RINGKASAN

PENGEMBANGAN METODE ANALISIS SENYAWA MARKER SPESIFIK *PIPER RETROFRACTUM* VAHL. DAN *PIPER NIGRUM* L. DALAM CAMPURAN DENGAN MENGGUNAKAN KLT – DENSITOMETRI DAN VISUALIZER

M. Rezki Dwitya

Kontrol kualitas obat herbal, dalam beberapa kasus, memungkinkan untuk melakukan identifikasi senyawa spesifik, yang biasa disebut senyawa marker yang dapat digunakan untuk membantu pembuatan produk yang konsisten. Senyawa marker adalah senyawa atau golongan senyawa yang dapat digunakan untuk mengontrol konsistensi tiap batch produk jadi tanpa harus mengetahui adanya aktifitas atau tidak senyawa tersebut.

Senyawa marker diklasifikasikan menjadi dua, yang pertama adalah senyawa marker aktif, yaitu senyawa atau golongan senyawa yang diketahui secara umum mempunyai kontribusi dalam aktifitas terapetik. Yang kedua adalah senyawa marker analisis yaitu senyawa atau golongan senyawa yang digunakan untuk tujuan analisis tanpa perlu mengetahui adanya kontribusi aktifitas terapetik atau tidak (Natural Health Product Directorate's Canada, 2012).

Untuk evaluasi gel *polyherbal* yang mengandung *Terminalia arjuna, Centella asiatica* dan *Curcuma longa*, dilakukan identifikasi senyawa marker setiap tanaman pada gel tersebut. Untuk *Curcuma longa*, digunakan s*tandard reference* curcumin sebagai senyawa marker, yang kita ketahui bahwa curcumin merupakan *main component* didalam tanaman tersebut (Patel *et al*., 2011).

Prasaplai merupakan salah satu produk obat herbal tradisional di Thailand yang mengandung empat tanaman yang berada pada dua genus yang sama, yaitu *Piper retrofractum* Blume dan *P. nigrum* L., serta *Zingiber cassumunar* Roxb. dan *Z. officinale* Roscoe. Sehingga untuk melakukan identifikasi senyawa spesifik tanaman yang berada pada genus yang sama, tidak bisa dilakukan mengunakan senyawa utama / senyawa

mayor nya. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan identifikasi tanaman *Piper retrofractum* Blume dan *P. nigrum* L. pada campuran nya berdasarkan senyawa marker karakteristik / senyawa marker spesifik menggunakan instrumen KLT-Densitometri dan *Visualizer*.

Dengan demikian, tujuan dari penelitian ini adalah Mendapatkan metode analisis yang valid untuk penentuan senyawa marker pada formula campuran menggunakan KLT-Densitometri dan *Visualizer*.

Konsentrasi sampel yang digunakan adalah 10.000 ppm dan jumlah larutan yang akan ditotolkan pada plat KLT adalah 35,0 µL. Sedangkan fase gerak yang terpilih adalah n-Heksan, kloroforom (0.5:3.5). Kondisi ini dapat menampakkan senyawa marker spesifik dari tiap tanaman dan memiliki pemisahan yang baik antara senyawa marker spesifik dan senyawa lainnya. Dari hasil eluasi dengan fase gerak terpilih tersebut, senyawa marker spesifik merica hitam memiliki resolusi 0,84, sedangkan senyawa marker spesifik cabe jawa memiliki resolusi 3,60.

Pada penelitian ini, ditentukan senyawa marker spesifik merica hitam berada pada Rf 0,09, sedangkan senyawa marker spesifik pada cabe jawa berada pada Rf 0,52. Dari hasil *scanning* profil spektra, diketahui panjang gelombang maksimum senyawa marker spesifik tanaman merica hitam dan cabe jawa berada pada 340 nm. Selanjutnya, untuk analisis kuantitatif akan dilakukan scanning senyawa marker spesifik masing-masing tanaman pada panjang gelombang tersebut.

Validasi metode analisis merupakan persyaratan utama untuk membuktikan kehandalan dan kesesuaian suatu metode untuk digunakan (Renger, 2006). Pada penelitian ini, validasi yang dilakukan meliputi : Uji stabilitas, presisi, batas deteksi dan batas kuantifikasi, *peak identity* dan *peak purity*, linearitas dan akurasi.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan yaitu : Dengan menggunakan KLT-Densitometri, dapat diperoleh metode analisis yang valid untuk menentukan senyawa marker spesifik *Piper retrofractum* Vahl. dan *Piper nigrum* L. dengan nilai %KV pada tanaman merica hitam adalah 1,12 – 3,96%, untuk cabe jawa adalah 1,12 – 3,91%. Nilai r dari senyawa marker spesifik merica hitam adalah 0,99869 dan untuk senyawa marker speisifk cabe jawa adalah 0,99921. Kemudian %akurasi yang didapatkan untuk tanaman merica hitam adalah 103,87 – 110,80% sedangkan untuk tanaman cabe jawa adalah 102,92 – 106,50%.

ABSTRACT

Analytical Method Development Specific Marker Compounds *Piper retrofractum* Vahl. and *Piper nigrum* L. in mixture using TLC - Densitometry and Visualizer

M. Rezki Dwitya

Piper retrofractum Vahl. and *Piper nigrum* L. are two plants that are in the same genus, which is often used in an herbal remedy. To detect or identify the plants that are in the same genus in a herbal medicine formula, required specific markers that could indicate the existence in a formula. This study aims to obtain a valid analytical method for the determination of specific markers in the mix formula using TLC - densitometry and Visualizer. Concentration of the sample used was 10,000 ppm and application volume injected on TLC plates was 35.0 μL. While the selected mobile phase is n-Hexane, Kloroforom (0.5: 3.5). Specific markers of *Piper nigrum* L. Rf values was found to be 0.09, and for specific markers of *Piper retrofractum* Vahl. was 0.52. The method was found to be precise, specific and accurate and can also be used for identitify both two plants of piper in the one mixture or formulation.

Keywords: analytical method development, method validation, compound specific markers, identification, Piper retrofractum Vahl., Piper nigrum L, thin layer chromatography, densitometry.