

**ANALISIS KUALITATIF MORFIN HIDROKLORIDA, KODEIN FOSFAT,
DAN OPIUM PADA SUPLEMEN MAKANAN MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DENSITOMETRI**

YANITA UTAMA

0304050716



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN FARMASI
DEPOK
2008**

**ANALISIS KUALITATIF MORFIN HIDROKLORIDA, KODEIN FOSFAT,
DAN OPIUM PADA SUPLEMEN MAKANAN MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DENSITOMETRI**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi**

Oleh:

YANITA UTAMA

0304050716



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN FARMASI
DEPOK
2008**

SKRIPSI : ANALISIS KUALITATIF MORFIN HIDROKLORIDA, KODEIN
FOSFAT, DAN OPIUM PADA SUPLEMEN MAKANAN
MENGUNAKAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS
DENSITOMETRI

NAMA : YANITA UTAMA

NPM : 0304050716

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, DESEMBER 2008



DRA. MARYATI KURNIADI, MSi

PEMBIMBING I



DR. YAHDIANA HARAHAP, MS

PEMBIMBING II

Tanggal Lulus Ujian Sidang Sarjana : ²² Desember 2008

Penguji I : Dr. Hasan Rahmat M.....

Penguji II : Dr. Katrin, MSi.....

Penguji III : Dr. Harmita.....

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada sumber segala kebenaran dan ilmu pengetahuan, Allah SWT, karena atas segala rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi ini.

Skripsi yang berjudul Analisis Kualitatif Morfin Hidroklorida, Kodein Fosfat, dan Opium Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Densitometri ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi, Departemen Farmasi Universitas Indonesia. Penelitian dalam rangka penyusunan skripsi ini dilakukan sepenuhnya di laboratorium Kimia Kuantitatif, Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini, penulis hendak mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Dra. Maryati Kurniadi, MSi selaku pembimbing I dan Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS selaku pembimbing II yang telah bersedia memberikan bimbingan dan pengarahan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Dr. Yahdiana Harahap MS, selaku kepala Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah memberikan kesempatan penulis melakukan penelitian.
3. Ibu Dr. Berna Elya, MSi, selaku pembimbing akademik yang telah memberikan nasihat dan bimbingan.

4. Drs. J.A. Kawira, selaku dosen Farmasi FMIPA UI yang memberikan banyak masukan , pengarahan, inspirasi, dan ilmu yang bermanfaat dibidang kimia farmasi.
5. Bapak Drs. Hayun, MSi, selaku kepala Laboraturum Kimia Kuantitatif Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah mengizinkan penulis menggunakan ruang dan fasilitas laboratorium selama penelitian.
6. Para karyawan Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia yang telah membantu terlaksananya penelitian ini, khususnya Pak rustam Paun, atas segala bantuannya di Laboratorium Kimia Kuantitatif.
7. Almarhum bapak, Ibu, Indah dan Leni yang selalu memberikan doa, kasih sayang dan dukungan moril serta materil.
8. Fadiah Bayu Adlina yang selalu memberikan perhatian, kasih sayang, dan waktunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Teman-teman Farmasi, khususnya Harya, Bilal, Firman, Rida, Diah, Toto, Dila, Tata, Vina, Tyas, yang telah memberikan bantuan selama penelitian.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangannya, baik dari segi ilmiah maupun penyajiannya. Penulis berharap penelitian ini dapat bermanfaat bagi rekan-rekan Farmasi Khususnya dan para pengembang ilmu pengetahuan pada umumnya.

Depok, 2008

Penulis

ABSTRAK

Suplemen makanan adalah produk pelengkap kebutuhan gizi makanan, mengandung satu atau lebih bahan berupa vitamin, mineral, asam amino, atau bahan lain (yang berasal dari tumbuhan atau bukan tumbuhan) yang mempunyai nilai gizi dan atau fisiologis dalam jumlah terkonsentrasi. suplemen makanan seharusnya tidak mengandung atau ditambahkan bahan kimia yang berfungsi sebagai obat seperti narkotika, yaitu morfin hidroklorida, kodein fosfat, dan opium. Tujuan penelitian ini adalah untuk mencari kondisi yang optimal untuk analisis kualitatif morfin HCl, kodein fosfat, opium dan melakukan validasi terhadap metode analisis kualitatif secara KLT densitometri serta menggunakan metode tersebut untuk mengidentifikasi morfin, kodein dan opium dalam beberapa sampel suplemen makanan. Kondisi optimal dicapai dengan menggunakan fase diam silika gel 60 F 254 dan eluen etil asetat : metanol : ammoniak 25% (8:1:1). Hasil pengujian menunjukkan bahwa morfin hidroklorida dan kodein fosfat memiliki linearitas (r) 0,9996 dan 0,9994 dengan batas deteksi 21,2398 ng dan 24,6834 ng. Hasil keterulangan morfin hidroklorida dan kodein fosfat memberikan koefisien variasi dibawah 2% dan hasil perolehan kembali morfin hidroklorida dan kodein fosfat adalah 99,773% dan 99,748%. Hasil dari penelitian ini menunjukkan tidak terdeteksinya morfin dan kodein pada semua sampel yang diujikan.

Kata kunci: KLT Densitometri, Morfin, Kodein, Opium, Suplemen makanan, kualitatif

xi + 70 hal. ; gbr. ; tab. ; lamp.

Bibliografi: 25 (1995-2007)

ABSTRACT

Food suplemen is a product completing nutrition need, contains one or more component such as vitamins, mineral, amino acid, or others (from plants or not) that have nutrition and physiology value in concentrated amount. Food suplemen should not be added chemical agent which have function as drug, like narcotic such as morphine hydrochloride acid, codein phosphate, and opium. The aim of this study was to search optimum qualitative analysis for morphine hydrochloride acid, codein phosphate, opium and to get validation of TLC-densitometry qualitative analysis method also aplicate this method to identify morphine hydrochloride acid, codein phosphate, and opium in some food suplemen samples. This study using silika gel 60 F 254 as stationery phase and mixture eluent of etil asetat : metanol : ammoniak 25% (8:1:1) as mobile phase. The result showed that the linerity of morphine hidrokloridae and codein phosphate is 0,9996 and 0,9994, the limit detection of morphine hidrokloride and codein phosphate is 21,2398 ng and 24,6834 ng. The result of morphine hidrokloride and codein phosphate repeatability have coeffisien valeu less then 2% and average of recovery value is 99,773% and 99,748%. Result of this research is the morphine hydrochloride acid, codein phosphate, not found in all tested samples.

Keywords : TLC Densitometry, Morphine Hydrochloride, Codein Phosphate, Opium, Food Supplement.

Xi+ 65 Pages; pictures; tables; apendixes

Bibliography : 25 (1949-2007)

DAFTAR ISI

Halaman

KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	ii
ABSTRACT.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
BAB I. PENDAHULUAN	
A. LATAR BELAKANG.....	1
B. TUJUAN PENELITIAN.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. SUPLEMEN MAKANAN.....	4
B. MORFIN HIDROKLORIDA.....	6
C. KODEIN FOSFAT.....	7
D. OPIUM.....	8
E. KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS.....	10
F. DENSITOMETRI.....	16

G. VALIDASI METODE ANALISIS.....	19
BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA	
A. BAHAN.....	24
B. ALAT.....	24
C. CARA KERJA.....	25
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. HASIL.....	29
B. PEMBAHASAN.....	32
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. KESIMPULAN.....	40
B. SARAN.....	40
DAFTAR ACUAN.....	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumus bangun morfin hidroklorida.....	4
2. Rumus bangun koden fosfat.....	6
3. Skema dasar dari densitometri.....	17
4. Spektrum serapan menggunakan spektrofotometer uv-vis	
a. Spektum serapan morfin hidroklorida.....	44
b. Spektrum serapan kodein fosfat.....	44
c. Spektrum serapan opium.....	45
d. Overlay spektrum serapan morfin hidroklorida, kodein fosfat dan opium.....	45
5. Densitogram morfin hidroklorida, kodein fosfat dan opium pada eluen etil asetat-metanol-ammoniaum hidroksida 25%.....	46
6. Spektrum serapan menggunakan TLC Scanner	
a. Morfin Hidroklorida.....	47
b. Kodein Fosfat.....	48
7. Kurva kalibrasi	
a. Morfin hidroklorida.....	48
b. Kodein fosfat.....	49
8. Perbandingan spektrum serapan sampel dengan standar morfin hidroklorida dan kodein fosfat.....	49
9. Densitogram sampel.....	49

10. Kurva serapan sampel D dan adisi morfin hidroklorida.....	52
---	----

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nilai Rf pada variasi fase gerak.....	53
2. Kurva klaibrasi dan linearitas morfin hidroklorida.....	54
3. Kurva kalibrasi dan linearita kodei fosfat.....	55
4. Batas deteksi morfin hidroklorida.....	56
5. Batas deteksi kodein fosfat.....	57
6. Uji keterukangan morfin hidroklorida.....	58
7. Uji keterulangan kodein fosfat.....	59
8. Uji perolehan kembali morfin hidroklorida.....	60
9. Uji perolehan kembali kodein fosfat.....	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Kurva Kalibrasi.....	62
2. Perhitungan Batas Deteksi dan Kuantitasi.....	63
3. Perhitungan simpangan baku dan Koefisien Variasi.....	64
4. Perhitungan Uji perolehan Kembali.....	65
5. Sertifikat Analisis Morfin Hidroklorida.....	66
6. Sertifikat Analisis Kodein Fosfat.....	67
7. Sertifikat Analisis Opium Pulvis.....	68

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Saat ini, selain obat-obatan banyak pula dikonsumsi suplemen makanan sebagai tambahan nutrisi, pencegah terhadap suatu penyakit atau membantu penyembuhan penyakit kronik atau akut. Hal ini sebenarnya berawal dari konsep kembali ke alam (*back to nature*) dimana bahan-bahan alam dikemas sedemikian rupa dalam bentuk kapsul, pil, kapsul lunak dan lain-lain. Saat ini suplemen makanan pun telah menjadi salah satu tren untuk dikonsumsi, terutama oleh kalangan masyarakat menengah ke atas akibat dari perubahan gaya hidup dan gencarnya iklan tentang suplemen makanan tersebut.

Mengingat suplemen makanan adalah produk makanan yang dijual bebas, maka patut diperhatikan masalah keamanannya dari zat-zat yang berbahaya dan merugikan bagi tubuh. Berdasarkan keputusan kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia no. HK 00.05.23.4644, suplemen makanan adalah produk yang dimaksudkan untuk melengkapi kebutuhan gizi makanan, mengandung satu atau lebih bahan berupa vitamin, mineral, asam amino, atau bahan lain (yang berasal dari tumbuhan atau bukan tumbuhan) yang mempunyai nilai gizi dan atau fisiologis dalam jumlah terkonsentrasi. Berdasarkan penjelasan tersebut maka suplemen makanan seharusnya tidak mengandung atau ditambahkan bahan kimia yang berfungsi sebagai obat seperti narkotika.(1)

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah KLT densitometri. Pemilihan metode ini disebabkan KLT merupakan metode yang sederhana dibandingkan dengan metode lain seperti KCKT dan *Liquid Chromatography Mass Spectrofotometer* (LC-MS). Jika dibandingkan dengan metode KCKT, metode ini lebih cepat dalam preparasi dan penanganan jumlah sampel yang besar. Selain itu biaya operasional yang dibutuhkan juga relatif kecil namun secara umum dapat memberikan hasil yang cukup baik dalam mengidentifikasi suatu zat dalam campuran. Untuk kuantitasi deteksi dapat langsung menggunakan densitometer.(2,3)

B. TUJUAN PENELITIAN

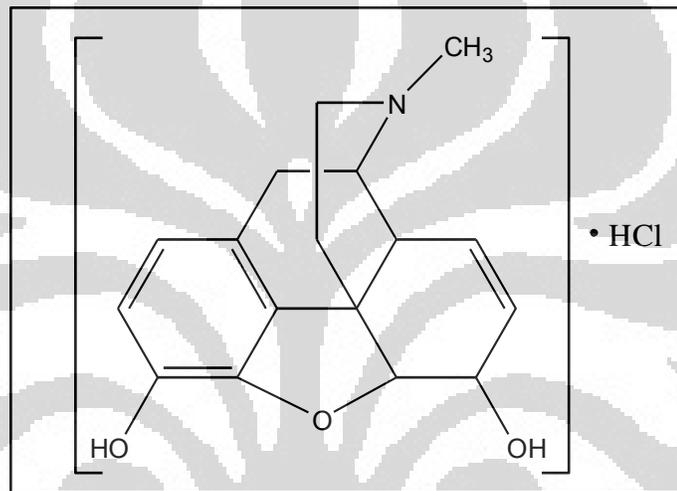
1. Mencari kondisi yang optimal untuk analisis kualitatif morfin hidroklorida, kodein fosfat dan opium secara KLT densitometri.
2. Melakukan validasi terhadap metode analisis kualitatif secara KLT densitometri dan menggunakan metode tersebut untuk mengidentifikasi morfin hidroklorida, kodein fosfat dan opium dalam beberapa sampel suplemen makanan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. MORFIN HCl

1. Monografi



Gambar 1. Struktur Morfin HCl(4)

Morfin HCl mengandung tidak kurang dari 98,0% $C_{17}H_{19}NO_3 \cdot HCl$, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan pada suhu $130^{\circ}C$ hingga bobot tetap(5)

Rumus struktur : $C_{17}H_{19}NO_3 \cdot HCl$

Bobot molekul : 375,85(5)

Pemerian : Serbuk hablur atau hablur jarum mengkilat atau massa berbentuk kubus; putih atau hampir putih; tidak berbau; rasa pahit.(5)

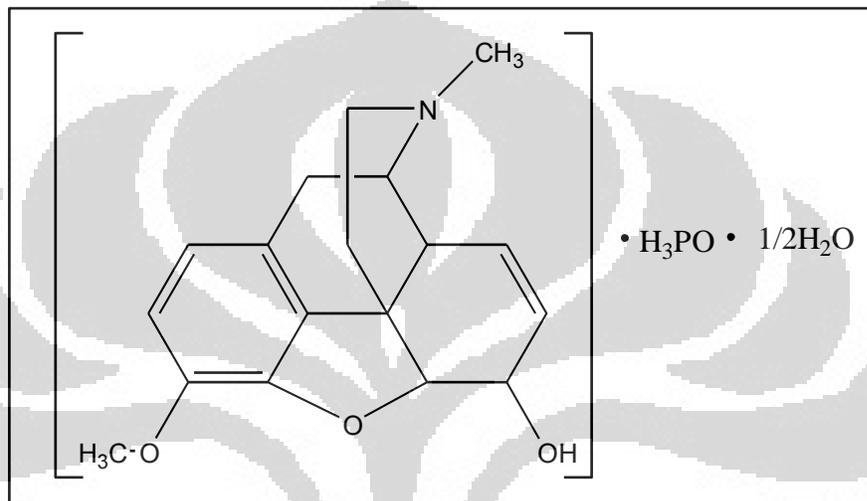
Sinonim : Morphia

Kelarutan : Larut dalam 24 bagian air, dalam 100 bagian etanol, 10

bagian gliserol; tidak larut dalam kloroform dan eter.(4)

B. KODEIN FOSFAT

1. Monografi



Gambar 2. Struktur kodein fosfat (6)

Kodein fosfat mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,5% $C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4$, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.(7)

Rumus struktur : $C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4$

Bobot molekul : 406,37

Pemerian : berbentuk jarum halus atau serbuk hablur; putih; tidak berbau; rasa pahit. (7)

Sinonim : codlin, paveral, trikodein(6)

Kelarutan : Larut dalam 4 bagian air, dalam 450 bagian etanol, dalam 1: 125 etanol panas; tidak larut dalam kloroform dan eter.(6)

C. OPIUM

1. Monografi

Opium adalah getah kering yang dengan penorehan getah papaver somniferum L. yang tua tetapi belum masak, mengandung tidak kurang dari 10% $C_{17}H_{19}NO_3$, dihitung sebagai morfin anhidrat.(8)

D. SUPLEMEN MAKANAN

Berdasarkan keputusan kepala badan POM RI no HK.00.05.23.4644 tentang ketentuan pokok pengawasan suplemen makanan, suplemen makanan adalah produk yang dimaksudkan untuk melengkapi kebutuhan zat gizi makanan, mengandung satu atau lebih bahan berupa vitamin, mineral, asam amino, atau bahan lain (berasal dari tumbuhan atau bukan tumbuhan) yang mempunyai nilai gizi dan atau efek fisiologis dalam jumlah terkonsentrasi.(1)

Suplemen makanan harus memiliki kriteria sebagai berikut :

- a. Menggunakan bahan yang memenuhi standar mutu dan persyaratan keamanan serta standard dan persyaratan lain yang ditetapkan.
- b. Kemanfaatan yang dinilai dari komposisi dan atau didukung oleh data pembuktian.
- c. Diproduksi dengan menerapkan cara pembuatan yang baik.
- d. Penandaan yang harus mencantumkan informasi yang lengkap, objektif, benar dan tidak menyesatkan.
- e. Dalam bentuk sediaan pil, kapsul, serbuk, granul, setengah padat dan cairan yang tidak dimaksud untuk pangan.(9)

Suplemen makanan harus diproduksi dengan menggunakan bahan yang memenuhi standar mutu sesuai dengan Farmakope Indonesia, Materia Medika Indonesia atau standard yang lain yang diakui.(9)

Dalam peraturan ini dituliskan pula hal-hal yang dilarang dalam suatu food suplemen makanan, yaitu :

- a. Suplemen makanan dilarang mengandung bahan yang tergolong obat atau narkotika atau psikotropika.
- b. Suplemen makanan dilarang mengandung bahan yang melebihi batas maksimum sebagai mana dicantumkan pada badan POM.
- c. Suplemen makanan dilarang menggunakan tumbuhan dan atau hewan yang dilindungi sesuai dengan ketentuan yang berlaku.
- d. Suplemen makanan dalam bentuk cairan peroral mengandung etil alkohol dengan kadar lebih dari 5%.(9)

Komposisi zat dalam suplemen makanan adalah senyawa-senyawa yang yang tidak bertindak sebagai obat dan formulasinya bergantung pada bentuk sediaan yang ingin dibuat.

Pada kemasan suplemen makanan harus tercantum kode nomor registrasi yang diawali dengan SD (suplemen makanan dalam) SI (suplemen makana impor) atau SL (suplemen makanan lisensi).(9)

E. KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS

1. Penggunaan KLT

Kromatografi lapis tipis merupakan bagian dari kromatografi cair.

Kelebihan kromatografi lapis tipis dibanding dengan sistem kromatografi maupun metode analisa yang lain yaitu (2,10,11):

- a. Merupakan metode yang sederhana dan alat yang digunakan relatif lebih murah;
- b. Dapat digunakan untuk analisa kualitatif, kuantitatif, dan pemisahan preparatif;
- c. Memungkinkan mengkromatografi beberapa cuplikan sekaligus, sehingga waktu yang dibutuhkan untuk jumlah sampel yang banyak dapat lebih singkat;
- d. Jumlah cuplikan dan pelarut yang digunakan jumlahnya kecil;
- e. Memungkinkan dilakukannya penotolan cuplikan berganda;
- f. Waktu yang diperlukan untuk analisa relatif lebih cepat.

Ada beberapa kriteria suatu zat agar dapat dianalisa dengan KLT, yaitu (12):

- a. Harus dapat terdeteksi pada kromatogram, dapat dilarutkan dan dapat elusi dengan fase gerak.
- b. Tidak bersifat volatile, sehingga tidak menguap selama proses elusi dan pengeringan lempeng TLC.
- c. Harus stabil selama proses kromatografi, baik terhadap cahaya, udara dan pelarut yang digunakan.
- d. Bila zat tersebut tidak memenuhi beberapa persyaratan di atas maka harus

diubah secara kimia. Cara seperti ini dikenal dengan prakromatografi derivatisasi(12,13). Prakromatografi derivatisasi, dilakukan selama penyiapan zat atau pada saat menotolkan zat di lempeng KLT. Hal ini dilakukan untuk meningkatkan pemisahan, sensitifitas deteksi dan linieritas dapat juga untuk menstabilkan zat yang labil (13).

2. Sistem KLT

Sistem KLT dapat diatur dengan mengubah sifat permukaan penjerap atau dengan mengubah-ubah kepolaran dari fase gerak. Mengubah-ubah fase gerak lebih mudah dilakukan dan memang inilah yang sering dilakukan(2).

a. Fase diam

Penjerap untuk KLT umumnya dapat digolongkan menjadi dua yaitu penjerap dari bahan silica gel dan alumina. Silica gel merupakan penjerap yang paling banyak digunakan dalam KLT. Silica gel bersifat asam, jadi lebih sering digunakan untuk memisahkan senyawa yang bersifat asam. Sedangkan alumina bersifat basa digunakan untuk senyawa yang bersifat basa. Hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya pengikatan secara kuat senyawa dengan penjerap karena ikatan ion antara keduanya(2,3). Selain silica gel dan alumina dapat juga digunakan penjerap lain seperti selulosa atau poliamida(3).

Salah satu kelemahan metode KLT adalah keterulangan yang buruk bila analisa dilakukan pada lempeng yang berbeda. Hal ini dapat terjadi karena adanya kesukaran dalam membuat lempeng yang terulangan,

bahkan dalam satu pabrikpun(14,15).

Dalam perkembangannya telah diciptakan sistem penjerap yang lebih baik yang dikenal dengan *High Pressure Thin Layer Chromatography*(HPTLC), merupakan lempeng KLT yang dilapisi dengan silica gel dengan ukuran partikel yang lebih kecil (5-7 μm) dan homogeny, juga dengan tingkat ketebalan yang kecil (200 μm). lempeng ini memiliki tingkat pemisahan yang lebih singkat dan membutuhkan jumlah cuplikan yang lebih sedikit (2,3,13).

b. Fase gerak

Fase gerak diubah-ubah dengan cara mengkombinasi dengan cara mengkombinasi pelarut gar diperoleh kepolaran yang tepat untuk pemisahan tertentu(2,10,12). Ada dua faktor yang harus diperhatikan ketika mencampur fase gerak. Faktor pertama, bahwa hanya pelarut yang mempunyai kepolaran yang serupa yang dapat dicampur. Faktor kedua adalah, bahwa kepolaran campuran tidak merupakan fungsi linier dari susunan campuran tapi merupakan fungsi logaritma(2).

3. Teknik Pengembangan Pada KLT

Pada umumnya cara pengembangan KLT dilakukan secara menaik, namun dikenal pula cara pengembangan lainnya seperti pengembangan melingkar, mendatar dan pengembangn menurun.

a. Pengembang menaik

Pengembangan dengan cara ini membutuhkan peralatan yang sederhana, yaitu sebuah bejana dari gelas yang dapat ditutup rapat. Pada prinsipnya lempeng KLT di masukkan kedalam bejana yang sudah jenuh dengan eluen. Titik awal elusi harus berada kurang lebih 1 cm dari eluen. Eluen akan bergerak naik pada lempeng karena gaya kapilaritas.

b. Pengembangan melingkar

Pada cara ini zat yang akan dielusiditotokan beberapa centimeter dari pusat pada lempeng yang berbentuk lingkaran. Fase gerak yang digunakan akan naik kepusat lingkaran dan menyebar secara radial sampai ke tepi lingkaran.

c. Pengembangan mendatar

Pada prinsipnya sama dengan pengembangan cara menaik hanya saja pengembangan ini posisi lempeng mendatar, eluen dihubungkan dengan lempeng menggunakan kertas khusus.

d. Pengembangan menurun

Merupakan cara yang pengembangan dengan arah kebalikan dengan cara pengembangan menaik. Cara pengembangan ini biasanya dilakukan pada kromatografi kertas . pada cara ini pergerakan eluen selain dipengaruhi kapilaritas juga dipengaruhi gaya gravitasi, jadi proses elusi berjalan lebih cepat.

Selain teknik pengembangan diatas dapat juga dilakukan teknik pengembangan dua dimensi. Setelah elusi pertama dilakukan dengan eluen tertentu, lempeng diangkat dan dikeringakan. Elusi selanjutnya dilakukan dengan memutar lempeng 90° dengan eluen lain. Dengan cara ini dimungkinkan pemisahan campuran yang kepolarannya sangat berbeda.(2,12).

4. Analisis Dengan KLT

Kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk analisa kualitatif maupun kuantitatif, bahkan dapat juga digunakan untuk keperluan preparative.

a. Analisa kualitatif

KLT dapat digunakan untuk menentukan kemurnian zat dan mengetahui pengotor yang ada terdapat pada zat. Karena setiap zat memiliki nilai R tertentu pada suatu siste KLT tertentu, maka dapat digunakan juga untuk mengidentifikasi zat (12,13).

b. Analisa kuantitatif

Metode kuantitatif dapat dibedakan menjadi dua yaitu secara insitu dan metode *after elution*. Metode in situ didasarkan pada kuaktitasi langsung terhadap noda pada kromatogram, baik secara subjektif maupun dengan detector yang sesuai. Metode after elution dilakukan dengan mengsolasi hasil pemisahan pada kromatogram, dilanjutkan dengan metode kuantitasi yang sesuai seperti fotometri, polarografi, titrasi atau dengan metode kromatografi

lainnya.

c. Preparatif

KLT dapat digunakan untuk pemisahan preparasi dan pemurnian zat dalam interval 1 mg sampai 1 g. Kelebihannya dibandingkan dengan menggunakan kromatografi kolom adalah kemampuannya pemisahan yang lebih baik, peralatan lebih sederhana dan mudah dalam penanganan kromatogram (2,10,13).

F. DENSITOMETRI

1. Instrumentasi Pada Densitometri

Ada beberapa model operasi pengukuran dari instrumen ini, namun tidak semuanya tersedia dalam tiap alat. Pengukuran dapat dilakukan berdasarkan (2):

- a. Deteksi model transmisi
- b. Deteksi model refleksi

Pada model transmisi, lempeng kromatografi dilewati seberkas sinar, dan energi yang ditransmisikan diukur. Sedangkan pada model pemantulan, sinar disorotkan pada lempeng kromatografi dan berkas sinar yang dipantulkan diukur. Model pemantulan terutama efektif jika cuplikan berfluoresensi dan fluoresensi itu dapat diukur. Pada kedua cara tersebut

energi yang ditransmisikan atau dipantulkan dideteksi lalu dikonversi dalam bentuk puncak-puncak.

Pada umumnya sistem optik dari alat ini dapat dikategorikan dalam disain yang tampak pada Gambar 4. Pada umumnya semua alat densitometer dilengkapi dengan sumber cahaya, kondensor, sistem pemfokus, dan detektor peka cahaya. Selain itu juga dilengkapi dengan monokromator, bahkan memiliki filter optik yang selektif pada panjang gelombang tertentu (2).

Sumber cahaya merupakan bagian yang penting pada alat, sumber cahaya yang berbeda akan menyebabkan karakteristik spektrum yang berbeda pula. Lampu deuterium (D2), lampu Tungsten (W), merupakan lampu yang sering digunakan sebagai sumber cahaya pada daerah UV. Sedangkan untuk pengukuran fluoresensi biasanya digunakan lampu merkuri (Hg) atau xenon (Xe). Lampu D2 digunakan untuk analisa pada jangkauan panjang gelombang 190-400 nm, lampu W pada jangkauan 350-800 nm, sedangkan lampu Hg pada pada jangkauan panjang gelombang 254-578 nm (2).

Sinar yang keluar dari sumber cahaya dihimpun oleh bagian yang disebut kondensor. Agar diperoleh sinar dengan panjang gelombang tertentu sinar dilewatkan pada monokromator. Sinar monokromatis kemudian diarahkan pada lempeng KLT. Sebagian sinar yang direfleksikan oleh lempeng kemudian disejajarkan oleh bagian yang disebut kolimator. Setelah melalui kolimator sinar tersebut akan diseleksi oleh bagian yang disebut filter optik sehingga hanya panjang gelombang tertentu saja yang dapat masuk ke

detektor. Pada bagian akhir sinar akan diubah menjadi arus-arus listrik oleh photo multiplier. Arus-arus listrik inilah yang kemudian dikonversi menjadi puncak-puncak (2).

Dalam penggunaan densitometer ada beberapa hal yang harus dipertimbangkan, antara lain (2):

- a. Sinar yang masuk tidak perlu tepat paralel, namun sudut datang sinar harus dipertahankan konstan;
- b. Monokromatoritas dari sinar sangat penting, untuk menjaga keseragaman absorpsi dari sampel pada panjang gelombang yang digunakan;
- c. Celah sinar datang harus kecil, sesuai dengan range daerah absorpsi;
- d. Ketidakteraturan bentuk noda memiliki efek yang besar bila dilakukan pengukuran dengan model refleksi bila dibandingkan dengan model transmisi.

G. VALIDASI METODE ANALISIS

Validasi metode analisa adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya(16,17).

Validasi metode diperlukan dalam suatu proses analisa untuk

memastikan hasil analisa dapat dipertanggungjawabkan. Suatu metode analisa perlu divalidasi apabila metode tersebut baru dikembangkan untuk suatu permasalahan khusus. Validasi juga dilakukan jika kita akan merevisi metode yang sudah ada untuk memecahkan suatu permasalahan analisa yang baru. Selain itu proses validasi juga perlu dilakukan bila kita menerapkan metode rutin pada laboratorium yang berbeda dengan alat dan oleh analis yang berbeda pula. Seiring dengan berjalannya waktu proses validasi metode juga perlu dilakukan untuk memastikan metode tersebut masih dapat diandalkan (16).

Ada beberapa parameter analisa yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisa. Untuk menentukan parameter-parameter yang digunakan kita perlu memperhatikan tujuan dari penelitian yang akan dilakukan. Parameter yang sering kali digunakan untuk pengembangan metode analisa antara lain kecermatan (*accuracy*), keseksamaan (*precision*), selektivitas, linearitas, batas deteksi dan kuantitasi, serta ketangguhan (*ruggedness*) metode (17,18,19).

1. Kecermatan

Kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisa dengan kadar analit yang sebenarnya (16,20). Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Uji perolehan kembali dapat dilakukan dengan menambahkan sejumlah analit dengan konsentrasi tertentu pada matriks sampel, lalu nilai perolehan kembali

ditentukan dengan menghitung berapa persen analit yang ditambahkan tadi dapat ditemukan. Rentang kesalahan perolehan kembali yang diizinkan berbeda-beda bergantung pada konsentrasi analit pada matriks sampel, semakin kecil konsentrasi analit, semakin kecil perolehan kembalinya.

2. Keseksamaan

Keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relative (koefisien variasi). Keseksamaan dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) atau ketertiruan (*reproducibility*). Keterulangan adalah keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama dalam interval waktu yang pendek. Ketertiruan adalah keseksamaan metode jika dikerjakan pada kondisi berbeda(16). Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relative 2% atau kurang. Akan tetapi kriteria ini sangat fleksibel bergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa.

3. Selektivitas

Selektivitas suatu metode adalah kemampuan metode untuk mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam amatriks sample (16). Selektivitas metode ditentukan dengan membandingkan hasil analisa sample yang mengandung cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya atau pembawa dengan hasil analisa sampel tanpa penambahan bahan-bahan tadi.

4. Linearitas

Linearitas adalah kemampuan metode analisa yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematika yang baik, proporsional terhadap analit dalam sample. Dalam praktek, digunakan satu seri larutan yang berbeda konsentrasinya antara 50-150 % kadar analit dalam sampel (16,20).

Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi (r) pada analisa regresi linier $y = a + bx$. Hubungan linier yang ideal dicapai jika $r = +1$ atau -1 bergantung pada arah garis (16).

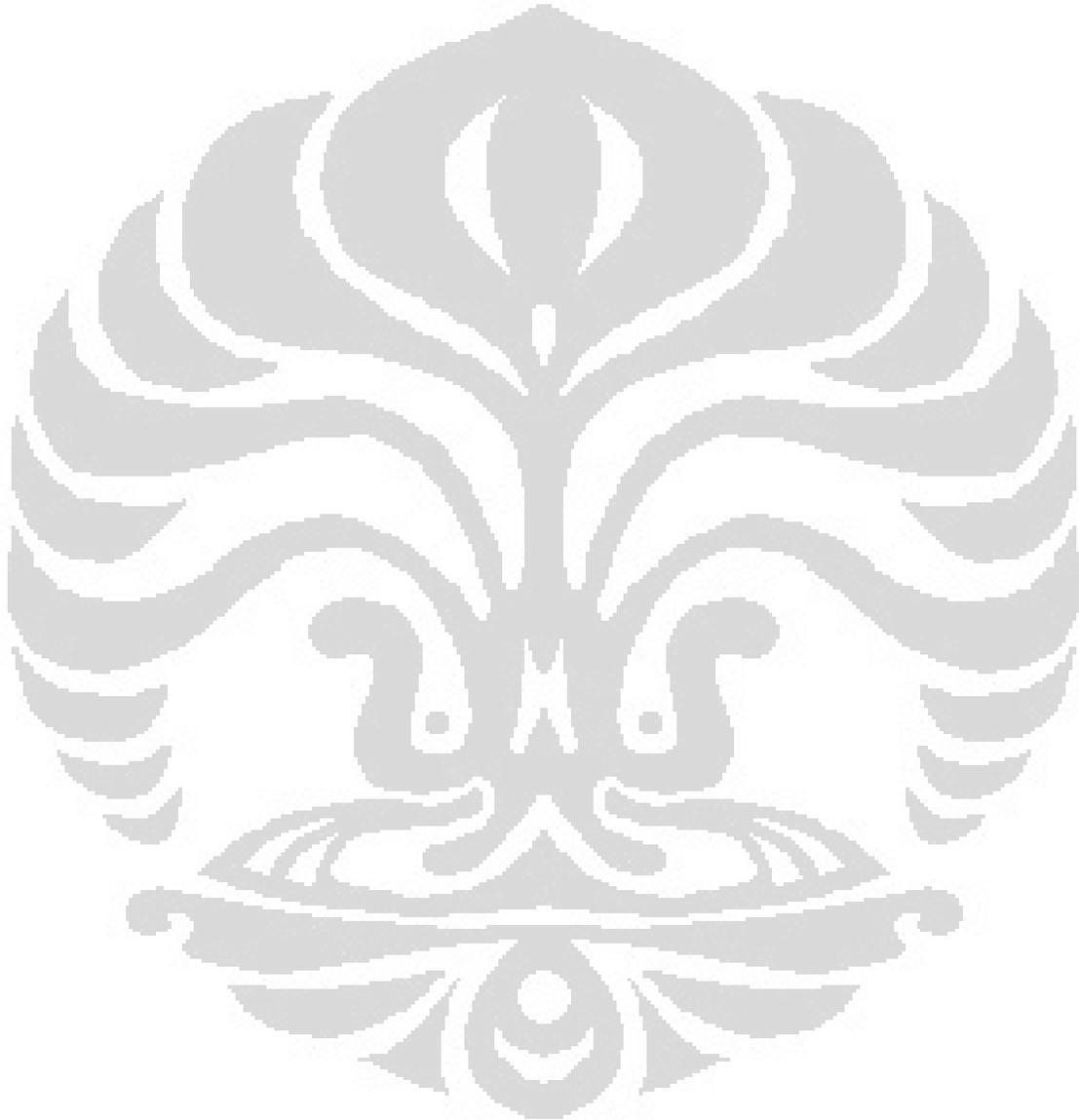
5. Batas deteksi dan kuantitasi

Batas deteksi adalah jumlah terkecil dalam sample yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko (26,27,28). Sedangkan batas kuantitasi adalah batas kuantitas terkecil analit yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (16,17). Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kalibrasi (16).

6. Ketangguhan metode

Ketangguhan metode adalah derajat ketertiruan hasil uji yang diperoleh dari hasil analisa sampel yang sama dalam berbagai kondisi uji normal, seperti laboratorium, analisa, instrument, bahan pereaksi, suhu, hari yang berbeda dan lain-lain. Ketangguhan metode ditentukan dengan menganalisa suatu lot sample

yang homogen pada lab yang berbeda oleh analis yang berbeda, kondisi dan lingkungan, tetapi menggunakan prosedur dan uji yang sama (16,17).



BAB III

BAHAN, ALAT DAN CARA KERJA

A. BAHAN

Standar morfin HCl (Kimia Farma), kodein fosfat (Kimia Farma), opium pulvis (Kimia Farma), etil asetat p.a (Merck), Metanol p.a (Merck), 1-butanol p.a (Merck), narium sulfat eksikatus (Merck), kloroform p.a (Merck), aquades, ammonia p.a (Merck), lempeng KLT silica gel 60 GF₂₅₄ (Merck).

B. ALAT

Bejana KLT, alat penotol (nanomat II), mikrokapiler 1 µl, detektor (Camag TLC scanner III), komputer dilengkapi dengan program Wincats, neraca analitik, penanggas air, lemari es, aluminium foil, sarung tangan, masker, plastic *crap* alat-alat gelas.

C. CARA KERJA

1. Optimasi kondisi analisa secara KLT densitometri
 - a. Pemilihan panjang gelombang optimum untuk deteksi

Larutan 10 ppm standar morfin HCl, kodein fosfat dan opium dimasukkan kedalam kuvet kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm. Panjang gelombang maksimum ditentukan berdasarkan panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum.

b. Penentuan dimensi slit optimum densitometer

Larutan standar morfin HCl dan kodein fosfat 300 ppm ditotolkan 2 μ l pada lempeng KLT. Kemudian dianalisa dengan densitometer pada panjang gelombang maksimum dengan menggunakan lampu deuterium dan mode pengukuran absorpsi. Deteksi dilakukan pada berbagai perubahan dimensi slit densitometer, hingga diperoleh luas area optimal.

c. Pemilihan eluen yang optimal untuk pemisahan morfin HCl dan kodein fosfat

Larutan morfin HCl dan kodein fosfat 300 ppm ditotolkan 2 μ l pada lempeng KLT. Kemudian dilakukan elusi dengan menggunakan berbagai kombinasi eluen. Lempeng kemudian dianalisa dengan densitometer.

2. Pengujian linearitas

Larutan standar morfin HCl dan kodein fosfat dalam metanol dibuat dengan konsentrasi 50, 100, 200, 300, 400 dan 500 ppm. Masing-masing larutan standar ditotolkan 2 μ l pada lempeng KLT (20 x 10 cm) dengan titik penotolan 10 mm dari tepi bawah dan jarak antar titik penotolan 10 mm. lalu dilakukan elusi dengan eluen yang sesuai sepanjang 80 mm. setela elusi selesai, eluen pada lempeng diuapkan pada suhu kamar selama 5 menit. Selanjutnya dibuat kurva kalibrasi untuk morfin HCl dan kodein fosfat.

3. Penentuan batas deteksi dan kuantitasi

Batas deteksi dan kuantitasi dari morfin HCl dan kodein fosfat ditentukan dengan metode perhitungan statistik berdasarkan kurva kalibrasi yang telah dibuat dan berdasarkan kromatogram kalibrasi yang ditentukan dengan luas area tiga kali luas area dari *noise*.

4. Uji keterulangan pengukuran Morfin HCl dan kodein fosfat

Larutan standar morfin HCl dan kodein fosfat 100 ppm ditotolkan 1 μ l pada lempeng KLT. Kemudian dilakukan analisa dengan densitometer pada panjang gelombang maksimum dengan menggunakan lampu deuterium dan mode pengukuran absorpsi. Luas area morfin HCl dan kodein fosfat diukur enam kali setelah elusi selesai dilakukan.

5. Uji perolehan kembali

Blanko sample berupa serbuk ditimbang secara seksama 2,0 gr, sebanyak 4 kali, lalu masing-masing dimasukkan kedalam Erlenmeyer 100 ml A, B, C dan D. Dicampur 2,0 gr blanko pada erlenmeyer A, B, C dengan masing masing 1 ml larutan standar morfin HCl dan kodein fosfat 1000 ppm selanjutnya dilakukan proses ekstraksi.

Pada masing-masing Erlenmeyer ditambahkan 10,0 ml methanol, lalu di-shaker selama 15 menit. Kemudian disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Kemudian diambil supernatannya dan diuapkan. Residu

hasil ekstraksi dilarutkan dengan 1,0 ml metanol, lalu dimasukkan ke dalam botol coklat 5 ml.

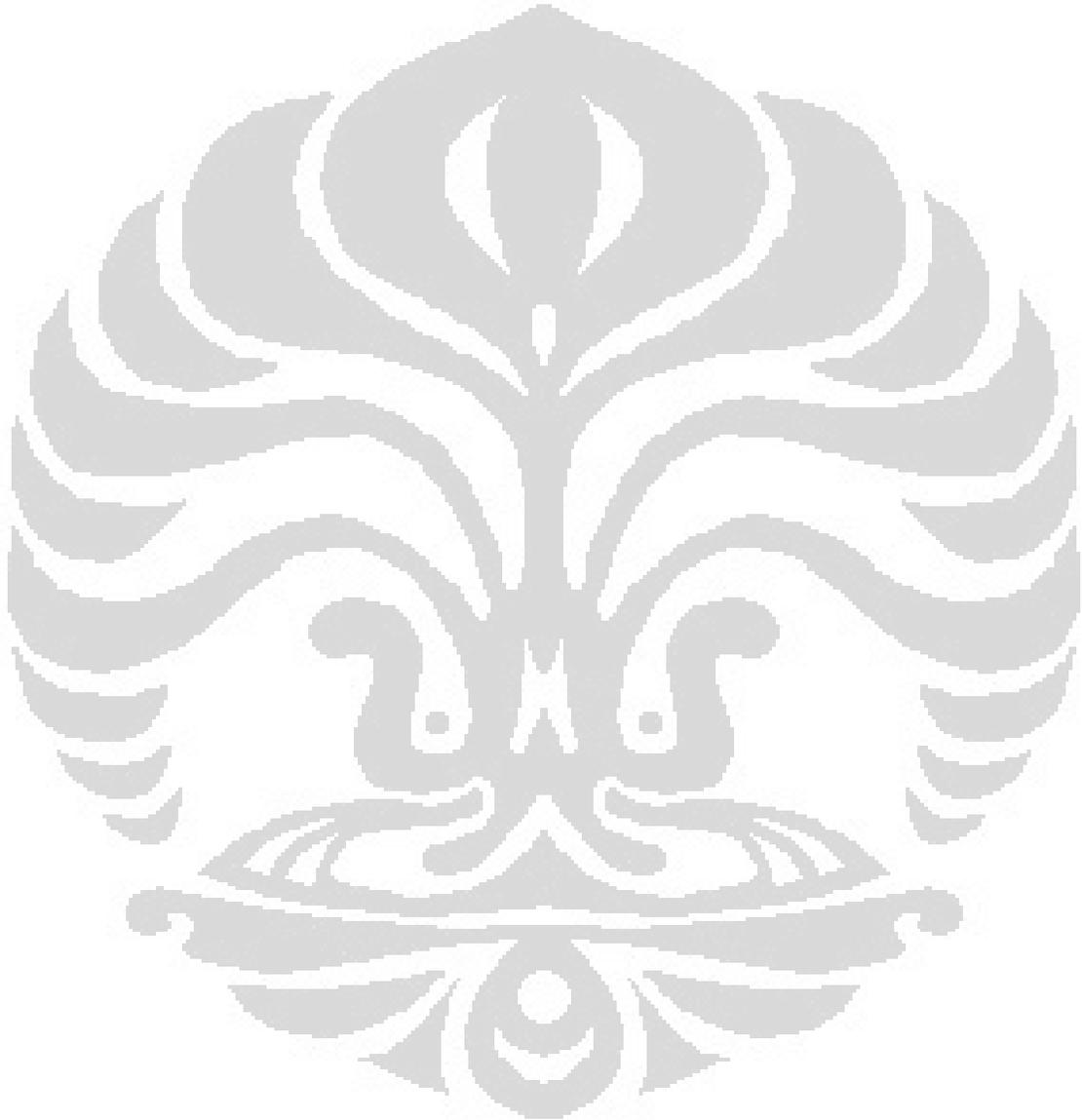
Ekstrak A, B, C dan D ditotolkan 2 μ l pada lempeng yang digunakan untuk uji linearitas dengan jarak titik penotolan 10 mm dari tepi bawah dan jarak titik penotolan 10 mm. selanjutnya dilakukan elusi dengan eluen yang sesuaikan sepanjang 80 mm. setelah elusi selesai, eluen pada lempeng diuapkan pada suhu kamar selama 5 menit. Pada tahap akhir lempeng dianalisa dengan densitometer pada λ maksimum, kemudian ditentukan persentase perolehan kembali.

6. Identifikasi sampel

Masing-masing sample dihomogenkan dengan blender selama 10 menit. Sampel ditimbang secara seksama sebanyak $\pm 2,0$ gr masing-masing duplo. Selanjutnya dilakukan ekstraksi seperti yang dilakukan pada uji perolehan kembali. Residu hasil ekstraksi dilarutkan dengan 1 ml metanol, lalu dimasukkan ke dalam botol coklat 5 ml.

Ekstrak sample ditotolkan 2 μ l pada lempeng KLT yang digunakan untuk pengujian linearitas dengan jarak titik penotolan 10 mm dari tepi bawah dan jarak antar titik penotolan 10 mm. selanjutnya dilakukan elusi dengan eluen yang sesuai sepanjang 80 mm. setelah elusi selesai, eluen pada lempeng diuapkan pada suhu kamar selama 5 menit. Pada tahap akhir lempeng dianalisa dengan

densitometer pada λ maksimum, kemudian diidentifikasi ada atau tidaknya morfin HCl, kodein fosfat dan opium pada sampel.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

1. Pemilihan Panjang Gelombang Optimum Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Panjang gelombang optimum menggunakan spektrofotometri UV-vis dilakukan terhadap morfin HCl, kodein fosfat, dan opium pada panjang gelombang 200-400 nm. Dari hasil pengukuran diperoleh panjang gelombang maksimum untuk morfin HCl, kodein fosfat, dan opium adalah 280 nm. Spectrum serapan dari dapat dilihat pada gambar

2. Penentuan dimensi slit optimum densitometer

Pengujian dilakukan pada panjang gelombang 280 nm dengan menggunakan larutan standar morfin HCl 100 ppm dan kodein fosfat 100 ppm. Panjang slit optimum pada.... Sedangkan lebar slit pada... hasil lengkap dapat dilihat pada gambar....

3. Pemilihan eluen yang optimal untuk pemisahan morfin HCl dan kodein fosfat

Pengujian dilakukan pada panjang gelombang 280 nm. Dengan menggunakan larutan standar morfin HCl 100 ppm dan kodein fosfat 100 ppm.

4. Pengujian linearitas

Linearitas dari kurva kalibrasi morfin HCl ditunjukkan dari nilai koefisien korelasi (r) yaitu 0,999. Hasil yang diperoleh telah memenuhi criteria persyaratan linearitas. Data dan gambar yang menunjukkan nilai linearitas dapat dilihat pada Tabel.... dan Gambar....

5. Penentuan batas deteksi

Hasil perhitungan statistic menggunakan persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh dari tabel... dengan rentang konsentrasi 50-500 ppm (nilai LOD yang didapatkan Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel...

6. Uji keterulangan pengukuran morfin HCl dan kodein fosfat

Uji keterulangan dilakukan dengan menotolkan masing-masing enam kali dari tiga konsentrasi yang berbeda yaitu konsentrasi rendah, sedang dan tinggi. Koefisien variasi (KV) untuk larutan morfin HCl pada konsentrasi rendah () adalah ... pada konsentrasi sedang () adalah ... dan pada konsentrasi tinggi (). Dari percobaan uji keterulangan yang telah dilakukan untuk analisis morfin HCl dan kodein fosfat, hasil yang diperoleh sudah memenuhi kriteria yang dipersyaratkan. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel

7. Uji perolehan kembali

Uji akurasi dilakukan melalui uji perolehan kembali pada tiga konsentrasi yang berbeda dan masing-masing konsentrasi dilakukan triplo dari awal penimbangan. Pada penelitian ini, uji perolehan kembali dilakukan menggunakan metode adisi. Nilai UPK rata-rata dari tiga konsentrasi adalah Dengan nilai RSD (KV) sebesar..... Dari percobaan uji perolehan kembali yang telah dilakukan untuk analisis asam askorbat, hasil yang diperoleh sudah memenuhi kriteria yang dipersyaratkan. Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel

8. Identifikasi sampel

Identifikasi sample pada penelitian ini dilakukan pada 10 sample yang masing-masing sampel dilakukan duplo. Hasil ekstraksi kemudian ditotolkan 1 μ l pada lempeng KLT.dari hasil analisis yang dilakukan terhadap sampel tidak terdeteksi adanya morfin dan kodein pada semua sampel.

B. PEMBAHASAN

Morfin HCl dan kodein fosfat merupakan senyawa golongan alkaloid yang mempunyai gugus kromofor sehingga senyawa tersebut dapat menyerap energi cahaya UV. Sehingga hal pertama yang dilakukan pada penelitian ini adalah pencarian panjang gelombang menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Dari

hasil pengukuran ternyata morfin HCl dan Kodein fosfat memiliki spektrum serapan yang serupa yaitu mempunyai panjang gelombang maksimum 280 nm.

Langkah selanjutnya adalah mencari dimensi slit baik panjang maupun lebarnya. Pemilihan dimensi slit ini bertujuan memperoleh batas yang lebih besar pada pengukuran. Slit merupakan celah tempat keluarnya sinar monokromatik yang nantinya akan diarahkan pada lempeng KLT. Intensitas sinar yang keluar harus sebanding dengan jumlah zat yang terdapat pada bercak. Semakin kecil ukuran dimensi slit maka intensitas sinar monokromatik yang keluar semakin besar. Pemilihan slit ini didasarkan juga atas besarnya bercak. Pilihlah panjang slit yang lebih besar dari ukuran bercak. Sehingga semua zat tersebut dapat *discan*. Dari hasil penelitian pengujian diperoleh dimensi slit optimal adalah....

Langkah selanjutnya adalah menentukan eluen yang dapat digunakan untuk memisahkan morfin HCl dan kodein fosfat. Pada penelitian ini dilakukan screening terhadap sistem eluen yang berbeda yang berpedoman pada tingkat kepolaran pelarut yang akan digunakan sebagai eluen. Diperoleh kombinasi eluen etil asetat : metanol : ammoniak 25% (8:1:1) yang dapat memisahkan morfin HCl dan kodein fosfat dengan baik. Dari kromatogram (Gambar...) untuk morfin HCl diperoleh R_f 0,41 sedangkan R_f untuk kodein HCl adalah 0,61. Tampak morfin HCl bersifat lebih polar dari kodein fosfat hal ini dapat terjadi karena morfin HCl memiliki pasangan elektron bebas lebih banyak dari kodein fosfat.

Sebelum proses elusi dilakukan terlebih dahulu harus dilakukan penjenjuran eluen di dalam bejana kromatografi. Hal ini perlu dilakukan agar proses elusi dapat berjalan dengan cepat. Proses penjenjuran pada bejana berukuran besar (untuk lempeng 20 x 20 cm), biasanya dilakukan kurang lebih 3 jam. Untuk membantu kesejajaran di saat penotolan zat pada lempeng KLT dapat digunakan alat bantu Nanomat II, dengan alat ini diharapkan nilai R_f untuk zat yang sama dapat terulang.

Dari pengujian linearitas morfin HCl dan kodein fosfat tampak adanya linearitas yang baik dari morfin HCl dan kodein fosfat antara berat ...ng. Tampak juga dari Gambar ... kurva kalibrasi morfin HCl dan kodein fosfat memiliki tingkat kemiringan yang hampir sama hal ini menunjukkan terjadinya kenaikan intensitas sinar emisi yang setara antara morfin HCl dan kodein fosfat seiring dengan kenaikan berat kedua zat tersebut. Dari persamaan kurva kalibrasi dapat ditentukan besar batas deteksi morfin HCl dan kodein fosfat. Hasil perhitungan LOD dapat dilihat pada Tabel...

Dari uji keterulangan pengukuran kromatogram tampak memberikan presisi yang baik. Pengujian dilakukan dengan menghitung besarnya relative standar deviasi(RSD). Presisi yang baik ditunjukkan bila nilai RSD dari enam kali pengukuran kurang dari 2%. Pada pengujian ini diperoleh RSD yang masih memenuhi standar untuk lebih lengkapnya bias dilihat pada tabel...

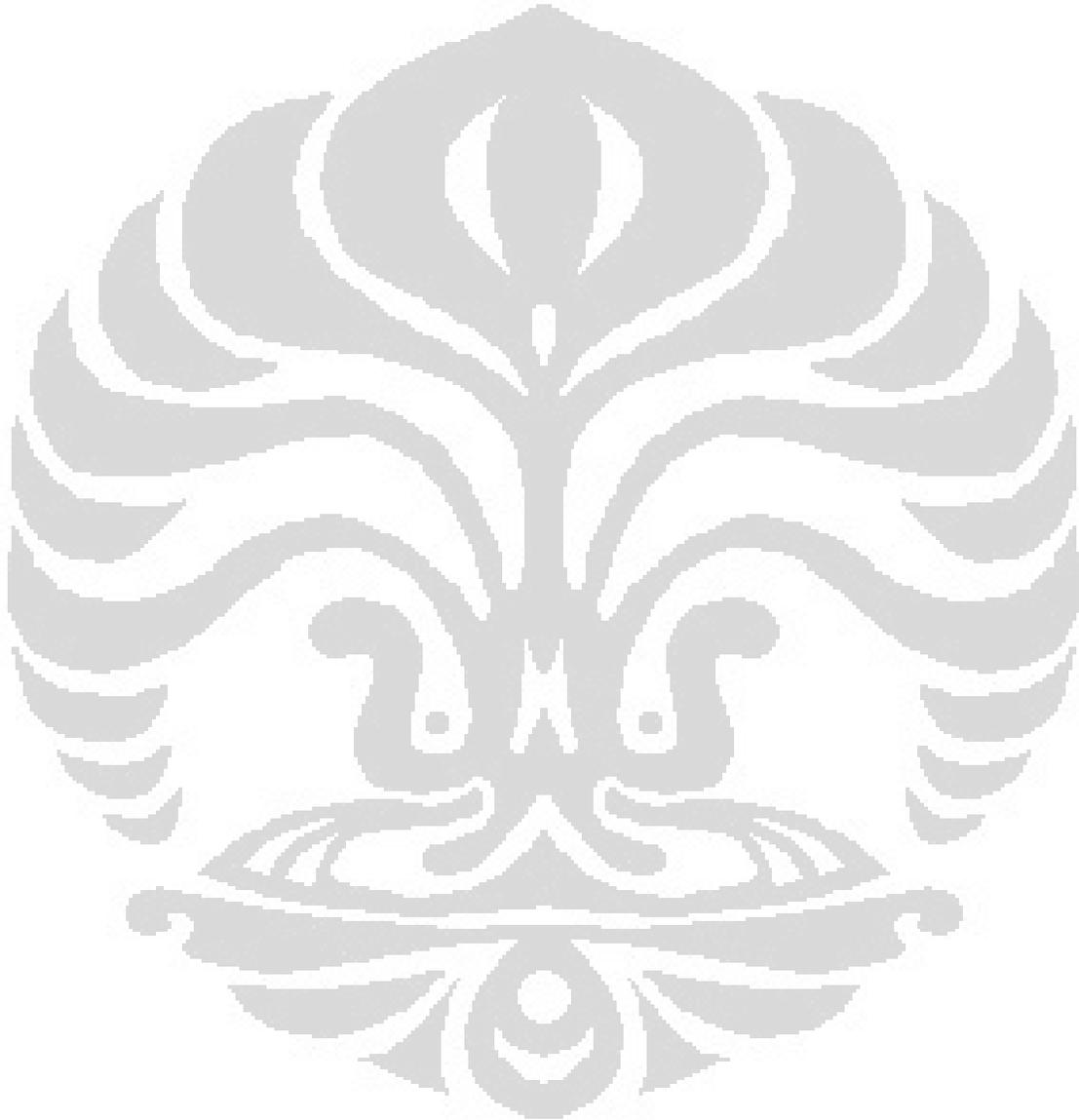
Sampel yang digunakan pada penelitian kali ini adalah sampel berupa sediaan serbuk. Prosedur ekstraksi

DAFTAR ACUAN

1. Anonim, keputusan kepala badan pengawasan obat dan makanan RI tentang ketentuan pokok pengawasan suplemen makanan. [http://www.pom.go.id/public/hukum_perundangan. 22 agustus 2007](http://www.pom.go.id/public/hukum_perundangan.22_agustus2007), 16.00
2. Gritter, Roy. Pengantar kromatografi, edisi 2. Terjemahan dari Intoduction to chromatography, 2nd ed, oleh padwinata. Bandung. Institut teknologi Bandung 1991 : 1-18,82-92, 107-132
3. Touchston, J.C. Thin Layer Chromatography: Quantitative environmental and clink application. USA : John wiley & Sons, inc. 1980 : 7-15
4. Anonim, Clarke's Isolation and Identification of Drugs. The Pharmaceutical Press, 1986 : 790
5. Anonim Farmakope Indonesia III. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1997 : 385-1386
6. Anonim, Clarke's Isolation and Identification of Drugs. The Pharmaceutical Press, 1986 : 790
7. Anonim, Farmakope Indonesia III. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1997 : 173-174
8. Anonim, Farmakope Indonesia III. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1997 : 460
9. Anonim, Analitical Chemistry : determination of Analgesic by Thin Layer Chromatography (TLC).[http:// Deloyd.50meqs.com/index.html](http://Deloyd.50meqs.com/index.html).
10. _____. Thin layer Chromatography using diode array detection. <http://www.getspec.com/sentronic.nsf/D/news-EN.html>.
11. Gasparic, Jirl, Jaroslav C. Laboratory Handbook of paper and thin layer Chromatography. England: Ellis Horword, Ltd 1978: 18-24, 174-232
12. Sherma, Joseph, Bernard F. Hand Book of Thin Layer Chromatography, 2nd. New York: Marcel Decker, inc. 1996: 206-212. 1036-1032
13. Touchton, J.C Dobbins M.F Practical of Thin Layer Chromatography. New York : John Willey & Sons, Inc: 1983 22-28, 142-245, 251-252, 304-307.
14. Touchston J.C Joseph Sherma. Densitometry In Thin Layer Chromatography Practice and Aplication. New York : John Wiley & Sons, Inc. 1979: 103-108, 121-124, 393-400
15. Harmita. Petunjuk pelaksana Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI. 2004: 15-23
16. Anonim. The United States Pharmacop eia XXII. Easton : mack Printing Company. 1990: 1710-1712.
17. Harley, john, Stephen P.W. Instrumental Analysis. New York : John Willey & Sons, Inc. 1980: 113-122

18. Katz, Elena. Quantitative Analysis Using Chromatographic Techniques Chichester: John Wiley & Sons, Inc. 1987: 289-292.

19. Anonim. British Pharmacopeia vol. III. London: Her Majesty's Stationary Office. 1999:A376



Tabel 1
 Nilai Rf Pada Variasi Fase Gerak

Fase gerak	Rf		
	Morfin Hidroklorida	Kodein Fosfat	Opium
Etanol-Sikloheksan-Ammonium Hidroksida 25% 72 : 30 : 6	-	-	-
1-Butanol-Metanol-Ammonium Hidroksida 25% 4 : 4 : 1	-	-	-
Toluen-Metanol 3 : 7	0,4	0,3	0,4
Metanol-ammonium Hidroksida 100 : 1,5	0,55	0,51	0,20 0,55
Sikloheksan : Toluen : Dietilamin 75 : 25 : 10	-	-	-
Kloroform : Metanol 9 : 1	0,14	0,44	0,18 0,61
Kloroform : Aseton 4 : 1	-	-	-
Etil Asetat-Metanol-Ammonium Hidroksida 25% 10 : 1 : 0,5	0,25	0,46	0,28 0,49
Etil asetat	-	-	-
Isopropanol-Kloroform-Ammonium Hidroksida 25% 9 : 9 : 2	-	-	-
Toluen	-	-	-
Aseton	0,05	0,07	-
Aseton-Ammonium Hidroksida 25% 5 : 1	0,27	0,86	0,78
Sikloheksan-Aseton-Kloroform 70 : 25 : 5	-	0,03	0,03 0,35
Etil Asetat-Ammonium Hidroksida 25% 8 : 1 : 1	0,41	0,61	0,41 0,65

Tabel 2

Kurva Kalibrasi dan Linearitas Morfin Hidroklorida

Konsentrasi (ppm)	Berat (μg) [x]	Δx	Luas Puncak [y]	Δy	$\Delta y/\Delta x$
50	103		383,95		
		103		290,46	0,35461
100	206		674,41		
		206		563,56	0,365533
200	412		1237,97		
		206		514,16	0,400653
300	618		1752,13		
		206		519,42	0,396596
400	824		2271,55		
		206		575,09	0,358205
500	1030		2817,64		

Persamaan garis : $y = 128,51 + 2,6294x$

Koefisien korelasi (r) : 0,9996

Koefisien fungsi regresi (V_{xo}) :

Kepekaan analisis ($\Delta y/\Delta x$) : $0,35461 \approx 0,365533 \approx 0,400653 \approx 0,396596 \approx 0,358205$
 $\approx 0,37512$ (slope)

Tabel 3

Kurva Kalibrasi dan Linearitas Kodein Fosfat

Konsentrasi (ppm)	Berat (μg) [x]	Δx	Luas Puncak [y]	Δy	$\Delta y/\Delta x$
50	102		466,53		
		102		208,93	0,488202
100	204		675,46		
		204		430,13	0,474275
200	408		1105,59		
		204		394,16	0,517556
300	612		1499,75		
		204		453,75	0,449587
400	816		1953,5		
		204		446,99	0,456386
500	1020		2400,49		

Persamaan garis : $y = 244,89 + 2,0974x$

Koefisien korelasi (r) : 0,9996

Kepekaan analisis ($\Delta y/\Delta x$) : $0,488202 \approx 0,474275 \approx 0,517556 \approx 0,449587 \approx 0,456386$
 $\approx 0,477201$ (slope)

Tabel 4
Batas Deteksi Morfin Hidroklorida

Konsentrasi (ppm)	Berat (μg) [x]	Luas Puncak [y]	y'	(y-y') ²
50	103	383,95	399,3382	29,0327
100	206	674,41	670,1664	18,0081
200	412	1237,97	1211,823	683,676
300	618	1829,27	1753,479	1,82034
400	824	2271,55	2295,136	556,281
500	1030	2817,64	2836,792	96,9831
				$\Sigma=1385.801$

Keterangan :

y' = Luas puncak berdasarkan persamaan kurva kalibrasi

Sy/x = 18,6134

LOD = 21.2368

Tabel 5
Batas Deteksi Kodein Fosfat

Konsentrasi (ppm)	Berat (g)	Luas Puncak	y'	$(y-y')^2$
50	102	466,530	392,7088	4875,000
100	204	675,460	664,9076	111,3531
200	408	1105,59	1201,305	9161,400
300	612	1499,75	1737,703	56621,54
400	816	1953,50	2274,100	102784,6
500	1020	2400,49	2810,498	168106,6

Keterangan :

y' = Luas puncak berdasarkan persamaan kurva kalibrasi

Sy/x = 292,2586

LOD = 418,0299

Tabel 6
Uji Keterulangan Morfin Hidroklorida

Luas Puncak	x'	x rata-rata	(x-x') ²	SD	KV
688.4300	212.9459	212.9706	0.0006	0.7183	0.3373
686.7100	212.2918		0.4608		
687.7200	212.6759		0.0869		
690.1200	213.5887		0.3820		
691.3300	214.0488		1.1626		
686.6600	212.2728		0.4870		
1748.1300	615.9656	616.8847	0.8447	0.6050	0.0981
1749.4400	616.4638		0.1771		
1752.1300	617.4869		0.3626		
1751.2100	617.1370		0.0636		
1750.2300	616.7643		0.0145		
1752.1400	617.4907		0.3672		
2853.1400	1036.2174	1037.0630	0.7151	1.0216	0.0985
2851.3200	1035.5252		2.3648		
2857.4100	1037.8413		0.6058		
2856.6100	1037.5371		0.2248		
2858.3700	1038.2064		1.3074		
2855.3300	1037.0503		0.0002		

Keterangan :

x' = Berat () berdasarkan persamaan kurva kalibrasi

Tabel 7

Uji Keterulangan Kodein Fosfat

Luas Puncak	x'	x rata-rata	(x-x') ²	SD	KV
671.23	203.2707	203.9891	0.516075	0.718305	0.352129
672.22	203.7427		0.060699		
673.54	204.3721		0.146673		
675.56	205.3352		1.811923		
673.33	204.272		0.080007		
670.54	202.9417		1.096968		
			0.742469		
1543.67	619.2333	619.6521	1.883382	1.11736	0.180321
1544.55	619.6529		0.907821		
1545.89	620.2918		0.09854		
1544.88	619.8102		0.632755		
1543.67	619.2333		1.883382		
1544.63	619.691		0.836592		
			1.248494		
2383.66	1019.724	1020.29	0.31988	1.1473	0.112448
2381.65	1018.766		2.322298		
2385.23	1020.473		0.033477		
2386.61	1021.131		0.707153		
2388.37	1021.97		2.822595		
2383.56	1019.677		0.376085		
			1.316297		

Keterangan :

x' = Berat () berdasarkan persamaan kurva kalibrasi

Tabel 8
Uji Perolehan Kembali Morfin Hidroklorida

Berat Standar (g)	Luas Puncak [A]	x'	x _o rata-rata	UPK (%)	UPK rata-rata (%)	RSD
206	680,451	203,854	204,546	98,958	99,7732	
	683,116	204,873		99,453		
617	683,215	204,911	617,338	99,471		
	1764,35	618,189		100,193		
	1760,59	616,752		99,9597		
	1761,43	617,073		100,012		
1028	2833,87	1027,03	1027,70	99,905		
	2835,61	1027,69		99,9700		
	2837,41	1028,38		100,037		

Keterangan :

- x' = Berat sampel yang telah ditambahkan standar berdasarkan kurva kalibrasi
- x_o rata-rata = Berat sampel rata-rata berdasarkan persamaan kurva kalibrasi
- y = Luas puncak sampel yang ditambahkan standar

Tabel 9

Uji Perolehan Kembali Kodein Fosfat

Berat Standar (g)	Luas Puncak [y]	x'	x _o rata-rata	UPK (%)	UPK rata-rata (%)	RSD
205	674,348	204,4312	204,72256	99,7225	99,7454	
	675,601	205,0316		100,015		
	674,940	204,7149		99,8609		
611	1523,88	611,4935	610,6173	100,081		
	1520,85	610,0407		99,8430		
	1521,43	610,3177		99,8883		
1024	2354,65	1009,559	1018,190	98,5898		
	2372,90	1018,19		99,4278		
	2390,78	1026,871		100,280		

Keterangan :

x' = Berat sampel yang telah ditambahkan standar berdasarkan kurva kalibrasi

x_o rata-rata = Berat sampel rata-rata berdasarkan persamaan kurva kalibrasi

y = Luas puncak sampel yang ditambahkan standar