumpul dengan komponen-komponen lain terutama di pompa dan detektor sehingga akan mengacaukan analisis.

Fase gerak yang paling sering digunakan untuk pemisahan dengan fase terbalik adalah campuran buffer dengan metanol atau campuran air dengan asetonitril. Untuk pemisahan dengan fase normal, fase gerak yang paling sering digunakan adalah campuran pelarut-pelarut hidrokarbon dengan pelarut yang terklorisasi atau menggunakan pelarut-pelarut jenis alkohol. Pemisahan dengan fase normal ini kurang umum dibanding dengan fase terbalik.

## 2. Pompa

Pompa yang cocok digunakan untuk KCKT adalah pompa yang mempunyai syarat sebagaimana syarat wadah pelarut, yakni : pompa harus *inert* terhadap fase gerak. Bahan yang umum dipakai untuk pompa adalah gelas, baja tahan karat, teflon, atau batu nilam. Pompa yang digunakan sebaiknya mampu memberikan tekanan sampai 5000 psi dan mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan alir 3ml/menit. Untuk tujuan preparatif, pompa yang digunakan harus mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan 20ml/menit.

Tujuan penggunaan pompa atau sistem penghantaran fase gerak adalah untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara tepat, reproduibel, konstan, dan bebas dari gangguan. Ada 2 jenis

pompa dalam KCKT yaitu : pompa dengan tekanan konstan, dan pompa dengan aliran fase gerak yang konstan. Tipe pompa dengan aliran fase gerak yang konstan sejauh ini lebih umum dibandingkan dengan tipe pompa dengan tekanan konstan.

### 3. Tempat penyuntikan sampel

Sampel-sampel cair dan larutan disuntikkan secara langsung ke dalam fase gerak yang mengalir di bawah tekanan menuju kolom menggunakan alat penyuntik yang terbuat dari tembaga tahan karat dan katup teflon yang dilengkapi dengan keluk sampel (*sample loop*) internal atau eksternal.

### 4. Kolom

Ada dua jenis kolom pada KCKT yaitu kolom konvensional dan kolom mikrobor. Kolom merupakan bagian KCKT yang mana terdapat fase diam untuk berlangsungnya proses pemisahan zat terlarut/senyawa.

Kolom mikrobor mempunyai tiga keuntungan yang utama dibanding dengan kolom konvensional, yaitu :

- a. Konsumsi fase gerak kolom mikrobor hanya 80% atau lebih kecil dibanding dengan kolom konvensional karena pada kolom mikrobor kecepatan alir fase gerak lambat (10-100 $\mu$ l/menit).
- b. Adanya aliran fase gerak yang lebih lambat membuat kolom mikrobor lebih ideal jika digabung spektrometer massa.

- c. Sensitivitas kolom mikrobor ditingkatkan karena zat terlarut lebih pekat, karenanya jenis kolom ini sangat bermanfaat jika jumlah sampel terbatas misalnya sampel klinis.

## 5. Detektor

Detektor diperlukan untuk mengindera adanya komponen cuplikan di dalam eluen kolom dan mengukur jumlahnya. Dua jenis detektor yang dikenal di dalam KCKT adalah :

### a. Detektor universal

Yaitu detektor yang bisa langsung digabungkan kedalam instrument KCKT tanpa memerlukan tambahan sistem khusus. Contoh : detektor UV-Vis, detektor indeks refraksi, detektor fluorescence dan detektor hantaran.

### b. Detektor khusus

Yaitu detektor yang memerlukan sistem khusus agar bisa digunakan sebagai detektor dalam KCKT, contoh : FT-IR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*), MS (*Mass Spectrometer*).

## II.7.4 Interpretasi Data (27)

Adapun analisis KCKT dapat digunakan untuk :

### 1. Analisis kualitatif

Analisis kualitatif dengan KCKT harus ada senyawa standar sebagai pembanding. Senyawa yang belum diketahui dalam cuplikan yang dimungkinkan senyawa A dan kemudian kita menginjeksikan

senyawa murni A sebagai referensi, maka kita dapatkan 2 kemungkinan :

- a. Data waktu retensi tidak sama, maka senyawa-senyawa tersebut tidak sama.
- b. Data waktu retensi sama, maka keduanya mungkin mirip atau sama, tetapi dapat merupakan senyawa yang berbeda karena senyawa yang berbeda kadang-kadang mempunyai waktu retensi yang sama.

Pada instrumen KCKT yang dirancang dengan baik, waktu retensi sangat terulang. Simpangan baku waktu retensi sekitar 0,2-2% tergantung pada instrumen kolom dan pelarut. Makin besar derajat keterulangan waktu retensi, maka makin besar kepastian kita dalam membedakan berbagai senyawa yang diidentifikasi. Dengan membandingkan waktu retensi senyawa pembanding dengan waktu retensi senyawa yang diidentifikasi, kita dapat mengidentifikasi puncak secara kualitatif.

## 2. Analisis Kuantitatif

Dasar analisis ini adalah pencatat memberikan sinyal atau kromatogram yang sebanding dengan banyaknya komponen atau senyawa dalam cuplikan. Batasan-batasan dalam analisis kuantitatif adalah :

- a. Kisaran konsentrasi sangat terbatas, yaitu masih dalam kisaran linearitas detektor (pembanding konsentrasi yang terbesar dengan terkecil dimana respon detektor masih linear). Jika



jumlah cuplikan besar dipaksakan, maka detektor tidak mampu mendeteksi.

- b. Respon detektor. Jenis detektor yang berbeda memberikan respon yang berbeda terhadap komponen cuplikan. Perbedaan ini dalam hal waktu retensi dan ketinggian puncak.

Pengukuran puncak dapat dilakukan dengan cara :

- a. Pengukuran ketinggian puncak

Cara ini merupakan cara yang paling mudah dan cepat, yaitu dengan cara mengukur ketinggian dari puncak sampai garis dasar.

- b. Luas puncak

Cara ini menggunakan cara yang paling banyak digunakan. Baik digunakan secara manual dengan tangan ataupun dengan mesin secara otomatis yang dikenal dengan integrator.

#### II.7.5 Profil Puncak dan Pelebaran Puncak (24)

Profil konsentrasi solut yang bermigrasi akan simetris jika rasio distribusi solut konstan selama di kisaran konsentrasi keseluruhan puncak, sebagaimana ditunjukkan oleh isotherm sorpsi yang linear yang merupakan plot konsentrasi solut dalam fase gerak. Meskipun demikian, kurva isotherm akan berubah menjadi jenis puncak asimetris yakni membentuk puncak yang berekor (*tailing*) dan adanya puncak pendahulu (*fronting*) jika ada perubahan rasio distribusi solut ke arah yang lebih baik. Baik *tailing* maupun *fronting* tidak dikehendaki karena dapat menyebabkan pemisahan

kurang baik dan data retensi kurang reproduibel. Jika terjadi, maka pengurangan jumlah solut yang akan dilakukan kromatografi akan memperbaiki bentuk puncak akan tetapi adanya desorpsi yang lambat masih dapat menyebabkan *tailing*.