

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jamu

Jamu adalah warisan budaya Indonesia yang dimanfaatkan oleh masyarakat untuk menjaga kesehatan atau membantu penyembuhan penyakit, serta termasuk dalam kategori obat tradisional. Secara resmi, jamu didefinisikan sebagai bahan atau ramuan yang terdiri dari tanaman, hewan, mineral, sediaan serian, atau campuran bahan-bahan tersebut. Penggunaannya telah turun-temurun dalam pengobatan, berdasarkan pada pengalaman dan disesuaikan dengan norma-norma yang berlaku dalam masyarakat (Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 6, 2016). Kebiasaan mengonsumsi jamu masih lestari hingga kini karena diyakini aman dan cenderung tidak menimbulkan efek samping yang serius jika dibandingkan dengan obat kimia (Mega Kusuma et al., 2020).

Peraturan Pokok Pengelompokan dan Penandaan Obat Bahan Alam Indonesia mengklasifikasikan tiga jenis Obat Bahan Alam Indonesia berdasarkan tingkat pembuktian khasiat. Jenis-jenis tersebut mencakup jamu, obat herbal terstandar, dan fitofarmaka, yang dapat diidentifikasi melalui logo pada Gambar 1. a) Jamu merupakan obat bahan alam yang khasiatnya didasarkan pada pengalaman, dengan bahan baku yang belum standar, b) Obat herbal terstandar adalah obat bahan alam Indonesia yang khasiatnya telah terbukti melalui uji pada hewan, dan bahan bakunya telah distandarisasi, sementara c) fitofarmaka adalah obat bahan alam Indonesia yang khasiatnya telah teruji baik melalui uji pada hewan maupun manusia.



Gambar 1. Logo bahan alam (a) Jamu; (b) Obat herbal terstandar (c) Fitofarmaka (Gunarti et al., 2023)

Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 mengenai Persyaratan Mutu Obat Tradisional, penyajian jamu dibagi menjadi dua kategori utama, yaitu obat yang dikonsumsi secara internal (obat dalam) dan obat yang digunakan secara eksternal (obat luar). Obat dalam mencakup berbagai bentuk seperti Rajangan, Serbuk Simplisia, Serbuk Instan, granul, serbuk Efervesen, Pil, Kapsul, Kapsul Lunak, Tablet/Kaplet, Tablet Efervesen, tablet hisap, Pastilles, Dodol/Jenang, Film Strip, dan Cairan Obat Dalam. Sementara itu, obat luar melibatkan berbagai jenis sediaan seperti Cairan Obat Luar, Salep, Krim, Parem, Pilis, Tapel, Koyo/Plester, dan Supositoria yang digunakan untuk wasir. (Gunarti et al., 2023).

2.2 Jamu Temulawak

Jamu merupakan ramuan tradisional Indonesia yang dihasilkan dari bahan-bahan alami seperti akar, daun, dan kulit batang. Contoh umum jamu tradisional termasuk beras kencur, kunyit asam, temulawak, dan pahitan. Salah satu manfaat kesehatan yang dapat diperoleh dari mengonsumsi jamu adalah kemampuan jamu temulawak dalam meningkatkan fungsi pencernaan tubuh. Biasanya, jamu tradisional berbentuk cair dan dikemas dalam botol, walaupun memiliki kelemahan dalam daya tahan yang terbatas. Untuk mengatasi permasalahan tersebut, terdapat inovasi dengan mengubah jamu cair menjadi bentuk serbuk, yang dapat disiapkan dengan cara diseduh menggunakan air panas (Affandi & Azmi, 2019).

2.3 Temulawak

Temulawak merupakan tumbuhan yang dapat ditemukan pada berbagai ketinggian, mulai dari dataran rendah hingga dataran tinggi. Tumbuhan ini adalah spesies asli Indonesia dan masuk dalam kategori 23 tanaman yang umumnya digunakan sebagai bahan baku obat tradisional. Temulawak sering ditanam di pekarangan dan tegalan, namun juga sering ditemukan tumbuh secara alami di hutan jati dan padang alang-alang. Tanaman ini tumbuh dengan subur di area terbuka yang terkena sinar matahari. (Annisaa et al., 2020).



Gambar 2. Temulawak (dokumen pribadi)

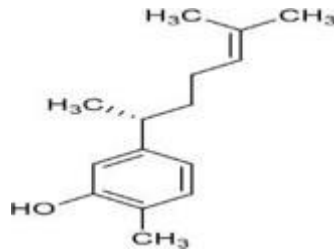
2.3.1 Klasifikasi (Sasmaini et al., 2024)

Kingdom : Plantae
Sub Divisi : Spermatophyta
Kelas : liliopsida
Ordo : Zingiberales
Keluarga : Zingiberaceae
Genus : Curcuma
Spesies : Curcuma xanthorrhiza Roxb

2.3.2 Identitas simplisia

Dalam bentuk potongan rimpangnya, temulawak memiliki karakteristik irisan yang tipis, bulat, atau agak jorong. Rimpang ini memiliki sifat yang ringan, keras, dan mudah patah, dengan permukaan luar yang berkerut dan berwarna cokelat kuning hingga cokelat. Bidang irisan menunjukkan lengkungan yang tidak beraturan, tidak rata, dan seringkali memiliki tonjolan melingkar di perbatasan antara korteks dan silinder pusat. Korteksnya memiliki lebar yang sempit, dengan bekas patahan yang berdebu dan berwarna kuning jingga hingga cokelat jingga terang. Temulawak juga memiliki aroma khas yang aromatik dan memberikan rasa tajam serta pahit (Kementrian Kesehatan RI, 2017).

Senyawa identitas : xantorizol Struktur kimia :



Gambar 3. Struktur kimia xantorizol (Kementrian Kesehatan RI, 2017)

2.3.3 Sifat dan khasiat temulawak

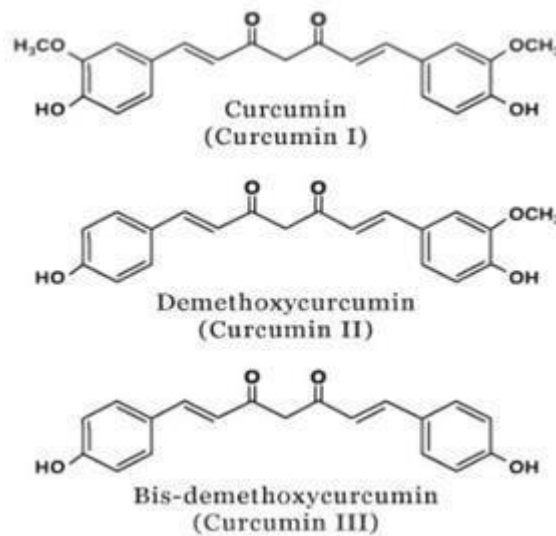
Rimpang temulawak memiliki aroma yang kuat dan memberikan rasa pahit yang agak pedas. Temulawak terkenal karena memiliki sejumlah manfaat, termasuk sebagai laktagoga, kolagoga, antiinflamasi, tonikum, dan diuretik. Minyak atsiri yang terdapat dalam temulawak juga terkenal memiliki sifat fungistatik dan bakteriostatik. Efek kolagoga pada rimpang temulawak terjadi melalui peningkatan produksi dan sekresi empedu, berfungsi sebagai kolekinetik dan koleretik. Kurkuminoid berperan dalam aktivitas kolekinetik, sementara komponen minyak atsiri bertanggung jawab atas sifat koleretik. Peningkatan produksi cairan empedu dapat mengurangi partikel padat dalam kandung empedu, sehingga dapat mengurangi kolik empedu, perut kembung akibat gangguan metabolisme lemak, dan menurunkan kadar kolesterol darah. Rimpang temulawak, yang digunakan dalam pengobatan, dapat membantu mengatasi berbagai kondisi kesehatan, termasuk radang hati (hepatitis), penyakit kuning, radang ginjal, kolesistutis kronik (radang kronis kandung empedu), meningkatkan aliran empedu ke saluran pencernaan, meredakan perut kembung, pegal linu, rematik, sembelit, diare, hiperkolestrolemia, haid tidak teratur, wasir, dan batu empedu (Annisaa et al., 2020).

2.3.4 Kurkumin temulawak

Senyawa kurkumin, sebuah senyawa sekunder fenol, ditemukan pada tanaman dari genus *Curcuma*, terutama *Curcuma sp* (Nihayati, 2016). Rimpang juga mengandung zat bioaktif dan fungsional seperti minyak atsiri, polisakarida asam, sterol, senyawa logam, asam lemak, dll. Kandungan kurkuminoid pada rimpang mentah bergantung pada varietas kultivar, jenis tanah, komposisi, dan iklim. Kurkumin (1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil) hepta-1,6-diena-3,5-dione) adalah kurkuminoid utama yang menarik ceruk penelitian. Kurkuminoid lainnya termasuk *demethoxycurcumin*, *bisdemethoxycurcumin*, dan *cyclocurcumin*. Kurkumin dikenal karena sifat anti kanker, antioksidan, anti inflamasi, antimikroba, dan penyembuhan lukanya. Secara tradisional juga digunakan untuk penyakit seperti batuk, pilek, demam, anemia, infeksi bakteri dan virus, infeksi kulit ringan seperti eksim, dan penyakit kulit parasit. Asupan kurkumin yang lebih tinggi dapat menyebabkan efek samping yang merugikan pada tubuh manusia, seperti gangguan pencernaan, mual, diare, dan gangguan pencernaan. Hal ini juga dapat menyebabkan reaksi alergi seperti gatal-gatal dan ruam (Opustilová et al., 2023).

Dosis kurkumin yang biasa direkomendasikan berkisar antara 200mg hingga 6g per hari, dengan batas maksimal untuk pengobatan kanker selama 8 bulan. Sementara itu, dosis yang dianjurkan untuk anak-anak adalah 45mg hingga 4000mg per hari, dengan durasi maksimal 48 minggu (Heidari et al., 2022).

Kurkumin praktis tidak larut pada suhu kamar dalam larutan air pada pH netral dan asam. Namun, karena sifatnya yang lipofilik dengan nilai log P sekitar 3.0, kurkumin larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton, dan dimetil sulfoksida (Kotha & Luthria, 2019). kurkumin sukar larut dalam air. Kelarutan kurkumin dalam air adalah 3,12 mg/L pada suhu 25°C. Kurkumin sukar larut eter, mudah larut alkohol dan asam asetat glasial, sangat mudah larut pada etanol dan asam asetat (Rifai et al., 2018).



Gambar 4. Struktur kurkumin (Safutri et al., 2024)

2.4 Simplisia

Simplisia adalah istilah yang umum digunakan dalam farmasi dan botani untuk merujuk pada bahan tumbuhan atau bagian dari tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional atau bahan baku pembuatan obat (Sugiyanto & Anisyah, 2024).

2.4.1 Pengumpulan bahan baku

Tahap pengumpulan atau pemanenan seringkali dianggap sepele, padahal sebenarnya memiliki peran yang sangat penting dalam mendapatkan simplisia dengan kualitas sesuai standar. Ada beberapa faktor yang perlu diperhatikan selama proses pemanenan simplisia nabati:

- Bagian tanaman yang dipanen
- Waktu panen
- Cara panen

Tabel 1. Cara panen

Bagian Tanaman	Cara pengumpulan	Kadar Air Simplisia
Rimpang	Ditarik keluar, dibersihkan dari akar, dan dipotong secara melintang dengan ketebalan yang ditentukan.	$\leq 8\%$

2.4.2 Sortasi basah

Metode sortasi basah digunakan untuk menghapus kotoran atau bahan asing lain dari bahan simplisia. Langkah ini memiliki potensi untuk mengurangi jumlah mikroba yang ada pada bahan simplisia pada tahap awal.

2.4.3 Pencucian

Proses ini melibatkan penggunaan air bersih, seperti air sumur, PDAM, atau air dari mata air, untuk mencuci bahan simplisia secara menyeluruh. Pencucian menyeluruh tersebut memiliki dampak yang signifikan dalam mengurangi kandungan mikroba pada simplisia. Penting untuk memperhatikan sumber air yang digunakan, mengingat beberapa jenis mikroba umum seperti *Pseudomonas*, *Proteus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Enterobacter*, dan *E. coli* dapat terdapat dalam air yang digunakan untuk mencuci simplisia akar, batang, atau buah. Sebagai langkah tambahan untuk mengurangi jumlah mikroba awal, disarankan untuk melakukan pengupasan kulit luar terlebih dahulu.

2.4.4 Perajangan

Perajangan dilakukan dengan tujuan memfasilitasi proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Saat melaksanakan proses perajangan, diperlukan pertimbangan terhadap senyawa-senyawa yang terdapat dalam bahan simplisia. Untuk meningkatkan tingkat keamanan, disarankan untuk menggunakan pisau atau pemotong yang terbuat dari *stainless steel*.

2.4.5 Pengeringan

Pengeringan dilakukan dengan maksud mendapatkan simplisia yang memiliki daya tahan lama dan keberlangsungan, sehingga memungkinkan penyimpanan dalam waktu yang lebih lama. Proses ini bertujuan untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik, sehingga mencegah penurunan kualitas atau kerusakan pada simplisia. Kehadiran sisa air dalam simplisia, pada tingkat tertentu, dapat menciptakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan kapang dan mikroorganisme lainnya. Adanya enzim tertentu dalam sel masih bisa aktif dan merusak senyawa aktif setelah sel mati, selama bahan simplisia mempertahankan kadar air tertentu.

2.4.6 Sortasi kering

Tahap ini terjadi sebelum simplisia diemas. Proses ini dilakukan untuk memisahkan bagian yang tidak diinginkan atau menghilangkan kontaminan. Selain itu, proses ini juga memiliki tujuan untuk memisahkan simplisia berdasarkan kualitasnya.

2.4.7 Pengepakan dan penyimpanan

Pengepakan dijalankan dengan optimal guna mencegah kerusakan atau penurunan kualitas pada simplisia. Beberapa faktor yang bisa menyebabkan penurunan mutu simplisia antara lain:

- a) Cahaya matahari
- b) Oksigen/ udara
- c) Dehidrasi
- d) Absorpsi air
- e) Pengotoran
- f) Serangga
- g) Kapang

Hal-hal yang perlu dipertimbangkan selama proses pengepakan dan penyimpanan melibatkan faktor suhu dan kelembapan udara. Suhu yang dianggap optimal untuk simplisia umumnya berada dalam kisaran suhu ruangan, yaitu antara

15° hingga 30°C. Untuk simplisia yang memerlukan kondisi sejuk, dapat disimpan pada suhu berkisar 5 hingga 15°C, sementara yang membutuhkan suhu dingin bisa disimpan pada rentang suhu 0° hingga 5°C (Supriningrum, 2021).

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode pemisahan kimia yang digunakan untuk mengekstrak atau memisahkan satu atau lebih komponen atau senyawa (analit) dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi padat-cair atau leaching adalah suatu metode di mana analit dari sampel padat diambil melalui difusi ke dalam pelarut. Ekstraksi dari sampel padat dapat dilakukan asalkan analit yang diinginkan dapat larut dalam pelarut pengestraksi. (Leban Maria Aloisia Uron, 2017).

2.5.1 Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi simplisia yang digunakan untuk bahan atau simplisia yang tidak tahan panas, dengan cara merendamnya dalam pelarut khusus selama periode waktu tertentu. Proses maserasi dilakukan pada suhu ruangan, antara 20 hingga 30°C, untuk mencegah penguapan pelarut yang berlebihan akibat fluktuasi suhu. Selama proses ini, pengadukan dilakukan selama 15 menit untuk memastikan homogenitas campuran antara bahan dan pelarut. Saat maserasi, serbuk direndam dalam cairan penyari, dan cairan ini dapat menembus dinding sel untuk masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif tersebut larut karena perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel, sehingga larutan yang terkonsentrasi didorong keluar. Proses ini berulang, mencapai keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Meskipun maserasi dapat menggunakan kinetik seperti pengadukan, metode digesti melibatkan maserasi pada suhu lebih tinggi dari suhu kamar, berkisar antara 40 hingga 60°C.

2.5.2 Perkolasi

Perkolasi merupakan suatu proses di mana simplisia yang telah dihaluskan diekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai dengan cara perlahan-lahan dilewatkan melalui kolom tertentu. Ekstraksi perkolasi melibatkan penggunaan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Prinsip perkolasi melibatkan penempatan serbuk simplisia dalam sebuah bejana silinder yang bagian bawahnya dilengkapi dengan sekat berpori. Metode ini memerlukan waktu lebih lama dan jumlah pelarut yang lebih besar. Untuk memastikan keberhasilan perkolasi, hasilnya dapat diuji dengan menggunakan pereaksi spesifik untuk mendeteksi adanya metabolit.

2.5.3 Refluks

Dalam proses ekstraksi, refluks dipakai sebagai metode yang dilaksanakan pada titik didih pelarut yang bersangkutan, selama jangka waktu tertentu, dan dengan jumlah pelarut yang terbatas namun tetap. Refluks biasanya dilengkapi dengan pendingin balik untuk menjamin hasil penyarian yang lebih baik atau sempurna. Praktik refluks umumnya dilakukan secara berulang-ulang (3-6 kali) terhadap residu pertama. Pendekatan ini memungkinkan terjadinya penguraian senyawa yang tidak tahan panas.

2.5.4 Soxhletasi

Dalam proses ekstraksi, metode Soxhlet dipergunakan dengan menggunakan pelarut yang baru. Umumnya, ekstraksi dilakukan menggunakan peralatan khusus yang memungkinkan ekstraksi yang konsisten dengan adanya pendingin balik. Pemanasan menyebabkan pelarut naik ke atas, kemudian setelah berada di atas, akan diembunkan oleh pendingin udara menjadi tetesan-tetesan yang akan terkumpul. Metode Soxhlet ini memungkinkan ekstraksi yang berlangsung secara kontinu dan efisien (Hujjatusnaini et al., 2021).

2.6 Analisis Senyawa

2.6.1 Analisis kualitatif

Perbandingan dilakukan antara data retensi analit yang tidak dikenal dan data retensi standar yang sesuai (senyawa yang dikenal) pada kondisi kromatografi yang sama. Dalam kromatografi planar, seperti kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis, faktor retensi (R) dari standar dan senyawa yang tidak dikenal dibandingkan secara simultan menggunakan metode kromatografi. Tujuan dari perbandingan ini adalah untuk mengurangi potensi variasi yang mungkin timbul karena perbedaan kondisi bahan dan lingkungan laboratorium yang digunakan (Rochman, 2021).

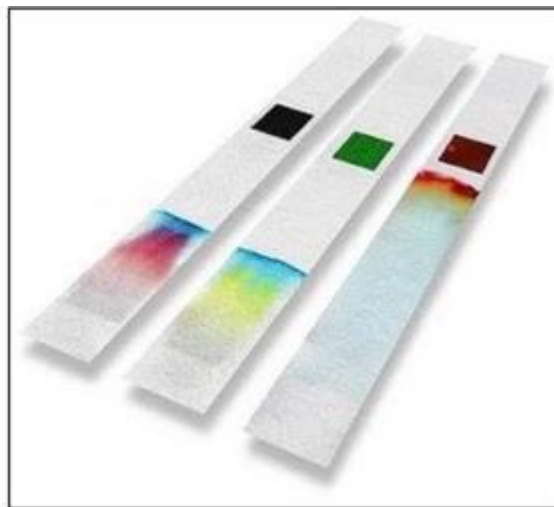
2.6.2 Analisis kuantitatif

Analisis kuantitatif suatu senyawa yang telah terpisah melalui Kromatografi Lapis Tipis (KLT) umumnya dilakukan dengan menggunakan densitometer secara langsung pada lempeng KLT. Densitometer dapat beroperasi dalam mode serapan atau fluoresensi. Mayoritas densitometer dilengkapi dengan sumber cahaya yang diarahkan ke monokromator (untuk memilih rentang panjang gelombang antara 200-800), sistem pemfokusan sinar pada lempeng, pengganda foton, dan rekorder. Teknik KLT memungkinkan pemisahan campuran zat berdasarkan afinitas masing-masing komponen terhadap fase gerak dan fase diam. Setelah komponen terpisah, besarnya serapan dapat diukur menggunakan spektrofotodensitometer. Kandungan sampel dapat ditentukan melalui perbandingan antara serapan dan latar belakangnya (Ningrum, 2023).

2.7 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode kromatografi cair yang umumnya diterapkan secara luas karena keunggulan dalam kesederhanaan metodenya, prosedur yang cepat, dan tingkat keberhasilan yang tinggi. Keberhasilan dalam pemisahan menggunakan KLT sangat bergantung pada lokalitas proses bercak. Meskipun bercak pemisahan pada KLT umumnya tidak berwarna, pemisahan bercak yang berwarna dapat dilakukan secara visual.

Penentuan lokasi bercak dapat dilakukan melalui pendekatan kimia, fisika, atau biologi. Pendekatan kimia sering melibatkan reaksi bercak dengan pereaksi melalui penyemprotan untuk memperjelas bercak. Pendekatan fisika untuk menampilkan bercak termasuk pencacahan radioaktif dan fluoresensi menggunakan sinar ultraviolet. KLT juga efektif dalam memisahkan senyawa-senyawa yang bersifat hidrofobik, seperti lipid dan hidrokarbon. Gambaran hasil pemisahan dengan KLT dapat dilihat pada Gambar 5 (Nurdiani, 2018).



Gambar 5. Kromatografi lapis tipis (Nurdiani, 2018).

2.7.1 Fase gerak

Pemisahan pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT) tergantung pada rasio distribusi komponen analit dalam sistem fase diam/penyerap dan eluen tertentu. Profil pemisahan dapat dimodifikasi dengan mengubah rasio distribusi, mengubah komposisi fase gerak, dan mempertimbangkan polaritas serta kekuatan elusinya. Fase gerak dapat dipilih dari pustaka atau melalui pendekatan uji coba karena waktu yang diperlukan relatif singkat. Penggunaan campuran dua pelarut organik merupakan sistem yang sederhana, diatur untuk mendapatkan daya elusi optimal. Beberapa panduan dalam memilih dan mengoptimalkan fase gerak melibatkan persyaratan kemurnian tinggi, pengaturan daya elusi untuk mencapai nilai R_f antara 0,2-0,8, penyesuaian polaritas fase gerak tergantung pada polaritas fase diam (seperti silika gel), dan penggunaan campuran pelarut untuk solut-solut ionik atau

polar. Penambahan asam etanoat atau amonia dapat meningkatkan pemisahan untuk solut-solut bersifat basa atau asam. Penting juga bahwa pelarut/fase gerak yang digunakan memiliki biaya yang terjangkau karena jumlahnya yang cukup besar digunakan untuk elusi, dan pelarut yang dipilih harus memiliki tingkat kemurnian yang tinggi (Rochman, 2021).

2.7.2 Fase diam

Fase diam yang diterapkan dalam Kromatografi Lapis Tipis (KLT) berupa bahan penyerap atau adsorben. Sifat umum dari bahan penyerap yang digunakan pada KLT mirip dengan yang digunakan pada Kromatografi Kolom. Dalam KLT, dua sifat utama yang sangat relevan adalah ukuran dan homogenitas bahan penyerap, karena adhesi pada pembawa sangat dipengaruhi oleh kedua sifat ini. Partikel yang kasar tidak dapat dipisahkan dengan baik, sehingga untuk meningkatkannya, partikel yang lebih halus dapat digunakan. Biasanya, ukuran partikel yang digunakan berkisar antara 1 hingga 25 mikron (Nurdiani, 2018). Bahan penyerap yang umum digunakan dalam Kromatografi Lapis Tipis (KLT) melibatkan silika dan serbuk selulosa. Mekanisme utama dalam KLT, yang melibatkan pemindahan analit dari fase diam ke fase gerak dan sebaliknya, terdiri dari partisi dan adsorpsi. Lapisan tipis yang bertindak sebagai penyerap juga dapat terdiri dari silika yang telah dimodifikasi, resin penukar ion, gel eksklusi, dan siklodekstrin yang digunakan untuk pemisahan kiral. Beberapa bahan penyerap KLT memiliki kemiripan dengan bahan penyerap yang digunakan dalam Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Secara umum, kontrol atas penyerap bergantung pada kehalusan partikel dan luas permukaannya. Tabel 2 memberikan rincian mengenai beberapa bahan penyerap (fase diam) yang umumnya digunakan dalam kromatografi lapis tipis, beserta mekanisme pemisahannya dan aplikasinya dalam analisis (Rochman, 2021).

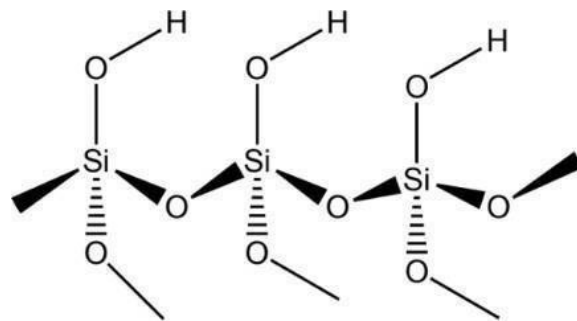
Tabel 2. Penjerap fase diam

Penjerap	Mekanisme adsorpsi	Penggunaan
Silika gel	Adsorpsi	Asam amino, hidrokarbon, vitamin, alkaloid
Silika yang dimodifikasi dengan hidrokarbon	Partisi termodifikasi	Senyawa-senyawa nonpolar
Serbuk selulosa	Partisi	Asam amino, nukleotida, Karbohidrat
Alumina	Adsorpsi	Hidrokarbon, ion logam, pewarna makanan, alkaloid
Kieselguhr (tanah diatomae)	Partisi	Gula, asam-asam lemak
Selulosa penukar ion	Pertukaran ion	Asam nukleat, nukleotida, halida, dan ion-ion logam
Gel spandex	Ekslusi	Polimer, protein, kompleks logam.
c-siklodekstrin	Interaksi adsorpsi stereospesifik	Campuran enansiomer

a. Silika Gel

Bahan pengikat yang umum digunakan dan memiliki sifat asam dalam Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah kalsium sulfat (CaSO_4), yang juga dikenal sebagai Plester Paris atau Plester. Gel silika, seperti gel silika "G" dari Merck, sering kali diolah secara komersial dengan menggunakan perekat. Larutan gel silika "G" yang dicampur dengan air sebaiknya digunakan dalam waktu 3 hingga 4 menit setelah persiapan. Selain kalsium sulfat semi cair, tepung beras juga dapat berperan sebagai bahan merekat, meskipun kurang efektif. Jika substansi yang akan dipisahkan bersifat basa, pelarutnya sebaiknya mengandung sedikit amonium hidroksida atau dietilamina ($\pm 1\%$). Jika yang perlu dikeluarkan adalah asam, maka asam asetat ($\pm 1\%$) dapat ditambahkan. Asam dan basa ini berfungsi sebagai aditif dan buffer untuk zat yang dipisahkan, sehingga akan berada dalam bentuk non-ionik dan menghasilkan pewarna pekat. Selain udara, pelarut organik seperti aseton, atau campuran kloroform dan metanol (2:1) dapat digunakan untuk membentuk pasta. Sebagai bahan tambahan untuk memudahkan pengenalan, zat fluoresen ditambahkan ke dalamnya, sehingga disebut "GF Silica Gel" (Nurdiani, 2018). Silika gel (Gambar 6) merupakan adsorben yang sering digunakan dalam penelitian Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Proses pembuatan silika gel melibatkan hidrolisis

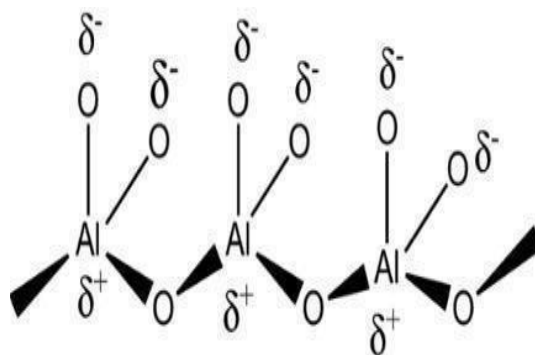
natrium silikat menjadi asam polisilat, yang selanjutnya mengalami kondensasi dan polimerisasi, membentuk gel silika. Sintesis silika dapat diatur dengan cermat untuk menghasilkan silika gel dengan tingkat kemurnian tinggi, luas permukaan yang optimal, dan ukuran pori yang spesifik (Rochman, 2021).



Gambar 6. Struktur Silica Gel(Rochman, 2021)

b. Alumina

Alumina (aluminium oksida) (Gambar 7) dapat diproduksi dengan tingkat kemurnian dan spesifikasi serupa seperti silika gel melalui proses dehidrasi menyeluruh yang tidak seragam terhadap berbagai modifikasi kristal aluminium hidroksida. Proses reaksi dapat diatur untuk menghasilkan aluminium oksida dengan permukaan yang bersifat asam, basa, atau netral. Alumina dapat digunakan dengan atau tanpa pengikatan, namun penggunaannya tanpa pengikatan lebih umum dibandingkan dengan silika gel.



Gambar 7. Struktur alumina (Rochman, 2021)

Untuk mencapai hasil dan pemisahan yang dapat direproduksi. Diperlukan kadar yang optimal untuk mengaktifkan alumina guna mengontrol jumlah air yang teradsorpsi karena dapat menutupi permukaan alumina. Umumnya adsorben alumina akan diaktifkan dengan cara pemanasan pada suhu tertentu (125-150°C)

dalam waktu tertentu. Alumina merupakan adsorben yang kuat dan dapat bertindak sebagai penukar ion amfifilik, tergantung pada sifat permukaan dan pelarut yang digunakan. Misalnya, aluminium oksida basa, bila digunakan dengan eluen organik, menyerap hidrokarbon aromatik dan tak jenuh, karotenoid, steroid, alkaloid, dan senyawa alami lainnya. Dalam larutan air atau larutan alkohol-air, sifat pertukaran ionnya menjadi lebih jelas dan dapat menyerap pewarna basa, asam amino basa, serta kation anorganik. Aluminium oksida netral terutama digunakan dengan eluat senyawa organik dan bahan ini sesuai untuk digunakan pada senyawa-senyawa yang labil atau terikat pada alkali kuat. Aluminium oksida yang bersifat asam digunakan untuk pemisahan senyawa-senyawa yang bersifat netral atau asam yang tidak labil pada suasana asam. Dalam media air atau alkohol-air, aluminium oksida berfungsi sebagai penukar anion.

c. Selulosa

Lapisan bubuk selulosa adalah kumpulan partikel yang sangat kecil. Akibatnya, diperlukan aliran fase gerak yang lebih banyak dengan difusivitas senyawa terlarut yang rendah. Selulosa mengandung air yang teradsorpsi yang ditahan dalam struktur glukopiranososa melalui ikatan hidrogen. Oleh karena itu, segregasi terjadi melalui mekanisme partisi. Bahan selulosa hampir secara eksklusif digunakan untuk memisahkan senyawa hidrofilik, seperti asam amino dan gula, tidak seperti silika gel dan alumina yang digunakan untuk memisahkan senyawa lipofilik. Terdapat berbagai jenis selulosa yang dimodifikasi secara kimia, masing-masing bertindak sebagai media penukar ion. Misalnya, selulosa dietilaminoetil (DEAE) dibentuk melalui reaksi antara selulosa dan 2-kloro-1- dietilaminoetil hidroklorida; Sedangkan karboksimetil selulosa disintesis dari asam, asam monokloroasetat dan selulosa serta memiliki kapasitas tukar kation yang rendah.

d. Kiesulguhr (*Diatomaceus earth*)

Kieselguhr merupakan tanah diatom yang terdiri dari organisme mikroskopik laut yang kaya silika, yang dikenal sebagai diatom. Bahan ini memiliki porositas dan luas permukaan yang besar. Alami, Kieselguhr memiliki daya serap yang terbatas, tetapi dapat dilapiskan pada fase diam cair berlilin. Sebagai hasilnya, bahan ini umumnya digunakan sebagai pendukung fase diam dalam kromatografi

partisi. Dalam konteks Kromatografi Lapis Tipis (KLT), kalsium sulfat seringkali ditambahkan sebagai pengikat sekitar 15% (b/b). Kapasitas adsorptif Kieseluhr dapat dikurangi melalui perlakuan dengan asam atau basa atau melalui proses silanisasi.

Kieseluhr yang telah dilapiskan dengan cairan parafin digunakan dalam uji Farmakope untuk mengidentifikasi trigliserida dan asam lemak dalam minyak. Lempeng Kieseluhr dilapiskan dengan larutan yang mengandung cairan parafin dalam petroleum eter, memberikan lempeng Kieseluhr permukaan hidrofobik. Saat menguji sampel minyak, lempeng ditotolkan dengan minyak, dan kemudian lempeng dikembangkan dengan asam asetat sebagai fase gerak. Asam asetat, sebagai pelarut yang sangat polar, tidak melarutkan lapisan parafin. Sebaliknya, trigliserida dalam minyak, yang memiliki sifat polar yang rendah, akan terpartisi antara lapisan parafin cair dan fase gerak (asam asetat). Nilai R, yang menunjukkan seberapa jauh komponen berpindah dalam KLT, semakin rendah untuk trigliserida dengan rantai asam lemak yang lebih panjang. Lempeng selanjutnya diamati dengan uap iodium dan disemprot dengan larutan amilum secara permanen. Beberapa agen pembacem, seperti formamida dan propan-1,2-diol, memerlukan pemilihan fase gerak dengan polaritas rendah untuk mencegah larutnya agen pembacem dari lempeng fase diam

e. Penotolan sampel

Sampel harus diterapkan pada lempeng Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan sangat hati-hati dan mempertimbangkan bahwa gangguan yang mungkin timbul pada lempeng KLT harus diminimalkan sebisa mungkin. Secara umum, aplikasi sampel dilakukan secara manual menggunakan tabung kapiler, mikropipet, atau mikroinjektor semprotan kaca yang sudah dikalibrasi. Dengan cara ini, tetesan yang masuk hanya menyentuh permukaan lempeng, dan ujung alat penotol tetap berada di atas penjerap lempeng KLT.

Tabel 3. Penotolan sampel

Tujuan Analisis	Diameter Bercak (mm)	Konsentrasi Sampel (%)	Banyaknya Sampel (μg)
Densitometri (kuantitatif)	2 mm untuk volume sampel 0,5 μL	0,02–0,2	0,1–1 (untuk HPTLC) 1–10 (konvensional)
Identifikasi	3 mm untuk volume sampel 1 μL	0,1–1	1–20
Uji kemurnian	4 mm untuk volume sampel 2 μL	5	100

HPTLC = *High Performance Thin Layer Chromatography*

Pemisahan yang optimal dalam kromatografi lapis tipis hanyadapat dicapai jika sampel dideteksi dengan titik sekecil dan sesempit mungkin. Seperti dalam prosedur kromatografi lainnya, penggunaan terlalu banyak sampel dapat mengurangi resolusi. Penelitian menunjukkan bahwa pemilihan sampel dapat dilakukan secara otomatis, sementara penandaan sebaiknya dilakukan secara manual, terutama jika sampel yang akan ditandai memiliki volume lebih dari 15 μL . Peregistrasian sampel yang kurang akurat dapat menghasilkan titik yang tersebar dan puncak ganda. Berdasarkan tujuan analisis, berbagai jumlah sampel disarankan untuk digunakan dan dirangkum dalam Tabel 3.

Metode otomatisasi dalam penotolan sampel diperlukan untuk mencapai reproduktibilitas yang baik, yang sangat penting dalam analisis kuantitatif. Untuk mencapai reproduktibilitas tersebut, volume sampel yang ditotolkan sebaiknya minimal 0,5 μL . Jika volume sampel yang akan ditotolkan lebih besar dari 2-10 μL , penotolan harus dilakukan secara bertahap dengan pengeringan antartotolan. Jarak antara pusat penotolan bercak sebaiknya lebih dari 1 cm, dengan diameter bercak idealnya antara 2-5 mm dan posisi yang tidak terlalu dekat dengan ujung lempeng (sebaiknya berjarak 1,5 cm dari ujung pada lempeng KLT berukuran 20 x 20 cm)

f. Deteksi Bercak

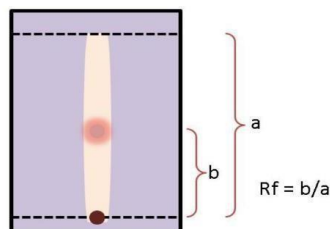
Keberhasilan pemisahan dalam Kromatografi Lapis Tipis (KLT) sangat bergantung pada proses lokalitas bercak. Pada bercak yang berwarna, deteksi dapat dilakukan secara visual. Namun, bercak pemisahan pada KLT umumnya tidak memiliki warna yang terlihat. Identifikasi dapat dilakukan melalui pendekatan

kimia, fisika, atau biologi. Pendekatan kimia seringkali melibatkan reaksi bercak dengan suatu pereaksi yang disemprotkan untuk membuat bercak menjadi lebih terlihat. Pendekatan fisika yang dapat digunakan untuk memvisualisasikan bercak melibatkan pencacahan radioaktif dan fluoresensi sinar ultraviolet (Rochman, 2021).

g. Penetapan Harga R_f

Faktor retensi (R_f) adalah rasio antara jarak tempuh suatu komponen dengan jarak tempuh eluen dalam suatu kromatografi. Nilai R_f bersifat sangat spesifik untuk suatu senyawa dalam eluen tertentu, dan dapat digunakan untuk membedakan antar senyawa dalam sampel. Senyawa dengan nilai R_f yang lebih tinggi menunjukkan polaritas yang lebih rendah, dan sebaliknya. Hal ini terjadi karena fasa diamnya bersifat polar. Senyawa yang lebih polar cenderung terperangkap lebih banyak dalam fasa diam, yang mengakibatkan nilai R_f yang lebih rendah. Sebagai pedoman, nilai R_f yang optimal biasanya berkisar antara 0,2 hingga 0,8. Jika nilai R_f terlalu tinggi, ini menunjukkan bahwa polaritas eluen perlu dikurangi, dan sebaliknya.

Merupakan parameter karakteristik dalam kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis, harga ini menunjukkan kecepatan migrasi suatu senyawa pada kromatogram dan tetap konstan pada kondisi yang stabil, menjadikannya suatu ukuran karakteristik dan reproduksibel. Harga R_f didefinisikan sebagai perbandingan antara jarak tempuh suatu senyawa dari titik awal (b) dan jarak tepi depan pelarut dari titik awal (a), sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 8.



Seperti halnya pada kertas harga R_f didefinisikan sebagai berikut:

$$\text{Harga R}_f = \frac{\text{Jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik asal}}$$

Gambar 8. Harga R_f (Nurdiani, 2018)

Nilai Rf dari senyawa murni dapat dijadikan dasar perbandingan dengan nilai standar. Penting untuk dicatat bahwa nilai Rf yang diperoleh berlaku untuk kombinasi tertentu dari pelarut dan sorbennya, meskipun daftar nilai Rf untuk kombinasi pelarut dan sorben lainnya dapat diperoleh bersama-sama (Nurdiani, 2018).

2.7.3 Sistem kromatografi lapis tipis senyawa kurkumin

Tabel 4. Sistem KLT senyawa kurkumin

Sampel	Metode Ekstraksi	Pelarut	Fase gerak	Fase Diam	Rf	Daftar Pustaka
Rimpang kunyit	-	Etanol p.a	Kloroform p- etanol p (95:5)	Silika gel 60 F ₂₅₄	0,62	(Kementrian Kesehatan RI, 2017)
Rimpang temu giring	-	Etanol	Kloroform p- etanol p (95:5)	Silika gel 60 F ₂₅₄	0,65	(Kementrian Kesehatan RI, 2017)
Rimpang temulawak	-	Etanol p.a	Kloroform P- metanol P (95:5)	Silika gel 60 F ₂₅₄	0,85	(Kementrian Kesehatan RI, 2017)
Rimpang bengle	-	Etanol p.a	Kloroform P- metanol P (95:5)	Silika gel 60 F ₂₅₄	0,70	(Kementrian Kesehatan RI, 2017)
Rimpang Lempuyang Gajah	-	Etanol p.a	n-Kloroform P- metanol P (95:5)	Silika gel 60 F ₂₅₄	0,85	(Kementrian Kesehatan RI, 2017)
Rimpang temulawak	Maserasi	Etanol p.a	n-Heksan etil asetat (1:1)	Silika gel 60 F ₂₅₄	0,35- 0,40	(Mujahid R et al., 2011)
Rimpang Kunyit	Sonikasi	Etanol 96%	Kloroform : metanol (9:1)	Silikagel G	0,81	(Haryani et al., 2021)
Jamu kunyit asam	-	Etanol p.a	Kloroform : asam aasetat glacial (94 : 5 : 1)	Silika gel 60 F ₂₅₄	0,51	(Permatasari et al., 2021)
Rimpang Kunyit	Maserasi	Etanol p.a	kloroform : etanol : asam aasetat glasial (94 : 5 : 1)	Silika gel 60 F ₂₅₄	0,51	(Azizah & Salamah, 2013)
Rimpang Kunyit	-	Metanol p.a	kloroform: benzen: metanol(80:15:5)	Silika gel GF ₂₅₄	0,6	(Hanwar et al., 2018)

2.8 Densitometri

Densitometri merupakan metode analisis instrumental yang berkaitan dengan interaksi antara radiasi elektromagnetik dan analit dalam bentuk bercak pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Interaksi ini dapat mencakup absorpsi, transmisi, pantulan (refleksi), pendar fluor, atau pemadaman pendar fluor dari radiasi aslinya pada catatan KLT yang telah ditetapkan. Dalam penentuan kualitatif analit menggunakan KLT-Densitometri, nilai R_f analit dibandingkan dengan standar. Bercak analit yang memiliki nilai R_f yang sama dengan standar diidentifikasi sebagai kemurnian analit dengan membandingkan spektrum Densitometri analit dengan standar. Sementara itu, penentuan kuantitatif analit dilakukan dengan membandingkan luas area bercak analit dengan luas area bercak standar pada fase diam yang konsentrasinya diketahui. Alternatifnya, dapat dihitung juga densitas bercak analit dan dibandingkan dengan densitas bercak standar. Densitometri lebih ditekankan dalam analisis kuantitatif, terutama untuk analit-analit dengan kadar yang sangat kecil, yang memerlukan pemisahan awal melalui KLT.(Ningrum, 2023). KLT-Densitometri dapat berperan sebagai salah satu alat pengendalian kualitas dan secara rutin digunakan untuk mengidentifikasi, memisahkan, dan mengkuantifikasi pigmen, termasuk kurkumin (Suharsanti et al., 2020).

2.9 Validasi Metode

Penilaian metode analisis adalah suatu langkah evaluasi terhadap parameter khusus, berdasarkan eksperimen laboratorium guna memverifikasi bahwa parameter tersebut memenuhi syarat-syarat penggunaannya. Dengan kata lain, tujuan dari validasi metode analisis adalah untuk memastikan bahwa metode analisis yang digunakan sesuai dengan tujuan yang ditetapkan. Parameter-parameter tersebut mencakup akurasi (kecermatan), presisi (keseksamaan), selektivitas, linieritas dan rentang, batas deteksi, batas kuantitas, ketangguhan metode, serta kekuatan metode (Kembaren & Harahap, 2014).

2.9.1 Akurasi

Akurasi merupakan parameter yang menggambarkan sejauh mana hasil analisis mendekati nilai sebenarnya dari kadar analit. Tingkat kecermatan diukur sebagai persentase dari hasil perolehan kembali (recovery) analit yang telah ditambahkan. Kecermatan hasil analisis sangat dipengaruhi oleh penyebaran galat sistematis pada seluruh tahapan analisis. Oleh karena itu, untuk mencapai tingkat kecermatan yang optimal, perlu dilakukan upaya untuk mengurangi galat sistematis tersebut, misalnya dengan menggunakan peralatan yang sudah dikalibrasi, memilih pereaksi dan pelarut berkualitas, menjaga kontrol suhu, dan melaksanakan prosedur dengan cermat sesuai dengan aturan yang berlaku.

$$(\text{Recovery}) = \frac{C_p}{C_t} \times 100\%$$

C_p = Konsentrasi sampel yang diperoleh dari pengukuran(praktek).

C_t = Konsentrasi sampel teoritis

2.9.2 Presisi

Presisi merupakan suatu parameter yang mencerminkan tingkat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui sebaran hasil individual dari rata-rata ketika prosedur diulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Kriteria ketepatan dianggap terpenuhi apabila metode menunjukkan simpangan baku relatif atau koefisien variasi sebesar 2% atau kurang. Proses khusus untuk menentukan presisi suatu metode biasanya melibatkan setidaknya sembilan penentuan agar dapat menetapkan rentang dari prosedur tersebut. Penghitungan presisi dapat dilakukan dengan menggunakan metode tertentu:

- a. Simpangan Daviasi

$$SD = \frac{\sqrt{\sum(X^1 - X)^2}}{n-1} \times 100\%$$

- b. Koefisien Partisi

$$KV = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

2.9.3 Selektivitas

Spesifisitas suatu metode merujuk pada kemampuannya untuk mengukur dengan cermat dan tepat hanya zat tertentu, tanpa terpengaruh oleh adanya komponen lain dalam matriks sampel. Spesifisitas dapat diukur melalui derajat penyimpangan metode terhadap sampel yang mengandung penambahan bahan seperti cemaran, hasil degradasi, senyawa serupa, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan dengan hasil analisis sampel yang tidak mengandung penambahan bahan tersebut.

2.9.4 Linearitas

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima. Koefisien korelasi (r) digunakan sebagai parameter untuk menunjukkan adanya hubungan linier dalam analisis regresi linier ($Y = a + bX$). Hubungan linier yang ideal tercapai jika nilai ($b = 0$) dan (r) bernilai $+1$ atau -1 , tergantung pada arah garis. Nilai (a) menunjukkan sensitivitas analisis, terutama berkaitan dengan instrumen yang digunakan. Parameter lain yang perlu dihitung adalah simpangan baku residual (S_y). Semua perhitungan matematika ini dapat dilakukan menggunakan kalkulator atau perangkat lunak komputer (Harmita, 2004).

$$S_y = \sqrt{\sum \frac{y' - y^1}{n-2}}$$

Dimana $y^1 = a + bx$

$$S_{x0} = \frac{S_y}{b}$$

S_{x0} = standar deviasi fungsi

$$V_{x0} = \frac{S_{x0}}{x}$$

V_{x0} = koefisien variasi dari fungsi

2.9.5 Rentang metode

Rentang metode merupakan penjelasan mengenai rentang nilai terendah dan tertinggi untuk analit yang dapat diukur dengan tingkat kecermatan, ketepatan, dan linearitas yang dapat diterima. Langkah-langkah untuk menilai linearitas suatu metode melibatkan penggunaan setidaknya tiga konsentrasi yang mencakup seluruh rentang kurva kalibrasi, termasuk konsentrasi yang mendekati nilai LOQ, konsentrasi pertengahan, dan konsentrasi yang menjadi batas terendah pada kurva kalibrasi.

2.9.6 Batas deteksi dan Batas kuantifikasi

Batas deteksi mengindikasikan jumlah terkecil analit dalam sampel yang masih dapat terdeteksi dan memberikan respons yang signifikan jika dibandingkan dengan blanko. Hal ini merupakan parameter uji batas. Di sisi lain, batas kuantifikasi adalah parameter pada analisis renik yang diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih memenuhi kriteria ketelitian dan kecermatan. Dalam analisis instrumen, batas deteksi dapat dihitung dengan melakukan beberapa pengukuran respons blanko dan menghitung simpangan baku respons blanko. Berikut adalah rumus yang dapat digunakan untuk perhitungan:

$$Q = \frac{K \times SD}{S}$$

Dalam situasi ini, Q (kemungkinan disimbolkan sebagai Batas Deteksi atau Batas Kuantifikasi) memiliki nilai k, di mana k adalah 3 untuk Batas Deteksi atau 10 untuk Batas Kuantifikasi. SD merupakan Standar Deviasi intersep pada persamaan regresi linier, dan S adalah Kemiringan (Slope) dari persamaan regresi linier, yang merupakan nilai a pada persamaan $y = ax + b$. (Kembaren & Harahap, 2014).