

# **BAB I**

## **TINJAUAN PUSTAKA**

### **1.1 Obat Tradisional**

Obat tradisional atau jamu adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, hewan, mineral, sediaan galenic atau campuran dari bahan-bahan tersebut, yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (Depkes RI, 2009:3).

Salah satu prinsip kerja obat tradisional adalah proses (reaksinya) yang lambat (namun bersifat konstruktif), tidak seperti obat kimia yang biasanya langsung bereaksi (tapi bersifat kuratif). Hal ini karena obat tradisional bukan senyawa aktif. Karena itu, jika efek kesembuhan langsung muncul begitu obat tradisional diminum, maka layak dicurigai karena pasti ada sesuatu. Itulah yang terjadi pada obat-obatan tradisional yang diberi obat-obat kimia. Tanpa penelitian, dimasukkan begitu saja sehingga menjadi berbahaya karena dosisnya tidak diketahui dan tanpa pengawasan dokter (Vapriati, 2009:1).

Sesuai dengan Keputusan peraturan Menteri Kesehatan RI no 007 tahun 2012 Tentang Registrasi Obat Tradisional, bahwa obat tradisional dilarang mengandung :

1. Etil alkohol lebih dari 1%, kecuali dalam bentuk sediaan tingtur yang pemakaiannya dengan pengenceran.
2. Bahan kimia obat yang merupakan hasil isolasi atau sintetik berkasiat obat.

3. Narkotika atau psikotropika.
4. Bahan lain yang berdasarkan pertimbangan kesehatan dan atau berdasarkan penelitian yang membahayakan kesehatan.

### 1.1.1 Jenis Jamu dan Obat Tradisional

Sesuai dengan Keputusan Kepala Badan POM RI No.00.05.4.2411 tahun 2004, berdasarkan cara pembuatan serta jenis klaim penggunaan dan tingkat pembuktian khasiat, obat bahan alam Indonesia dikelompok menjadi tiga jenis, yaitu (BPOM, 2004).

#### a. Jamu

Jamu telah digunakan secara turun temurun selama berpuluh bahkan beratus tahun. Pada umumnya, jamu mengarah pada resep penggalaman leluhur. Bentuk jamu tidak memerlukan pembuktian ilmiah sampai dengan klinis, tetapi cukup dengan bukti empiris dan turun temurun (Thomas, 1983:3).

Bahan-bahan yang digunakan tidak mengandung bahan kimia sintetik melainkan menggunakan bermacam-macam tumbuhan yang diambil langsung dari alam dan efek sampingnya relatif lebih kecil dibanding obat medis (Hermanto, 2007:13).



Gambar 1.1. Logo pada jamu

#### b. Obat Herbal Terstandar

Sedikit berbeda dengan jamu, herbal terstandar umumnya sudah mengalami pemrosesan, misalnya berupa ekstrak atau kapsul. Herbal yang sudah diekstrak diteliti khasiat dan keamanannya melalui uji pra klinis (terhadap hewan) dan bahan bakunya telah di standarisasi.



**Gambar 1.2.** Logo pada obat herbal terstandar

#### c. Fitofarmaka

Sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dan uji klinik, bahan baku dan produk jadinya telah di standarisasi.

**Gambar 1.3.** Logo pada fitofarmaka

#### 1.1.2. Jamu Pegal Linu

Bahan-bahan yang sering digunakan pada jamu pegal yaitu rimpang jahe (*Zingiberis Officinalis Rhizoma*) rimpang kunyit (*Curcuma domestica Rhizoma*), dan temulawak (*Curcumae xanthorrhizae Rhizoma*).

**a. Rimpang Jahe (*Zingiberis Officinalis Rhizoma*)**

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Chrusbasik (2005 : 689-692), rimpang jahe memiliki banyak aktivitas farmakologi diantaranya yaitu sebagai antitumor , imunomodulator, antioksidatif, antimikroba, antivirus, antiemetik, antiplatelet, antiinflamasi antipiretik dan efek analgesik. Selain itu, menurut Al-Nahain *et al* (2014: 2-5) konstituen yang terdapat dalam rimpang jahe juga memiliki aktivitas untuk penyakit *rheumatoid arthritis* dan *osteoarthritis*.

Aktivitas konstituen rimpang jahe terhadap penyakit *rheumatoid arthritis* ditunjukkan oleh penghambatan pada makrofag berupa sitokin (IL-12, TNF- $\alpha$ , dan IL- $\beta$ ) dan pelepasan *chemokines* sehingga menurunkan inflamasi.

Efek lainnya yaitu analgesik dari ekstrak jahe juga dievaluasi pada 261 pasien dengan penyakit *osteoarthritis* pada lutut. Sebanyak 247 pasien (94,7%) mengklaim ekstrak tersebut dapat menurunkan rasa sakit. Konstituen yang terdapat dalam rimpang jahe yaitu gingerol dan gingerdione secara signifikan menunjukkan aktivitas analgesik dan aktivitas antiinflamasi dengan mekanisme penghambatan sintesis prostaglandin. Selain itu, ditemukan juga konstituen dari 10-gingerol, 8-shogaol, dan 10-shogaol yang memiliki aktivitas antiinflamasi bekerja dengan menghambat COX-2 (Al-Nahain *et al*, 2014: 2-5).

**b. Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica Rhizoma*)**

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Neha *et al* (2009: 305) ekstrak air rimpang kunyit pada dosis 200 mg/kg dan ekstrak alkohol pada dosis 100 dan 200 mg/kg rimpang kunyit memiliki aktivitas analgetik dengan mekanisme

menekan produksi prostaglandin. Penelitian lain dilakukan oleh Krup *et al* (2013: 2), kandungan bisdemetilcurkumin yang terdapat pada kunyit menunjukkan penghambatan pada molekul-molekul yang berperan dalam proses inflamasi diantaranya fosfolipida, lipooksigenase, COX-2, leukotrien, tromboksan, prostaglandin, oksida nitrat, TNF- $\alpha$ , IL-12, dan lain sebagainya.

Jus segar dari kunyit juga dapat digunakan untuk penyakit gastrointestinal seperti antelmintik. Kandungan kurkumin dapat menghambat *nuclear factor* (NF)- $\kappa$ B dan menurunkan produksi sitokin yang menghasilkan ameliorasi luka pada saluran pencernaan akibat induksi NSAIDs pada tikus. Kandungan kurkumin juga dapat memperbaiki penyakit gastritis pada mukosa, menurunkan pelekatan leukosit, dan produksi TNF- $\alpha$  setelah pemberian kurkumin. Rimpang kunyit juga memiliki berbagai aktivitas farmakologi lain, diantaranya pada penyakit saluran pernafasan, diabetes mellitus, penyakit kardiovaskular, *Alzheimer's disease*, kemoprotektif, hepatoprotektor, anti-kanker dan anti-alergi (Krup *et al*, 2013:1-2).

**c. Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhizae Rhizoma*)**

Terdapat berbagai aktivitas farmakologi dari temulawak antara lain sebagai antibakteri, protektif pada saluran pencernaan, hepatoprotektor, dan analgetik. Pada penelitian yang dilakukan oleh Mangunwardoyo (2012: 71) temulawak berpotensi sebagai antibakteri yang ditunjukkan oleh daya hambat ekstrak air, etanol diklorometan terhadap bakteri *Staphylococcus* dan *Streptococcus mutans*. Analisis temulawak ini dilakukan oleh Helen *et al* (2012: 637-639) menggunakan GC-MS yang diketahui mengandung xantorizol,

kurkumin, monoterpen hidrokarbon, seskuiterpen, hidrokarbon dan lain sebagainya.

Selain itu, ekstrak daun temulawak juga memiliki aktivitas proteksi terhadap lesi pada gastrik yang diinduksi etanol. Penelitian lain, menunjukkan ekstrak etanol temulawak memiliki aktivitas proteksi terhadap hati dan dapat mencegah peningkatan aktivitas enzim hati. Ekstrak etanol temulawak juga menunjukkan efek analgesik pada tikus yang diinduksi rasa nyeri oleh formalin dengan cara menurunkan impuls nyeri ke otak (Rahim *et al*, 2014: 4 ; Devaraj *et al*, 2010: 2513; Devaraj, 2010: 2929).

### 1.1.3 Syarat Pembuatan Jamu atau obat Tradisional

Terhadap jamu atau obat tradisional, pemerintah belum mengeluarkan persyaratan yang pasti, namun dalam pembinaan jamu, berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan R.I No:661/MENKES/SK/VII/1994 Tentang Persyarat Obat Tradisional pemerintah mengeluarkan beberapa petunjuk yakni sebagai berikut (Santosa, 2009:4) :

1. Kadar air tidak lebih dari 10%. Ini untuk mencegah berkembang biaknya bakteri, kapang dan khamir (ragi).
2. Jumlah kapang dan khamir tidak lebih dari 10.000 (sepuluh ribu).
3. Jumlah mikroba pathogen, negatif.
4. Aflatoksin, tidak lebih dari 30 bpj.
5. Bebas dari bakteri pathogen seperti *Salmonella*.
6. Jamu yang berbentuk pil atau tablet, daya hancur tidak lebih dari 15 menit (menurut Farmakope Indonesia). Toleransi sampai 45 menit.

7. Jamu boleh tercemar atau diselundupi bahan kimia berkhasiat.

Selain itu, untuk penambahan pengawet serbuk dengan bahan baku simplisia dilarang ditambahkan bahan pengawet. Serbuk dengan bahan baku sediaan galenik dengan penyari air atau campuran etanol air bila diperlukan dapat ditambahkan bahan pengawet tidak lebih dari 0,1%.

Pengawet yang diperbolehkan (Depkes R.I, 1994):

1. Metil p-hidroksi benzoat (Nipagin).
2. Propil p-hidroksi benzoat (Nipasol).
3. Asam sorbat atau garamnya.
4. Garam natrium benzoat dalam suasana asam.
5. Pengawet lain yang disetujui.

Sebagai pedoman bagi masyarakat yang ingin membeli atau mengkonsumsi obat tradisional. Pemerintah telah menetapkan Permenkes RI no 246/Menkes/Per/V/1990 tentang izin Usaha Industri Obat Tradisional dan Pendaftaran Obat Tradisional yaitu :

Pada pembungkus, wadah atau etiket dan brosur Obat Tradisional Indonesia harus dicantumkan kata "JAMU" yang terletak dalam lingkungan dan ditempatkan pada bagian atas sebelah kiri.

Kata "Jamu" harus jelas dan mudah dibaca dan ukuran huruf sekurang-kurangnya tinggi (lima) millimeter dan tebal  $\frac{1}{2}$  (setengah) millimeter dicetak dengan warna hitam di atas warna putih atau warna lain yang mencolok.

Pada pembungkus, wadah atau etiket dan brosur Obat Tradisional Lisensi harus dicatumkan lambang daun yang terletak dalam lingkaran dan ditempatkan pada bagian atas sebelah kiri.

Lambang daun harus jelas dengan ukuran sekurang-kurangnya lebar 10 (sepuluh) millimeter dan tinggi 10 (sepuluh) millimeter, warna hitam di atas dasar putih atau warna lain yang mencolok dengan bentuk dan rupa.

Penandaan yang tercantum pada pembungkus, wadah, etiket dan atau brosur harus berisi informasi tentang:

- a. Nama obat tradisional atau nama dagang
- b. Komposisi
- c. Bobot, isi atau jumlah obat tiap wadah
- d. Dosis pemakaian
- e. Khasiat atau kegunaan
- f. Kontra indikasi (bila ada)
- g. Kadaluwarsa
- h. Nomor pendaftaran
- i. Nomor kode produksi
- j. Nama industri atau alamat sekurang-kurangnya nama kota dan kata "INDONESIA".
- k. Untuk Obat Tradisional Lisensi harus dicantumkan juga nama dan alamat industri pemberi lisensi Permenkes RI, 1990.

Menurut peraturan peringatan nomor K.H.00.01.1.5116 tentang obat tradisional mengandung bahan kimia obat (BKO), mengkonsumsi obat

tradisional dengan mengandung bahan kimia obat keras dapat membahayakan kesehatan bahkan mematikan, pemakaian obat keras harus melalui resep dokter. BKO merupakan senyawa sintetis atau biasa juga produk kimiawi yang berasal dari bahan alam yang umumnya digunakan untuk pengobatan modern. Penggunaan BKO pada pengobatan modern selalu disertai takaran atau dosis, aturan pakai yang jelas dan peringatan-penringatan akan bahaya dalam penggunaannya demi menjaga keamanan penggunanya (BPOM, 2010).

**Tabel I.1** Jenis obat tradisional yang mengandung BKO (badan POM, 2006)

<b>Kegunaan Obat Tradisional</b>	<b>BKO yang sering Ditambahkan</b>
Pegel linu/encok/rematik	Fenilbutason, metampiron, diklofenaksodium, piroksikam, parasetamol, prednison atau
Pelangsing	Sibutramin hidroklorida
peningkat stamina/obat kuat	Sildenafil sitrat
Kencing manis/diabetes	Glibengklamid
Sesak nafas	Teofilin

## 1.2 Bahan Kimia Obat

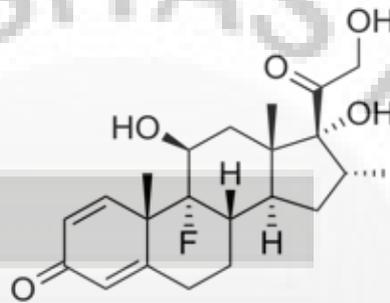
### 1.2.1 Deksametason

#### a. Efek farmakologi

Obat ini enam kali lebih kuat dari kortisol obat ini juga menekan adrenal relatif lebih kuat. Deksamteson hanya diberikan peroral pada asma parah yang tidak dapat dikendalikan dengan obat asma lainnya. Guna menghindari supresi anak ginjal biasanya obat diberikan sebagai suatu kur singkat dari 2 dan maksimal 3 minggu.

Efek samping :

- 1) Glukokortikoid meliputi diabetes dan osteoporosis yang berbahaya bagi usia lanjut. Dapat terjadi gangguan mental, euphoria dan myopagh. Pada anak-anak kortikosteroid dapat menimbulkan gangguan pertumbuhan, sedangkan pada wanita hamil dapat mempengaruhi pertumbuhan adrenal anak.
- 2) Mineralokortikoid adalah hipertensi dan hypokalemia.



Gambar 1.4. Struktur kimia deksametason

**b. Sifat fisiko kimia**

Rumus molekul :  $C_{22}H_{29}FO_5$

BM : 392,47

Pemerian : serbuk hablur, putih atau hampir putih, tidak berbau, stabil di udara, melebur pada suhu lebih kurang  $250^{\circ}C$  disertai peuraian.

Kelarutan : tidak larut dalam air, agak sukar larut dalam aseton, dalam etanol, dalam dioksan dan dalam metanol, sukar larut dalam kloroform, sangat sukar larut dalam eter (Depkes RI, 1995:286).

### c. Identifikasi

Pustaka	: MA PPOM 63/OT/95
Fase diam	: silika gel GF 254
Fase gerak	: i. dikloretan - dietil eter - metanol - air (77:15:8:1,2) ii. metanol - amonia (100:1,5) iii. sikloheksan - etil asetat - air (25:75:1) iv. kloroform - aseton (4:1)
Penjenuhan	: dengan kertas saring
Vol. penotolan	: 15 $\mu$ l.
Jarak rambat	: 15 cm
Penampak bercak	: cahaya UV 254 nm, peredaman warna ungu.

### 1.2.2 Fenilbutason

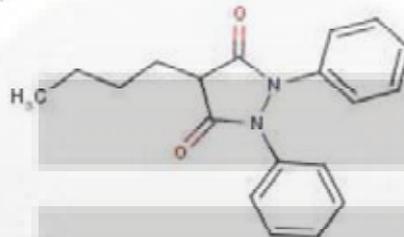
#### a. Efek farmakologi

Merupakan salah satu obat golongan kortikosteroid (Hoan Tjay, 2002:317). Fenilbutason memiliki khasiat sebagai antiradang yang lebih kuat daripada daya kerja analgetisnya tidak digunakan lagi dalam terapi reumatik dengan adanya efek buruk terhadap darah. Saat ini khusus dianjurkan hanya pada kasus-kasus tertentu yang tidak dapat ditanggulangi oleh NSAID<sub>s</sub> lainnya.

Bahan ini dicampurkan dalam jamu pegel linu, reumatik dan asam urat serta merupakan jamu jenis kortikosteroid yang berperan mengatasi peradangan.

Efek samping :

- a. Timbul rasa tidak nyaman pada saluran cerna, mual muntah, diare, kadang pendarahan dan tukak.
- b. Reaksi hipersensitifitas trauma angio edema dan brokospasme.
- c. Sakit kepala dan vertigo.
- d. Gangguan penglihatan.



**Gambar 1.5.** struktur fenilbutason

**b. Sifat fisiko kimia**

Rumus molekul :  $C_{19}H_{20}N_2O_2$

BM : 308,38

Pemerian : serbuk hablur, putih atau puting kuning gading, tidak berbau

Kelarutan : sangat sukar larut dalam air, mudah larut dalam aseton dan dalam eter, larut dalam etanol (Depkes RI, 1995:665).

**c. Identifikasi**

Pustaka : MA PPOM 64/OT/95

Fase diam : silika gel GF 254

- Fase gerak : dikloretan - dietil eter - metanol - air (77:15:8:1,2)
- Penjenuhan : dengan kertas saring
- Vol. penotolan : 15 $\mu$ l
- Jarak rambat : 10 cm
- Penampak bereak : cahaya UV 254 nm, peredaman fluoresensi.

### 1.2.3 Prednison

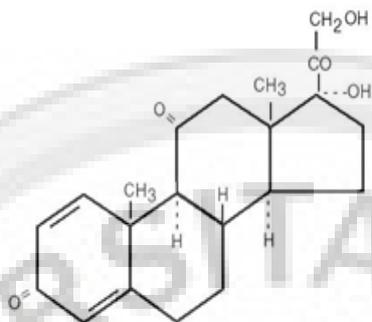
#### a. Efek farmakologi

Baru aktif setelah diubah dalam hati menjadi derivat-hydronya prednisolon. Khasiat dan penggunaannya sama, hanya tidak digunakan secara lokal dan intra-artikular karena tidak dihidrogenasi di kulit, mukosa mata dan sendi. Tidak dianjurkan bagi pasien hati (Hoan Tjay, 2002:733).

Efek samping :

- 1) Gejala saluran cerna : mual, muntah, dyspepsia, tukak peptik, perut kembung, pancreatitis akut, tukak oesofagus, candidiasis.
- 2) Gejala muskuloskeletal : osteoporosis dan osteonekrosis avaskuler.
- 3) Gejala endrokin : gangguan haid, gangguan keseimbangan nitrogen dan kalsium, kepekaan terhadap dan beratnya infeksi bertambah.
- 4) Gangguan neuropsikiatrik : euphoria, ketergantungan psikis, depresi, insomnia, psikosis, shizoprenia dan epilepsi.
- 5) Gejala pada mata : glaucoma, penipisan kornea dan sclera, kambuhnya infeksi virus atau jamur di mata.

- 6) Gejala lainnya : gangguan penyembuhan, atrofi kulit, gangguan keseimbangan cairan elektrolit, leukositosis, reaksi hipersensitif (termasuk anafilaksis).



Gambar 1.6. struktur prednison

**b. Sifat fisiko kimia**

Rumus molekul :  $C_{12}H_{26}O_5$

BM : 358,43

Pemerian : serbuk hablur putih atau praktis putih, tidak berbau, melebur pada suhu  $230^{\circ}C$  disertai peruraian.

Kelarutan : sangat sukar larut dalam air, sukar larut dalam etanol, dalam kloroform, dalam dioksan dan dalam metanol (Depkes R1, 1995:696).

**c. Identifikasi**

Pustaka : MA PPOM 64/OT/95

Fase diam : silika gel GF 254

Fase gerak : i. dikloretan - dietil eter - metanol - air (77:15:8:1,2)

ii. metanol - amonia (100:1,5)

iii. sikloheksan - etil asetat - air (25:75:1)

iv. kloroform - aseton (4:1)

Penjenuhan : dengan kertas saring

Vol. penotolan : 15 $\mu$ l

Jarak rambat : 15 cm

Penampak bercak : cahaya UV 254 nm, peredaman warna ungu.

### 1.3 Analisis Kortikosteroid Secara Simultan

Analisis kortikosteroid secara simultan dilakukan pada panjang gelombang 254 nm, karena semua senyawa memberikan absorbansi yang baik dalam panjang gelombang tersebut. Untuk itu dapat dilakukan analisis secara bersamaan dalam satu prosedur yang sama, pada metode ini memiliki spesifisitas yang baik. Karena metode ini masih bisa mendeteksi senyawa walaupun di dalam matrik jamu (Wisnuwardani *et. al.*, 2013:751).

### 1.4 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah kromatografi yang dapat digunakan untuk identifikasi dan pemisahan. Pada kromatografi lapis tipis, zat penjerap merupakan lapisan tipis serbuk halus yang dilapiskan pada lempeng kaca, plastik atau logam secara merata, umumnya digunakan lempeng kaca. Perkiraan identifikasi pada kromatografi ini diperoleh dengan pengamatan bercak dengan harga R<sub>f</sub> yang identik dan ukuran yang hampir sama, dengan menotolkan zat uji dan baku pembanding pada lempeng yang sama. Senyawa-senyawa yang terpisah pada

lapisan tipis diidentifikasi dengan melihat fluoresensi dalam sinar ultraviolet dan mencari harga  $R_f$  (Depkes RI, 1995:1004).

Teknik kromatografi umum membutuhkan zat terlarut terdistribusi di antara dua fase, satu diantaranya diam (fase diam), yang lainnya bergerak (fase gerak). Fase gerak membawa zat terlarut melalui media, hingga terpisah dari zat terlarut lainnya yang terelusi lebih awal atau lebih akhir. Umumnya zat terlarut dibawa melewati media pemisah oleh aliran suatu pelarut berbentuk cairan atau gas yang disebut eluen. Fase diam dapat bertindak sebagai fase zat penjerap, seperti halnya penjerap alumina yang diaktifkan, silika gel dan resin penukar ion atau dapat bertindak melarutkan zat terlarut sehingga terjadi partisi antara fase diam dan fase gerak (Depkes RI, 1995:10020).

Kromatografi lapis tipis merupakan bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas dan elektroforesis. Berbeda dengan kromatografi kolom yang mana fase diamnya diisikan atau dikemas didalamnya, pada kromatografi lapis tipis, fase diamnya berupa lapisan yang seragam (*uniform*) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, plat aluminium atau plat plastik (Rohman, 2007:353).

Jenis lain kromatografi lapis tipis, yaitu terdapat kromatografi kertas, pada kromatografi ini penjerapnya digunakan sehelai kertas dengan susunan serabut dan tebal yang sesuai. Pemisahan kromatografi dapat dilakukan menggunakan fase cair tunggal dengan proses yang sama pada kromatografi adsorpsi dalam kolom. Oleh karena itu kandungan air pada kertas, dari komponen hidrofilik fase cair oleh serat kertasnya dapat dianggap sebagai fase diam, maka mekanisme

partisi berperan penting dalam pemisahan (Depkes RI, 1995:1003). Kromatografi kertas dibagi 2 bagian, yaitu: Kromatografi menurun dan kromatografi menaik.

Kromatografi menurun, fase geraknya dibiarkan merambat turun pada kertas. Bejana kromatografi bertutup kedap uap dan mempunyai lubang untuk penambahan pelarut atau untuk pengurangan tekanan dalam (Depkes RI, 1995:1003). Untuk kromatografi menaik, ujung bawah kertas dicelupkan ke dalam fase gerak, sehingga memungkinkan fase gerak merambat naik pada kertas oleh daya kapiler. Bejana ditutup rapat dan dijenuhkan seperti kromatografi menurun, kemudian fase gerak dengan jumlah berlebih dari jumlah yang diperlukan untuk membasahi seluruh kertas tuangkan dalam tempat pelarut melalui lubang. Bejana ditutup kembali, (Depkes RI, 1995:1004).

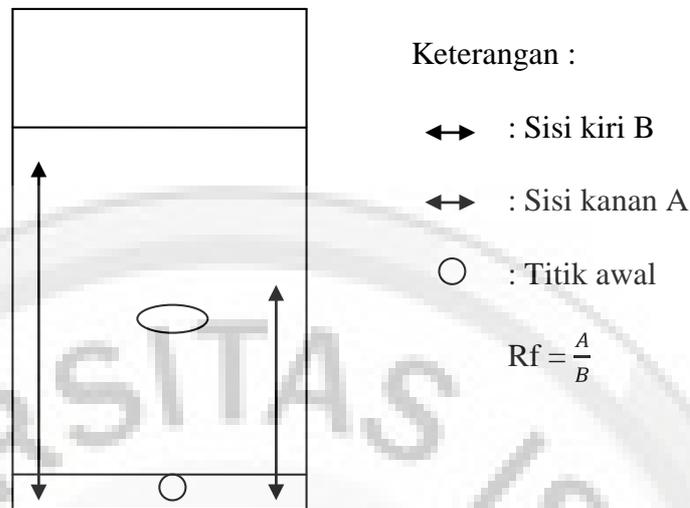
Pada kromatografi lapis tipis sinambung yang berbeda dengan kromatografi lapis tipis konvensional, yang dilakukan dalam bejana tertutup, pengembangan sinambung membiarkan bagian atas lempeng menjulur keluar melalui sebuah celah pada tutup bejana kromatografi. Bila fase gerak mencapai celah, terjadi penguapan secara sinambung mengakibatkan aliran pelarut yang tetap pada lempeng (Depkes RI, 1995:1005).

Penggunaan umum KLT adalah untuk menentukan analisis kualitatif yang digunakan untuk uji identifikasi senyawa baku parameter pada KLT adalah nilai  $R_f$ , dua senyawa dikatakan identik jika mempunyai nilai  $R_f$  yang sama jika diukur pada kondisi KLT yang sama, penggunaan KLT selanjutnya untuk analisis kualitatif ada dua cara. Pertama, bercak diukur langsung pada lempeng dengan menggunakan ukuran luas atau dengan teknik densitometri. Cara kedua adalah

dengan mengerok bercak lalu menetapkan kadar senyawa yang terapat dalam bercak tersebut dengan metode analisis yang lain (Rohman, 2007:366). Kemudian penggunaan KLT dapat digunakan untuk analisis preparaif yang ditujukan untuk memisahkan analit dalam jumlah yang banyak sampel ditotolkan dalam lempeng dengan lapisan besar lalu dikembangkan dan dideteksi dengan cara yang non-destruktif (Rohman, 2007:368).

Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara menaik (*ascending*) atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*).

Alat kromatografi lapis tipis yaitu lempengan kaca, memiliki tebal serba rata dengan ukuran yang sesuai, umumnya 20 x 20 cm. Pemilihan pengembangan dapat didasarkan pada aspek teori yang meliputi prinsip kelarutan dan kepolaran senyawa dengan pelarut yang klasik seperti teori *solvent dissolve like* (suatu senyawa akan larut dalam pelarut yang memiliki sifat yang mirip dengan senyawa tersebut), atau bisa juga mempertimbangkan aspek praktis seperti selektifitas pelarut, ekonomis ataupun daya racun (Depkes RI, 1995:1004).



**Gambar 1.7.** Pola Kromatogram

Perhitungan nilai  $R_f$  jumlah perbedaan warna yang telah terbentuk dari campuran, pengukuran diperoleh dari lempengan untuk memudahkan identifikasi senyawa-senyawa yang muncul. Pengukuran ini berdasarkan pada jarak yang ditempuh oleh pelarut dan jarak yang di tempuh oleh bercak warna masing-masing. Ketika pelarut mendekati bagian atas lempengan, lempengan dipindahkan dari gelas kimia dan posisi pelarut ditandai dengan sebuah garis, sebelum mengalami proses penguapan (Depkes RI, 1995:1004).

Pengukuran nilai  $R_f$  untuk setiap warna dihitung dengan rumus sebagai berikut :

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

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30  $\mu\text{m}$ . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin

baik kinerja KLT dalam hal efisiensinya dan resolusinya. Penjerap yang paling sering digunakan adalah silica dan serbuk selulosa, sementara mekanisme sorpsi yang utama pada KLT adalah partisi dan adsorpsi (Rohman, 2007:354). Panjang lapisan penjerap 200 mm dengan lebar 200 atau 100 mm. Untuk analisis, tebalnya 0,1-0,3 mm, biasanya 0,2 mm (Sthal, 1985:4).

Sistem fase gerak yang paling sederhana ialah campuran dua pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal (Rohman, 2007:359).

Bercak pada KLT umumnya merupakan bercak yang tidak berwarna untuk penentuannya dapat dilakukan secara kimiawi, yaitu sebagai berikut:

- 1) Cara kimia yang biasa digunakan adalah dengan mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi melalui cara penyemprotan sehingga bercak menjadi jelas.
- 2) Menyemprot lempeng KLT dengan reagen kromogenik yang akan bereaksi secara kimia dengan seluruh solut yang mengandung gugus fungsional tertentu sehingga bercak menjadi berwarna. Kadang-kadang lempeng dipanaskan terlebih dahulu untuk mempercepat reaksi pembentukan warna dan intensitas warna bercak.
- 3) Mengamati lempeng di bawah lampu ultraviolet yang dipasang pada panjang gelombang emisi 254 atau 366 nm (Rohman, 2007:368).