

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan tentang Tanaman *Piper retrofractum* Vahl.



**Gambar 2.1** *Piper retrofractum* Vahl. (Tropicalplantbook)

#### 2.1.1 Klasifikasi tanaman

Kingdom : [Plantae](#)  
Subkingdom : [Tracheobionta](#)  
Superdivision : [Spermatophyta](#)  
Division : [Magnoliophyta](#)  
Class : Magnolipsida  
Subclass : Magnoliidae

Order : Piperales  
Family : Piperaceae  
Genus : [Piper L.](#)  
Species : *Piper retrofractum* Vahl  
(United States Department of Agriculture, 2014).

### 2.1.2 Penyebaran dan tempat tumbuh

Cabe jawa memiliki beberapa nama daerah, yaitu: di Sumatera disebut lada panjang, cabai jawa, cabai panjang. Di jawa, namanya cabean, cabe alas, cabe areuy, cabe jawa, cabe sula. Di Madura dinamai cabhi jhamo, cabhi ongghu, cabhi solah, sedangkan di Makassar dikenal dengan nama cabai. Tumbuh di tempat-tempat yang tanahnya tidak lembap dan berpasir seperti di dekat pantai, daerah datar sampai 600 meter di atas permukaan laut (dpl). Tanaman ini dapat tumbuh dan menghasilkan dengan baik di semua jenis lahan kering atau semua jenis tanah di pulau Jawa (Nuraini, 2003).

### 2.1.3 Nama daerah

**Madura** : cabhi jhamo, cabhi ongghu, cabhi solah  
**Jawa** : cabean, cabe alas, cae areuy  
**Sumatera** : cabai panjang  
**Makasar** : cabai  
(Nuraini, 2003).

#### 2.1.4 Kandungan tanaman

Senyawa kimia yang terkandung dalam cabe jawa antara lain asam amino bebas, damar, minyak atsiri, beberapa jenis alkaloid seperti piperine, piperidin, piperatin, piperlonguminine,  $\beta$ -sitosterol, sylvatine, guineensine, piperlongumine, filifiline, sitosterol, methyl piperate, minyak atsiri (terpenoid), n-oktanol, linalool, terpinil asetat, sitronelil asetat, sitral, alkaloid, saponin, polifenol, dan resin (kavisin). Alkaloid utama yang terdapat di dalam buah cabe jawa adalah piperin (Isnawati *et al.*, 2002).

Cabe jawa merupakan salah satu tanaman yang diketahui memiliki efek stimulan terhadap sel-sel syaraf sehingga mampu meningkatkan stamina tubuh. Efek hormonal dari tanaman ini dikenal sebagai afrodisiaka. Berdasarkan penelitian secara ilmiah, cabe jawa digunakan sebagai afrodisiaka karena mempunyai efek androgenik, untuk anabolik, dan sebagai antivirus. Dari suatu tinjauan pustaka dikatakan bahwa secara umum kandungan kimia atau senyawa kimia yang berperan sebagai afrodisiak adalah turunan steroid, saponin, alkaloid, tannin dan senyawa lain yang dapat melancarkan peredaran darah. (Nuraini, 2003).

## 2.2 Tinjauan tentang Tanaman *Piper nigrum* L.



Gambar 2.2 *Piper nigrum* L. (US Departemen of Agriculture)

### 2.2.1 Klasifikasi tanaman

Kingdom	: <a href="#">Plantae</a>
Subkingdom	: <a href="#">Tracheobionta</a>
Superdivision	: <a href="#">Spermatophyta</a>
Division	: <a href="#">Magnoliophyta</a>
Class	: Magnolipsida
Subclass	: Magnoliidae

Order : Piperales  
Family : Piperaceae  
Genus : [Piper L.](#)  
Species : *Piper nigrum* L.

(United States Department of Agriculture, 2014).

### 2.2.2 Nama daerah

**Sumatera** : Koro-koro,lada,lado ketek  
**Madura** : Sakang  
**Jawa** : Merica  
**Maluku** : Marissanmau,emrisan,maricang puwe  
**Sulawesi** : Malita lodawa  
**Bali** : Mica

(Nuraini, 2003).

### 2.2.3 Penyebaran dan tempat tumbuh

Merica hitam (*Piper nigrum*) berasal dari pantai barat Ghats, Malabar, India. Lada dibawa oleh para pendatang Hindu ke Pulau Jawa antara tahun 100 SM dan 600 M. Daerah awal pemasukan tanaman lada di Indonesia tidak diketahui dengan jelas, namun diperkirakan bahwa tanaman lada pertama kali ditanam di daerah Karesidenan Banten (Wahid, 1996).

Penyebaran tanaman lada dari daerah Banten mula-mula mengarah ke timur Pulau Jawa. Di daerah Banten, Jakarta, Cirebon, Jepara, Surakarta dan Yogyakarta, lada pada mulanya diusahakan dalam bentuk perkebunan sampai dengan abad ke-18. Bersamaan dengan itu pengusahaannya dalam

bentuk perkebunan rakyat dimulai di Sumatera (Aceh, Bengkulu, Bangka, Lampung, Sumatera Barat, Sumatera Timur, dan Jambi) serta ke Kalimantan (Pontianak, Banjarmasin, dan Pangkalan Bun di Kalimantan Tengah) (Wahid 1996).

Daerah pengembangan lada saat ini adalah Lampung yang terkenal dengan lada hitamnya (Lampung black pepper), dan Bangka yang lebih dikenal dengan lada putihnya (Muntok white pepper). Selain itu, banyak pengembangan pertanaman lada baru di Kalimantan Barat, Kalimantan Tengah dan Kalimantan Timur, serta Sulawesi Selatan dan Sulawesi Tenggara (Manohara *et al*, 2005).

Merica hitam merupakan tanaman memanjat dari keluarga Piperaceae yang dalam pertumbuhannya dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Batang tanaman lada berbuku-buku dan berbentuk sulur. Sulur panjat tumbuh lebih baik dalam keadaan nisbi udara kurang cahaya (fototrof negatif) sedangkan sulur buah dalam keadaan cukup cahaya (fototrof positif). Intensitas cahaya yang dibutuhkan berkisar dari 50% sampai 75%. Lada dapat tumbuh dengan baik di daerah dengan ketinggian 0-500 m dpl. Curah hujan yang paling baik untuk tanaman lada adalah 2000 - 3000mm/tahun dengan hari hujan 110-170 hari, dan musim kemarau 2-3 bulan/tahun. Kelembapan nisbi udara yang sesuai dari 70% sampai 90% dengan kisaran suhu 25-35<sup>0</sup>C. Tanaman lada dapat tumbuh pada semua jenis tanah, terutama tanah berpasir dan gembur dengan unsur hara yang cukup. Tingkat kemasaman tanah (pH) yang sesuai berkisar 5-6.5. Penggunaan tiang panjat hidup (tajar) dalam budi daya lada akan membantu mengurangi intensitas cahaya yang berlebihan dan akan membuat tanaman berumur lebih panjang karena tanaman tidak didorong

berproduksi lebih sementara input yang diberikan terbatas. Penanaman tanaman penutup tanah akan mengurangi cekaman kekeringan akibat kemarau dan menghambat penyebaran *Phytophthora capsici* selama musim hujan. Pembuatan saluran drainase yang cukup dan terasering yang disesuaikan dengan kondisi lahan diperlukan untuk menghindari genangan air selama musim hujan (Wahyuno, 2009).

#### **2.2.4 Kandungan tanaman**

Senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman *Piper nigrum* antara lain 1,8-Cineol, Acetophenone, Alpha-Pinene, Alpha-Terpineol, Ascorbic-Acid Borneol, Caff eic-Acid, Camphor, Carvone, Caryophyllene, Citral, Citronellal, Citronellol, Eugeno, Eugenol-Methyl-Ether, Gaba, Geranyl-Acetate, Hyperoside, Limonene, Linalool, Linalyl-Acetate, Magnesium, Methyl-Eugenol, Myrcene, Myristicin, Niacin, P-Cymene, Perillaldehyde, Piperidine, Piperine, Quercetin, Quercitrin, Safrole, Stigmaterol, Thiamin, Tocopherol, Zinc (Anonim, 2009).

#### **2.2.5 Manfaat cabe jawa dan merica hitam**

Buah, daun dan akar tanaman Cabe Jawa dapat digunakan untuk pengobatan. Buah yang sudah tua dapat digunakan untuk pengobatan perut kembung, mulas, muntah-muntah, diaforetik, karminatif, merangsang nafsu makan, demam, influenza, migren, peluruh keringat, encok, infeksi pada hati, tekanan darah rendah, urat saraf lemah, sukar bersalin, dan sebagai afrodisiaka. Akar dapat digunakan untuk sakit gigi, luka, dan kejang, sedangkan daunnya untuk obat kumur. Di India, Afrika Utara, Afrika

Timur, dan Asia Tenggara, Cabe Jawa juga digunakan untuk bumbu masak.

## **2.3 Tinjauan Umum Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

### **2.3.1 Definisi KLT**

KLT adalah metode yang baik untuk memisahkan campuran senyawa yang berbeda polaritas nya (Gabriela, 2010). KLT merupakan metode kromatografi cair dimana sampel diberikan berbentuk spot kecil atau garis pada plat penyerap pada kaca, plastik atau plat logam. Fase gerak migrasi melalui fase diam melalui lubang kapiler, kadang dibantu oleh gravitasi tekanan. Fase gerak pada metode KLT dapat terdiri dari pelarut tunggal atau campuran pelarut organik. Saat ini, telah banyak penyerap yang dapat digunakan antara lain silika gel, selulosa, alumina, poliamida, penukar ion dan ikatan kimia yang dilapisi pada kaca atau polyester atau lembaran aluminium (Fried dan Sherma, 1999). KLT juga dapat dikembangkan menjadi *fingerprinting* kromatografi yang digunakan untuk identifikasi (Gabriela, 2010; Wagner *et al.*, 1996) dan kontrol kualitas ekstrak tanaman (Liang *et al.*, 2004).

### **2.3.2 Keuntungan metode KLT**

Keuntungan menggunakan KLT sebagai penentuan senyawa marker spesifik tanaman pada obat herbal : lebih sederhana, fleksibel, lebih cepat, kepekaan tertentu, dan preparasi sampel yang lebih sederhana (Liang *et al.*, 2004).



### 2.3.3 Prinsip pemisahan pada KLT

Pemisahan senyawa pada kromatografi dipengaruhi oleh kombinasi sifat kinetik dan termodinamik. Sifat termodinamik bertanggung jawab atas nilai retensi dan selektivitas. Sedangkan sifat kinetik menentukan pelebaran zona selama pemisahan (Spangenberg, 2011; Poole, 1992).

Pada saat pemisahan campuran komponen, setiap senyawa terdistribusi dan berinteraksi pada kedua fase, yakni fase diam dan fase gerak. Interaksi komponen senyawa dengan kedua fase meliputi dua mekanisme yakni adsorpsi dan partisi (Spangenberg, 2011).

Adsorpsi merupakan fenomena permukaan. Adsorpsi pada KLT terjadi pada permukaan partikel fase diam yang kontak dengan fase gerak. Dalam mekanisme adsorpsi dapat terjadi ikatan *van der waal's* interaksi dipol-dipol dan interaksi ion kompleks seperti ikatan hidrogen. Penerapan pemisahan pada kromatografi, mekanisme adsorpsi harus bersifat *reversible* dan hanya interaksi fisika. Sedangkan, pada kromatografi partisi, pemisahan tergantung pada kelarutan senyawa pada dua eluen yang tidak saling larut (Spangenberg, 2011).

Parameter yang digunakan untuk menunjukkan letak noda adalah  $R_f$ , didapatkan dari rasio perbandingan :

$$R_f = \frac{\text{Jarak migrasi komponen}}{\text{Jarak migrasi fase gerak}}$$

Harga  $R_f$  mulai dari 0 (solut berada di titik penotolan) sampai 0,999 (solute berada digaris akhir fase gerak).

### 2.3.4 Metode deteksi pada KLT ( Wall, 2005)

#### 1. Teknik *non-destructive*

##### a. Deteksi *visible*

Deteksi ini digunakan untuk senyawa yang mempunyai warna, misalnya pewarna alami dan sintesis dan senyawa nitrofenol.

##### b. Deteksi UV

Dalam membantu metode deteksi ini, plat mengandung indikator senyawa inorganik fosforesensi atau indikator senyawa organik fluoresensi. Proses fluoresensi diakibatkan gelombang elektromagnetik yang memancarkan energi yang dibawa transisi elektron dari *ground state* yang eksitasi *singlet state*. Eksitasi elektron kembali pada *ground state* mengemisikan energi pada panjang gelombang *visible*. Fosforesensi memiliki perbedaan dengan fluoresensi, elektron kembali pada keadaan *ground state* melalui keadaan *triplet*.

#### 2. Reaksi *reversible*

##### a. Iodin

Iodin merupakan reagent yang sangat berguna untuk mendeteksi keberadaan berbagai analit organik pada plat.

##### b. Amonia

Reagen amonia sering digunakan bersama reagen lain untuk meningkatkan deteksi noda, antara lain *bromocresol green* dan *bromocresol blue*.

### 3. Reaksi non-reversible

#### a. Fluoresen

Metode ini digunakan untuk mendeteksi senyawa organik substansial, salah satu reagen yang sering digunakan adalah *fluorescein* digunakan untuk mendeteksi Lipid, purin, pyrimidin, barbiturate, senyawa tak jenuh, klorinasi hidrokarbon dan heterosiklik.

#### b. Indikator pH

Indikator ini hanya digunakan untuk mendeteksi keberadaan senyawa asam dan basa. Reagen yang sering digunakan adalah *sulfonthalein*.

### 4. Teknik *destructive*

#### a. Reaksi *Charring*

Metode reaksi *charring* biasanya digunakan reagen yang sesuai kemudian diikuti dengan pemanasan pada temperatur tinggi untuk merusak beberapa senyawa organik.

#### b. Aktivasi *thermochemical*

Metode ini membutuhkan pemanasan pada suhu tinggi untuk merubah senyawa agar dapat berfluoresensi pada paparan lampu UV.

### 5. Derivatisasi

Metode ini menggunakan reagen untuk mereaksikan analit agar noda pada plat dapat terlihat. Metode ini terbagi menjadi dua: analit direaksikan setelah dikromatografi dan direaksikan sebelum dikromatografi.

## 2.4 Tinjauan Umum Densitometri

Densitometri merupakan metode analisis instrumental yang berdasarkan interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit ditentukan adalah absorbs, transmisi, pantulan (refleksi) pendar fluor atau pemadaman pendar fluor dari radiasi semula. Perajah dari densitometri akan mengubah noda yang dibacanya menjadi kromatogram yang terdiri dari deretan puncak. Letak noda sesuai dengan jarak tempuh noda dan tinggi atau luas puncak sebanding dengan kadar analit pada noda yang bersangkutan (Mulya dan Suharman, 1995).

Densitometer dioperasikan dengan sistem optis transmisi dan reflektan. Komponen – komponen yang berwarna yang tidak menyerap sinar ultraviolet dapat dianalisis dengan pantulan absorbs pada panjang gelombang sinar tampak (visible) menggunakan sistem optis reflektan dan transmisi. Komponen – komponen tidak berwarna akan menyerap ultraviolet, dapat dianalisis dengan mengukur absorbansi sinar ultraviolet yang direfleksikan (Touchstone dan Dobbins, 1983)

## 2.5 Tinjauan Ekstraksi dengan Microwave

Apabila dibandingkan dengan ekstraksi sonikasi, ekstraksi dengan microwave memiliki beberapa kelebihan:

1. Mengurangi penggunaan pelarut
2. Tingkat efisiensi yang lebih tinggi
3. Mengurangi waktu ekstraksi
4. Peningkatan kemampuan analisis seperti: %perolehan kembali dan keterulangan.

## 2.6 Validasi Metode

Pengembangan metode analisis memerlukan syarat yang menyatakan bahwa metode yang digunakan untuk analisis harus tervalidasi. Validasi analisis merupakan persyaratan utama untuk membuktikan kehandalan dan kesesuaian suatu metode untuk digunakan (Renger *et al*, 2006). Pada penelitian ini, validasi yang dilakukan meliputi : Uji stabilitas, presisi, *peak identity* dan *peak purity*, batas deteksi dan batas kuantitasi, linearitas dan akurasi.

### 2.6.1 Uji stabilitas

Untuk memulai membuat prosedur analisis menggunakan KLT tahap terpenting adalah mengecek kestabilan senyawa dalam setiap step prosedur (Renger *et al.*, 2006). Stabilitas yang perlu diuji adalah stabilitas dalam pelarut dan dalam plat KLT. Parameter yang digunakan sebagai uji stabilitas dalam pelarut, apabila tidak ada perbedaan noda pada sampel larutan yang ditotolkan dengan penyimpanan dengan sampel yang baru dilarutkan dan segera ditotolkan. Sedangkan uji stabilitas plat, jika noda yang terbentuk dengan KLT bidimensional membentuk garis longitudinal (Riech *et al.*, 2008).

### 2.6.2 Presisi

Presisi dibagi menjadi tiga kategori: *repeatability*, *intermediate precision*, dan *reproducibility*. *Repeatability* ditentukan ketika analisis dilakukan di satu laboratorium oleh satu analis, dengan peralatan kerja yang sama dan dilakukan dalam satu hari kerja. *Intermediate precision* diperoleh ketika analisis dilakukan dalam satu laboratorium yang sama

oleh analis yang berbeda selama beberapa hari atau minggu, dengan peralatan kerja yang berbeda. *Reproducibility* diperoleh dari hasil yang diukur dalam laboratorium yang berbeda dengan tujuan memverifikasi metode, apakah dapat memperoleh hasil yang sama dengan fasilitas yang berbeda. Kriteria penerimaan (nilai RSD) uji presisi adalah  $\leq 2\%$ . (Indrayanto dan Yuwono, 2005).

### **2.6.3 Peak identity dan peak purity**

Untuk mendeteksi interaksi dari senyawa lain, kemurnian puncak analit harus ditentukan. Konsekuensi dari persyaratan ini adalah bahwa resolusi analit dari komponen lain harus lebih dari 1,5-2,0. Spektrum UV-Vis dari puncak dapat digunakan untuk menentukan kemurnian dari puncak tersebut, dalam hal ini koefisien korelasi “r” (istilah ini digunakan oleh software DAD System Manager Hitachi dan WinCATS dari CAMAG). Jika nilai r adalah 0.0000-0.8900 maka puncak tersebut tidak murni, dan apabila nilai r adalah 0.9000-0.9500 berarti peak tersebut terkontaminasi. Untuk menentukan identitas puncak, maka data seluruh puncak standar dan analit harus dibandingkan, nilai r atau Match Factor dapat dihitung dengan menggunakan perangkat lunak dari KCKT/KLT-Densitometer. (Indrayanto dan Yuwono, 2005).

### **2.6.4 Batas deteksi dan batas kuantitasi**

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari sebuah analit yang dapat dideteksi dalam kondisi analisis yang digunakan. Keberadaan analit dapat dilihat pada batas deteksi, namun konsentrasi batas deteksi tidak dapat diukur secara kuantitatif. Batas kuantifikasi adalah

konsentrasi terendah yang bisa ditentukan dengan akurasi yang diterima dan presisi dalam kondisi analisis. Umumnya, batas kuantifikasi dapat diperkirakan sebagai tiga kali lipat batas deteksi. Dengan menggunakan analisis regresi linear pada konsentrasi analit yang relatif rendah dan menghitung nilai  $X_p$ , batas deteksi dapat ditentukan sebagai  $\frac{1}{4}$  dari  $X_p$ . Disarankan menggunakan 5-10 sampel pada konsentrasi analit yang relatif rendah untuk menentukan  $X_p$  dengan cara pengenceran sampai tidak ada respon terdeteksi dari analit tersebut. Dalam hal ini, persyaratan parameter linearitas ( $V_{x0}$ ,  $r$ , nilai  $X_p$ , dll) dari garis regresi harus dipenuhi sebelum batas deteksi dapat diperkirakan dengan menggunakan nilai  $X_p$ . (Indrayanto dan Yuwono, 2005).

### 2.6.5 Linearitas

Penentuan linearitas dilakukan dengan menggunakan minimal lima macam konsentrasi dimana kelima macam konsentrasi tersebut berkisar antara 80-120% dari kadar analit yang diperkirakan. Sebagai parameter adanya hubungan linear atau tidak digunakan koefisien korelasi  $r$  pada analisis regresi linear,

$y = bx + a$ , harga  $r$  yang diharapkan lebih besar dari  $r$  tabel (Carr, 1990). Parameter yang perlu ditentukan adalah deviasi rata-rata dari garis regresi ( $S_y$ ), standar deviasi fungsi ( $S_{x0}$ ), dan koefisien variasi dari fungsi ( $V_{x0}$ ). Persamaan yang mempunyai nilai  $V_{x0}$  paling kecil dapat dipilih untuk analisis selanjutnya. Harga  $V_{x0}$  sebaiknya tidak lebih dari 5%. Harga  $r$  lebih besar dari  $r$  tabel tidak menjamin bahwa kurva linear yang diperoleh mempunyai harga  $V_{x0}$  yang baik (Indrayanto dan Yuwono, 2005)

Persamaan-persamaan tersebut dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$S_y = \sqrt{\frac{\sum (Y_i - \bar{Y})^2}{n - 2}} \quad \text{keterangan : } Y_i = bx + a$$

$$S_{x_o} = \frac{S_y}{b}$$

$$V_{x_o} = \frac{S_{x_o}}{\bar{x}} \times 100\%$$

### 2.6.6 Akurasi

ICH mendefinisikan akurasi prosedur analisis sebagai kedekatan antara nilai sebenarnya yang diketahui dan nilai yang diperoleh. Akurasi juga dapat digambarkan sebagai sejauh mana hasil dari metode yang digunakan dengan nilai sebenarnya yang diketahui. Penilaian akurasi dapat dilakukan dengan beberapa cara. Salah satunya adalah dengan membandingkan hasil dari metode yang dibuat dengan hasil dari metode referensi yang sudah ditetapkan. Pendekatan ini mengasumsikan bahwa ketidakpastian dari metode referensi diketahui. Kedua, akurasi dapat dinilai dengan menganalisis sampel yang sudah diketahui konsentrasinya (misalnya, sampel kontrol atau material referensi yang terjamin) dan membandingkan nilai yang terukur dengan nilai yang sebenarnya seperti yang terdapat pada material (Huber, 2007).