

**FRAKSINASI EKSTRAK HEKSAN BANGLE
(*Zingiber cassumunar* Roxb.)
YANG BEREFEK MUKOLITIK**

WAHYUDIANA TAHIR

N111 08 008



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

**FRAKSINASI EKSTRAK HEKSAN BANGLE
(*Zingiber Cassumunar Roxb.*)
YANG BEREFEK MUKOLITIK**

SKRIPSI

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

WAHYUDIANA TAHIR

N111 08 008

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

PERSETUJUAN

**FRAKSINASI EKSTRAK HEKSAN BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.)
YANG BEREFEK MUKOLITIK**

WAHYUDIANA TAHIR

N111 08 008

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama

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

Pembimbing Pertama,

Pembimbing Kedua,

Prof. dr. H. Nasrum Massi, Ph.D
NIP. 19760910 199603 1 001

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

Pada Tanggal, 31 Juli 2013

PENGESAHAN

FRAKSINASI EKSTRAK HEKSAN BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.)
YANG BEREFEK MUKOLITIK

Oleh

WAHYUDIANA TAHIR

N111 08 008

Dipertahankan Di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 31 Juli 2013

Panitia penguji skripsi

1. Prof.Dr.H.M.Natsir Djide, Ms., Apt. :
(Ketua)
2. Usmar, S.Si., M.Si., Apt. :
(Sekretaris)
3. Abd.Rahim, S.Si., M.Si., Apt. :
(Anggota)
4. Prof.Dr.Gemini Alam, M.Si., Apt. :
(Ex Officio)
5. Prof.dr.H.Muh.Nasrum Massi. MD., Ph.D :
(Ex Officio)
6. Dr.Mufidah, S.Si., M.Si., Apt. :
(Ex Officio)

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 saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya 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 di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

Makassar, 31 Juli 2013

Penyusun,

Wahyudiana Tahir

UCAPAN TERIMA KASIH



Assalaamu'alaikum Warahmatullah Wabarakaatuh

Alhamdulillah Rabbil 'Alamiin, Allah Rabbul izzah atas segala limpahan karunia dan hidayah-Nya, rasa syukur yang tiada hentinya sebagai implementasi terima kasih pada-Nya.

Shalawat serta salam atas baginda Rasulullah SAW, pelopor pemikir Islam, uswatun hasanah bagi sekalian ummatnya.

Pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih yang tiada hentinya kepada yang terkasih Ayahanda Drs.Muh.Tahir N. dan Ibunda Hj.Husnah, adinda Muh.Wahyullah Tahir, dan Muh.Wahiduddin Tahir, serta keluarga besar yang telah memberikan motivasi dan doa kepada penulis selama ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak akan terwujud tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak, untuk itu penulis mengucapkan terimakasih yang tulus kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt., Bapak Prof.dr. H.M. Nasrum Massi, Ph.D dan Ibu Dr. Mufidah, S.Si., Apt. selaku dosen pembimbing yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan selama penelitian hingga selesainya penulisan skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt,. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah mensahkan dan memberikan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini.

3. Bapak Prof.Dr.M.Natsir Djide, M.Si., Apt. selaku dosen wali yang selama ini telah banyak membina dan membimbing penulis selama masa pendidikan.
4. Ibu Dr.Agnes Lidjaja,M.Kes., Apt. dan Bapak Abd.Rahim,S,Si., M.Si.,Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran kepada penulis hingga selesainya penulisan skripsi ini.
5. Wakil Dekan I, Wakil Dekan II dan Wakil Dekan III Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
6. Bapak dan Ibu dosen serta staf pegawai pada Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
7. Kepada rekan penelitian Alfred Yusuf dan Dwi Astuti yang telah banyak membantu dengan kerjasama dan usahanya selama ini.
8. Teman-teman seperjuangan k'eki, Sarah, Iffah, Nita, Icha, Dian, K'Icha dan Mange serta teman-teman "STEROID 08" tanpa terkecuali yang telah menemani, baik suka maupun duka dan tim asisten Biofarmasi yang telah banyak memberi masukan serta TIM PKP atas bantuan dalam penyelesaian penelitian dan skripsi ini.
9. Rekan-rekan Manajemen Daerah Beastudi Etos Makassar dan Manajemen Etos Nusantara serta adik-adik etoser yang luar biasa, terima kasih atas doa dan dukungannya selama ini,
10. Spesial kepada TIM UNGU, terima kasih telah menyebutkan namaku dalam setiap rabithah kalian semoga Allah senantiasa menyatukan kita dalam kerja-kerja dakwah ini.

Semoga Allah SWT memberikan balasan yang berlipat ganda atas segala kebaikan yang telah diberikan. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua. Amin

Makassar, 31 Juli 2013

Wahyudiana Tahir

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang fraksinasi ekstrak heksan bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang berefek mukolitik. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh fraksi aktif mukolitik dari ekstrak heksan bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.). Siplisia rimpang bangle (1,94 kg) diekstraksi dengan maserasi menggunakan pelarut n-heksan. Ekstrak heksan (30 g) kemudian difraksinasi menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV) dan dihasilkan tiga fraksi yaitu F_{RI} , F_{RII} , dan F_{RIII} . Aktifitas mukolitik selanjutnya ditunjukkan dengan mukosa usus sapi secara *in vitro* dan pengukuran viskositas mukus dengan viskometer Ostwald sebelum dan setelah perlakuan. Fraksi F_{RII} memiliki aktifitas mukolitik yang lebih baik dibandingkan dengan fraksi yang lain dan analisis statistik dengan tes wilcoxon menunjukkan pengaruh perlakuan yang signifikan terhadap viskositas mukus. Fraksi aktif kemudian difraksinasi kembali dan menghasilkan tiga subfraksi serta analisis statistik dengan anova diikuti dengan uji beda nyata terkecil (BNT) menunjukkan bahwa subfraksi FII b 0,25% mengindikasikan aktifitas mukolitik tertinggi tidak sama dengan asetilsistein 1%. Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya senyawa golongan triterpenoid dengan nilai R_f 0,461 yang diusulkan sebagai senyawa utama berefek mukolitik.

ABSTRACT

Study of fractionation hexane extract of *Zingiber cassumunar* Roxb. as mucolytic has been done. The aim of this research was to obtain the mucolytic active fraction from hexane extract of *Zingiber cassumunar* Roxb. The rhizome (1.94 kg) was extracted by maceration with n-hexane. The hexane extract (30 g) was subsequently fractionated by vacuum liquid chromatography (VLC) method and obtained three fractions i.e F_RI, F_RII, and F_RIII. The mucolytic activities were performed toward intestine cattle mucus by in vitro and the mucus viscosity were measured with Ostwald viscometer before and after treatment. The F_RII fraction has better mucolytic activity than the other fraction and the statistical analysis with wilcoxon test showed a significantly influenced of the treatment toward mucus viscosity. The fraction then fractionated and obtained three subfractions and the analysis statistical with anova followed with least significant difference (LSD) showed that the FII b subfraction 0.25% indicate the highest mucolytic different with acetylcystein 1%. The result of the phitochemistry test showed the subfraction to be triterpenoid group compound with R_f 0.461 that was proposed as mucolytic main compound.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Uraian Tanaman <i>Z. cassumunar</i> Roxb.	4
II.1.1 Klasifikasi	4
II.1.2 Nama Daerah	4
II.1.3 Morfologi Tanaman <i>Z. cassumunar</i> Roxb.....	5
II.1.4 Kandungan Kimia	6

II.1.3 Khasiat	6
II.2 Ekstraksi Bahan Alam	7
II.2.1 Definisi Ekstrak	7
II.2.2 Definisi Ekstraksi.....	7
II.2.3 Metode Ekstraksi	7
II.2.3.1 Metode Maserasi.....	7
II.3 Metode Pemisahan	8
II.3.1 Kromatografi Lapis Tipis	8
II.3.2 Kromatografi Cair Vakum	11
II.4 Mukolitik	12
II.5 Mukus	14
II.6 Uji Efek Mukolitik.....	14
II.6.1 Prinsip Metode	14
II.6.2 Evaluasi Pengujian.....	16
II.7 Bobot Jenis	16
II.8 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	17
II.8.1 Pengertian KCKT	17
II.8.2 Penggunaan,Keuntungan,dan Keterbatasan Metode KCKT	18

II.8.3 Sistem Peralatan KCKT	20
II.8.4 Waktu Retensi (T_R).....	24
II.8.5 Interpretasi Data.....	25
II.8.6 Profil Puncak dan Pelebaran Puncak	27
II.9 Ultra Fast Liquid Chromatography.....	27
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	30
III.1 Penyiapan Alat dan Bahan	30
III.2 Metode Kerja.....	30
III.2.1 Pengambilan Sampel Penelitian	30
III.2.2 Pembuatan Simplisia.....	30
III.3 Pembuatan dan Penyiapan Ekstrak	31
III.4 Skrining dan Fraksinasi	31
III.5 Uji Mukolitik.....	32
III.5.1 Pengumpulan Mukus Usus Sapi.....	32
III.5.2 Pembuatan Larutan Dapar Fosfat pH 7	32
III.5.3 Pembuatan 20% b/b mukus-dapar Fosfat pH 7	32
III.5.4 Pembuatan Blanko/Kontrol negatif	32
III.5.5 Pembuatan Asetilsistein	33

III.5.6 Pembuatan Bahan Uji	33
III.5.7 Uji Aktifitas Mukolitik.....	33
III.6 Uji Statistik	34
III.7 Analisis Profil Secara KCKT	35
III.6.1 Pembuatan Larutan Uji.....	35
III.6.2 Pengukuran dengan KCKT.....	35
III.7 Pengumpulan dan Analisis Data	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	44
V.1 Kesimpulan	44
V.2 Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Tabel rendemen hasil fraksinasi ekstrak n-heksan rimpang.....	36
2. Tabel data viskositas mukus setelah penambahan fraksi ekstrak heksan rimpang bangle.....	38
3. Tabel rendemen hasil fraksinasi fraksi II ekstrak n-heksan rimpang bangle.....	40
4. Tabel data viskositas mukus setelah penambahan subfraksi FII ekstrak heksan rimpang bangle.....	40
5. Data profil kromatogram UFLC subfraksi FII b ekstrak n-heksan rimpang bangle	42
6. Tabel data waktu alir uji aktivitas mukolitik fraksi heksan.....	53
7. Tabel data bobot bahan uji dengan piknometer fraksi heksan.....	53
8. Tabel data bobot jenis bahan uji fraksi heksan.....	53
9. Tabel data waktu alir uji aktivitas mukolitik subraksi heksan.....	59
10. Tabel data bobot bahan uji dengan piknometer subraksi heksan.....	59
11. Tabel data bobot jenis bahan uji subraksi heksan.....	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Gambar struktur asetilsistein.....	13
2. Gambar viskometer ostwald-cannon-fenske.....	15
3. Profil kromatogram lapis tipis ekstrak dan fraksi heksan rimpang bangle.....	36
4. Profil kromatogram lapis tipis subfraksi ekstrak heksan rimpang bangle.....	39
5. Profil kromatogram UFLC subfraksi FII b pada panjang gelombang 254 nm.....	77
6. Profil kromatogram UFLC subfraksi FII b pada panjang gelombang 366 nm.....	78
7. Profil KLT fraksi ekstrak heksan (penampak noda UV 254 nm, 366 nm, dan H ₂ SO ₄).....	79
8. Profil KLT subfraksi ekstrak heksan (penampak noda UV 254 nm, 366 nm, dan H ₂ SO ₄).....	80
9. Profil KLT subfraksi FII b (Penampak bercak AlCl ₃ , liebermann-burchard, dan sitroborat).....	81
10. Foto pengujian mukolitik.....	82
11. Foto ekstrak fraksi heksan rimpang bangle.....	83
12. Gambar sampel.....	84

DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
1. Skema kerja fraksinasi ekstrak heksan rimpang bangle yang berefek mukolitik	50
2. Skema kerja fraksinasi fraksi ekstrak heksan rimpang bangle yang berefek mukolitik.....	51
3. Skema kerja uji mukolitik.....	52
4. Perhitungan viskositas mukus usus sapi setelah perlakuan.....	53
5. Pengujian normalitas dan homogenitas data viskositas mukus usus sapi setelah perlakuan.....	66
6. Analisis statistik.....	69
7. Profil kromatogram UFLC subfraksi FII b.....	77
8. Profil KLT.....	79
9. Foto pengujian mukolitik.....	82
10. Foto ekstrak fraksi heksan rimpang bangle.....	83
11. Gambar sampel.....	84

BAB I

PENDAHULUAN

Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) merupakan tanaman yang termasuk suku *Zingiberaceae* yang banyak ditanam pada pekarangan rumah untuk dipergunakan dalam pengobatan tradisional masyarakat sebelum masyarakat setempat mengkonsumsi obat-obatan dari dokter. Adapun bagian tanaman yang sering digunakan dalam pengobatan adalah rimpang dan dalam penggunaannya rimpang bangle disuling dan diambil minyak atsirinya. Di masyarakat, khasiat rimpang bangle diantaranya untuk diare, penurun panas, perut mulas, rematik, asma, peluruh dahak (ekspektoran), obat cacing dan sakit kuning. Disamping itu bangle dapat digunakan sebagai penghangat badan dan berefek karminatif, serta sering digunakan sebagai obat pelangsing (1,2,3,4).

Kandungan senyawa dalam bangle antara lain damar, pati, tannin, minyak atsiri. Minyak atsiri dari bangle mengandung sabinene (27-34%), terpinen-4-ol (30-35%), dan (E)-1-(3,4-dimethoxyphenyl) butadiena (DMPBD) (12-19%). Sebagian besar dari minyak terdiri dari monoterpen dengan sabinene dan terpinen-4-ol sebagai konstituen utama (1,2,5).

Berbagai penelitian telah dilakukan terhadap tanaman bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.), di antaranya adalah bahwa ekstrak metanol dari rimpang bangle memiliki efek antiinflamasi dan analgesik. Minyak atsiri dari *Zingiber cassumunar* (minyak bangle) juga memiliki aktivitas antimikroba terhadap berbagai bakteri gram positif dan gram negatif,

serta dermatofit dan ragi. Tonapa (2010) telah melakukan skrining komponen kimia dan uji aktivitas mukolitik dari ekstrak heksan rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan diperoleh fraksi yang mengandung komponen aktif mukolitik (5,6). Polontalo (2011) telah melakukan penelitian tentang skrining aktivitas komponen kimia ekstrak rimpang bangle terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dan melaporkan bahwa ekstrak heksan dari rimpang bangle lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* daripada ekstrak etanol 70% (7), serta Ekawati (2013) menemukan bahwa fraksi B dari ekstrak n-heksan rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) pada konsentrasi 0,2% memiliki daya hambat yang paling tinggi terhadap pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dibandingkan dengan fraksi lainnya (8).

Mukolitik ialah obat yang dapat mengencerkan sekret saluran napas dengan jalan mengurangi atau menghilangkan benang-benang mukoprotein dan mukopolisakarida dari sputum. Contoh mukolitik ialah asetilsistein dan bromheksin. Ekspektoran ialah obat yang dapat merangsang pengeluaran dahak dari saluran napas (ekspektorasi). Mekanisme kerjanya dengan jalan merangsang mukosa lambung dan selanjutnya secara refleksi merangsang sekresi saluran napas, sehingga menurunkan viskositas dan mempermudah pengeluaran dahak (9,10,11). Contoh ekspektoran adalah gliseril guaiakolat, gliseril, dan sirup ipekak (10).

Bioassay-guided isolation merupakan suatu proses pemisahan dari beberapa senyawa dalam matriks, menggunakan berbagai metode analisis, dengan hasil yang diperoleh dari suatu pengujian biologis. Prosesnya diawali dengan menguji ekstrak untuk mengetahui aktivitasnya, dilanjutkan dengan pemisahan senyawa dalam matriks dan pengujian fraksi. Fraksinasi lanjut dilakukan pada fraksi yang diperoleh dan terbukti aktif pada ambang konsentrasi tertentu, sedangkan fraksi tidak aktif dapat disisihkan. Proses fraksinasi dan pengujian secara biologis diulang hingga diperoleh senyawa yang murni kemudian dilakukan identifikasi struktural terhadap senyawa murni yang diperoleh. Beberapa senyawa aktif telah berhasil diisolasi dengan menggunakan metode ini (12).

Berdasarkan beberapa penelitian di atas, menjadi sangat penting untuk mengetahui senyawa yang berefek mukolitik dari ekstrak heksan rimpang bangle *Zingiber cassumunar* Roxb. sehingga dilakukanlah penelitian fraksinasi ekstrak heksan rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang berefek mukolitik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Uraian Tanaman

II.1.1 Klasifikasi

- Kerajaan : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Anak divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledoneae
Bangsa : Zingiberales
Suku : Zingiberaceae
Marga : Zingiber
Jenis : *Zingiber cassumunar* Roxb.
Sinonim : *Zingiber purpureum* Roxb.(13)

II.1.2 Nama Daerah

- Jawa : Panglai (Sunda), Bengle (Jawa Tengah), Pandiang
(Madura)
Sumatera : Mungle (Aceh), Bengle (Gayo), Bungle (Batak),
Banlai (Minangkabau), Kunyit Bolai (Melayu).
Bali : Banggele
Kalimantan : Banglas (Dayak)
Sulawesi : Kekundiren (Minahasa), Balle (Makassar), Panini
(Bugis)

Nusa Tenggara : Bangulai (Bima), Bangalai (Roti)

Maluku : Unin Makei (Ambon), Bangle (Ternate) (14)

II.1.3 Morfologi Tanaman Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.)

Bangle tumbuh di daerah Asia tropika, dari India sampai Indonesia. Di Jawa di budidayakan atau di tanam di pekarangan pada tempat-tempat yang cukup mendapat sinar matahari, mulai dari dataran rendah sampai 1.300 m dpi. Pada tanah yang tergenang atau becek, pertumbuhannya akan terganggu dan rimpang cepat membusuk. Merupakan herba semusim, tumbuh tegak, tinggi 1-1,5 m, membentuk rumpun yang agak padat, berbatang semu, terdiri dari pelepah daun yang dipinggir ujungnya berambut sikat. Daun tunggal, letak berseling, helaian daun lonjong, tipis, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi rata, berambut halus, jarang, pertulangan menyirip, panjang 23-35 cm, lebar 20-40 mm, warnanya hijau. Bunganya bunga majemuk, bentuk tandan, keluar di ujung batang, panjang gagang sampai 20 cm. Bagian yang mengandung bunga bentuknya bulat telur atau seperti gelendong, panjangnya 6-10 cm, lebar 4-5 cm. Daun kelopak tersusun seperti sisik tebal, kelopak bentuk tabung, ujung bergerigi tiga, warna merah menyala. Bibir bunga bentuknya bundar memanjang, warnanya putih atau pucat. Bangle mempunyai rimpang yang menjalar dan berdaging, bentuknya hampir bundar sampai jorong atau tidak beraturan, tebal 2-5 mm. Permukaan luar tidak rata, berkerut, kadang-kadang dengan parut daun, warnanya coklat muda kekuningan, bila dibelah berwarna kuning muda sampai kuning kecoklatan. Rasanya

tidak enak, pedas dan pahit. Bangle digolongkan sebagai rempah-rempah yang memiliki khasiat obat. Panen dilakukan setelah tanaman berumur satu tahun serta memperbanyak dengan stek rimpang (14).

II.1.4 Kandungan Kimia Bangle

Rimpang bangle mengandung minyak atsiri dan oleoresin. telah diidentifikasi senyawa-senyawa yang terkandung dalam bangle yang meliputi gugus alkohol, keton, fenol, terpenoid dan gula. Komponen kimia lainnya yang telah diisolasi dari rimpang bangle segar antara lain (E)-1-(3,4-dimetoksifenil) butadiene dari fraksi larut heksan, dan senyawa zerumbon. Pada fraksi yang larut n-heksan didapatkan monomer fenilbutanoid yaitu (E)-4-(4-hidroksi-3-metoksifenil)but-3-en-1-il asetat serta minyak atsiri bangle mengandung sineol dan pinen (15,16,17,18,19,20).

II.1.5 Khasiat Bangle

Senyawa (E)-1-(3,4-dimetoksifenil) butadien yang diisolasi dari fraksi n-heksan mempunyai aktifitas antiradang dan analgesik. Bangle juga digunakan untuk mengatasi rematik, nyeri otot, mengobati luka dan asma, pengencer dahak (ekspektoran), senyawa repelan, karminatif, laksatif, pencahar, batuk dan digunakan sebagai larutan pembersih untuk penyakit kulit (18,21).

II.2 Ekstraksi Bahan Alam

II.2.1 Definisi Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung (22).

II.2.2 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi, berdasarkan istilah farmasetika, merupakan pemisahan bagian aktif obat pada jaringan tanaman atau hewan melalui senyawa inaktif atau inert dengan menggunakan pelarut selektif berdasarkan prosedur ekstraksi standar. Senyawa aktif yang dihasilkan dari tanaman umumnya cairan yang tidak murni, semipadat, atau serbuk yang hanya digunakan secara oral atau eksternal. Produk tersebut termasuk golongan preparat yang dikenal sebagai dekokta, infusa, ekstrak cair, tingtur, ekstrak semipadat dan ekstrak serbuk. Preparat tersebut umumnya dikenal dengan nama galenika, mengikuti nama Galen, dokter Yunani pada abad kedua (23).

II.2.3 Metode Ekstraksi

II.2.3.1 Metode Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling umum dilakukan di laboratorium untuk sampel dengan jumlah yang sedikit karena dapat dilakukan dengan mudah dalam labu erlenmeyer (labu dapat ditutupi aluminium foil untuk menghindari penguapan pelarut). Hal yang sulit dari metode ini adalah setelah penambahan pelarut, sampel tanaman harus

dibiarkan selama beberapa hari. Pelarut harus didekantasi melalui alat penyaring, sebelum dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Sampel kemudian diaduk lalu dibiarkan kembali. Sonikasi pada sampel yang dimaserasi atau pengadukan kadang digunakan untuk mengurangi waktu yang diperlukan untuk keseluruhan ekstraksi (24).

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa setelah tiga kali penggantian pelarut, bahan tumbuhan mendekati titik jenuh. Sampel dalam jumlah besar juga dapat dimaserasi, biasanya dalam wadah yang besar dengan keran di dasarnya seperti halnya perkolasi skala besar, namun pelarut diganti secara keseluruhan, tidak secara perlahan-lahan (24).

Dalam proses ini, serbuk kasar simplisia ditempatkan dalam wadah berpenutup yang berisi pelarut lalu didiamkan pada suhu kamar selama 3 hari dengan pengadukan secara teratur sampai senyawa terlarut melebur. Kemudian campuran disaring, ampasnya diperas, dan filtrat diendapkan (23).

II.3 Metode Pemisahan

II.3.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi didefinisikan sebagai metode analisis di mana fase gerak bergerak melewati fase diam sehingga campuran senyawa dapat terpisah menjadi komponen-komponen. Istilah “Kromatografi Lapis Tipis” pertama kali diperkenalkan oleh E. Stahl pada tahun 1956, yang berarti proses pemisahan secara kromatografi di mana fase diam terdiri dari

lempeng tipis yang digunakan pada suatu substrat. KLT digunakan di bidang farmasi, kimia klinik, kimia forensik, biokimia, kosmetik, analisis makanan, analisis lingkungan, analisis senyawa anorganik, dan elektrolitik (25).

Pelarut yang digunakan dalam KLT memiliki karakteristik permukaan dan sifat fisika-kimia. Selain itu, banyak pilihan fase gerak yang dapat digunakan untuk memisahkan campuran senyawa; umumnya memiliki sifat yang berbeda seperti donor proton, aseptor proton, dan dipol. Dalam KLT, absorpsi ultraviolet (UV) dari fase gerak tidak berperan penting dalam deteksi dan kuantifikasi karena fase gerak akan menguap sebelum dideteksi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang tidak memiliki viskositas yang tinggi. Karakteristik dari fase gerak dan fase diam menjadi dasar dalam pemilihan sistem KLT, yang penting untuk memisahkan senyawa kompleks (26).

Selain itu, manfaat KLT yaitu lempeng hanya dapat digunakan sekali, dengan demikian penyiapan sampel lebih simpel dari metode lain seperti kromatografi gas (KG) dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Beberapa sampel dapat dianalisis pada waktu yang sama pada satu lempeng KLT atau KCKT, sehingga mengurangi waktu volume pelarut yang digunakan untuk tiap sampel. Pengerjaan beberapa sampel dalam lempeng yang sama memberikan manfaat yaitu akurasi dan presisi pada saat analisis kuantitatif menggunakan densitometri (26).

KLT memiliki manfaat yang penting terutama pada ekstrak tanaman, yang merupakan campuran senyawa kompleks yang memiliki senyawa kimia dengan struktur yang berbeda. Ekstrak tersebut umumnya mengandung senyawa polar (misalnya tanin dan fenol) dan senyawa nonpolar (seperti lemak, klorofil, dan lilin), berbeda dengan fraksinasi yang memisahkan senyawa dengan struktur dan sifat fisika-kimia yang hampir serupa. Pemisahan dengan fraksinasi membutuhkan prosedur yang rumit, biasanya melalui ekstraksi cair-cair atau cair-padat. Berbeda dengan KLT yang memungkinkan pemisahan dari ekstrak kasar tanaman tanpa melalui pemurnian (26).

KLT memiliki beberapa parameter antara lain sebagai berikut:

a. *Retardation Factor* (R_f)

Posisi noda pada KLT dapat diuraikan dengan retardation factor (R_f), yang merupakan hasil bagi antara jarak pergerakan noda dari batas bawah dengan jarak antara batas bawah dengan batas atas.

$$R_f = \frac{Z_s}{Z_f}$$

Di mana:

R_f = *retardation factor*

Z_s = jarak noda dengan batas bawah (mm)

Z_f = jarak batas atas dengan batas bawah (mm) (25).

b. Konstanta Alir

Konstanta alir (κ) merupakan pengukuran laju pergerakan pelarut (eluen). Parameter ini penting dalam KLT dan dapat digunakan untuk menghitung, misalnya waktu elusi dengan jarak pemisahan yang berbeda, sehingga membuktikan bahwa fase diam, sistem pelarut, tipe *chamber* dan suhu konstan. Konstanta alir dapat dirumuskan dengan:

$$\kappa = \frac{Z_f^2}{t}$$

Di mana:

κ = Konstanta alir (mm^2/detik)

Z_f = jarak awal pergerakan pelarut dengan batas atas (mm)

t = waktu elusi (detik) (24).

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 dielus 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 (26).

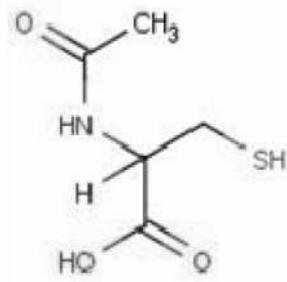
Kromatografi vakum memiliki keuntungan tersendiri yaitu sederhana, cepat, dan tepat. Jumlah maksimal sampel yang digunakan hampir sama dengan kromatografi kilat. Akan tetapi, tidak jarang digunakan sampel melebihi muatan untuk memisahkan campuran sederhana atau untuk menyederhanakan campuran senyawa 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 (26).

II.4 Mukolitik

Mukolitik 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 (10).

Mukolitik memiliki gugus sulfidril (-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 bekerja dengan jalan memutuskan serat-serat mukopolisakarida (10).

Asetilsistein dan bromheksin adalah obat yang bekerja sebagai mukolitik. Asetilsistein menurunkan viskositas lendir bronkus dengan memutuskan jembatan disulfida protein dari molekul lendir. Bromheksin bekerja menguraikan *mukopolisakarida asam* sehingga serabut lender bronkus akan terurai. Ini dilakukannya dengan memperbanyak produksi lisosom dan mengaktifkan enzim hidrolitik. Pada saat yang sama sel kelenjar serosa distimulasi. Dengan penambahan jumlah secret, viskositas sputum akan turun (29).



Gambar 1. Struktur Asetilsistein (Fluimucil[®], Mucolytikum Lappe[®]) (29)

II. 5 Mukus

Mukus adalah sekresi yang bersifat kental dan pseudoplastis yang terutama terdiri dari air, elektrolit, dan rantai polimer yang berikatan membentuk glikoprotein dengan jumlah bervariasi. Ikatannya dapat berupa ionik, kovalen (ester, anhidrida) hidrogen, dan ikatan lainnya (30,11).

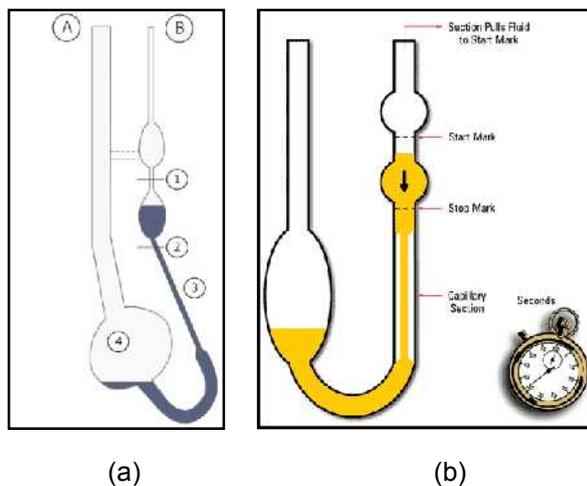
Komposisi mukus sedikit berbeda pada tiap segmen, baik pada saluran pernafasan maupun pada saluran cerna, namun pada dasarnya mukus mempunyai karakteristik dasar yang sama (30).

II.6 Uji Efek Mukolitik

II.6.1 Prinsip Metode

Ke dalam larutan mukus yang dipaparkan pada pH=7, di tambahkan sediaan obat dengan konsentrasi tertentu, lalu diinkubasi pada 37⁰C selama 30 menit. 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 (31).

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 (31,32).



Gambar 2. Viskometer . Keterangan : (a) Viskometer Cannon-Fenske (A=tabung A, B=tabung B, 1=start mark,2=stop mark,3=pipa kapiler, 4=labu penampung sampel), (b) Viskometer Ostwald. (Martin, dkk. 1993 & Kyoto Electronics Manufacturing CO., Ltd. 2012)

Viskometer kapiler disebut sebagai viskometer U-tube disebabkan karena bentuknya. Ada tiga jenis umum viskometer kapiler yaitu Ubbelohde, Ostwald dan Cannon-Fenske. Prosedur pengukuran adalah pengisap (Bulb) diterapkan pada tabung B untuk menarik sampel melalui kapiler (3) ke level di atas garis (1). Kemudian tabung B dibiarkan terbuka zat cair yang diselidiki untuk mengalir diantara dua tanda tersebut dibandingkan dengan waktu yang dibutuhkan oleh zat cair yang telah diketahui viskositasnya (biasanya air). η_1 dan η_2 masing-masing adalah viskositas cairan yang tidak diketahui dan cairan standar, ρ_1 dan ρ_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, η_1 , ditentukan dengan mensubstitusikan harga percobaan dalam persamaan;

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

Kerapatan jenis merupakan perbandingan bobot jenis suatu zat dengan bobot jenis air pada suhu tertentu (32).

II.6.2 Evaluasi Pengujian

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 (31).

II.7 Bobot Jenis

Bobot jenis suatu zat adalah perbandingan antara bobot zat dibanding dengan volume zat pada suhu tertentu (biasanya 25°C). Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, penetapan bobot jenis digunakan hanya untuk cairan, dan kecuali dinyatakan lain, didasarkan pada perbandingan bobot zat di udara pada suhu 25°C terhadap bobot air dengan volume dan suhu yang sama. Bila suhu ditetapkan dalam monografi, bobot jenis adalah perbandingan bobot zat di udara pada suhu

yang ditetapkan terhadap bobot air dengan volume dan suhu yang sama. Bila pada suhu 25⁰C zat berbentuk padat, tetapkan bobot jenis pada suhu yang telah tertera pada masing-masing monografi, dan mengacu pada air yang tetap pada suhu 25⁰C (33).

Penentuan bobot jenis suatu zat cair dengan metode piknometer, dimana ditimbang lebih dahulu berat piknometer kosong dan piknometer berisi zat cair yang diuji. Selisih dari penimbangan adalah massa zat cair tersebut pada pengukuran suhu kamar (25⁰C) dan dalam volume konstan, tertera pada piknometer. Maka bobot jenis zat cair tersebut adalah massanya sendiri dibagi dengan bobot piknometer, dengan satuan g/mL (34).

$$\text{Bobot jenis} = \frac{\text{Bobot air (g)} - \text{Bobot piknometer kosong (g)}}{\text{Volume piknometer rata-rata (mL)}}$$

II.8 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

II.8.1 Pengertian KCKT

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. KCKT merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif (35,36).

Di dunia internasional KCKT dikenal dengan HPLC atau lebih singkat dikenal sebagai LC (*Liquid Chromatography*). Pernyataan *High Performance* dihubungkan dengan kinerjanya yang tinggi, dengan kolom yang panjangnya hanya 5-25 cm memberikan pemisahan yang baik ($R=1,5$). Pernyataan *High Pressure* dihubungkan dengan pemakaian pompa bertekanan yang tinggi untuk mengalirkan fase gerak (37).

Metode KCKT digunakan untuk menerapkan kadar senyawa penanda (*marker*) yang tidak bisa ditetapkan dengan densitometer atau alasan prinsip analisis misal reproduibilitas tidak baik atau puncak-puncak serapan pada detektor densitometer masih saling menumpuk sehingga sulit dikuantifikasi. Berbeda dengan analisis dengan KLT, sistem untuk 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 tetap sama (komposisi fase gerak tetap sama selama elusi) dan gradien (komposisi fase gerak berubah-ubah selama elusi (38,39).

II.8.2 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-volatile*), 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 (35).

KCKT mempunyai beberapa keunggulan seperti (37) :

1. Waktu analisisnya relatif singkat berkisar 5 menit sampai 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 instrumen multiplex yang melahirkan konsep instrumen 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 resolusinya yang baik sulit diperoleh (38).

II.8.3 Sistem Peralatan KCKT

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 (36).

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 terbalik (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 asetone. 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 (36).

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 (34).

Ada beberapa jenis pompa, antara lain (35) :

a. *Reciprocating pump*

Terdiri atas ruang kecil, dimana solven dipompa dengan piston yang bergerak maju mundur. Tekanan yang dihasilkan dapat mencapai 10.000 psi.

b. Displacement pump

Terdiri semacam alat suntik (*syringe*) yang sebesar dengan kapasitas biasanya 250 ml. Solven dialirkan dengan menggerakkan piston.

c. Pneumatic pump

Terdiri atas kontainer yang berisi solven yang dapat ditekan dengan suatu gas. Tekanan yang dihasilkan kurang dari 2.000 psi.

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 (36).

4. Kolom (36)

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 μ l/menit).

- b. Adanya aliran fase gerak yang lebih lambat membuat kolom mikrobor lebih ideal jika digabung dengan spektrometer massa.
- c. Sensitivitas kolom mikrobor ditingkatkan karena zat terlarut lebih pekat, karenanya jenis kolom ini sangat bermanfaat jika jumlah sampel terbatas misal sampel klinis.

5. Detektor (35)

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 ke dalam instrumen 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 : FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*), MS (*Mass Spectrometer*).

II.8.4 Waktu Retensi (t_R) (38)

Waktu retensi (t_R) adalah selang waktu yang diperlukan oleh larutan (solut) mulai saat injeksi sampai keluar dari kolom dan sinyalnya ditangkap oleh detektor.

Disamping waktu tambat untuk linarut, dikenal pula waktu tambat untuk pelarut pengembang atau pengembang campuran yang dinyatakan sebagai t_M . Harga t_M akan lebih kecil dari harga t_R karena yang akan lebih dahulu mencapai ujung kolom adalah pelarut pengembang atau pelarut pengembang campur.

Waktu tambat linarut dikurangi waktu tambat pelarut pengembang atau pelarut pengembang campur disebut waktu tambat yang terkoreksi yang dinyatakan sebagai t_R .

II.8.5 Interpretasi Data (38)

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.

1. Tinggi x lebar pada setengah tinggi

Puncak kromatogram mirip pada segitiga. Cara ini mendekati puncak sebagai segitiga.

$$HW \frac{1}{2} H$$

Luas puncak = $H \times W$, dimana $W = \text{lebar } \frac{1}{2} H$

2. Penimbangan

Cara ini dilakukan dengan menggantung puncak-puncak pada kromatogram, kemudian ditimbang, sehingga dapat dihitung persen relatifnya. Kelemahan cara ini adalah merusak kromatogram.

3. Integrator

Integrator dapat menghitung secara otomatis luas permukaan dari puncak-puncak dan sekaligus mencatat waktu retensinya.

II.8.6 Profil Puncak dan Pelebaran Puncak (35)

Profil konsentrasi solut yang bermigrasi akan simetris jika rasio distribusi solut konstan selama di kisaran konsentrasi keseluruhan puncak, sebagaimana ditunjukkan oleh isoterm sorpsi yang linear yang merupakan plot konsentrasi solut dalam fase gerak. Meskipun demikian, kurva isoterm 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*.

II.9 Ultra Fast Liquid Chromatography (UFLC)

Salah satu permasalahan terbesar pada HPLC adalah kecepatan analisisnya, dan kebutuhan tersebut dipenuhi oleh *Ultra fast LC* “*Prominence UFLC*”. Unggul dalam kecepatan, pengulangan yang bagus dan hasil yang baik disediakan oleh *Ultra Fast Liquid Chromatography (UFLC)*. Dalam mengejar kecepatan tinggi alat separasi Shimadzu berhasil mencapai kecepatan dan tingkat kinerja pemisahan yang tidak bergantung pada tekanan tinggi, sekaligus menawarkan tingkat presisi yang tinggi dan kelebihan ini tidak terdapat pada sistem Ultra Fast LC sebelumnya. *Prominence UFLC* menawarkan kecepatan dan pemisahan

bahkan pada tingkat tekanan normal dengan meningkatkan kinerja kolom dan seluruh sistem serta memperpendek seluruh waktu analisis (40).

Kombinasi Prominence UFLC dan kolom fase terbalik baru mencapai sepuluh kali kecepatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan sistem HPLC konvensional. Selain itu, mekanisme sampel injeksi kecepatan tinggi secara signifikan mengurangi total waktu siklus analisis. Dengan kombinasi ini, Prominence UFLC menawarkan resolusi tiga kali lebih tinggi dari HPLC konvensional sehingga kemungkinan analisis meningkat untuk sampel yang tidak cukup dipisahkan dengan HPLC konvensional (41).

Presisi tinggi pengiriman unit pelarut dan autosampler meningkatkan pengulangan suntikan volume sampel kecil untuk kecepatan tinggi LC, mencapai dan mempertahankan pengulangan yang sangat baik selama tes. Prominence UFLC memiliki kinerja dasar yang unggul. Kolom XR-ODS Shim-pack telah dikembangkan dengan mempertimbangkan pemisahan dan faktor daya tahan serta tekanan yang berlaku (41).

antimikroba terhadap berbagai bakteri gram positif dan gram negatif, serta dermatofit dan ragi. Tonapa (2010) telah melakukan skrining komponen kimia dan uji aktivitas mukolitik dari ekstrak heksan rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan diperoleh fraksi yang mengandung komponen aktif mukolitik (5,6). Polontalo (2011) telah melakukan penelitian tentang skrining aktivitas komponen kimia ekstrak

rimpang bangle terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dan melaporkan bahwa ekstrak heksan dari rimpang bangle lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* daripada ekstrak etanol 70% (7), serta Ekawati (2013) menemukan bahwa fraksi B dari ekstrak n-heksan rimpang bangle (*Zingiber cassmunar* Roxb.) pada konsentrasi 0,2% memiliki daya hambat yang paling tinggi terhadap pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dibandingkan dengan fraksi lainnya (8).

Mukolitik ialah obat yang dapat mengencerkan sekret saluran napas dengan jalan mengurangi atau menghilangkan benang-benang mukoprotein dan mukopolisakarida dari sputum. Contoh mukolitik ialah asetilsistein dan bromheksin. Ekspektoran ialah obat yang dapat merangsang pengeluaran dahak dari saluran napas (ekspektorasi). Mekanisme kerjanya dengan jalan merangsang mukosa lambung dan selanjutnya secara refleksi merangsang sekresi saluran napas, sehingga menurunkan viskositas dan mempermudah pengeluaran dahak (9,10,11). Contoh ekspektoran adalah gliseril guaiakolat, gilseril, dan sirup ipekak (10).

Bioassay-guided isolation merupakan suatu proses pemisahan dari beberapa senyawa dalam matriks, menggunakan berbagai metode analisis, dengan hasil yang diperoleh dari suatu pengujian biologis. Prosesnya diawali dengan menguji ekstrak untuk mengetahui aktivitasnya, dilanjutkan dengan pemisahan senyawa dalam matriks dan pengujian

fraksi. Fraksinasi lanjut dilakukan pada fraksi yang diperoleh dan terbukti aktif pada ambang konsentrasi tertentu, sedangkan fraksi tidak aktif dapat disisihkan. Proses fraksinasi dan pengujian secara biologis diulang hingga diperoleh senyawa yang murni kemudian dilakukan identifikasi struktural terhadap senyawa murni yang diperoleh. Beberapa senyawa aktif telah berhasil diisolasi dengan menggunakan metode ini (12).

Berdasarkan beberapa penelitian di atas, menjadi sangat penting untuk mengetahui senyawa yang berefek mukolitik dari ekstrak heksan rimpang bangle *Zingiber cassumunar* Roxb. sehingga dilakukanlah penelitian fraksinasi ekstrak heksan rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang berefek mukolitik.