

DETEKSI ADULTERAN (Kunyit) PADA SEDIAAN JAMU KUNYIT PUTIH (*Kaempferia rotunda L.*) MENGGUNAKAN ANALISIS SIDIK JARI KLT VIDEO DENSITOMETRI

Laporan Akhir

**Merisa Islamiaty
11151110**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

DETEKSI ADULTERAN (Kunyit) PADA SEDIAAN JAMU KUNYIT PUTIH (*Kaempferia rotunda L.*) MENGGUNAKAN ANALISIS SIDIK JARI KLT VIDEO DENSITOMETRI

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

Merisa Islamiaty

11151110

Bandung,

2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(Dr. Aiyi Asnawi, M.Si.)

Pembimbing Serta,



(Ivan Andriansyah, S.Si., M.Pd.)

ABSTRAK

DETEKSI ADULTERAN (Kunyit) PADA SEDIAAN JAMU KUNYIT PUTIH (*Kaempferia rotunda L.*) MENGGUNAKAN ANALISIS SIDIK JARI KLT VIDEO DENSITOMETRI

Oleh:

Merisa Islamiaty

11151110

Kunyit putih merupakan tanaman suku *zingiberaceae* yang banyak digunakan sebagai bahan formulasi jamu, namun seringkali ditemukan adanya adulteran pada suatu produk jamu yang bertujuan untuk keuntungan produsen. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mendeteksi ada atau tidak adanya adulteran pada kunyit putih instan menggunakan metode analisis sidik jari KLT video densitometri. Tahapan penelitian ini meliputi maserasi menggunakan etanol 96%, pembuatan pola KLT sidik jari dengan silika gel GF₂₅₄ nm sebagai fase diam, dan campuran pelarut yaitu etil asetat : n-heksan (1:12 v/v) sebagai fase gerak lalu pendeteksian di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Pada penelitian ini digunakan perangkat lunak *TLC analyzer* untuk mendapatkan kromatogram dan dianalisis dengan metode kemometrik menggunakan *Principal component analysis* (PCA) yang menghasilkan data berupa *score* dan *loading*. Hasil dari PC 1 dan PC 2 menyatakan bahwa pada sampel A dan C mengandung adulteran kunyit, sedangkan sampel B tidak mengandung adulteran.

Kata Kunci: Kunyit putih, Kunyit kuning, PCA, TLC, *TLC Analyzer*

ABSTRACT

ADULTERAN DETECTION (Turmeric) ON WHITE TURMERIC JAMU (Kaempferia rotunda L.) USING THE TLC FINGERPRINT VIDEO DENSITOMETRY ANALYSIS

By:

Merisa Islamiaty

11151110

White turmeric is a plant of Zingiberaceae that is widely used as a formulation of Jamu that is useful for health, but it is often found that there are adulterans on a Jamu product that aims to benefit the producers. The purpose of this research is to detect the existence of adulterans on instant white turmeric using the TLC Fingerprint Video Densitometry Analysis. The stages of this study include maceration using 96% ethanol, the creation of the TLC Fingerprint pattern by using silica gel GF254 nm as a stationary phase, and a solvent mixture of ethyl acetate: n-hexane (1:12 V/V) as the mobile phase and detection under UV rays of 254 nm and 366 nm. This study used the TLC analyzer software to obtain the chromatograms. The analysis of the Principal Component Analysis (PCA) uses a chemometric method by generating a score and data loading. The results of PC 1 and PC 2 state that on samples A and C contain adulterant turmeric, while sample B did not contain adulterant turmeric.

Keywords: white turmeric, yellow turmeric, PCA, TLC, TLC analyzer

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran panjatkan kehadiran Allah SWT atas berkat, rahmat, taufik dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul **“DETEKSI ADULTERAN (KUNYIT) DARI SEDIAAN JAMU KUNYIT PUTIH (*Kaempferia Rotunda L*) MENGGUNAKAN SIDIK JARI KLT VIDEO DENSITOMETRI”**. Dalam penulisan skripsi ini penulis tidak lepas dari bantuan serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh itu penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Keluarga, yaitu orang tua ayah, ibu, kakak serta nenek yang sangat penulis sayangi dan cintai. Terima kasih atas dukungan do'a dan semangat yang telah diberikan baik moral maupun material dalam penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Dr. Aiyi Asnawi, M.Si. selaku pembimbing utama dan Bapak Ivan Andriansyah, S.Si., M.Pd. selaku pembimbing serta atas segala saran, sewaktu bimbingan, pengarahan, dan dorongan kepada penulis selama penelitian berlangsung hingga skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Staff Laboran dan gudang yang telah membantu saya saat penelitian.
4. Bapak Mamay Maulana Soebandi S.Pd., M.M selaku wali dosen saya yang selalu memberi semangat.
5. Teman – teman terkhusus Faizal, Bintang, Fernanda, Teh hana, Erli yang telah membantu dan memberikan semangat.
6. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan laporan tugas akhir ini.

Peneliti menyadari bahwa dalam penyusunan Skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, mengingat keterbatasan kemampuan penulis serta terbatasnya pengetahuan dan pengalaman penulis dalam melakukan penelitian ini. Melalui Skripsi ini penulis mengharapkan adanya kritik serta saran yang membangun demi kelancaran serta kesuksesan penelitian ini. Maka dari itu, penulis meminta maaf apabila terdapat kesalahan dalam pengerjaan Skripsi ini. Demikian Skripsi ini dibuat agar dapat berguna sebagai mana mestinya.

Bandung, 2020

Penulis

Merisa Islamiaty

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	2
I.2 Rumusan Masalah	2
I.3 Tujuan Penelitian	2
I.4 Hipotesis Penelitian.....	2
I.5 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
II.3 Tanaman kunyit	6
II.4 Kromatografi lapis tipis	8
II.5 Kromatografi Sidik Jari	11
II.6 KLT Densitometri	12
II.7 KLT Video Densitometri	13
II.8 Perangkat Lunak Untuk Analisis bercak	13
II.9 PCA	15
BAB III. METODELOGI PENELITIAN	18
BAB IV. ALAT DAN BAHAN	19
IV.1 Alat	19
IV.2 Bahan	19
BAB V. PROSEDUR PENELITIAN	20
V.1 Persiapan Bahan Baku	20

V.2 Determinasi	20
V.3 Penyiapan pembuatan ekstrak	20
V.4 Optimasi Fase Gerak dan Fase Diam	21
V.5 Pola Bercak KLT Fingerprint	21
V.6 Analisa Bercak menggunakan <i>TLC analyser</i>	21
V.7 Deteksi Adultran pada sampel	21
BAB VI. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
VI.1 Hasil Determinasi Tanaman	22
VI.2 Hasil Persiapan Ekstrak	22
VI.3 Uji Kesesuaian Sistem	24
VI.4 Pola Bercak KLT Fingerprint	24
VI.5 Analisis Bercak dengan <i>Software TLC analyser</i>	25
VI.6 Pembuatan Model Principal Component Analysis (PCA)	32
VI.7 Validasi Metode	34
VI.8 Deteksi adulteran pada sampel	34
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN	37
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN 1	41
LAMPIRAN 2	44
LAMPIRAN 3	45

DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Beberapa contoh Fase gerak untuk ekstrak kunyit putih	9
Tabel VI.1 Eigenvalue	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 Tanaman kunyit putih (<i>Kaempferia rotunda</i> L.)	4
Gambar II.2 Tanaman kunyit	7
Gambar II.3 Ilustrasi kromatogram untuk mengukur nilai R_f	11
Gambar II.4 Instrumentasi <i>TLC scanner</i> 4 CAMAG	12
Gambar VI.1 Ekstrak kunyit putih	23
Gambar VI.2 Ekstrak kunyit kuning	23
Gambar VI.3 Pola KLT ekstrak baku kunyit putih dengan fase diam	24
Gambar VI.4 Pola KLT ekstrak kunyit putih Jakarta	25
Gambar VI.5 Kromatogram ekstrak kunyit putih Jakarta	26
Gambar VI.6 Pola KLT ekstrak kunyit putih Bandung	26
Gambar VI.7 Kromatogram ekstrak kunyit putih Bandung	26
Gambar VI.8 Pola KLT ekstrak kunyit putih Surabaya	27
Gambar VI.9 Kromatogram kunyit putih Surabaya	27
Gambar VI.10 Pola KLT ekstrak kunyit kuning Jakarta	28
Gambar VI.11 Kromatogram kunyit kuning Jakarta	28
Gambar VI.12 Pola KLT ekstrak kunyit kuning Bandung	29
Gambar VI.13 Kromatogram kunyit kuning Bandung	29
Gambar VI.14 Pola KLT ekstrak kunyit kuning Surabaya	29
Gambar VI.15 Kromatogram kunyit kuning Surabaya	30
Gambar VI.16 Pola KLT ekstrak kunyit putih instan A	30
Gambar VI.17 Kromatogram kunyit putih instan A	31
Gambar VI.18 Pola KLT ekstrak kunyit putih instan B	31
Gambar VI.19 Kromatogram kunyit putih instan B	31
Gambar VI.20 Pola KLT ekstrak kunyit putih instan C	32
Gambar VI.21 Kromatogram kunyit putih instan C	32
Gambar VI.22 <i>Scores</i> PC-1 terhadap PC-2 ekstrak kunyit putih dan kuning 33	
Gambar VI.23 <i>Scores</i> dan <i>loading</i> PC-1 terhadap PC-2 sampel A	34
Gambar VI.24 <i>Scores</i> dan <i>loading</i> PC-1 terhadap PC-2 sampel B	35

Gambar VI.25 *Scores* dan *loading* PC-1 terhadap PC-2 sampel C36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Perhitungan Rendemen.....	42
Lampiran 2 Hasil Determinasi	45
Lampiran 3 Data Nilai X dan Y	46

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Obat tradisional merupakan campuran dari satu atau lebih tanaman herbal yang berkhasiat. Salah satu tanaman herbal yang digunakan pada obat tradisional yaitu tanaman dari keluarga zingiberaceae. Tanaman yang termasuk dalam keluarga zingiberaceae yaitu *Kaempferia rotunda* l yang dikenal dalam bahasa Indonesia dengan nama umum yakni temu putih, kunir putih dan kunyit putih. Tanaman tersebut merupakan komponen utama pada formulasi herbal dalam jamu kunyit putih yang beredar dipasaran dengan berbagai macam merk. Kedua rimpang kunyit putih banyak digunakan sebagai stimulan, anti-emetik, lambung, karminatif, anti diare, diuretik, anti piretik dan depuratif, setelah melahirkan untuk membersihkan dan menyembuhkan (Desmiaty dkk., 2018).

Kunyit putih mengandung beberapa komponen aktif yaitu berupa minyak atsiri, kamper, sineol, estragole, saponin, flavonoid dan polifenol. Tanaman ini juga mengandung borneol dan metal khavikol. Untuk mendapatkan zat aktif pada kunyit putih yang mengandung senyawa aktif tersebut, dapat dilakukan pada semua bagian tumbuhan baik dari daun, bunga, batang maupun rimpangnya (Harsojuwono, 2009).

Masyarakat Indonesia sering mengkonsumsi obat-obatan herbal karena penjual sering mengatakan bahwa obat-obatan herbal tidak memiliki efek samping dan masyarakat umum percaya pada persepsi itu. Tetapi baru-baru ini dilaporkan bahwa ada beberapa bahan lain yang ditambahkan dalam produk obat-obatan herbal dengan bahan lain yang lebih murah (Sarker, 2014).

Pemalsuan bahan (adulteran) adalah penggantian bahan mentah asli sebagian dengan bahan lain, bisaanya digunakan bahan dengan varietas yang di bawah standar atau bahan yang lebih murah. Maka perlu dilakukanya pendeteksian untuk mengetahui adanya adulteran dalam sediaan herbal guna melindungi kesehatan masyarakat (Sreelekshmi dkk, 2017). Adapun kunyit putih tanaman yang mudah dicampur dengan bubuk kunyit karena kemiripannya yang dekat dan ketersediaanya luas (Bejar, 2018).

Untuk mengetahui adanya adulteran pada kunyit terdapat beberapa metode yang telah dikembangkan untuk menguji keaslian sediaan farmasi, seperti Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Jaiswal dkk, 2016), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Caprez, 2005), dan spektroskopi infra merah (Ashraf dkk, 2015).

Pada analisis adulteran kunyit putih ini dilakukan metode kromatografi lapis tipis (KLT) karena metode ini sering digunakan untuk mendapatkan profil sidik jari senyawa yang terdapat dalam obat-obatan herbal dan produk turunannya. Sidik jari kromatografi adalah metode yang digunakan dalam memetakan keseluruhan senyawa karena faktor retensi yang mewakili karakteristik komponen yang akan mewakili kompleksitas analisis dalam sampel (Rafi dkk., 2011).

1.2 . Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang di atas adapun rumusan masalah pada penelitian ini, yaitu sebagai berikut:

1. Apakah deteksi adulteran pada sediaan jamu kunyit putih (*Kaempferia rotunda l*) dapat digunakan dalam analisis sidik jari kromatografi lapis tipis video densitometri?
2. Apakah terdapat campuran kunyit dalam produk sediaan kunyit putih yang beredar dipasaran?

1.3. Tujuan dan manfaat penelitian

Tujuan dari penelitian ini, yaitu sebagai berikut:

1. Untuk mendeteksi adulteran pada sediaan jamu kunyit putih (*Kaempferia rotunda l*) dapat digunakan dalam analisis sidik jari kromatografi lapis tipis video densitometri.
2. Untuk menentukan ada atau tidaknya kandungan adulteran kunyit (*Curcuma domestica V*) dalam sediaan kunyit putih.

1.4. Hipotesis penelitian

Hipotesis merupakan jawaban sementara terhadap masalah atau submasalah yang diteliti. Dari rumusan masalah dan tujuan diatas maka peneliti merumuskan masalah sebagai berikut:

1. Penulis mampu merencanakan dan menjalankan penelitian sesuai dengan prosedur.
2. Penelitian ini mampu menentukan ada atau tidaknya adulterant terhadap suatu produk.

1.5. Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari Oktober sampai Maret 2020, di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tanaman Kunyit Putih (*Kaempferia rotunda L*)

Tanaman kunyit putih merupakan salah satu tanaman obat di Indonesia yang sering digunakan dalam formulasi jamu karena memiliki banyak khasiat untuk kesehatan. Obat Tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan galenik atau campuran. Bentuk obat tradisional ada tiga jenis yaitu diantaranya jamu, obat herbal terstandarisasi dan fitofarmaka. Kunyit putih termasuk tanaman musiman yang tumbuh berumpun (Parwata, 2017). Kunyit putih memiliki nama daerah yakni temu putih, kunir putih, ardong, kunci pepet (Jawa), temu putri (Jakarta), konce pet (Madura) (Agusta, 2000).



Gambar II.1 Tanaman kunyit putih (*Kaempferia rotunda L.*)

(<https://hellosehat.com/hidup-sehat/fakta-unik/manfaat-kesehatan-kunyit-putih/> diakses tanggal 18 April 2019).

Klasifikasi kunyit putih (Tjitrosoepomo, 2000):

Regnum : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Classis : Monocotyledonae

Ordo : Zingiberales

Familia : Zingiberaceae

Genus : *Kaempferia*

Species : *Kaempferia rotunda L.*

Morfologi Kunyit Putih

Tanaman kunyit putih merupakan habitus semak, semusim yang tingginya 30-70 cm. Adapun ciri-ciri morfologi tanaman kunyit putih sebagai berikut, akar pada tanaman kunyit putih berdaging dan membentuk rimpang yang tidak terlalu besar (Raina, 2011). Tanaman kunyit putih tumbuh berbatang semu, membentuk rimpang dan berwarna hijau keputihan (Raina, 2011). Daun kunyit putih berdaun tunggal dengan tepi rata dan licin. Panjang daun 8-14 cm, lebar daun 4-5 cm dan daun kunyit putih berwarna hijau (Raina, 2011).

Kunyit putih mempunyai rimpang yang berbentuk bulat, renyah, dan mudah dipatahkan. Kulitnya dipenuhi sejenis akar serabut yang halus hingga menyerupai rambut. Rimpang utamanya keras, bagian dalam rimpang berwarna kekuning-kuningan di bagian luar dan putih kekuningan di bagian tengahnya. Rimpang berbau aromatis bagaikan bau mangga (Syukur, 2003).

Khasiat Kunyit Putih

Kunyit putih memiliki aktifitas antioksidan yang dapat membantu mencegah kerusakan sel, sedangkan kandungan minyak atsiri, kunyit putih dapat dipakai untuk menjaga kesehatan saluran pernafasan dan pencernaan. Kunyit Putih sangat bermanfaat untuk beberapa penyakit seperti kanker, tumor, kista, dan kolesterol, melancarkan peredaran darah, mengurangi nyeri haid, anti inflamasi, nyeri perut, nafsu makan berkurang dan panas dalam (Biofarmaka research center, 2014).

Kandungan Tanaman Kunyit Putih

Kaempferia rotunda L (Kunyit putih) mengandung beberapa komponen aktif yaitu berupa minyak atsiri, kamper, sineol, estragole, saponin, flavonoid dan polifenol. Tanaman ini juga mengandung borneol dan metal khavikol. Untuk mendapatkan zat aktif pada kunyit putih yang mengandung senyawa aktif tersebut, dapat dilakukan pada semua bagian tumbuhan baik dari daun, bunga, batang maupun rimpangnya (Harsojuwono, 2009).

II.2 Adulteran

Persyaratan obat tradisional harus memenuhi beberapa kriteria diantaranya yaitu, secara empirik terbukti aman dan bermanfaat untuk digunakan manusia, bahan obat tradisional dan proses produksi memenuhi syarat yang ditetapkan, tidak mengandung bahan kimia sintetik atau hasil isolasi yang berkhasiat sebagai obat dan tidak mengandung bahan yang tergolong obat keras juga narkotika (BPOM RI, 2011).

Adulteran adalah penambahan bahan obat, hal ini menjadi masalah utama yang menyebabkan pengobatan untuk industri obat-obatan herbal dan penelitian tentang produk alami komersial. Dalam adulteran biasanya digunakan bahan-bahan yang varietas komersialnya lebih murah dan digunakan yang mungkin atau mungkin tidak memiliki potensi yang sama dengan obat asli (Poornima, 2010).

Adulteran yang terdapat pada sediaan farmasi maupun makanan dapat dicemari atau terkontaminasi oleh bahan kimia yang berbahaya, bahan kimia ditambahkan secara intens untuk meningkatkan waktu penyimpanan, rasa dan penampilan makanan. Beberapa contoh adulteran pada kunyit yaitu seperti bubuk kunyit menggunakan adulteran serbuk kayu berwarna dan seluruh kunyit dengan timbal kromat, bubuk kapur, dan bubuk batu sabun kuning (Jha, 2015). Adapun bahan-bahan kimia berbahaya yang sering digunakan meliputi metampiron, fenilbutazon, deksametason, allopurinol, ctm, sildenafil sitrat, tadalafil dan parasetamol (Latif, 2013).

II.3 Tanaman kunyit

Kunyit (*Curcuma domestica* V) termasuk salah satu tanaman rempah dan obat asli dari wilayah Asia Tenggara, penyebaran tanaman ini sampai ke Malaysia, Indonesia, Asia Selatan, Cina Selatan, Taiwan, Filipina, Australia bahkan Afrika (Agoes, 2010). Kunyit merupakan salah satu jenis tanaman obat yang banyak memiliki manfaat, bagian utamanya dari tanaman kunyit adalah rimpangnya yang berada dalam tanah. Rimpangnya memiliki banyak cabang dan tumbuh menjalar, rimpang induk biasanya berbentuk elips dengan kulit luarnya berwarna jingga kekuning – kuning (Hartati dan Balitro, 2013).



Gambar II.2 Tanaman kunyit (Mutiah, 2015).

Adapun klasifikasi tanaman kunyit yaitu sebagai berikut (Hapsoh dan Hasanah, 2011):

- Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledoneae
Ordo : Zingiberales
Famili : Zingiberaceae
Genus : Curcuma
Spesies : Curcuma domestica Val.

Morfologi tanaman kunyit

Tanaman kunyit adalah tanaman yang memiliki bentuk rumpun, mempunyai batang semu tegak membentuk bulat dan terdapat air didalamnya. Batang semu ini memiliki warna hijau kekuningan yang terdiri dengan beberapa pelepah daun. Diameter tinggi tanaman kunyit yakni 75-100 cm. Daun dari tanaman ini berbentuk oval atau lanset dengan panjang 10-40 cm dan lebar 8-13 cm. Tulang daun menyirip berwarna hijau pucat serta bagian ujung pada pangkal daun berbentuk runcing juga memiliki tepi daun rata. Satu tanaman kunyit bisaanya terdapat 6-10 lembar daun yang tersusun berselang-seling (Paramitasari, 2011).

Bunga kunyit berbentuk kerucut runcing berwarna putih atau kuning muda dengan pangkal berwarna putih. Setiap bunga mempunyai tiga lembar kelopak bunga, tiga lembar tajuk bunga dan empat helai benang sari. Dari salah satu keempat benang sari itu 6 berfungsi sebagai alat pembiakan. Sedangkan untuk ketiga benang sari lainnya berubah bentuk menjadi heli mahkota bunga (Winarto, 2004).

Manfaat tanaman kunyit

Kunyit memiliki suatu manfaat sebagai jamu dan obat tradisional untuk berbagai macam jenis penyakit, senyawa yang terkandung dalam kunyit (kurkumin dan minyak atsiri) memiliki peranan sebagai antioksidan, antitumor dan antikanker, antipikun, mengurangi kadar lemak dan kolesterol dalam darah dan hati, antimikroba, antiseptic dan antiinflamasi (Hartati dan Balitro, 2013).

Kandungan kimia tanaman kunyit

Kandungan kimia dalam rimpang kunyit yaitu, zat warna kurkuminoid suatu senyawa diarilheptanoid 3-4% yang terdiri dari kurkumin, dihidrokurkumin, desmetoksikurkumin dan bisdesmetoksikurkumin. Minyak atsiri 2-5% diantaranya seskiterpen dan turunan fenilpropana turmeron. Arabinosa, fruktosa, glukosa, pati, tanin dan dammar. Mineral diantaranya magnesium besi, mangan, kalsium, natrium, kalium, timbal, seng, kobalt, aluminium dan bismuth (Sudarsono dkk, 1996).

Kunyit sebagai adulteran

Kunyit merupakan rempah-rempah yang sering dijual dalam bentuk bubuk membuatnya lebih rentan terhadap pencampuran dengan bahan asing lainnya yang lebih murah seperti, pati, bubuk kapur, singkong, dan pewarna sintetis. Kunyit merupakan kerabat kunyit putih yaitu tanaman yang mudah dicampur dengan bubuk kunyit karena kemiripannya yang dekat dan ketersediaannya yang luas. Bubuk kunyit telah mengalami pemalsuan enyawa kimia yang berpotensi toksik. Metanil kuning (natrium 3-4-anilino phenylazo benzenesulfonate) adalah sintetis, warna dan aditif makanan yang tidak diizinkan, yang telah digunakan sebagai adulteran kunyit, karena meniru warna penampilan kurkumin (Bejar, 2018).

II. 4 Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis adalah metode kromatografi paling sederhana yang banyak digunakan. Metode pemisahan pada kromatografi tergantung dari jenis fase diam yang digunakan. Jenis fase diam yang digunakan akan menentukan interaksi yang terjadi terhadap analit dengan fase diam dan fase gerak. Pada metode analisis KLT, beberapa persiapan harus dilakukan untuk mendapatkan hasil pemisahan sampel yang baik diantaranya meliputi preparasi sampel, penanganan lempeng KLT, penanganan eluen,

penanganan chamber tempat elusi, aplikasi sampel, proses pengembangan sampel dan evaluasi noda (Wulandari, 2011).

II.4.1 Fase Diam

Fase diam untuk kromatografi lapis tipis seringkali mengandung substansi yang mana dapat berpendar flour dalam sinar ultra violet. Fase diam lainnya yang bisaa digunakan adalah silika gel. Silika gel menyerap sesuai kebutuhan tanpa merubah kondisis zatnya, unit ini memiliki indikator tertentu dimana silika gel ini akan berubah warna dari biru ke merah muda jika mengalami kejenuhan kelembapan (Welveni, 2010).

II.4.2 Fase Gerak

Eluen merupakan fasa gerak yang memiliki peran penting pada proses elusi untuk larutan umpan (*feed*) untuk melewati fasa diam (*adsorbent*). Interaksi antara adsorbent bersama eluent akan menentukan terjadinya pemisahan komponen. Oleh sebab itu pemisahan komponen gula dalam tetes secara kromatografi (Haqiqi, 2008). Fase gerak pada KLT dapat dipilih berdasarkan pustaka, tetapi dapat juga dengan cara orientasi pengembang. Sistem yang paling sederhana ialah campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal (Kealey, dkk., 2002).

Tabel II.1 Beberapa contoh Fase gerak untuk ekstrak kunyit putih

Fase Gerak	RF	Referensi
Diklorometana: Metanol (95:5, v/v)	0,6 0,80	Paramopojn dan wandee, 2009
Kloroform:Heksan a (4 : 6, v/v)	0,825	Kusmiyati dkk., 2011
N-heksana:Etil asetat (8:2, v/v)	0,675	Hendra, 2013

II.4.3 Penotolan Sampel

Perlakuan analisis diawali dengan menotolkan alikuot kecil sampel pada salah satu dari ujung fase diam (lempeng KLT), untuk membentuk zona awal, lalu sampel dikeringkan. Ujung fase diam yang terdapat zona awal dicelupkan ke dalam fase gerak (pelarut tunggal maupun campuran dua sampai empat pelarut murni) dalam chamber. Jika fase diam dan fase gerak dipilih dengan benar, campuran komponen-komponen sampel akan bermigrasi dengan kecepatan yang berbeda selama pergerakan fase gerak melalui fase diam. Hal ini disebut dengan pengembangan kromatogram (Wulandari, 2011).

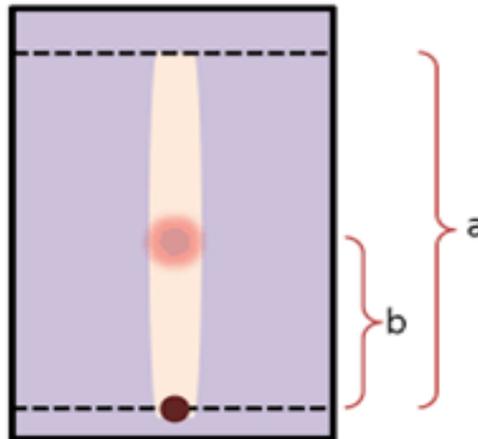
II.4.4 Pengembangan

Pengembangan adalah proses pemisahan campuran cuplikan akibat pelarut pengembang merambat naik dan lapisan jarak. Jarak pengembang normal yaitu jarak antara garis awal dan garis depan, jarak antara senyawa dengan kromatogram biasanya dinyatakan dengan nilai R_f (Shewell dkk 1991).

$$R_f = \frac{\text{jarak titik pusat bercak dari titik awal (a)}}{\text{jarak garis depan titik awal (b)}} \quad (\text{II.5})$$

Identifikasi awal suatu senyawa didasarkan pada perbandingan nilai R_f dibandingkan R_f standar. Nilai R_f umumnya tidak sama dari laboratorium ke laboratorium bahkan pada waktu analisis yang berbeda dalam laboratorium yang sama, sehingga perlu dipertimbangkan penggunaan R_f relatif yaitu nilai R_f noda senyawa dibandingkan noda senyawa lain dalam lempeng yang sama. Faktor-faktor yang menyebabkan nilai R_f bervariasi meliputi dimensi dan jenis ruang, sifat dan ukuran lempeng, arah aliran fase gerak, volume dan komposisi fase gerak, kondisi kesetimbangan, kelembaban, dan metode persiapan sampel KLT sebelumnya (Wulandari, 2011).

Penentuan harga R_f analit, yaitu membandingkan jarak migrasi noda analit dengan jarak migrasi fase gerak atau eluen. Retardasi faktor dapat dihitung sebagai rasio:



Gambar II.3 Ilustrasi kromatogram untuk mengukur nilai Rf

(<http://www.generasibiologi.com/2016/02/kromatografi-lapis-tipis.html> /diakses pada 12 Mei 2019).

II.4.5 Detektor

Deteksi senyawa menjadi mudah ketika senyawa secara alami dapat berwarna atau berberfluoresensi atau menyerap sinar UV. Namun, perlakuan penambahan pereaksi penampak noda dengan penyemprotan atau pencelupan terkadang dibutuhkan untuk menghasilkan turunan senyawa yang berwarna atau berfluoresensi. Pada umumnya senyawa aromatik terkonjugasi dan beberapa senyawa tak jenuh dapat menyerap sinar UV (Wulandari, 2011).

Pada deteksi warna dengan menggunakan pereaksi semprot, pereaksi warna yang digunakan harus mencapai plat KLT dalam bentuk tetesan halus. Oleh karena itu untuk penyemprotan bisaanya digunakan semprotan yang serba kaca dengan dilengkapi wadah tekana aerosol (Stahl, 1985).

II.5 Kromatografi Sidik Jari

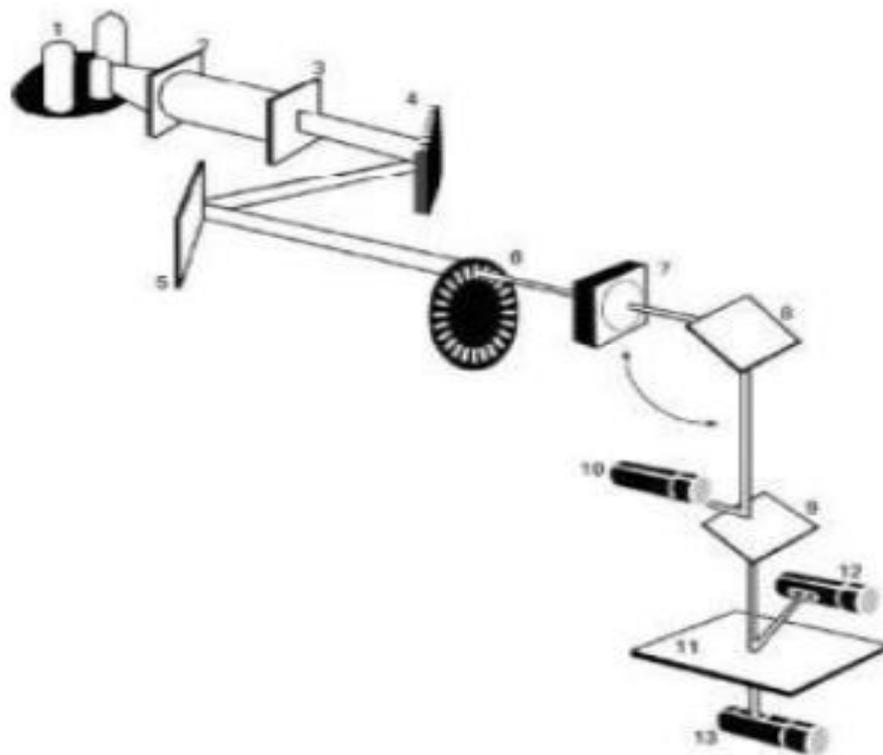
Kromatografi Sidik Jari adalah pola kromatografi komponen kimia yang mempunyai karakteristik dan aktivitas farmakologi dalam suatu ekstrak. Kromatografi sidik jari dapat memberikan informasi mengenai integritas, kesamaan, dan perbedaan komponen kimia dalam ekstrak atau produk herbal yang diteliti (Liang dkk, 2004). Sidik jari kromatografi didapatkan dengan memperhatikan beberapa macam faktor yaitu proses ekstraksi, kondisi instrumen kromatografi, dan proses pemisahan kromatografi (Borges dkk., 2007).

Sidik jari mengacu pada profil yang dapat menggambarkan sifat analit tertentu pada bahan baku, produk setengah jadi dan produk jadi setelah pengolahan yang tepat dan didapat dengan teknik analisis tertentu. Penelitian sidik jari dari obat- obatan herbal merupakan penelitian interdisipliner dan komprehensif, yang didasarkan pada komposisi kimia dari produk herbal. Analisis sidik jari memerlukan kolaborasi pengetahuan akan jamu, ilmu pemisahan, ilmu analisa kimia, dan bioinformatika untuk menyimpan sistem kontrol kualitas obat herbal tradisional (Zhang, 2015).

FDA (Food and Drug Administration) juga sudah menyetujui analisa sidik jari, karena metode sidik jari dapat dimanfaatkan untuk pengendalian kualitas zat produk obat herbal. Di beberapa negara seperti Prancis, Jerman, Inggris, India dan WHO telah mengadopsi analisa sidik jari untuk mengevaluasi kualitas tanaman obat (Zhang, 2015).

II.6 KLT Densitometri

Densitometri merupakan metode penetapan kadar suatu senyawa pada plat KLT yang menggunakan instrument TLC scanner. Pengukuran ini dilakukan dengan cara mengukur serapan analit dimana cahaya yang diukur dapat berupa cahaya yang dipantulkan atau yang diteruskan (Poole, 2000).



Gambar II. 4 Instrumentasi *TLC scanner* 4 CAMAG (Poole, 2000).

Keterangan instrumentasi *TLC scanner 4* CAMAG :

1. *Lamp selector*
2. *Entrance lens sistem*
3. *Monochromator entry slit*
4. *Monochromator grating*
5. *Mirror*
6. *Slit aperture disc*
7. *Lens sistem*
8. *Mirror*
9. *Beam splitter*
10. *Reference photomultiplier*
11. *Scanning object*
12. *Measuring photomultiplier*
13. *Photodiode (transmission)*

II.7 KLT Video Densitometri

Video densitometri digunakan untuk evaluasi kromatogram pada KLT yang telah diteliti. Keuntungan video densitometri yaitu lengkap untuk kuantisasi cepat, rekaman kromatogram dan untuk keperluan dokumentasi (Mustoe dan McCrossen, 2001). Prinsip kerja video densitometri yaitu pemindaian optic yang berlangsung secara elektronik menggunakan computer dengan video digital, sumber cahaya, monokromator, dan optic yang tepat untuk menerangi plat seta fokus ke gambar *charge coupled device* (CCD) kamera video (Srivastava, 2011). Kamera CCD pada saat ini memiliki respons yang sangat linier pada rentang intensitas yang jauh lebih luas dari pada yang dapat diperoleh oleh semua jenis film fotografi lainnya. Meskipun perangkat solid state ini mungkin tidak akan pernah mencapai resolusi spasial film fotografi, tetapi alat ini menarik untuk digunakan dalam pencitraan kuantitatif karena resolusi yang memadai, hasil kuantum tinggi, respons spektral luas, noise rendah, rentang dinamis yang besar dan akurasi fotometrik serta linearitas (Freeman, 1990).

II.8 Perangkat Lunak Untuk Analisis bercak

Perangkat lunak untuk analisis bercak terdapat beberapa pilihan yaitu diantaranya ImageJ, Sorbfil TLC, TLC analyzer dan Just-TLC (Sherma dan Popovic, 2014).

ImageJ

ImageJ merupakan suatu peranti lunak untuk mengolah gambar yang berbasis program Java dan mudah didapatkan secara bebas untuk umum. Program ini dikembangkan oleh *research services branch (RSB), national institute of mental health (NIMH)*, bagian dari *national institute of mental health (NIH)*, Bethesda, Maryland, USA. Pada program ini dapat membaca gambar dalam berbagai format, seperti TIFF, GIF, JPEG, BMP, DICOM, FITS, dan gambar mentah (Ferreira dan Rasband 2010).

Gambar pada *software imageJ* dapat dioptimalkan dengan pemilihan warna domain terbalik (merah, hijau, atau biru). Reaksi warna bisaanya akan memerlukan pemilihan domain warna yang tepat dan diperlukan gambar terbalik sehingga piksel analit memiliki nilai-nilai positif terhadap piksel *background*, yang idealnya memiliki nilai yang kecil (Kurniawan dkk., 2011).

Sorbfil TLC

Sorbfil adalah perangkat lunak yang tersedia dari JSC polimer. Cara melihat bercak yaitu dengan membuka file gambar plat, terdapat menu lintasan drop yang digunakan untuk mengatur titik terang disuatu tempat. Garis horizontal berwarna merah dan biru akan muncul, menggunakan alat tersebut menentukan area bercak yang dimaksud. Pilih lintasan berkala dari lintasan menu menurun, kemudian menentukan jumlah area bercak pada plat dengan cara menyesuaikan posisi area bercak yang ada pada plat. Gunakan tombol evaluasi track yang akan menunjukkan hasil, kemudian mencetak hasilnya pada *excel sheet* (Phattanawasin dkk., 2012).

TLC analyzer

Perangkat lunak TLC analyzer dikembangkan untuk pengukuran foto plat KLT dan setelah estimasi konsentrasi senyawa organik. Perangkat lunak ini menganalisis piksel runcing gambar ke dalam kerapatan RGB (Merah, Hijau, Biru), Hitam dan Putih (Densitogram). Pada TLC analyzer, program komputer memindai gambar beresolusi tinggi dan mengembalikan nilai RGB untuk piksel tersebut. Gambar memiliki deretan baris dan kolom dengan "titik" yang disebut piksel dan TLC analyzer secara virtual bergerak melintasi piksel-piksel ini, merangkum nilai-nilai RGB untuk membuat grafik (Anil dkk., 2011).

II.9 PCA

Pemilihan analisis data tergantung dari banyaknya factor yang dapat mempengaruhi hasil analisis. Metode kemometrik berupa analisis multivariat yang menyediakan metode untuk mengurangi data berukuran besar yang diperoleh dari suatu instrumen, seperti kromatografi. Metode kalibrasi multivariat dapat berupa *multiple linier regression* (MLR), *principal component regression* (PCR), dan *artificial neural network* (AAN) (Brereton, 2000)

Prinsip-prinsip pada PCA adalah variasi penentuan puncak umum atau wilayah dan perbandingan kesamaan dengan indeks kesamaan dan koefisien korelasi linear. Kesamaan indeks dan koefisien korelasi linear dapat digunakan untuk membandingkan pola umum dari sidik jari kromatografi yang diperoleh (Giri, dkk, 2010). Metode kemometrik yang digunakan pada analisis ini adalah PCA (*PrincipalComponent Analysis*). PCA merupakan suatu metode analisis perubah ganda yang bertujuan menyederhanakan perubahan yang diamati dengan cara menyusutkan (mereduksi) dimensinya (Chew dkk., 2004). PCA digunakan sebagai alat statistik melalui penggunaan komponen-komponen yang diturunkan dalam sebuah model regresi untuk memprediksi variabel respon yang tidak teramati menggunakan komponen utama. Komponen-komponen utama ini dipilih sedemikian rupa sehingga PC_1 memiliki variasi terbesar dalam set data sedangkan PC_2 tegak lurus terhadap komponen utama pertama dan memiliki variasi terbesar berikutnya (Miller dan Miller, 2010).

Validasi metode kemometrik yang digunakan dalam analisis ini yaitu PCA. Secara umum, PCA menggunakan transformasi ruang vektor untuk mengurangi dimensi set data yang besar. Menggunakan proyeksi matematis, kumpulan data asli, yang mungkin melibatkan banyak variabel, seringkali dapat diinterpretasikan hanya dalam beberapa variabel (komponen utama) (Richardson, 2009). PCA juga merupakan teknik statistik yang digunakan untuk memeriksa keterkaitan antara seperangkat variabel secara berurutan. Pada PCA ada dua komponen yaitu statistik dan matriks algebra (eigen value dan eigen faktor adalah matriks dasar dari PCA).

1. Statistik meliputi data sebagai berikut:

a. Standar Deviasi (SD)

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} \quad (\text{II.5})$$

b. Varian yaitu ukuran lain dari penyebaran data dalam kumpulan data, hampir identik dengan standar deviasi

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{(n-1)} \quad (\text{II.6})$$

c. Kovarian adalah ukuran, kovariani selalu diukur antara 2 dimensi

$$\text{cov}(X, Y) = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{(n-1)} \quad (\text{II.7})$$

d. Kovarian matriks

$$C^{m \times n} = (c_{ij}, c_{ij} = \text{cov}(\text{Dim}_i, \text{Dim}_j)) \quad (\text{II.8})$$

1. Matriks aljabar

Bagian ini berfungsi untuk memberikan latar belakang aljabar matriks yang dibutuhkan di PCA (eigen faktor dan value). Eigen faktor adalah komponen utama, mencerminkan varian umum dan varian yang unik dan dapat dilihat sebagai pendekatan yang berfokus pada varian yang berusaha memproduksi varian variabel total dengan semua komponen dan untuk memproduksi korelasi.

Dan eigen value disebut juga ciri khas akar, nilai eigen untuk faktor tertentu mengukur varian dalam semua variabel yang diketahui oleh faktor tersebut. Rasio nilai eigen adalah rasio faktor jelas terhadap faktor-faktor yang berkenaan dengan variabel.

Eigen faktor dan Eigen value

Misalkan C adalah matriks $n \times n$ (n adalah sampel) dengan I sebagai matriks identitasnya. Nilai eigen dari C didefinisikan sebagai akar dari persamaan:

$$\text{Determinan } (C - \lambda I) = 0$$

Persamaan di atas disebut persamaan polinomial karakteristik c dan memiliki persamaan akar.

Terkait dengan nilai masing masing eigen adalah seperangkat koordinat yang menentukan arah sumbu utama yang terkait. Ini disebut sebagai faktor eigen (x) dan dihitung sebagai:

$$C_x = \alpha x$$

Jadi, besaran nilai eigen menggambarkan panjang dan vektor eigen menggambarkan arah sumbu utama (Gupta dkk., 2013).

Loading Faktor

Faktor loading adalah korelasi antara faktor dan variabel. Analisis faktor merupakan metode analisis multivariat yang didasarkan pada korelasi antar variabel. Analisis faktor termasuk salah satu teknik statistika yang dapat digunakan untuk memberikan deskripsi yang relatif sederhana melalui reduksi jumlah variabel yang disebut faktor (Supranto, 2004). Analisis faktor dipergunakan untuk mereduksi data atau meringkas, dari variabel lama yang banyak diubah menjadi sedikit variabel baru yang disebut faktor, dan masih memuat sebagian besar informasi yang terkandung dalam variabel asli (Supranto, 2004).

Nilai loading menunjukkan korelasi antara faktor umum yang terbentuk dengan variabel asal, semakin besar nilai loading maka semakin erat hubungan diantara keduanya (Raharja, 2017). Nilai minimal loading yang digunakan adalah lebih besar dari ± 0.30 ; loading ± 0.40 dianggap penting dan loading ± 0.50 atau lebih besar dinyatakan signifikan (Hair, 1998).

$$X_{(p \times 1)} - \mu = L_{(p \times m)} F_{(m \times 1)} + \varepsilon_p \quad (\text{II.9})$$

Keterangan:

X = vektor variabel asal

μ = vektor rata-rata variabel asal

L = matrik loading faktor

F = vektor faktor bersama

ε = vektor faktor spesifik