

**VALIDASI METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT)-
DENSITOMETRI UNTUK PENETAPAN KADAR β -KAROTEN DALAM
TABLET KUNYAH EKSTRAK *Spirulina platensis***

**Siti Fatmawati Fatimah, Citra Ariani Edityaningrum* ,
Wihasty Nur Istyqomah, Ibnu Gholib Gandjar, Laela Hayu Nurani**
Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta

*Email: citra.edityaningrum@pharm.uad.ac.id

Artikel diterima: 24 November 2019; Disetujui: 5 Maret 2020

DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.v5i1.404>

ABSTRAK

Validasi Metode Analisis penentuan β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak *Spirulina platensis* perlu dilakukan untuk menjamin mutu dan kualitas Tujuan penelitian ini adalah membuktikan validitas metode KLT-Densitometri untuk penetapan kadar β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak *Spirulina platensis*. Validasi metode analisis dilakukan dengan menggunakan standar β -karoten dan tablet kunyah spirulina dalam pelarut etil asetat meliputi spesifitas, linearitas, presisi keberulangan, presisi antara, akurasi, batas deteksi dan batas kuantitasi dengan fase diam silika gel 60 F254 dan fase gerak aseton : etil asetat (1:1 v/v) menggunakan metode KLT, kemudian dilakukan analisis kuantitatif dengan Densitometer pada panjang gelombang 453 nm. Hasil penelitian menunjukkan metode KLT-Densitometri linear dengan nilai $r = 0,9938$, memiliki presisi keberulangan dengan RSD 1,893%, presisi antara dengan nilai RSD 2,401%, LOD sebesar 0,159 mg/mL dan LOQ sebesar 0,531 mg/mL, serta spesifitas menunjukkan metode tidak spesifik terhadap senyawa β -karoten dan akurasi tidak menunjukkan nilai perolehan kembali. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa metode KLT-Densitometri tidak valid untuk penetapan kadar β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak *Spirulina platensis*.

Kata kunci: KLT-Densitometri, β -karoten, tablet kunyah ekstrak *Spirulina platensis*, validasi metode analisis

ABSTRACT

*Analytical Validation Method to determine β -carotene in the *Spirulina platensis* extract chewable tablets need to be done to ensure the quality. The purpose of this study is to prove the validity of the TLC-Densitometry method for determining the levels of β -carotene in the *Spirulina platensis* extract chewable tablets. Validation of the analysis method was carried out using standard β -carotene and spirulina chewable tablets in ethyl acetate solvents including specificity, linearity, repeatability precision, intermediate precision, limit of detection and limit of quantitation with stationary phase of silica gel 60 F254 and mobile phase of acetone: ethyl acetate (1: 1 v/v) using the TLC method, then*

*quantitative analysis was carried out with a Densitometer at a wavelength of 453 nm. The results showed that the TLC-Densitometry method was linear with an r value of = 0.9938, having a repeatability precision with RSD 1.89%, intermediate precision with an RSD value of 2.401%, an LOD of 0.159 mg/mL and an LOQ of 0.531 mg/mL, and the specificity showed that this method is not specific to β -carotene compounds and the accuracy does not indicate a recovery value. Based on these results it can be concluded that the TLC-densitometry method is invalid for the determination of β -carotene levels in the *Spirulina platensis* extract chewable tablets.*

Keywords: *TLC-Densitometry, β -carotene, Spirulina chewable tablets, validation of analytical method.*

PENDAHULUAN

Malnutrisi merupakan masalah kesehatan utama di negara berkembang termasuk Indonesia dan bertanggung jawab secara langsung maupun tidak langsung terhadap 60 % kematian pada balita (Kuntari dkk., 2013). Salah satu senyawa yang dapat digunakan untuk menurunkan risiko kekurangan gizi adalah karotenoid. Sumber karotenoid tertinggi terdapat pada *Spirulina platensis* dengan karotenoid tertinggi berupa β -karoten yang dapat dikonversi menjadi vitamin A (Christwardana dkk., 2013). *Spirulina* dalam bentuk tablet dan kapsul memiliki tingkat akseptibilitas yang rendah terutama pada anak-anak dan pasien penderita kanker yang memiliki kesulitan dalam menelan obat. Oleh karenanya, dibuatlah tablet kunyah yang diharapkan dapat

diterima dengan baik karena memberikan rasa yang enak, mudah ditelan dan tidak meninggalkan rasa pahit (Anonim, 1995). Validasi metode analisis perlu dilakukan dalam penetapan kandungan β -karoten pada tablet kunyah tersebut dengan metode KLT-Densitometri.

Metode KLT-Densitometri memiliki keuntungan yaitu dapat memisahkan senyawa yang dituju dari komponen lain, dan dapat dilakukan penetapan kadar beberapa sampel secara simultan (Yuangsoi dkk., 2008). Selain itu, metode KLT pelaksanaannya lebih mudah dan lebih murah serta peralatan yang digunakan lebih sederhana jika dibandingkan dengan metode KCKT (Wulandari dkk., 2013).

Parameter validasi metode analisis meliputi spesifitas, linearitas,

presisi keberulangan, presisi antara, akurasi, batas deteksi, dan batas kuantitasi. Metode KLT-Densitometri diharapkan mampu memenuhi parameter validasi yaitu dapat menghasilkan ketelitian dan ketepatan yang baik serta memenuhi kriteria lain seperti spesifitas, batas deteksi, batas kuantitasi, dan linearitas sehingga dapat diperoleh hasil analisis yang valid dan dapat dipercaya.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah timbangan analitik Ohaus EX 225D, mortir, stamper, ultrasonic (S 30 H Elmasonic) labu takar 5 mL (Iwaki Pyrex), mikropipet 100 – 1000 μ L (Socorex), *blue tip*, gelas ukur (Iwaki Pyrex), corong, pipa kapiler 5 μ L, kaca arloji, *chamber*, instrumen CAMAG TLC SCANNER 4, oven, dan lampu UV 254. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kertas saring, kertas timbang, kertas jenuh, dan *plate* silika gel 60 F254, tablet kunyah ekstrak *Spirulina platensis*, standar β -karoten (Calbiochem), klorofom p.a (E. Merck), metanol p.a (E. Merck), Isopropil alkohol p.a (E. Merck),

NH₄OH p.a (E. Merck), etil asetat p.a (E. Merck), dan aseton p.a (E. Merck).

Pengkondisian KLT

Analisis KLT dilakukan dengan fase diam silika gel 60 F₂₅₄. *Plate* diaktivasi dalam oven suhu 120⁰C selama 10 menit. Sebanyak 5 μ L sampel ditotolkan dalam fase diam, dengan lokasi 1 cm dari tepi *plate*, dan jarak masing-masing totolan 1 cm. Fase gerak yang digunakan adalah fase gerak yang telah didapat dari hasil optimasi. Fase gerak dijenuhkan agar elusi berjalan sempurna. *Plate* dielusi hingga batas, *plate* dikeringkan pada tempat yang gelap, dan kemudian dibaca pada KLT-Densitometer. Rf dan nilai area dari kromatogram standar dan sampel yang didapatkan kemudian dicatat (Starek dkk., 2015).

Persiapan Larutan Standar β -karoten

Larutan standar dibuat dengan menimbang 20,0 mg standar β -karoten dilarutkan dalam etil asetat hingga volumenya 5 mL sehingga diperoleh konsentrasi 4 mg/mL.

Pembuatan Kurva Baku

Larutan standar 4 mg/mL dibuat 6 seri konsentrasi yang dilarutkan dengan etil asetat dalam labu takar

hingga volume 5 mL seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Larutan seri konsentrasi standar β -karoten

Konsentrasi (mg/mL)	Volume larutan induk (mL)
0,1	0,125
0,2	0,250
0,3	0,375
0,4	0,500
0,5	0,625
0,6	0,750

Preparasi Sampel

Sebanyak 20 tablet ditimbang satu persatu dan dihitung bobot rata-ratanya. Tablet digerus, ditimbang setara satu tablet dan dilarutkan dalam etil asetat sampai volume 5 mL. Larutan diultrasonikasi pada 30°C selama 20 menit dan disaring menggunakan kertas saring Whatman.

Optimasi Fase Gerak

Tabel 2. Komposisi fase gerak

	Komposisi Fase Gerak (mL)		
	I	II	III
Kloroform	2,04	-	-
Metanol	4,00	-	-
Aseton	11,00	-	1,00
Isopropil alkohol	-	0,16	-
Etil asetat	-	1,00	1,00
NH ₄ OH	-	0,25	-

Penentuan Panjang Gelombang

Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan mengambil 3

larutan seri konsentrasi pada kurva baku, yaitu konsentrasi 0,1; 0,3; dan 0,6 mg/mL. Larutan tersebut ditotolkan pada *plate* sebanyak 5 μ L. Analisis dengan KLT-Densitometer dilakukan pembacaan pada panjang gelombang 400 - 500 nm.

Uji Kesesuaian Sistem

Larutan standar β -karoten konsentrasi 0,3 mg/mL ditotolkan pada *plate* silika gel 60 F₂₅₄. Penotolan dilakukan 6 kali dengan volume 5 μ L untuk setiap totolan, *plate* dielusi, dikeringkan, dianalisis dengan KLT-Densitometer, dihitung % RSD Rf dan % RSD AUC. Kriteria keberterimaan nilai RSD \leq 2% (Anonim, 2013).

Validasi Metode Analisis

Spesifitas

Pengukuran spesifitas dilakukan dengan membandingkan Rf dari larutan sampel, larutan standar, dan larutan plasebo. Pengukuran dilakukan dengan ditotolkan larutan sampel, larutan standar konsentrasi 0,3 mg/mL, dan larutan placebo pada fase diam silika gel 60 F₂₅₄. Kemudian dielusi dengan fase gerak etil asetat : aseton (1 : 1). Diamati noda larutan sampel yang mempunyai faktor retensi (Rf) sama dengan larutan standar β -

karoten, dan kemudian dianalisis dengan Densitometer.

Linearitas

Pengukuran dilakukan dengan ditotolkan kurva baku konsentrasi 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 mg/mL sebanyak 5 μ L pada lempeng silika gel 60 F₂₅₄ kemudian dielusi dengan fase gerak dan diukur area pada panjang gelombang 453 nm. Linearitas ditentukan dari nilai koefisien korelasi (*r*) kurva baku larutan standar β -karoten (Anonim, 2013).

Presisi keberulangan

Larutan standar β -karoten konsentrasi 0,3 mg/mL ditotolkan pada *plate* yang telah diaktivasi, kemudian dielusi dengan fase gerak. Penotolan dilakukan 6 kali dengan volume 5 μ L. Analisis dengan KLT-Densitometer dan dihitung % RSD AUC (Anonim, 2013).

Presisi antara

Larutan standar β -karoten konsentrasi 0,3 mg/mL ditotolkan pada *plate* yang telah diaktivasi, kemudian dielusi. Penotolan dilakukan 6 kali dengan volume 5 μ L dan dilakukan dengan 2 analisis yang berbeda. Analisis dengan KLT-

Densitometer dan dihitung % RSD AUC (Anonim, 2013).

Akurasi

Penetapan kadar β -karoten dalam sampel

Penetapan kadar dilakukan dengan ditotolkan kurva baku konsentrasi 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 mg/mL dan 3 larutan sampel sebanyak 5 μ L pada lempeng silika gel 60 F₂₅₄, dan dielusi hingga batas. Setelah itu, *plate* dikeringkan pada tempat gelap dan diamati di bawah lampu UV 254 nm. Bercak dianalisis dengan KLT-Densitometer. Kadar dari senyawa dihitung dengan persamaan regresi linear $y = bx + a$ dari kurva baku.

Penambahan baku larutan standar dengan tiga tingkat konsentrasi pada sampel

Pengujian dilakukan dengan metode penambahan larutan standar yang diambil sebanyak 0,375; 0,625; dan 0,75 mL dari larutan induk standar konsentrasi 4 mg/mL. Kemudian dimasukkan ke labu takar 5 mL, ditambahkan sampel pada masing-masing konsentrasi larutan standar tersebut, dan dicukupkan volumenya dengan etil asetat hingga batas. Seri kurva baku dan larutan sampel yang

ditambahkan standar kemudian ditotolkan sebanyak 5 μ L dalam *plate*, dielusi, dianalisis dengan KLT-Densitometer, dan dihitung % perolehan kembali.

%*Recovery* =

$$\frac{\text{Standar yang ditemukan}}{\text{standar yang ditambahkan}} \times 10$$

Limit of Detection (LOD) dan Limit of Quantification (LOQ)

Larutan induk dibuat 6 seri kurva baku yaitu konsentrasi 0,1; 0,2; 0,3 0,4; 0,5; dan 0,6 mg/mL. Masing-masing konsentrasi ditotolkan pada *plate* yang telah diaktivasi, dielusi dan dianalisis dengan KLT-Densitometer. LOD dan LOQ ditentukan berdasarkan standar deviasi (SD) dan *slope* (b) dari kurva baku hasil penetapan kadar.

$$\text{LOD} = \frac{3,3 \text{ SD}}{b}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \text{ SD}}{b}$$

Keterangan:

SD = simpangan baku respon,

b = slope dari kurva baku kalibrasi (Harmita, 2012)

Analisis Data

Data yang diperoleh merupakan data dari AUC larutan pembanding β -karoten yang dibuat kurva kalibrasi dan diperoleh persamaan regresi

linear. Kadar dari senyawa dihitung dengan dimasukkan kedalam persamaan regresi linear $y = b x + a$ yang diperoleh dari kurva kalibrasi pembanding.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi Fase Gerak

Fase gerak yang digunakan berdasarkan penelitian Starek, dkk. (2015) yaitu kloroform : metanol : aseton (2,04 : 4 : 11), sedangkan perbandingan fase gerak isopropil alkohol : etil asetat : NH₄OH (0,16 : 1 : 0,25) dan aseton : etil asetat (1:1) diperoleh dari penelitian Hernandez, dkk. (2018). Hasil elusi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil optimasi fase gerak

Berdasarkan hasil optimasi diperoleh fase gerak aseton: etil asetat (1:1) merupakan fase gerak terbaik yang dapat memisahkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam

Spirulina platensis dan menghasilkan nilai Rf 0,78.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimal dilakukan untuk mendapatkan λ yang menghasilkan serapan maksimal sehingga pengukuran kadar yang diperoleh juga maksimal. Tujuan penggunaan konsentrasi yang berbeda adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi

larutan standar terhadap panjang gelombang yang dihasilkan.

Hasil diperoleh dengan konsentrasi berbeda menghasilkan panjang gelombang yang relatif sama, sehingga dapat diketahui panjang gelombang maksimal larutan standar β -karoten adalah 453 nm. Panjang gelombang ini mendekati panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari penelitian Starek dkk. (2015) yaitu 450 nm.

Tabel 3. Data panjang gelombang maksimal

Konsentrasi (mg/mL)	Rf	λ_{max} (nm)
0,1	0,76	453
0,3	0,77	453
0,6	0,77	454
Rata-rata	0,767	453
SD	0,006	0,577
%RSD	0,782	0,127

Uji Kesesuaian Sistem

Uji kesesuaian sistem dilakukan untuk mengetahui kestabilan kinerja sistem Densitometer saat dilakukan pengujian secara berulang. Parameter yang digunakan adalah % RSD ≤ 2 %. Hasil uji kesesuaian sistem dapat dilihat pada Tabel 4 dengan RSD 1,558. Hasil tersebut menunjukkan sistem Densitometer yang dipakai dalam kondisi stabil untuk melakukan pengujian kadar β -karoten.

Tabel 4. Uji kesesuaian sistem

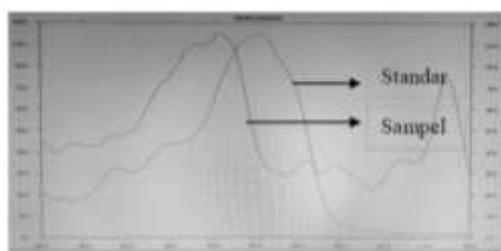
Pengujian ke-	AUC (mV)
1	22869,2
2	23474,6
3	23378,0
4	23423,5
5	22921,9
6	22607,6
Rata-rata \pm SD	23112,5 \pm 360,2
%RSD	1,558

Validasi Metode Analisis

Spesifitas

Pengujian spesifitas dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu metode dalam mengukur analit yang

dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen pengotor lain. Parameter yang diharapkan adalah pada pengukuran tidak memberikan respon kromatogram pada larutan placebo yang dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil uji spesifitas

Hasil uji spesifitas menunjukkan bahwa metode KLT-Densitometri tidak dipengaruhi adanya larutan placebo karena tidak menghasilkan respon kromatogram. Meskipun demikian, panjang gelombang yang dihasilkan larutan sampel berbeda dengan standar, sehingga menyebabkan kromatogram yang dihasilkan tidak berhimpit. Hal ini terjadi karena warna orange yang ada dalam larutan sampel tertutupi oleh warna hijau yang terdapat dalam sampel *Spirulina platensis*. Untuk mengatasi hal tersebut, maka diperlukan ekstraksi bertingkat untuk memisahkan senyawa β -karoten dari

komponen lain. Jadi disimpulkan bahwa metode Densitometri tidak menunjukkan kespesifikan terhadap senyawa β -karoten.

Linearitas

Tabel 5. Hasil uji linearitas

Konsentrasi (mg/mL)	AUC (mV)
0,100	18675,3
0,201	23772,3
0,301	28993,4
0,402	32618,9
0,502	36044,4
0,602	39149,0

Linearitas suatu metode ditunjukkan oleh koefisien korelasi (r) dari kurva baku, di mana nilai r menunjukkan hubungan antara konsentrasi larutan standar β -karoten dengan nilai AUC. Menurut Petunjuk Operasional Penerapan Pedoman Cara Pembuatan Obat yang Baik (Anonim, 2013) suatu metode dikatakan mempunyai linearitas yang baik apabila nilai $r \geq 0,98$.

Hasil uji menunjukkan adanya hubungan linear antara kadar β -karoten dengan nilai AUC pada Densitometer yaitu diperoleh nilai $r = 0,9937$.

Presisi keberulangan

Presisi keberulangan membuktikan keterulangan metode

yang digunakan untuk menguji larutan standar pada 6 kali pembacaan. Kriteria keberterimaan presisi keberulangan yaitu ≤ 2 %. Hasil presisi dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil presisi keberulangan metode

Pengujian ke-	AUC (mV)
1	20581,5
2	20329,1
3	21188,3
4	21065,8
5	20296,6
6	21012,0
Rata-rata \pm SD	20745,550 \pm 392,806
%RSD	1,893

Hasil menunjukkan bahwa presisi keberulangan memenuhi persyaratan, dengan RSD = 1,893 %.

Presisi antara

Tabel 7. Hasil presisi antara

Pengujian ke-	Analisis 1	Analisis 2
1	24023,4	24836,6
2	23903,9	24229,4
3	24774,3	24827,9
4	24671,5	24037,2
5	24347,8	23309,2
6	25565,0	24748,1
Rata-rata \pm SD	24439,525 \pm 586,858	
%RSD	2,401	

Pengujian presisi antara dilakukan untuk membuktikan keterulangan metode yang digunakan

untuk pengujian yang dilakukan oleh 2 analis yang berbeda. Hasil presisi antara dapat dilihat pada Tabel 7. Hasil presisi antara memiliki nilai RSD = 2,401 %. Dari hasil parameter di atas menunjukkan bahwa metode KLT-Densitometri yang dipakai belum menunjukkan presisi hasil saat digunakan untuk penetapan kadar β -karoten secara berulang pada kondisi yang berbeda. Faktor kritikal yang berpengaruh dalam presisi hasil di antaranya kandungan β -karoten yang mudah teroksidasi sehingga dibutuhkan keterampilan dan kecepatan dalam preparasi dan pembacaan pada KLT-Densitometer. Nilai presisi antara dapat diperbaiki apabila faktor kritikal tersebut dapat dikendalikan dengan baik.

Akurasi

Penetapan kadar β -karoten dalam sampel

Penetapan kadar β -karoten dalam tablet kunyah spirulina dilakukan untuk mengetahui kadar yang kemudian digunakan untuk pengujian akurasi. Hasil pembacaan kurva baku diperoleh persamaan $y = 28878x + 18186$, $r = 0,9694$. Setelah dibandingkan dengan r tabel = 0,8114

dengan taraf kepercayaan 95% diperoleh r hitung $>$ r tabel, menunjukkan bahwa adanya hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan standar β -karoten dengan AUC sehingga dapat digunakan untuk penetapan kadar β -karoten dalam sampel. Hasil penetapan kadar tablet kunyah dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil penetapan kadar

Kadar	Rata-rata \pm SD
Kadar β -karoten (mg/mL)	0,272 \pm 0,007
Kadar β -karoten (mg/tablet)	1,365 \pm 0,033

Berdasarkan perhitungan didapatkan kadar β -karoten 0,272 mg/mL. Nilai kadar tersebut digunakan sebagai kadar sampel untuk pengujian akurasi. Dari nilai tersebut diketahui jumlah β -karoten dalam tablet kunyah spirulina yaitu 1,365 mg/tablet \pm 0,033 mg/tablet.

Penambahan larutan standar β -karoten.

Pengujian akurasi dilakukan untuk mengetahui kedekatan nilai terukur dari nilai sebenarnya. Parameter yang digunakan adalah %perolehan kembali. Uji akurasi dilakukan dengan metode adisi larutan standar β -karoten.

Tabel 9. Data hasil akurasi

Replikasi	Standar yang ditemukan (mg/mL)	Standar yang ditambahkan (mg/mL)	Perolehan kembali (%)
1	0,276	0,300	92
2	0,298	0,300	99,333
3	0,294	0,300	98
1	0,469	0,501	93,613
2	0,484	0,501	96,607
3	0,468	0,501	93,413
1	0,587	0,602	97,671
2	0,523	0,602	87,022
3	0,581	0,602	96,672
Rata-rata \pm SD			94,926 \pm 3,829
RSD (%)			4,034

Perolehan kembali memenuhi syarat apabila nilainya sebesar 98-

102%, dengan RSD dari semua konsentrasi $<$ 2% (Anonim, 2013).

Hasil pengujian akurasi tidak menggambarkan nilai perolehan kembali. Hal tersebut akan lebih baik apabila pengujian akurasi dilakukan dengan penambahan baku standar dengan konsentrasi 80%, 100%, dan 120% dari hasil pengujian kadar sampel yang diperoleh. Di samping itu, sampel yang digunakan sebaiknya sampel utuh yang langsung digunakan untuk pengujian akurasi.

Limit of Detection (LOD)

Pengujian LOD dilakukan untuk mengetahui konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi. Hasil LOD yang diperoleh sebesar 0,159 mg/mL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa alat Densitometer yang digunakan mampu mendeteksi jumlah β -karoten sebesar 0,159 mg/mL. Hasil tersebut mendekati hasil yang diperoleh Starek dkk. (2015) yaitu 0,103 mg/mL.

Limit of Quantification (LOQ)

Pengujian LOQ dilakukan untuk mengetahui konsentrasi analit terendah dalam sampel yang ditentukan dari presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. Hasil LOQ yang diperoleh sebesar

0,531 mg/mL. Nilai tersebut menunjukkan alat Densitometer dapat menganalisis β -karoten secara akurat dan presisi pada konsentrasi sebesar 0,531 mg/mL. Namun, hasil ini berbeda dengan hasil yang diperoleh Starek dkk. (2015) yaitu 0,313 mg/mL. Faktor yang mempengaruhi perbedaan hasil tersebut di antaranya perbedaan tipe alat Densitometer dan nilai ketidakpastian hasil kalibrasi alat Densitometer masing-masing laboratorium.

KESIMPULAN

Hasil validasi metode KLT-Densitometri menggunakan fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak aseton: etil asetat 1 : 1 v/v untuk penetapan kadar β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak *Spirulina platensis* menunjukkan nilai linearitas, presisi keberulangan, nilai LOD dan LOQ yang memenuhi persyaratan. Namun, metode tersebut perlu dikembangkan lebih lanjut sehingga spesifitas, presisi antara, serta akurasi dapat menunjukkan hasil yang lebih baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DIKTI yang telah mendanai penelitian ini dengan SKIM penelitian PUPT (Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi) untuk tahun anggaran 2016/2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1995, Farmakope Indonesia Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, hal 4-5.
- Anonim, 2013, Petunjuk Operasional Penerapan Pedoman Cara Pembuatan Obat yang Baik 2012 Jilid I., Badan POM RI, Jakarta.
- Christwardana, M., Nur, M.M.A., Hadiyanto, H., 2013, Spirulina platensis: Potensinya sebagai bahan pangan fungsional, *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 2(1).
- Harmita, H., 2012, Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan Cara Perhitungannya, *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*, 1(3): 117-135.
- Hernández, M.C., López Dellamary-Toral, F.A., González-Ortiz, L.J., Sánchez-Peña, M.J., Pacheco-Moisés, F.P., 2018, Two-Dimensional Thin Layer Chromatography-Bioautography Designed to Separate and Locate Metabolites with Antioxidant Activity Contained on *Spirulina platensis*, *International journal of analytical chemistry*, 2018.
- Kuntari, T., Jamil, N. A., & Kurniati, O., 2013, Faktor risiko malnutrisi pada balita, *Kesmas: National Public Health Journal*, 7(12): 572-576.
- Starek, M., Guja, A., Dąbrowska, M., Krzek, J. 2015, Assay of β -carotene in dietary supplements and fruit juices by TLC-densitometry, *Food Analytical Methods*, 8(5): 1347-1355.
- Wulandari, L., Retnaningtyas, Y., Mustafidah, D., 2013, Development and Method Validation Densitometry Thin Layer Chromatography for Thesimultaneous Determination of Theophylline and Ephedrinehydrochloride in Tablet Dosage Form, *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 15(1).
- Yuangsoi, B., Jintataporn, O., Areechon, N., & Tabthipwon, P., 2008. Validated TLC-densitometric analysis for determination of carotenoids in fancy carp (*Cyprinus carpio*) serum and the application for pharmacokinetic parameter assessment. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 30(6).