

**PENAPISAN SENYAWA-SENYAWA YANG TERJERAP  
PADA GLI-DYNABEADS SECARA ULTRA FAST LIQUID  
CHROMATOGRAPHY (UFLC) DARI EKSTRAK METANOL  
BEBERAPA TANAMAN SUKU LAMIACEAE DAN  
PIPERACEAE**

**DEFI LIESTIAWATI PHINHAER  
N111 08 305**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2013**

**PENAPISAN SENYAWA-SENYAWA YANG TERJERAP PADA GLI-DYNABEADS SECARA ULTRA FAST LIQUID CHROMATOGRAPHY (UFLC) DARI EKSTRAK METANOL BEBERAPA TANAMAN SUKU LAMIACEAE DAN PIPERACEAE**

**SKRIPSI**

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**



**DEFI LIESTIAWATI PHINHAER  
N111 08 305**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2013**

**PERSETUJUAN**

**PENAPISAN SENYAWA-SENYAWA YANG TERJERAP PADA GLI-DYNABEADS SECARA ULTRA FAST LIQUID CHROMATOGRAPHY (UFLC) DARI EKSTRAK METANOL BEBERAPA TANAMAN SUKU LAMIACEAE DAN PIPERACEAE**

**DEFI LIESTIAWATI PHINHAER**

**N111 08 305**



**Pembimbing Utama,**

**Pembimbing Pertama,**

**Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt.**  
**NIP. 19751117 200012 2 001**

**Subehan, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.**  
**NIP. 19750925 200112 1 002**

**Pada tanggal,                      2013**

**PENGESAHAN**

**PENAPISAN SENYAWA-SENYAWA YANG TERJERAP PADA GLI-DYNABEADS SECARA ULTRA FAST LIQUID CHROMATOGRAPHY (UFLC) DARI EKSTRAK METANOL BEBERAPA TANAMAN SUKU LAMIACEAE DAN PIPERACEAE**

Oleh :  
**DEFI LIESTIAWATI PHINHAER**  
**N111 08 305**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
**Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin**  
 Pada Tanggal                      **2013**

**Panitia Penguji Skripsi**

**1. Ketua**

**Prof.Dr.Hj.Asnah Marzuki, M.Si., Apt.** : .....

**2. Sekretaris**

**Dr.Hj.Latifah Rahman, DESS., Apt.** : .....

**3. Ex Officio**

**Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt.** : .....

**4. Ex Officio**

**Subehan, S.Si.,M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.** : .....

**5. Anggota**

**Abdul Rahim, 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 skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Makassar, 2013

Penyusun,

DEFI LIESTIAWATI P.

## UCAPAN TERIMA KASIH



***Subhanallahu Wal Hamdulillahu Wa Laa Ilaaha Illallahu Wallahu Akbar.*** Tiada kata terindah yang patut keluar dari lisan penulis, selain kata “syukur” ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta’ala yang telah melimpahkan rahmat dan inayah-Nya kepada penulis sehingga skripsi ini bisa terselesaikan. Shalawat serta salam selalu tucurahkan kepada junjungan kita, Nabiullah Muhammad Shallallahu ‘alaihi Wasallam, *khataamul ‘anbiyaa* dan Rasul pembawa panji-panji Islam yang selalu menjadi semangat perjuangan kita dalam setiap langkah kita menuju ke kehidupan yang lebih bermakna kedepannya.

Tulisan ini dipersembahkan special untuk keluarga tercinta dan Terima kasihku terucap dari hati yang paling dalam, serta rasa sayang penulis haturkan kepada ayahanda **Drs.H.Darpin,M.Si** dan ibunda **Hj.Haeriah** yang tidak pernah bosan memberi semangat, motivasi dan senantiasa selalu berdoa yang terbaik untuk anak tercinta. Hal ini sangat berarti kepada penulis karena dengan motivasi dan doa yang diberikan, penulis bisa melewati kendala dalam penyelesaian skripsi ini.

Kepada Saudara penulis Muh.Agus Phinhaer,S.Km dan kakak ipar beserta ponakanku tercinta Khanza Azka Maulidina yang selalu membuat penulis tersenyum manis serta seluruh keluarga yang telah memberiku semangat untuk menggapai asa dan cita demi keberhasilanku di dunia, penulis haturkan terima kasih. Tak luput pula penulis mengucapkan terimakasih yang tulus kepada :

1. Kepada Ibu Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt dan Bapak Subehan S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. sebagai pembimbing utama dan sebagai pembimbing pertama penulis yang telah penulis anggap sebagai orang tua kedua penulis yang telah begitu banyak memberikan bimbingan serta motivasi dan pengalaman yang sangat berharga buat penulis kedepannya serta telah meluangkan waktu dalam memberi petunjuk motivasi dan nasehat-nasehat dalam membimbing mulai saat perencanaan penelitian sampai selesainya penulisan skripsi ini. Penulis menyadari karya kecil ini mungkin tidak terselesaikan secepat ini tanpa bantuan beliau.
2. Kepada Dekan Fakultas Farmasi, Prof. Dr. Elly Wahyuddin, DEA., Apt., dan Dra. Ermina Pakki., M.Si.,Apt selaku penasehat akademik penulis yang telah memberikan masukan dan arahan selama proses perkuliahan hingga memperoleh gelar sarjana.
3. Kepada Ibu Prof.Hj. Asnah Marzuki, M.Si, Apt., Dr.Hj. Latifah Rahman, DESS, Apt., dan Bapak Abdul Rahim, S.Si, M.Si, Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Kepada Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. selaku Wakil Dekan I, Prof. Dr. rer-nat. Marianti A. Manggau, Apt. selaku Wakil Dekan II, dan Drs. Abd. Muzakkir Rewa, M.Si., Apt selaku Wakil Dekan III, serta seluruh Pegawai Akademik dan staff pegawai Fakultas Farmasi UNHAS serta para laboran disetiap laboratorium yang telah banyak membantu penulis dalam dunia kampus ini.

5. Kepada Arie Rhoedyat Swardhani,S.Ked terimakasih untuk kesabaran dan kesetian dalam memahami penulis selama ini.
6. Kepada sahabat-sahabatku "EP" Nur Hasanah, Ramdhayani, Hartanti Probo Rini, S.Si, Fitri R.amelia, S.Si, Amirah Pratiwi, S.Si, Sri Wahyuningsih, S.Si terima kasih telah menjadi sahabat yang setia membantu dan kompak didalam masa perkuliahan dan terkhusus kepada Sazidha F.Abay, S.Si terimakasih telah menjadi partner yang setia menemani penulis dalam suka dan duka selama penelitian mulai dari awal hingga terlaksananya penelitian.
7. Kepada sahabat sepanjang masa Defan's; Ade Rahmayani,S.ked, Fitri Oktovina,S.Ked, Nurul Vidya, S.Km, Pransiska Archivianti, S.T, Hermalasary,S.P, Secilia Wahyuni terima kasih telah memberi dukungan didalam penyelesaian skripsi ini.
8. Untuk teman-teman steroid angkatan 2008 terima kasih telah memberikan banyak keceriaan, dukungan dan kebersamaan kalian selama penulis menempuh masa perkuliahan di Fakultas Farmasi Unhas,terkhusus kepada Ferliem, S.Si terima kasih atas bantuan dan bimbingannya pada proses pengerjaan penelitian.
9. Jajaran Laboratorium Biofarmaka. Terimakasih untuk Kanda Ismail, S.Si., Apt., Ibu Beti Sapada, Kak Eci yang berperan dalam membantu penulis hingga memperoleh hasil yang sesuai dalam pelaksanaan penelitian.
10. Kepada pihak yang tidak sempat disebut namanya, penulis mohon maaf dan semoga Allah membalas semua kebaikan kalian selama ini.

Penulis sangat menyadari, 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 semoga apa yang penulis persembahkan ini dapat memberikan manfaat bagi ilmu pengetahuan kedepannya. Amin

Makassar, 2013

Penulis,

DEFI LIESTIAWATI P.

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang penapisan senyawa-senyawa yang terjerap pada gli-dynabeads secara ultra fast liquid chromatography (UFLC) dari ekstrak metanol beberapa tanaman suku lamiaceae dan piperaceae. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan penapisan tanaman suku Lamiaceae dan Piperaceae yang aktif pada protein GLI. Penelitian ini diawali dengan penyiapan dan pangaktifan GLI-Dynabeads. Sampel yang aktif terhadap protein GLI di analisis menggunakan alat UFLC. Sampel sebanyak 20  $\mu$ L diambil diinjeksikan pada alat UFLC dengan kolom Shim-pack VP-ODS 150x4,6 mm.I.D, detektor UV-Diode Array (PDA), fase gerak metanol, kecepatan alir 1,000 mL/ menit, suhu kolom 30°C, waktu pengoperasian 5 menit tiap sampel. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah adanya endapan ketika suspensi *GLI-dynabeads* dicampurkan dengan ekstrak tanaman Lamiaceae dan Piperaceae dan kesamaan waktu retensi ( $t_R$ ). Hasil analisis menunjukkan ada satu tanaman suku Lamiaceae yaitu Selasih (*Ocinum basillicum* L.) dan dua tanaman suku Piperaceae yaitu Lada (*Piper nigrum* L) dan Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) yang positif aktif pada protein GLI. Masing-masing kromatogram pada UV 254 dan UV 366 dari ketiga sampel terdapat 6 puncak yang memiliki kemiripan dilihat dari waktu retensi.

## ABSTRACT

The experimental study to screen Lamiaceae and Piperaceae methanol extracts on *GLI-Dynabeads* has been done. The aim of study was to screen plant of Lamiaceae and Piperaceae that active to GLI protein. The first step in this study was the preparation and activation *GLI-Dynabeads*. The active sample to *GLI-dynabeads* was analyzed by UFLC. Sample of 20  $\mu$ L was injected into UFLC by colom Shim-pack VP-ODS 150x4,6 mml.D, detector by UV-Diode Array (PDA), mobile phase of methanol, flow rate of 1,000 mL/minute, column temperature of 30°C, operational duration of 5 minute per sample. The parameters used in this study were precipitated when *GLI-Dynabeads* suspension was mixed with Lamiaceae and Piperaceae extract and identical retention time ( $t_R$ ). The result of present study indicated that one plants of Lamiaceae Selasih (*Ocinum basillicum* L.) and two plants of Piperaceae Lada (*Piper nigrum* L) and Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) active to GLI protein. Both the chromatogram UV 254 and UV 366 had six identical peaks by retention time ( $t_R$ ).

## DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN PERSETUJUAN .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK .....	x
ABSTRACT .....	xi
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xvii
DAFTAR GAMBAR .....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
II.1 Uraian Tanaman .....	5
II.1.1 Kemangi .....	5
II.1.1.1 Klasifikasi .....	5
II.1.1.2 Nama daerah .....	5
II.1.1.3 Morfologi .....	5
II.1.1.4 Kandungan .....	6
II.1.2 Lavender.....	6
II.1.2.1 Klasifikasi.....	6

II.1.2.2 Nama daerah .....	6
II.1.2.3 Morfologi .....	6
II.1.2.4 Kandungan.....	7
II.1.3 Daun Selasih.....	7
II.1.3.1 Klasifikasi .....	7
II.1.3.2 Nama daerah .....	7
II.1.3.3 Morfologi .....	7
II.1.3.4 Kandungan.....	8
II.1.4 Lada .....	8
II.1.4.1 Klasifikasi .....	8
II.1.4.2 Nama daerah .....	9
II.1.4.3 Morfologi .....	9
II.1.4.4 Kandungan.....	9
II.1.5 Sirih.....	10
II.1.5.1 Klasifikasi .....	10
II.1.5.2 Nama daerah .....	10
II.1.5.3 Morfologi .....	10
II.1.5.4 Kandungan.....	11
II.1.6 Cabe Jawa .....	11
II.1.6.1 Klasifikasi .....	11
II.1.6.2 Morfologi .....	11
II.1.6.3 Kandungan.....	12
II.1.7 Kemukus .....	12

II.1.7.1 Klasifikasi .....	12
II.1.7.2 Morfologi .....	13
II.1.7.3 Kandungan.....	13
II.2 Metode Ekstraksi Bahan Alam .....	13
II.2.1 Definisi Ekstrak .....	13
II.2.2 Definisi Ekstaksi.....	14
II.2.3 Tujuan Ekstraksi .....	14
II.2.4 Metode Ekstraksi Secara Maserasi.....	15
II.3 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) .....	16
II.3.1 Pengertian KCKT/UFLC.....	16
II.3.2 Prinsip Kerja KCKT .....	17
II.3.3 Penggunaan Metode KCKT .....	18
II.3.4 Fase Gerak .....	25
II.4 Kanker.....	26
II.5 Signal Hedgehog .....	26
II.6 Dynabeads <sup>®</sup> .....	27
II.7 Penapisan/Skrining.....	28
 BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN .....	 30
III.1 Alat dan Bahan .....	30
III.2 Penyiapan Sampel .....	30
III.2.1 Pengambilan Sampel .....	30
III.3 Penyiapan dan Pengaktifan GLI-Dynabeads .....	31
III.4 Penapisan Ekstrak Menggunakan UFLC .....	31

III.5 Analisis Data,Pembahasan dan Kesimpulan .....	32
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....	33
BAB IV.1 Hasil Penelitian.....	33
BAB IV.2 Pembahasan .....	34
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	38
BAB V.1 Kesimpulan.....	38
BAB V.2 Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN.....	43

**DAFTAR TABEL**

TABEL	halaman
1. Jenis kolom kromatografi cair kinerja tinggi berdasarkan ukurannya .....	23
2. Data hasil sampel yang aktif terhadap GLI-Dynabeads .....	35
3. Data kromatogram UFLC Lada Hitam pada UV 254 .....	45
4. Data kromatogram UFLC Lada Hitam pada UV 366 .....	46
5. Data kromatogram UFLC Cabe Jawa pada UV 254 .....	47
6. Data kromatogram UFLC Cabe Jawa pada UV 366 .....	48
7. Data kromatogram UFLC Selasih pada UV 254.....	48
8. Data kromatogram UFLC Selasih pada UV 366.....	49



## DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	halaman
1. Diagram blok sistem KCKT secara umum.....	20
2. Kromatogram UFLC Lada Hitam pada UV 254 .....	45
3. Kromatogram UFLC Lada Hitam pada UV 366 .....	46
4. Kromatogram UFLC Cabe Jawa pada UV 254 .....	46
5. Kromatogram UFLC Cabe Jawa pada UV 366 .....	47
6. Kromatogram UFLC Selasih pada UV 254.....	48
7. Kromatogram UFLC Selasih pada UV 366.....	49
8. Sampel yang aktif pada GLI-Dynabeads .....	50
9. Sampel yang tidak aktif pada GLI-Dynabeads .....	50
10. KLT pada UV 255 nm .....	51
11. KLT pada UV 366 nm.....	51
12. Penyemprotan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	51
13. Alat KCKT jenis UFLC .....	52
14. Methanol Pro-UFLC dan syringe .....	52
15. Gambar tanaman Lada Hitam .....	53
16. Gambar tanaman Cabe Jawa .....	53
17. Gambar tanaman Sirih .....	54
18. Gambar tanaman Kemukus .....	54

19. Gambar tanaman Selasih.....	54
20. Gambar tanaman Kemangi .....	55
21. Gambar tanaman Lavender .....	55

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran	halaman
I. SKEMA KERJA .....	43
II. ISI TIAP BUFFER UNTUK PENYIAPAN <i>GLI-Dynabeads</i> .....	44
III. HASIL KROMATOGRAM KCKT.....	45
IV. FOTO PELAKSANAAN PENELITIAN .....	50

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

Keanekaragaman hayati Indonesia sangat berpotensi dalam penemuan senyawa baru yang berkhasiat sebagai antikanker. Salah satunya tanaman yang digunakan adalah genus Piper. Spesies tanaman piper banyak digunakan pada pengobatan seperti *Piper nigrum* L., *Piper cubeba* L., *Piper retrofraktum* Vahl., dan *Piper bettle* L.(1).

Komponen yang menimbulkan efek toksik pada tanaman piper adalah piperin. Piperin digunakan dalam pengobatan colic, diarrhoea, cholera, scarlatina, chronic gonorrhoea dan tinea capitis (1). Piperin juga digunakan dalam pengobatan tradisional dan sebagai insektisida (2). Piperidin yang terdapat dalam piperin merupakan salah satu senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antikanker (3) dan pada saat ini, banyak penelitian yang menunjukkan bahwa tanaman piper dapat digunakan sebagai obat antikanker.

Suku Lamiaceae (Labiatae), yang terdiri dari 3500 spesies berpusat terutama di daerah Mediterania, meskipun beberapa kelompok kecil memiliki distribusi lokal di Australia, Selatan-Asia Barat dan Amerika Selatan. Memiliki beberapa kandungan seperti alkaloid acridone, coumarines, Minyak esensial, flavonoid, dan furoquinoline. Selain itu, berfungsi sebagai fungisida, dan insecticidal terhadap beberapa serangga (4).

Berdasarkan penelitian-penelitian yang dilakukan terhadap suku Lamiaceae berkhasiat sebagai analgesik, anti-amnesik dan nootropic, anthelmintik, antibakterial, anti katarak, anti fertilitas, anti hiperlipidemi, anti inflamasi, anti lipidperosidatif, anti oksidan, anti stres, anti thyroid, antitusif, anti ulkus, kemoprotektif imunomodulator, adioprotektif, aktivitas hipoglikemik, aktivitas hipotensif, dan anti kanker (5).

Kanker merupakan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol dan diikuti proses invasi ke jaringan sekitar serta penyebarannya (metastasis) ke bagian tubuh yang lain. Sifat utama sel kanker ditandai dengan hilangnya kontrol pertumbuhan dan perkembangan sel kanker tersebut (6).

Beberapa penyebab kanker adalah sel DNA dan beberapa signal, diantaranya TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL), dan hedgehog. Signal hedgehog ditemukan pada *Drosophila* pada ligan polipeptidanya. *Hh* terlibat dalam membangun embrio dan sangat berperan penting pada tahap akhir dari embriogenesis dan metamorfosis (7).

Yang mengatur perkembangan embrio dan pemeliharaan jaringan otot dewasa adalah signal dalam proliferasi kanker *hedgehog*. Kekurangan signal Hedgehog dapat menyebabkan cacat lahir bawaan, dan jika kelebihan signal Hh maka akan menyebabkan kanker (8). Ligan protein Hh diikat oleh signal pada membran reseptor patched (PTCH), sehingga terjadi penekanan aktivitas proto-oncogen-smoothed

(SMO) dan terjadi pelepasan gen GLI. Kelebihan GLI dapat memicu terjadinya karsinoma, medula blasoma, kanker pankreas, kanker prostat (9). Sehingga GLI dapat digunakan untuk penemuan obat anti kanker.

Penarikan senyawa aktif dari ekstrak metanol dari tanaman agar terjerap pada target protein yang diinginkan, digunakan *Magnetic beads* yang bermanfaat sebagai magnet yang akan menarik senyawa-senyawa aktif dari ekstrak metanol dari beberapa suku tanaman untuk terjerap pada target protein terimobilisasi yang diinginkan. Senyawa-senyawa aktif yang telah terimobilisasi pada target protein GLI selanjutnya dianalisis menggunakan alat kromatografi cair kinerja tinggi jenis UFLC (Ultra Fast Liquid Chromatography). Isolasi ekstrak metanol yang aktif akan menghasilkan bahan baku obat anti kanker yang bekerja spesifik pada protein GLI (10).

Sudah ditemukan penanda Hedgehog (Hh) dari penelitian-penelitian sebelumnya yaitu identifikasi 6 glikosida dan flavanoid dari ekstrak metanol *Excoeceria agallocha* (11), Acochimperoside P, 2'-acetate dari tanaman *Vallaris glabra*, dan mengidentifikasi terpenoid, flavonoid, glycosida pada *Acacia pennata* (12,13).

Berdasarkan uraian diatas Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui tanaman-tanaman dari suku Lamiaceae dan Piperaceae yang aktif pada protein GLI. Tujuan penelitian ini adalah melakukan penapisan dan melihat waktu retensi dari ekstrak metanol tanaman suku Lamiaceae

dan Piperaceae pada GLI-Dynabeads secara UFLC (Ultra Fast Liquid Chromatography).

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Uraian Tanaman

##### II.1.1 Kemangi (*Ocimum citriodorum*)

###### II.1.1.1 Klasifikasi (14)

Dunia	: Plantae
Anak dunia	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Lamiales
Suku	: Lamiaceae
Marga	: Ocimum
Jenis	: <i>Ocimum citriodorum</i>

###### II.1.1.2 Nama daerah (14)

Sunda	: surawung (sunda)
-------	--------------------

###### II.1.1.3 Morfologi (14)

Terna, tinggi 60-70 cm, batang halus dengan daun pada setiap ruas, daun berwarna hijau muda, bentuk oval. 3-4 cm panjang, berambut halus di permukaan bagian bawah, bunganya berwarna putih, kurang menarik, tersusun dalam tandan, bila dibiarkan berbunga, maka pertumbuhan daun lebih sedikit dan tanaman cenderung cepat menua



dan mati. Aroma daunnya khas, kuat namun lembut dengan sentuhan aroma limau.

#### **II.1.1.4 Kandungan (14)**

Daun minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, kalsium, magnesium, fosfor, besi, sulfur, betakaroten, arginin. Biji saponin, flavonoid, polifenol. Bunga mengandung minyak atsiri sitral yang aromatic.

#### **II.1.2 Lavender (*Lavandula angustifolia* Mill)**

##### **II.1.2.1 Klasifikasi Tumbuhan (14)**

Dunia : Plantae  
 Anak dunia : Tracheobionta  
 Divisi : Spermatophyta  
 Anak divisi : Magnoliophyta  
 Kelas : Magnoliopsida  
 Bangsa : Lamiales  
 Suku : Lamiaceae  
 Marga : Lavandula  
 Jenis : *Lavandula angustifolia* Mill

##### **II.1.2.2 Nama Daerah (14)**

Jawa : Lavender

##### **II.1.2.3 Morfologi Tumbuhan (14)**

Berbentuk semak, Daun bertulang sejajar, Bunga berwarna ungu kebiruan, Daun berwarna hijau dan tumbuh diujung batang bunga.

#### II.1.2.4 Kandungan Kimia (14)

Minyak atsiri yang mengandung linalool dan linalool asetat

#### II.1.3 Selasih (*Ocimum basilicum* L.)

##### II.1.3.1 Klasifikasi Tumbuhan (14)

Dunia : Plantae  
 Anak dunia : Tracheobionta  
 Divisi : Spermatophyta  
 Anak divisi : Angiospermae  
 Kelas : Dicotyledonae  
 Bangsa : Lamiales  
 Suku : Lamiaceae  
 Marga : Ocimum  
 Jenis : *Ocimum basilicum* L.

##### II.1.3.2 Nama Daerah (14)

Melayu : Selasen  
 Sunda : Solanis  
 Jawa Tengah : Selasih  
 Minahasa : Amping

##### II.1.3.3 Morfologi (14)

Merupakan herba tegak, sangat harum, tinggi 0,6–1,6m. Batang coklat, segi empat. Daun tunggal berhadapan, bertangkai, panjang 0,5–2 cm, bulat telur, ujung dan pangkal agak meruncing, permukaan daun agak halus dan bintik-bintik kelenjar tulang daun menyirip, 3,5-7,5 cm, lebar 1,5-

2,5 cm, warna hijau tua. Bunga berwarna putih atau lembayung, kelopak sisi luar berambut, bulat telur terbalik dengan tepi mengecil sepanjang tabung. Biji keras, coklat tua, bila dimasukkan dalam air akan mengembang.

#### **II.1.3.4 Kandungan Kimia (14)**

Bagian daun, bunga dan biji mengandung eugenol, metal eugenol, geraniol dan linalool. Rendamen minyak pada daun masih sangat sedikit yaitu, 0,5-1%. Daun selasih juga mengandung saponin, flavanoid dan tannin, sedangkan bijinya mengandung zat lain yaitu saponin, flavonoid dan polifenol.

#### **II.1.4 Lada (*Piper nigrum* L.)**

##### **II.1.4.1 Klasifikasi (14)**

Dunia : Plantae  
 Anak dunia : Tracheobionta  
 Divisi : Spermatophyta  
 Anak divisi : Angiospermae  
 Kelas : Dicotyledonae  
 Bangsa : Piperales  
 Suku : Piperaceae  
 Marga : Piper  
 Jenis : *Piper nigrum* L

#### **II.1.4.2 Nama Daerah (14)**

Sumatera : Koro-koro

Aceh : Lada

Sunda : Pedes

Jawa : Merica

Bengkulu : Lada kecil

Madura : Sakang

Makassar : Marica

#### **II.1.4.3 Morfologi Tumbuhan (14)**

Herba, tahunan, memanjat. Batang : Bulat, beruas, bercabang, mempunyai akar pelekat, hijau kotor. Daun : Tunggal, bulat telur, pangkal bentuk jantung, ujung runcing, tepi rata, panjang 5-8 cm, lebar 2-5 cm, bertangkai, duduk berseling atau tersebar, bekas dudukan daun nampak jelas, pertulangan menyirip, hijau. Bunga : Majemuk, bentuk bulir, menggantung, panjang bulir 3,5-22 cm, kepala putik 2-5, tangkai sari 0,5-1 mm, putih, hijau. Buah : Buni, bulat, masih muda hijau setelah tua merah. Biji : Bulat, putih kehitaman. Akar : tunggang, putih kotor.

#### **II.1.4.4 Kandungan kimia (14)**

Minyak atsiri, pipena, kariofilena, limonene, filandrena, alkaloid piperina, kavisina, piperitina, piperidina, dan minyak lemak. Buah mengandung saponin dan flavonoida, disamping minyak atsiri.

## II.1.5 Sirih (*Piper bettle* L.)

### II.1.5.1 Klasifikasi (14)

Dunia	: Plantae
Anak dunia	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: <i>Piperales</i>
Suku	: Piperaceae
Marga	: Piper
Jenis	: <i>Piper bettle</i> L

### II.1.5.2 Nama Daerah (14)

Sunda	: Seureuh
Jawa tengah	: Suruh
Gorontalo	: Donile
Makassar	: Gamanjeng

### II.1.5.3 Morfologi (14)

Habitus : Perdu, merambat. Batang : Berkayu, bulat, berbuku-buku,beralur,hijau.Daun : Tunggal, bulat panjang, pangkalbentuk jantung, ujung meruncing, tepi rata, panjang 5-8 cm, lebar 2-5 cm,bertangkai, permukaan halus, pertuangan menyirip,hijau.Bunga : Majemuk, bentuk bulir, daun pelindung  $\pm$  1 mm, bentuk bulat panjang, bulir jantung panjang 1,5-3 cm, benang saridua, pendek, bulir betina 1,5-6 cm, keiapa pulik tiga

sampai lima, putih, hijau kekuningan. Buah : Buni, bulat, hijau keabu-abuan. Akar : tunggang, bulat, coklat kekuningan.

#### **II.1.5.4 Kandungan (14)**

Daun mengandung senyawa yang mudah menguap diantaranya, katekol, kavikol, kadinen, karvakrol, kariofilen, kavibetol, kavikol, 1,8-sineol, estragol, eugenol, pirokatekin, terpinil asetat, alkaloid, piperin, saponin, flavonoida, polifenol, karoten, tiamin, riboflavin, asam nikotinat, vitamin C, tanin gula, pati, dan asam amino.

#### **II.1.6 Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl.)**

##### **II.1.6.1 Klasifikasi (14)**

Dunia : Plantae  
 Anak dunia : Tracheobionta  
 Divisi : Spermatophyta  
 Anak divisi : Angiospermae  
 Kelas : Dicotyledonae  
 Bangsa : Piperales  
 Suku : Piperaceae  
 Marga : Piper  
 Jenis : *Piper retrofractum* Vahl

##### **II.1.6.2 Morfologi (14)**

Habitus : Semak, menjalar, panjang 12 m. Batang bulat, berkayu, membelit, beratur, beruas, hijau. Daun tunggal, lonjong, pangkal tumpul, ujung runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas licin,

permukaan bawah berbintik-bintik, panjang 8,5-20 cm, lebar 3-7 cm, hijau. Bunga majemuk, bentuk bulir, tangkai panjang 0,5-2 cm, benang sari dua kadang tiga, pendek, kuning, putih 2-3 buah, hijau kekuningan. Buah lonjong, masih muda hijau setelah tua merah. Biji bulat pipih, cokelat keputih-putihan. Akar tunggang, putih pucat.

### **II.1.6.3 Kandungan kimia (14)**

Buah mengandung zat pedas piperine, chavicine, palmtic acids, tetrahydropiperic acids, 1-undecylenyl-3,4-methylenedioxy benzene, piperidin, minyak atsiri, isobutyideka-trans-2-trans-4-dienamida, dan sesamin. Akar mengandung piperine, piplartine, dan piperlonguniinine. Senyawa lain protein, karbohidrat, gliserida, tannin, dan minyak atsiri, dammar. Buah, daun dan batang : alkaloida, saponin dan polifenol, buahnya juga mengandung minyak atsiri.

### **II.1.7 Kemukus (*Piper cubeba* L.)**

#### **II.1.7.1 Klasifikasi (14)**

Dunia : Plantae  
 Anak Dunia : Tracheobionta  
 Divisi : Spermatophyta  
 Anak divisi : Angiospermae  
 Kelas : Dicotyledonae  
 Bangsa : Piperales  
 Suku : Piperaceae  
 Marga : Piper

Jenis : *Piper cubeba* L.

#### **II.1.7.2 Morfologi (14)**

Habitus Herba, tahunan, membelit. Batang tidak berkayu, lunak, beruas, pecabangan simpodial, permukaan licin, diameter 5-15 mm, mempunyai akar rata, berseling atau tersebar, bekas dudukan daun Nampak jelas, panjang 8,5-15,5 cm, lebar 3-9,5 cm, hijau. Bunga Majemuk, bentuk bulir, panjang 3-10 cm, tangkai 6-2-mm, hijau. Daun pelindung elips, melekat pada tangkai bulir, benang sari tiga, putik tiga sampai lima, putih, kuning kehijauan. Buah bulat, bertangkai, diameter 6-8 mm, tangkai panjang 2-5 mm, coklat kehitaman. Biji Kecil, lanset, putih kecoklatan. Akar : Serabut, Kuning, kecoklatan

#### **II.1.7.3 Kandungan kimia (14)**

Buah dan bunga mengandung saponin dan flovonoida, disamping minyak atrisi, Terena, *d-sabinena*, dipentena, sineol, dterpeneol, kadinena, kadinol, derivat seskuiterpena, sesquiterpena, asam kubebat, zat pahit kubebin, piperina, pipenidina, za pati, gom, resina.

### **II.2 Metode Ekstraksi Bahan Alam**

#### **II.2.1 Definisi Ekstrak**

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (15).



### **II.2.2 Definisi Ekstraksi**

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan dan termasuk biota laut. Zat-zat aktif tersebut berada di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya.

Umumnya, zat aktif yang terkandung dalam tanaman maupun hewan lebih larut dalam pelarut organik. Proses terekstraksinya zat aktif dalam tanaman adalah pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan terlarut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan pelarut organik diluar sel. Maka larutan terpekat akan berdifusi ke luar sel, dan proses ini berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam sel dan di luar sel (15,16).

### **II.2.3 Tujuan Ekstraksi**

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan dan biota laut dengan 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 diluar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif keluar sel. Proses ini berlangsung

terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel (15).

#### **II.2.4 Metode Ekstraksi secara Maserasi**

Proses ekstraksi dapat dilakukan secara panas dan secara kering. Ekstraksi secara panas yaitu dengan metode refluks, infusa dektrosa dan destilasi uap air, sedangkan ekstraksi dingin yaitu dengan maserasi, perkolasi dan soxhletasi (15).

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirak dan lain-lain.

Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol atau pelarut lain. Bila cairan penyari digunakan air maka untuk mencegah timbulnya kapang, dapat ditambahkan bahan pengawet, yang diberikan pada awal penyarian.

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah di usahakan. Kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna.

Pada penyarian dengan cara maserasi, perlu dilakukan pengadukan. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel. Hasil penyarian dengan cara maserasi perlu dibiarkan selama waktu tertentu. Waktu tersebut diperlukan untuk mengendapkan zat-zat yang tidak diperlukan tetapi ikut terlarut dalam cairan penyari seperti malam dan lain-lain (15).

### **II.3 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)**

#### **II.3.1 Pengertian KCKT/UFLC**

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) jenis *Ultra Fast Liquid Chromatography* (UFLC) merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. 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 senyawa-senyawa aktif obat, produk hasil samping proses sintesis, atau produk-produk degradasi dalam sediaan farmasi (17).

Kromatografi cair kinerja tinggi modern merupakan jenis kromatografi yang khusus dari kromatografi kolom (18).

Kalau ditinjau dari sistem peralatannya, maka KCKT termasuk kromatografi kolom, karena fase diamnya diisikan atau ter "packing" di dalam kolom (17).

### **II.3.2 Prinsip Kerja KCKT**

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 (19).

Dengan kata lain, penentuan kadar pada dasarnya adalah membandingkan respon sampel dengan respon standar. Untuk analisis dengan KCKT diperlukan standar yang betul-betul murni, biasanya disebut KCKT grade. Untuk mendapatkan hasil analisis yang tepat, juga diperlukan fase gerak dengan kemurnian tinggi (19).

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

mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap pemisahan. Untuk mendapatkan pemisahan yang baik, diperlukan 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. Untuk tujuan memilih kombinasi kondisi kromatografi yang terbaik, maka dibutuhkan pemahaman yang mendasar tentang berbagai macam faktor yang mempengaruhi pemisahan pada kromatografi cair (20).

### **II.3.3 Penggunaan Metode KCKT**

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan suatu metode pemisahan canggih dalam analisis farmasi yang dapat digunakan sebagai uji identitas, uji kemurnian dan penetapan kadar. Banyak senyawa yang dapat dianalisis dengan KCKT, mulai dari senyawa ion anorganik sampai senyawa organik makromolekul. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dapat digunakan untuk analisis sebagian besar senyawa yang bersifat tidak atsiri dan senyawa berbobot molekul tinggi, juga untuk senyawa anorganik, yang sebagian besar tidak atsiri (tidak mudah menguap) (17).

Beberapa keunggulan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) seperti (19,21) :

1. KCKT dapat menangani senyawa-senyawa yang stabilitasnya terhadap suhu terbatas, begitu juga volatilitasnya bila tanpa menggunakan derivatisasi. Sebagai contoh misalnya analisis beberapa jenis gula dapat dikerjakan dengan KCKT tanpa proses derivatisasi dulu.

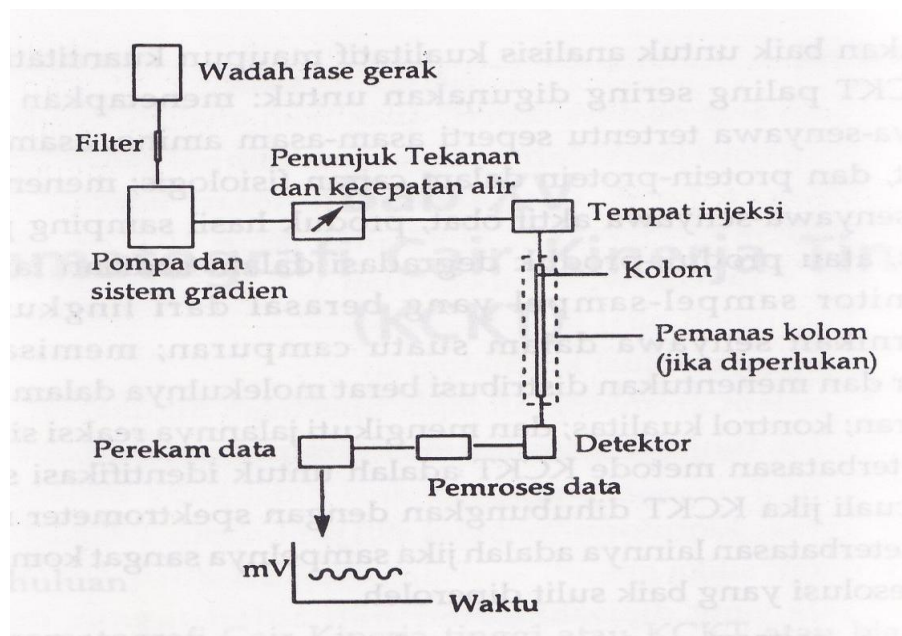
2. KCKT mampu memisahkan senyawa yang sangat serupa dengan resolusi yang baik.
3. Waktu pemisahan dengan KCKT biasanya singkat, sering hanya dalam waktu 5-10 menit, bahkan kadang-kadang kurang dari 5 menit untuk senyawa yang sederhana.
4. KCKT dapat digunakan untuk analisis kuantitatif dengan presisi yang tinggi dengan koefisien variasi dapat kurang dari 1%.
5. KCKT juga merupakan teknik analisis yang peka.
6. 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.
7. Ideal untuk molekul besar dan ion. Secara khusus senyawa jenis ini tidak dapat dipisahkan dengan kromatografi gas, karena keatsiriannya rendah.
8. Mudah memperoleh cuplikan kembali. Sebagian besar detektor yang dipakai pada KCKT tidak merusak, sehingga komponen cuplikan dapat dikumpulkan dengan mudah ketika melewati detektor.

Kelebihan KCKT dibandingkan kromatografi gas cair adalah keleluasaan pemilihan pelarut pengembang atau pelarut pengembang campuran. Namun demikian, pelaksanaan pemakaian pelarut pengembang atau pelarut campur harus memperhatikan beberapa kendala yang meliputi (19):

- Tetapan fisika dan kimia
- Pernyataan serta peringatan badan-badan resmi

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 (22).

Diagram blok untuk sistem KCKT ditunjukkan oleh gambar berikut (20):



Gambar 1. Diagram blok sistem KCKT secara umum (Sumber : Settle F. Handbook of instrumental Techniques for Analytical Chemistry. Prentice Hall PTR. New Jersey. 1997)

#### 1. Tandon (reservoir)

Reservoir terbuat dari gelas atau *stainless steel*. Jumlahnya bisa satu, dua atau lebih. Reservoir yang baik disertai *degassing system* yang berfungsi untuk mengusir gas-gas terlarut dalam *solvent* (pelarut). Gas terlarut tersebut antara lain oksigen. *Degassing* dilakukan dengan

mengalirkan gas inert dengan kelarutan yang sangat kecil, misalnya Helium. Sistem yang lebih lengkap disertai penyaring debu (19).

Wadah fase gerak harus bersih dan lembam (*inert*). Wadah ini biasanya dapat menampung fase gerak antara 1 sampai 2 liter pelarut.

Fase gerak sebelum digunakan harus dilakukan *degassing* (penghilangan gas) yang ada pada fase gerak, sebab adanya gas akan berkumpul dengan komponen lain terutama di pompa dan detektor, sehingga akan mengacaukan analisis. Pada saat membuat pelarut untuk fase gerak, maka sangat dianjurkan untuk menggunakan pelarut, bufer, dan reagen dengan kemurnian yang tinggi, dan lebih terpilih lagi jika pelarut-pelarut yang akan digunakan untuk KCKT berderajat KCKT. Adanya pengotor dalam reagen dapat menyebabkan gangguan pada sistem kromatografi. Karenanya, fase gerak sebelum digunakan harus disaring terlebih dahulu untuk menghindari partikel-partikel kecil ini (22).

## 2. Pompa

Pompa diperlukan untuk mengalirkan pelarut sebagai fase gerak dengan kecepatan dan tekanan yang tetap. Fungsi pompa adalah untuk memompa fase gerak (*solvent*) ke dalam kolom dengan aliran yang konstan dan reproduksibel. Pompa harus memenuhi persyaratan (23):

- a. Dapat memberikan tekanan sampai 6000 psi (360 atm)
- b. Tekanan yang dihasilkan bebas pulsa



- c. Dapat mengalirkan fase gerak dengan kecepatan 0,1 sampai 10 ml/menit
- d. Dapat mengalirkan fase gerak dengan reproduksibilitas yang tinggi
- e. Tahan terhadap korosi (biasanya terbuat dari baja atau teflon).

Tujuan penggunaan pompa atau sistem penghantaran fase gerak adalah untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara tepat, reproduksibel, konstan, dan bebas dari gangguan. Ada 2 jenis pompa dalam KCKT yaitu pompa dengan tekanan konstan, dan pompa dengan aliran fase gerak yang konstan sejauh ini lebih umum dibandingkan dengan tipe pompa dengan tekanan konstan (22).

### 3. Katup injektor

Bagian ini merupakan tempat dimana sampel diinjeksikan untuk selanjutnya dibawa oleh fase gerak ke dalam kolom. Ada tiga jenis dasar injektor, yaitu :

- a) Aliran-henti : aliran dihentikan, penyuntikan dilakukan pada tekanan atmosfer, sistem ditutup dan aliran dilanjutkan lagi. Cara ini dapat dipakai karena difusi di dalam zat cair kecil.
- b) Septum : ini adalah injektor langsung pada aliran, yang sama dengan injector yang lazim dipakai pada kromatografi gas. Injektor tersebut dapat dipakai pada tekanan sampai 60-70 atmosfer.
- c) Katup jalan-kitar : jenis injektor ini biasanya dipakai untuk menyuntikkan volume yang lebih besar dari 10  $\mu$ l dan sekarang dipakai dalam system yang diotomatiskan (21).

#### 4. Kolom

Kolom merupakan jantung KCKT. Keberhasilan atau kegagalan analisis bergantung pada pilihan kolom dan kondisi kerja yang tepat (22). Kolom dapat dibagi menjadi dua kelompok :

- a. Kolom analitik : garis tengah dalam 2-6 mm. Panjang bergantung pada jenis kemasan, untuk kemasan felikel biasanya panjang kolom 50-100 cm, sedangkan untuk kemasan mikropartikel berpori biasanya 10-30 cm.
- b. Kolom preparatif : umumnya bergaris tengah 6 mm atau lebih besar dan panjang 25 - 100 cm.

Kolom pada Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dibuat lurus (tidak melingkar sebagaimana kolom pada kromatografi, gas ataupun bentuk U). Hal ini dimaksudkan untuk efisiensi kolom (24).

Kolom kromatografi cair kinerja tinggi terbuat dari:

- bahan metal anti korosif dan tahan zat kimia
- bahan gelas tahan zat kimia
- bahan gelas yang dilapisi bahan metal

Ditinjau dari ukurannya (panjang dan diameternya), kolom kromatografi cair kinerja tinggi terbagi atas:

Tabel 1. Jenis kolom Kromatografi Cair Kinerja Tinggi berdasarkan ukurannya.

Jenis Kolom	Panjang (cm)	Diameter (mm)	dp ( $\mu\text{m}$ )
Konvensional	10-20	4,5	10
Microbone	10	2,4	5
High Speed	6	4,6	3

Keterangan :  $d_p$  = diameter rata-rata partikel fase diam

Diameter dibuat sangat kecil (kolom mikro) dengan tujuan agar:

- Kepekaan menjadi lebih teliti
- Menghemat larutan pengembang
- Memperluas kemampuan detektor
- Sampel yang dianalisis sedikit

Kolom dibuat pendek agar :

- Menghasilkan resolusi yang baik
- Memperkecil harga diameter rata-rata partikel fase diam
- Waktu retensi ( $t_R$ ) singkat (mengurangi pengaruh bagian instrumentasi kromatografi cair kinerja tinggi terhadap hasil pemisahan)

Dilihat dari jenis fase diam dan fase gerak, maka kromatografi cair kinerja tinggi (kolomnya) dibedakan atas (24) :

a. Kolom fase normal

Kromatografi dengan kolom konvensional, dimana fase diamnya normal, bersifat polar, misalnya silica gel, sedangkan fase geraknya bersifat non polar.

b. Kolom fase terbalik

Kromatografi dengan kolom yang fase diamnya bersifat non polar, sedangkan fase geraknya bersifat polar, kebalikan fase normal.

## 5. Detektor

Detektor diperlukan untuk mengindera adanya komponen cuplikan di dalam eluen kolom dan mengukur jumlahnya. Detektor yang baik sangat peka, tidak banyak berderau, rentang tanggapan linearnya lebar, dan menanggapi semua jenis senyawa. Detektor yang merupakan tulang punggung kromatografi cair kecepatan tinggi modern (KCKT) ialah detektor UV 254 nm. Detektor UV-VIS dengan panjang gelombang yang berubah-ubah sekarang mejadi populer karena dapat dipakai untuk mendeteksi senyawa dalam lingkup lebih luas (25).

### **II.3.4 Fase Gerak**

Pada kromatografi cair, susunan pelarut atau fase gerak merupakan salah satu yang mempengaruhi pemisahan. Berbagai pelarut dipakai dalam semua ragam KCKT, tetapi ada beberapa sifat yang diinginkan yang berlaku umum. Fase gerak haruslah (21):

- a. Murni, tanpa cemaran
- b. Tidak beraksi dengan kemasan
- c. Sesuai dengan detektor
- d. Dapat melarutkan cuplikan
- e. Mempunyai viskositas yang rendah
- f. Memungkinkan memperoleh kembali cuplikan dengan mudah jika diperlukan.
- g. Harganya wajar

## **II.4 Kanker**

Kanker merupakan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol dan diikuti proses invasi ke jaringan sekitar serta penyebarannya (metastasis) ke bagian tubuh yang lain. Sifat utama sel kanker ditandai dengan hilangnya kontrol pertumbuhan dan perkembangan sel kanker tersebut (6).

Kanker atau neoplasma ganas adalah penyakit yang ditandai dengan kelainan siklus sel khas yang menimbulkan kemampuan sel untuk tumbuh tidak terkendali (pembelahan sel melebihi batas normal), menyerang jaringan biologis di dekatnya, bermigrasi ke jaringan tubuh yang lain melalui sirkulasi darah atau sistem limfatik, disebut metastasis. (26)

## **II.5 Signal Hedgehog**

Jalur signal Hedgehog (Hh) adalah salah satu signal yang berperan dalam mekanisme penyebab kanker. Penelitian terbaru mengarah ke peran signal Hh dalam mengatur sel induk dewasa yang terlibat dalam pemeliharaan dan regenerasi jaringan. Obat yang secara khusus menggunakan target Hh sebagai antikanker sedang aktif dikembangkan oleh sejumlah perusahaan farmasi (7).

Jalur signal Hedgehog (Hh) sangat penting untuk pertumbuhan sel dan pemeliharaan sel induk. Kerusakan pada komponen inti yang penting dari jalur Hh sering mengakibatkan cacat lahir bawaan sedangkan jalur yang menyimpang Hh akan menyebabkan kanker. Dalam sel kanker,

Signal mula-mula mengikat ligan protein Hh pada membran reseptor patched (PTCH). Ikatan ini akan menekan aktivitas proto-oncogen-smoothed (SMO) dan memicu pelepasan gen glioma (GLI). Kelebihan GLI mengakibatkan terjadinya karsinoma, medula blasoma, kanker pankreas, kanker prostat. Jadi penting menggunakan protein GLI sebagai target untuk penemuan obat anti kanker (8,9).

Dalam laporan terbaru, tiga situs telah ditunjukkan untuk mengidentifikasi Jalur signal Hedgehog (Hh) yaitu : Elective protein, protein Gli dan ligan Hh. Beberapa studi telah menyarankan bahwa GLI adalah salah satu efektor transkripsi kritis terkait dengan pembentukan tumor dengan pengikatan spesifik di wilayah promotor dari gen target (11).

## **II.6 Dynabeads<sup>®</sup>**

*Magnetic beads* sangat berguna untuk imobilisasi protein sebagai senyawa-senyawa dapat dengan mudah dipisahkan dari komponen larut lainnya dengan menggunakan magnet, dan sangat kompatibel dengan aplikasi penyaringan yang tinggi.

*Magnetic beads* bermanfaat sebagai magnet yang akan menarik senyawa-senyawa aktif dari ekstrak metanol tanaman untuk terjerap pada target protein terimobilisasi yang diinginkan. Immobilisasi target protein GLI pada *magnetic beads* selanjutnya digunakan menjerap cepat senyawa-senyawa murni.

*Magnetic beads* yang dipakai adalah jenis Dynabeads<sup>®</sup> M-270 Carboxylic Acid (Asam karboksilat) mengandung polistrene yang bersifat superparamagnet, dimana setiap pori-porinya terdapat partikel dengan kekuatan magnet yang sangat besar. Partikel-partikel tersebut disalut oleh lapisan hidrofilik glisidil eter, dan asam karboksilat berada pada lapisan luar atau pada permukaan dynabeads (10).

GLI-dynabeads diaktifkan karena asam karboksilat yang dikandung oleh dynabeads bersifat labil dan sangat mudah terhidrolisis. Fungsi dari buffer dalam pengaktifan GLI-dynabeads antara lain :

- Buffer MES : melekatkan dan memudahkan pelekatan dynabeads dan rekombinan protein GLI
- Buffer PBS : untuk mencuci GLI-dynabeads dari zat-zat pengotor dan logam-logam yang bersifat spesifik.
- Buffer HCL : untuk mencegah aktivasi non reaktif dari asam karboksilat dynabeads.
- Buffer Net N : sebagai buffer penstabil, dapat digantikan dengan tween 20 atau triton X-100. Buffer ini juga menyebabkan GLI-dynabeads dapat disimpan beberapa bulan jika suhu penyimpanan berkisar pada 2-8°C.

## **II.7 Penapisan/Skrining**

Skrining atau sering disebut juga dengan istilah penapisan adalah penggunaan tes atau metode diagnosis lain untuk mengidentifikasi obat maupun tanaman dengan fungsi tertentu.

Beberapa pendekatan yang dilakukan pada penapisan bahan alam yaitu :

1. Pemilihan secara acak yang diikuti skrining kimia
2. Pemilihan secara acak yang diikuti dengan satu atau lebih uji biologi
3. Menindaklanjuti berbagai aktivitas biologi yang telah diketahui
4. Menindaklanjuti pemanfaatan tumbuhan secara etnomedisin (pengobatan tradisional) .

Dalam penelitian dan pengembangan bahan baku obat, beberapa tahap biasanya dilakukan. Mulai dari tahap kegiatan awal (*primary stage*), pre-klinis, dan klinis. Dalam tahap kegiatan awal (*primary stage*), dimulai dengan kajian pustaka mengenai apa yang akan dikembangkan, pasar dan sebagainya, penentuan target yang dituju, pengembangan senyawa pengarah melalui desain obat baru dan sintesa serta penapisan bahan alam bioaktif, evaluasi aktivitas biologi dan farmakologi dasar, penentuan metode evaluasi, dan pemilihan kandidat obat baru (27).