

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Tanaman *Kaempferia galanga L*

Kencur (*Kaempferia galanga L*) merupakan tanaman tropis yang banyak tumbuh diberbagai daerah di Indonesia sebagai tanaman yang dipelihara. Tanaman ini banyak digunakan sebagai ramuan obat tradisional dan sebagai bumbu dalam masakan sehingga para petani banyak yang membudidayakan tanaman kencur sebagai hasil pertanian yang diperdagangkan dalam jumlah yang besar. Bagian dari tanaman kencur yang diperdagangkan adalah buah akar yang tinggal didalam tanah yang disebut dengan rimpang kencur atau rizoma (Soeprapto,1986).

2.1.1 Klasifikasi tanaman (Van Steenis, 1947)

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: <i>Kaempferia</i>
Spesies	: <i>Kaempferia galanga L</i>



Gambar 2.1 : Tanaman *Kaempferia galanga* L
 Sumber : <http://dbreexportsindia.tradeindia.com>

2.1.2. Nama Daerah

Cekur, cekuo, cengkor, cakue, kencor, tekur, sikor, soku, sikuku, sokung, kopuk, bataka, sogi, mauli, umpu, watan, humo poto, ukap, onegai (Depkes RI, 1997).

2.1.3. Lokasi Tumbuh

Kencur tumbuh pada dataran rendah hingga tinggi dengan rata-rata ketinggian antara 80-700m diatas permukaan laut. Kencur akan tumbuh dengan baik pada tanah yang gembur dan lebih baik lagi kencur ditanam dengan pantauan (perkebunan) (Syukur *et al*, 2001).

2.1.4. Deskripsi Tanaman (Depkes RI, 1989)

Habitus : Terna yang hampir menutup tanah, tidak berbatang, rimpang bercabang dan berdesak-desakan.

Daun : Daun kencur berbentuk bulat lebar, tumbuh mendatar diatas permukaan tanah dengan jumlah daun tiga sampai empat helai. Permukaan daun sebelah atas

berwarna hijau sedangkan sebelah bawah berwarna hijau pucat. Panjang daun berukuran 10 – 12 cm dengan lebar 8 – 10 cm mempunyai sirip daun yang tipis dari pangkal daun tanpa tulang tulang induk daun yang nyata

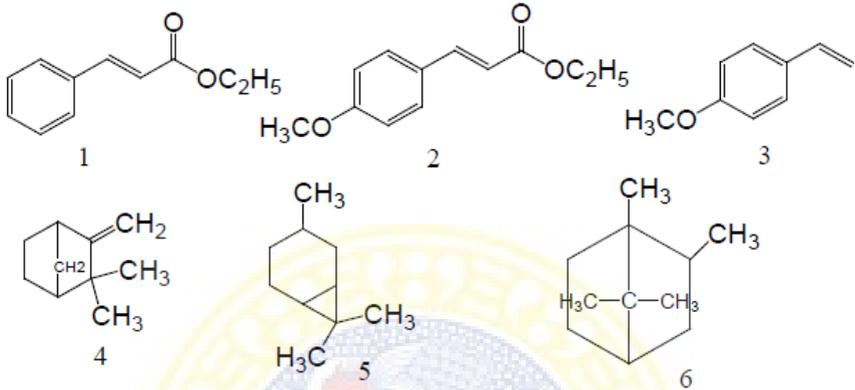
- Bunga : Perbungaan, panjang 4cm dan mengandung 4 sampai 12 bunga. Kelopak berbentuk tabung, panjang lebih kurang 3cm, bergerigi 2 sampai 3 buah. Tajuk berwarna putih dengan tabung panjang 2,5cm sampai 5cm, ujung berbelah-belah berbentuk pita, panjang 2,5cm sampai 3cm, lebar 1,5mm sampai 3mm
- Akar : Akar berbentuk gelendong, kadang-kadang berumbi, panjang 1cm sampai 1,5cm
- Rimpang: rimpang pendek berwarna coklat, berbentuk jari dan tumpul. Bagian luarnya seperti bersisik. Daging rimpang tidak keras, rapuh, mudah patah dan bergetah. Berbau harum dengan rasa pedas yang khas

2.1.5. Kegunaan tanaman

Kencur telah dimanfaatkan cukup banyak sebagai tonikum yaitu sebagai obat bengkak-bengkak, reumatik, obat batuk, obat sakit perut, menghilangkan keringat, penambah nafsu makan, infeksi bakteri, ekspektoran (memperlancar keluarnya dahak), disentri, karminatif, mengahngatkan badan, pelangsing, penyegar, mengobati luka dan bengkak perut, encok. Rimpang kencur berkhasiat untuk obat batuk, pengompresan bengkak, penambah nafsu makan dan juga sebagai minuman segar (Rukmana, 1994).

2.1.6. Kandungan kimia

Kandungan kimia rimpang kencur telah dilaporkan oleh Afriastini,1990 yaitu (1) etil sinamat, (2) etil p-metoksisinamat, (3) p-metoksistiren, (4) kareneol, dan (5) borneol, dan (6) parafin

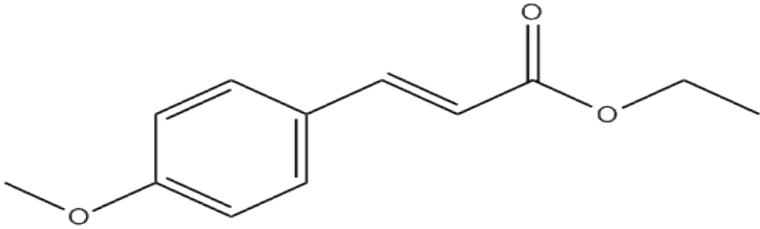


Gambar 2.2 Struktur berbagai senyawa dalam kencur

Diantara kandungan kimia ini, etil p-metoksisinamat merupakan komponen utama dari kencur (Afriastini,1990). Tanaman kencur mempunyai kandungan kimia antara lain minyak atsiri 2,4-2,9% yang terjadi atas etil parametoksi sinamat (30%). Kamfer, borneol, sineol, penta dekana. Adanya kandungan etil para metoksi sinamat dalam kencur yang merupakan senyawa turunan sinamat (Inayatullah,1997 dan Jani, 1993).

2.1.7. Kandungan EPMS pada *Kaempferia galanga L.*

Isolat EPMS didapat dari proses isolasi rimpang kencur yang termasuk dalam golongan senyawa ester yang mengandung cincin benzena dan gugus metoksi yang bersifat nonpolar dan juga gugus karbonil yang mengikat etil yang bersifat sedikit polar sehingga dalam ekstraksinya dapat menggunakan pelarut-pelarut yang mempunyai variasi kepolaran yaitu etanol, etil asetat, metanol, air, dan heksana (Barus, 2009)



Gambar 2.3 Struktur Senyawa Etil p-metoksisinamat (Ekowati *et al*, 2009)

2.2. Tinjauan Metode Ekstraksi (Dirjen POM, 2000).

1. Cara dingin

a. Maserasi

Penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai pada temperatur kamar, terlindung dari cahaya. Cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel .

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperaut ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi

sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2. Cara panas

a. Refluks

ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Ekstraksi refluks digunakan untuk mengekstraksi bahan-bahan yang tahan terhadap pemanasan

b. Soxhlet

Soxhlet adalah suatu metode ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50 °C.

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98 °C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (≤ 30 °C) dan temperatur sampai titik didih air.

3. Cara Ekstraksi Lainnya

a. Ekstraksi Berkesinambungan

Proses ekstraksi yang dilakukan berulang kali dengan pelarut yang berbeda atau resirkulasi cairan pelarut dan prosesnya tersusun berurutan beberapa kali. Proses ini dilakukan untuk meningkatkan efisiensi jenis pelarut dan dirancang untuk bahan dalam jumlah besar yang terbagi dalam beberapa bejana ekstraksi (Dirjen POM, 2000).

b. Superkritikal Karbondioksida

Penggunaan prinsip superkritik untuk ekstraksi serbuk simplisia, dan umumnya digunakan gas karbondioksida. Dengan variabel tekanan dan temperatur akan diperoleh spesifikasi kondisi polaritas tertentu yang sesuai untuk melarutkan golongan senyawa kandungan tertentu. Penghilangan cairan pelarut dengan mudah dilakukan karena karbondioksida menguap dengan mudah, sehingga hampir langsung diperoleh ekstrak (Dirjen POM, 2000).

c. Ekstraksi Ultrasonik

Getaran ultrasonic (> 20.000 Hz.) memberikan efek pada proses ekstrak dengan prinsip meningkatkan permeabilitas dinding sel, menimbulkan gelembung spontan (cavitation) sebagai stress dinamik (Dirjen POM, 2000).

d. Ekstraksi dengan Microwave

Ekstraksi dengan microwave melibatkan penggunaan radiasi microwave untuk melakukan reaksi kimia. Gelombang mikro terletak pada spektrum elektromagnetik antara gelombang inframerah dan gelombang radio. Radiasi microwave memiliki panjang gelombang antara 0,01 dan 1

meter, dan beroperasi di rentang frekuensi antara 0,3 dan 30 Ghz (Dhingra, 2010).

2.3. Tinjauan tentang liposom

Liposom merupakan suatu vesikel yang tersusun atas inti air yang diselubungi membran berupa molekul lipid, biasanya fosfolipid. Liposom terbentuk secara spontan jika lipid didispersikan dalam medium cair, menghasilkan ukuran yang bervariasi mulai dari puluhan nanometer hingga puluhan mikrometer. Macam fosfolipid antara lain adalah fosfatidylcholin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin dan fosfatidinositol. (Sharma, 1997)

Keuntungan Liposom (Anwekar, 2011).

1. Liposom meningkatkan efikasi dan indeks terapeutik dari obat
2. Liposom meningkatkan stabilitas dengan cara *encapsulation*
3. Mengurangi efek samping

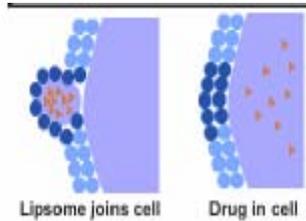
Kekurangan Liposom

Liposom mempunyai membran yang terdapat pada *vesicle* yang tidak tahan pada pH ekstrim yang dapat rusak dan mengakibatkan stabilitas liposom turun. Secara tidak langsung dapat menurunkan aktivitas obat tersebut (Maestrelli, 2005)

2.3.1. Ukuran dan Proses Pembentukan Liposom

Jumlah lapisan membran dan diameter liposom ditentukan oleh cara pembuatan dan komposisi lipid. Contohnya, liposom yang tersusun atas EPC dan kolesterol akan memiliki diameter lebih besar (100-200 nm) dari pada liposom yang hanya tersusun atas EPC (<100 nm). Liposom yang dibuat dengan cara hidrasi spontan akan berbentuk multilamellar dan berukuran besar (LMV,MLV). Ukuran liposom dapat diperkecil menjadi SUV dengan cara ekstrusi melalui membran polikarbonat 100nm atau dengan sonikasi menggunakan probe atau sonikasi dalam air. Dialisis terhadap *mixed-micelles* dengan deterjen, perubahan pH, dan penambahan kalsium akan menghasilkan LUV yang dapat diubah menjadi SUV dengan sonikasi. Jadi jumlah dan jenis lipid yang digunakan mempengaruhi ukuran partikel dan persen terjerap (Mayer, 1986).

Liposom sebagai pembawa obat (*drug-carrier*) telah dipatenkan di Jerman pada tahun 1943 berupa campuran cair antara lesitin dan kolesterol. Sebagai pembawa obat, liposom dapat membawa molekul obat dengan berbagai cara yaitu terikat dengan membran liposom. Terinteraksi di antara lipid layer, terlarut dalam fase lipid atau terlarut didalam vesikel.

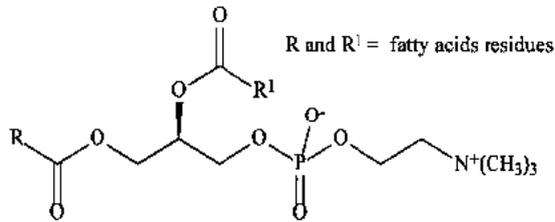


Gambar 2.4 Mekanisme penetrasi liposom

Liposom dapat membawa obat ke target tertentu, misalnya Long-circulating liposomes merupakan liposom dengan target selektif pada area patologis tertentu dalam tubuh. Liposom juga dapat meningkatkan efektifitas obat. Aplikasi lainnya liposom dapat melarutkan obat lipofilik yang sulit diberikan intravena sehingga lebih mudah diberikan. Stabilitas liposom meliputi stabilitas kimia material komponennya (lipid dan obat) serta stabilitas fisik, yaitu karakteristik liposom seperti ukuran partikel, zeta potensial, persen penyerapan.. Integritas liposom dapat terganggu oleh degradasi lipid (oksidasi lemak tak jenuh, hidrolisi, dan fusi vesikel) (Anwekar, 2011).

2.4. Tinjauan tentang *Phosphatidylcholine* sebagai Fase Lipid

Fosfatidilkolin adalah sebuah fosfolipid yang mana fosfolipid tersebut merupakan konstituen utama seluruh membran. Fosfatidilkolin juga disebut 1,2-diasil-3-gliserol-3-foskokolin. Fosfatidilkolin digambarkan dengan struktur kimia seperti di bawah ini :



Gambar 2.5 Struktur kimia fosfatidilkolin

Fosfatidilkolin yaitu suatu fosfolipid yang merupakan komponen utama dari fraksi phosphatide yang dapat diisolasi baik dari kuning telur, atau kacang kedelai. Fosfatidilkolin tersedia secara komersial dalam kemurnian tinggi sebagai suplemen makanan dan untuk keperluan medis. PC dianggap sebagai emulsifier yang ditoleransi dengan baik dan tidak beracun

2.5. Metode Preparasi

Preparasi liposom bisa dilakukan dengan berbagai cara, ada dua cara yang umum dilakukan yaitu dengan metode *thin film* dan injeksi.

1. Metode *Thin Film* (Rana *et al*, 2012)

Fase lipid diuapkan menggunakan vacum bertekanan rendah agar solven atau pelarut lipid menguap. Setelah solven teruapkan sempurna akan terbentuk lipid lapis tipis pada dinding labu. Lalu lipid dihidrasi dengan fase air hingga terbentuk sistem liposom. Metode ini menghasilkan tipe MLV (*Multilamellar Vesicle*)

2. Metode Injeksi (Meure, 2008; Deamer, 1978)

Fase lipid dengan pelarut organik diteteskan fase air secara perlahan dengan dibantu homogenizer agar terbentuk droplet liposom. Penjebakan tidak terjadi secara spontan melainkan penjebakan dengan menggunakan alat seperti *High Pressure Homogenization*. Metode ini menghasilkan tipe SUV (*Small unilamellar vesicle*)

2.5.1. Tinjauan tentang Ultra-turrax IKA T-25 ULTRA-TURRAX sebagai *High Pressure Homogenization*.

Homogenizer adalah alat yang digunakan untuk mendispersikan suatu cairan didalam cairan lainnya, alat ini cocok digunakan untuk membuat emulsi atau suspensi dengan kestabilan tinggi karena dapat menghasilkan emulsi yang berukuran partikel lebih kecil dari satu micron serta seragam.

2.6. Tinjauan tentang Karakteristik Liposom

Karakteristik liposom meliputi ukuran partikel, persen penjerapan, dan zeta potensial. Ukuran partikel menggambarkan ukuran droplet yang terbentuk atas hidrasi fase lipid oleh fase air. Setiap perbedaan metode pembuatan liposom mempengaruhi ukuran dan bentuk droplet (Mayer, 1986). Ukuran partikel liposom dapat diukur menggunakan SEM *Scanning Electron Microscopy*. Persen penjerapan menggambarkan kemampuan liposom dalam menjerap bahan aktif. Persen penjerapan didapatkan dari pemisahan *non-entrapped drug* dengan *entrapped drug* dengan teknik dialisis (Maestrelli *et al*, 2005). Yang selanjutnya nilai persen penjerapan didapatkan dengan penetapan kadar bahan aktif dengan menggunakan metode kromatografi. Zeta

potensial merupakan parameter yang menggambarkan tingkat agregasi dari sediaan liposom. Nilai zeta potensial menunjukkan stabilitas dari droplet liposom.

2.6.1. Tinjauan tentang Scanning Electron Microscopy (SEM)

Merk FEI, Type: Inspect- S50

Scanning Electron Microscope (SEM) adalah sebuah mikroskop elektron yang didesain untuk mengamati permukaan objek solid secara langsung. SEM memiliki perbesaran 10 – 3.000.000 kali, depth of field 4 – 0.4 mm dan resolusi sebesar 1 – 10 nm. Kombinasi dari perbesaran yang tinggi, depth of field yang besar, resolusi yang baik, kemampuan untuk mengetahui komposisi dan informasi kristalografi membuat SEM banyak digunakan untuk keperluan penelitian dan industri. SEM memfokuskan sinar elektron (electron beam) di permukaan obyek dan mengambil gambarnya dengan mendeteksi elektron yang muncul dari permukaan obyek (McMullan, 2006).

2.7. Tinjauan tentang Persen Penjerapan (*Entrapment efficiency %*)

Persen penjerapan liposom didapatkan dengan memisahkan *non-entrapped drug* dengan cara dialisis. Pemisahan ini dilakukan dengan cara memisahkan liposom dari fase luarnya menggunakan teknik *centrifuge*. Setelah proses pemisahan secara teknis didapatkan *Entrapped drug* dan dilanjutkan penetapan kadar menggunakan KLT densitometri untuk mendapatkan nilai persen penjerapan (Maestrelli *et al*, 2005).

Uraian	Volume (ml)	Waktu (menit)	Kecepatan (rpm)	Tempo (jam)	Tempo (hari)
Uraian	0.050-0.020	0.030-0.020	13	2-52	00
Uraian	0.050-0.020	0.050-0.020	13	2-52	00
Uraian	0.050-0.040	0.050-0.040	1-2	20-1025	

MLV	Mechanical mixing	0.4-3.5	³² Pn _a , carboxyfluorescein, glucose albumin, DNA	1-8.5	56-89
MLV	Sonicate-freeze-thaw	0.17-0.26	Asparaginase	50-56	91
MLV	Freeze-thaw	0.5-5.0	³² Pn _a , insulin	35-88	89
MLV	Sonicate-dehydrate-rehydrate	0.3-2.0	Carboxyfluorescein, sucrose, albumin, Factor VIII, ATP, vincristine, melphalan	27-54	56
MLV	Solvent evaporation-sonication	0.3-2.0	Insulin, streptomycin sulfate, chloramphenicol, oxytetracycline sulfamerazine	6.3-38	84

Gambar 2.6 Tabel hasil riset persen penjerapan MLV dan SUV

2.7.1. Tinjauan Tentang *Centrifuge*

Centrifuge adalah alat yang digunakan untuk memisahkan bahan tersuspensi dari medianya. Prinsip kerja centrifuge adalah dengan memanfaatkan gaya centrifugal sehingga bahan tersebut terpisah. Hal ini dilakukan dengan cara memutar campuran dengan sangat cepat dan bertumpu pada titik pusat. Centrifuge sering sekali digunakan untuk memisahkan suatu padatan dari cairan misalnya memisahkan plasma dari sel darah (James *et al*,2000).

2.7.2. Tinjauan Umum Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

2.7.2.1. Definisi KLT

Kromatografi Lapis Tipis adalah metode kromatografi atau pemisahan yang paling sederhana. Pemisahan ini didasarkan atas migrasi atau pergerakan analit atau sampel yang disempatkan pada media plate (fase diam) dengan satu sisi dicelupkan kedalam eluent (fase gerak) pada wadah yang tertutup rapat (Center for Drug Evaluation and Research (CDER)1994). Teknik pemisahan pada KLT berdasarkan perbedaan sifat polaritasnya (Gabriela, 2010). Fase gerak atau solvent dapat terdiri dari pelarut tunggal atau pelarut campuran. Sedangkan fase diam biasanya berupa plate yang telah dilapisi silika gel sebagai tempat pengaplikasian atau penotolan analit. Saat ini, telah banyak fase diam 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 and Sherma, 1999).

2.7.2.2. Keuntungan metode KLT

Keuntungan menggunakan KLT lebih selektif dengan sampel multi kompon seperti ekstrak. KLT sistemnya terbuka contohnya pemisahan dapat dikontrol dengan pemilihan eluen. Pada penelitian ini menggunakan ekstrak sebagai sampel. Ekstrak merupakan multikompon dan kelarutan menjadi hal pertimbangan jika menggunakan HPLC karena ditakutkan jika komponen ekstrak tidak terlarut sempurna artinya tidak molekular maka kolom pada HPLC mengalami kebuntuan. KLT Lebih sederhana, fleksibel, lebih cepat, kepekaan tertentu, dan preparasi sampel yang lebih sederhana (Liang *et al.*, 2004).

2.7.2.3. Prinsip pemisahan pada KLT

Pemisahan senyawa pada kromatografi dipengaruhi oleh kombinasi sifat kinetik dan termodinamik. Sifat termodinamik bertanggung jawab atas nilai retensi dan selektifitas. 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 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 bersifar *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

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Harga R_f mulai dari 0 (solut berada di titik penolatan) sampai 0,999 (solute berada digaris akhir fase gerak). Nilai R_f yang dapat diterima mulai dari 0,2 – 0,8 (Kowalska dan Prus, 2010).

2.7.2.4. Metode deteksi pada KLT (Wall, 2005)

1. Teknik *non-destructive*

a. Deteksi *visible*

Deteksi ini digunakan pada 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-reveribel

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.

2.7.3 Tinjauan Umum Densitometri

Densitometri merupakan metode analisis instrumental yang berdasarkan interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit yaitu absorbs, transmisi, pantulan (refleksi) pendar fluor atau pemadaman pendar fluor dari radiasi semula. Densitometri mengubah banyaknya noda menjadi peak yang berderet sesuai banyaknya noda yang muncul. Letak noda sesuai dengan jarak tempuh noda dan tinggi atau luas puncak sebanding dengan kadar analit pada noda yang bersangkutan (Mulya, M dan Suharna 1995).

Densitometri 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).

2.7.4 Parameter Analisis Penetapan Kadar EPMS (TLC)

2.7.4.1. Presisi

Presisi adalah ukuran seberapa dekat nilai data satu sama lain dengan melihat pengukuran di bawah kondisi analisis yang sama. Terdapat tiga macam presisi antara lain *Repeatability*, *Intermediate Precision*, dan *Reproducibility*.

a. Repeatability

Repeatabilitas menyatakan keterulangan yang dilakukan pada laboratorium yang sama pada rentang waktu yang singkat dan dilakukan oleh analis yang sama dengan menggunakan pereaksi yang sama.

Tujuan parameter ini adalah melihat konsistensi analisis, kesulitan metode, kesesuaian metode dan contoh uji (*Center for Drug Evaluation and Research (CDER)1994*).

b. Intermediate Precision

Presisi antara menyatakan presisi yang dilakukan pada laboratorium yang sama pada hari yang berbeda oleh analisis yang berbeda. Tujuan parameter ini adalah untuk memastikan pada laboratorium yang sama metode akan menyediakan hasil yang tidak berbeda nyata (*Center for Drug Evaluation and Research (CDER)1994*).

c. Reproducibility

Seperti yang didefinisikan oleh ICH, reprodusibilitas mengungkapkan presisi antara laboratorium seperti dalam penelitian kolaboratif. Jadi reprodusibilitas menunjukkan bahwa metode ini reproducible dapat diulang dan dapat menjamin hasil yang sama. (*Center for Drug Evaluation and Research (CDER)1994*).

2.7.4.2. Linearitas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Evaluasi linieritas paling baik dicirikan dengan metode uji kurva respon. Suatu alur yang menyatakan hubungan antara konsentrasi analit dengan responnya seringkali linier pada konsentrasi tertentu. Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk

selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan [slope], intersep, dan koefisien korelasinya.

2.7.4.3. Spesifisitas

Pada analisis penetapan kadar hal yang harus diperhatikan adalah spesifisitas. Spesifisitas menunjukkan derajat kesamaan atau kemiripan antar analit. Dalam analisis ini pada sampel yang ingin di analisis parameter spesifisitas seperti purity dan identity harus memenuhi. Agar menjamin bahwa respon area yang diberikan oleh scanner memang benar-benar senyawa target tidak ada kontribusi area dari senyawa lain atau pengaruh dari kontaminan. Hal ini merupakan bagian yang sangat kritis dalam hasil atau penentuan kadar.

- *Peak purity* dan *peak identity*

Pada tahap ini dilakukan *scanning* spektra pada peak EPMS. Selanjutnya, untuk *peak identity* dilakukan dengan mengkorelasikan peak yang digunakan untuk standard dengan peak yang sama

Pada track yang berbeda. Sedangkan peak purity dilakukan dengan mengkorelasikan spektra pada awal peak dengan maksimum peak ($r_{s,m}$) dan spektra pada maksimum peak dengan spektra pada akhir peak ($r_{m,e}$). *Peak identity* dan *peak purity* diterima apabila memiliki nilai correlation limit $> 0,9500$ (Indrayanto dan Yuwono, 2005).