

PEMANFAATAN GESERAN POLA SPEKTRUM UV SENYAWA GOLONGAN BARBITURAT DALAM UJI KONFIRMASI DENGAN METODE TLC-SPEKTROFOTODENSITOMETRI

I Nyoman Subadra, Luh Putu Mirah Kusuma Dewi, I.N.K. Widjaja
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana Denpasar
Bali Indonesia
Email. : subadranyoman06@gmail.com

ABSTRACT

A Research of the utilization of spectrum shift in confirmation test for barbiturate using TLC-Spectrophotodensitometry has been done. Analyte was analyzed using two mobile phases, that are TD (chloroform: acetone = 80 : 20) and TE (ethyl acetate: methanol: ammonia = 85 : 15 : 5) with Al-TLC Silica 60 GF₂₅₄ plate as the stationary phase. Afterwards, plate was sprayed with HCl or KOH. The analyzed parameters were hR_f^c , normal UV-spectrum pattern and its shift. The correlation of spectrum or the shift of UV-spectrum for barbiturate compounds was determined with *Wincats* program.

The analysis of barbiturates which based on hR_f^c in error window (± 7) for TD system and in error window (± 11) for TE, still produced hit factor 8-25 compounds. The confirmation test for barbiturates based on hR_f^c and $r \geq 0,95$, produced hit factor 1-2 compounds.

Barbiturate compounds showed spectrum shift in alkali solution, while in acid solution did not happen. However, all four analytes contained identical spectrum shift, therefore the data of these spectrum shift can not be utilized for confirmation test of barbiturate compounds.

Keywords : Barbiturate compounds, confirmation test, two mobile phases, hR_f^c , spectrum correlation and spectrum shift.

PENDAHULUAN

Penyalahgunaan barbiturat di Indonesia dalam beberapa tahun terakhir mengalami peningkatan. Di kalangan pecandu NAPZA (Narkotika, Psikotropika dan Zat Adiktif), golongan barbiturat merupakan salah satu jenis psikotropika yang paling banyak dipakai [1],[2]. Golongan barbiturat merupakan golongan depresan yang dapat mengakibatkan ketergantungan secara fisik dan psikologis bila digunakan dalam waktu lama dan telah banyak menyebabkan kematian karena overdosis [3], [4].

Untuk menangani kasus penyalahgunaan barbiturat dapat

dilakukan dengan penelusuran pemakai, pengedar dan produsen. Apakah seseorang mengkonsumsi senyawa barbiturat atau tidak dapat diketahui dengan metode analisis toksikologi forensik. Ada dua tahapan dalam langkah analisis toksikologi, yaitu uji skrining (*screening test*) dan uji konfirmasi (*confirmatory test*) [5].

TLC-Spektrofotodensitometri merupakan salah satu metode analisis yang dapat digunakan untuk uji skrining dan konfirmasi senyawa [6]. Ojanpera dan Vuori (1994) memanfaatkan metode TLC-Spektrofotodensitometri untuk uji skrining dan konfirmasi berdasarkan

kombinasi data hR_f^c dan harga koefisien korelasi spektrum analit dengan spektrum data pustaka [7]. Metode ini berhasil meningkatkan selektifitas uji skrining, namun belum cukup baik untuk uji konfirmasi dalam mengidentifikasi senyawa secara spesifik. Uji konfirmasi senyawa morfin dan kodein yang dilakukan oleh Primaningrum (2009) dan Sari (2009) dengan memanfaatkan metode Ojanpera dan Vuori (1994) hasilnya kurang baik, dimana kemunculan senyawa target yang tidak selalu menduduki urutan pertama [8],[9]. Hal ini menyebabkan terjadinya kesalahan interpretasi.

Wirasuta (2008), melaporkan bahwa cairan pengelusi dengan berbagai pH dapat menggeser secara khas pola spektrum senyawa barbiturat pada plat Al-TLC Silika 60 GF₂₅₄. Pergeseran spektrum yang khas ini diharapkan dapat mempertegas hasil uji konfirmasi. Selain itu, untuk meningkatkan hasil uji konfirmasi dapat juga dilakukan dengan menggunakan dua sistem fase gerak yang berbeda [10].

Dalam penelitian ini akan dilakukan uji konfirmasi senyawa golongan barbiturat menggunakan TLC-Spektrofotodensitometri dengan dua sistem fase gerak dan pemanfaatan pergeseran spektrum senyawa barbiturat akibat pengaruh pH asam dan basa terhadap analit.

METODE PENELITIAN

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, pinset, kotak plastik kedap udara

(*tupperware*), alat semprot (Iwaki), bejana kromatografi lapis tipis tipe *twin chamber* (CAMAG-Muttentz Switzerland), kertas saring, *ballfiller*, pipet kapiler 2 μ L, instrumen aplikator sampel Nanomat 4 (CAMAG-Muttentz Switzerland), timbangan analitik (AND GR-200), TLC-Scanner 3 (CAMAG-Muttentz Switzerland), oven (Mettmert).

Bahan

Bahan pelarut dan pereaksi yang digunakan adalah standar pro analisis dari Merck-Germany, yaitu : metanol, kloroform, aseton, etil asetat, amonia dan hidrogen klorida. Fase diam adalah plat Al-TLC Silika 60 GF₂₅₄ ukuran 6 x 10 cm (Merck- Germany). Senyawa standar alobarbitol, barbitol, butalbitol, fenobarbitol, parasetamol, diazepam, nitrazepam, fenilbutazon, teofilin, kodein, bromazepam dan kalium hidroksida diperoleh dari Kimia Farma.

Uji Konfirmasi Berdasarkan hR_f^c dan Perbandingan Spektrum Pustaka

Disiapkan masing-masing 2 plat yang telah diaktifkan untuk setiap fase gerak (sistem TD dan TE). Analit dan senyawa standar perbandingan ditotolkan dengan Nanomat 4 pada kedua plat dengan penotolan masing-masing sejumlah 6 μ l (6000 ng), Pada lajur 1 ditotolkan alobarbitol, lajur 2 = barbitol, lajur 3 = butalbitol, lajur 4 = fenobarbitol dan lajur 5 = senyawa standar perbandingan untuk tiap fase gerak.

Plat I dan II dielusi dengan fase gerak terpilih dalam bejana kromatografi yang sebelumnya telah dijenuhkan dengan fase gerak selama 30 menit. Pengembangan dilakukan

secara menaik sejauh 90 mm. Setelah batas pengembangan tercapai, plat dikeringkan pada oven bersuhu 60°C selama 10 menit. Plat dirajah dengan TLC-Scanner 3 pada panjang gelombang 215 nm. Untuk masing-masing puncak yang diperoleh, dibuat spektrumnya pada rentang panjang gelombang 200-400 nm. Ulangi langkah di atas sebanyak 4 kali.

Skrining analit dilakukan dengan memilih senyawa dipustaka yang memiliki kesesuaian variabel pada daerah pencarian ($hR_f^c \pm error\ window$) masing-masing sistem fase gerak yang digunakan. Uji konfirmasi dilakukan dengan membandingkan bentuk spektrum analit dengan bentuk spektrum senyawa pembanding yang terdapat dalam data *library WinCats* pada rentang jendela hR_f^c , kesesuaian spektrum ditunjukkan dengan besaran harga koefisien korelasi antar kedua spektrum $\geq 0,95$ [7].

Pemanfaatan Reaksi Geseran Spektrum (HCl 0,1 M dan KOH 0,1 M dalam metanol) untuk Uji Konfirmasi

Plat I setelah perlakuan prosedur di atas disemprot dengan HCl 0,1 M kemudian plat dirajah dengan TLC-Scanner 3 pada rentang panjang gelombang 200-400 nm, plat kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C selama 10 menit dan dirajah kembali. Selanjutnya dilakukan penyemprotan dengan KOH 0,1 M kemudian dirajah pada panjang gelombang 200-400 nm, plat kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C selama 10 menit dan dirajah kembali. Prosedur yang sama diulangi

untuk plat II, dengan perlakuan basa (KOH 0,1 M) pertama kemudian asam (HCl 0,1 M). Lakukan prosedur ini untuk kedelapan plat sisanya.

Uji konfirmasi dilakukan dengan membandingkan bentuk spektrum analit dengan bentuk spektrum senyawa pembanding yang terdapat dalam data *library WinCats*, kesesuaian spektrum ditunjukkan dengan besaran harga koefisien korelasi antar kedua spektrum $\geq 0,95$ [7].

HASIL DAN PEMBAHASAN Pemisahan Senyawa Golongan Barbiturat dengan Sistem Fase Gerak TD dan TE

Dari hasil penelitian diperoleh pemisahan senyawa-senyawa golongan barbiturat dengan sistem fase gerak TD dan TE seperti pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Resolusi senyawa golongan barbiturate pada fase gerak sistem TD dan TE.

Sistem Fase Gerak	Senyawa	Resolusi			
		Alobarbital	Barbital	Butalbital	Fenobarbital
TD	Alobarbital		0,7	0,41	0,53
	Barbital			1,01	0,17
	Butalbital				0,92
	Fenobarbital				
TE	Alobarbital		0,59	0,8	0,74
	Barbital			1,12	0,64
	Butalbital				1,57
	Fenobarbital				

Dari data pada tabel 4.1, senyawa butalbital-fenobarbital (sistem TE) dan barbital-butalbital (sistem TD dan TE) terpisah dengan baik, yang ditandai dengan

$R_s > 1$. Sedangkan resolusi senyawa barbiturat lainnya kurang baik ($R_s < 1$). Pemisahan yang kurang baik ini diduga disebabkan karena faktor volume penotolan analit yang terlalu besar (6 μ l), menyebabkan *overload* pada sistem kromatografi sehingga terjadi *overlapping* antar spot yang berdekatan [11].

Uji Konfirmasi dengan Dua Sistem Fase Gerak

Dari hasil penelitian diperoleh nilai hR_f^c senyawa-senyawa golongan barbiturat pada sistem fase gerak TD dan TE seperti pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Nilai hR_f^c senyawa golongan barbiturat pada sistem fase gerak TD dan TE

Senyawa	TD			TE					
	Standar A		Standar B	Standar C					
	$\overline{hR_f^c}$	SD	KV (%)	$\overline{hR_f^c}$	SD	KV (%)			
Alobarbitral	42	2,14	5,15	49	2,21	4,51	40	1,06	2,65
Barbital	35	0,81	2,34	41	0	0	37	1,43	3,86
Butalbitral	46	0,73	1,59	54	0	0	49	1,09	2,22
Fenobarbitral	37	0,92	2,57	42	0,63	1,5	30	1,97	6,6

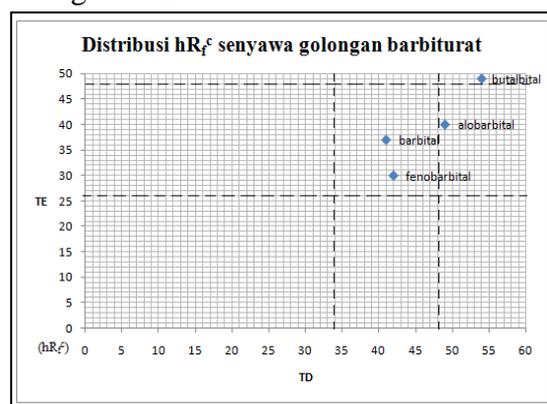
Keterangan : $\overline{hR_f^c} = hR_f^c$ rata-rata; standar A = standar pembandingan (parasetamol, nitrazepam, diazepam dan fenilbutazon); standar B = standar pembandingan (parasetamol, barbital, butalbitral dan fenilbutazon); standar C = standar pembandingan (teofilin, kodein, bromazepam dan diazepam)

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat bahwa pada sistem TD dengan menggunakan standar A diperoleh nilai hR_f^c senyawa alobarbitral, butalbitral dan fenobarbitral yang berada diluar rentang hR_f^c pustaka \pm *error window* (celah kesalahan) sistem TD yaitu 7, sehingga analit tidak terdapat dalam *hit factor*

(senyawa yang mempunyai kesesuaian variabel). Hal ini diduga disebabkan oleh penggunaan bentuk garam dari senyawa standar pembandingan nitrazepam dan diazepam sehingga hR_f^c yang dihasilkan tidak sesuai dengan pustaka dan mempengaruhi perhitungan hR_f^c analit. Namun, dengan menggunakan standar B diperoleh nilai hR_f^c analit yang berada dalam rentang hR_f^c pustaka \pm 7, sehingga analit terdapat dalam *hit factor*.

Pada sistem TE, nilai hR_f^c yang diperoleh terletak pada rentang hR_f^c pustaka \pm 11, yang berarti analit tersebut muncul dalam *hit factor*. Pemisahan senyawa analit pada sistem ini dipengaruhi oleh kualitas pelarut yang digunakan dalam pembuatan fase gerak dimana untuk memperoleh pemisahan yang optimal, sebaiknya menggunakan pelarut dalam kondisi murni dan stabil.

Berdasarkan tabel 4.2 maka diperoleh distribusi nilai $hR_f^c \pm$ *error window* senyawa golongan barbiturat pada sistem fase gerak TD dan TE sebagai berikut.



Gambar 4.1 Distribusi $hR_f^c \pm$ *error window* pada sistem fase gerak TD dan TE

Pada gambar 4.1, garis putus-putus menunjukkan *error window* dari masing-masing sistem fase gerak dengan menggunakan senyawa barbital sebagai titik pusatnya. *Error window* dari sistem TD adalah 7 dan untuk sistem TE adalah 11 [12]. Dari gambar di atas, dengan menggunakan sistem TD, terdapat 2 senyawa yang diduga analit, yaitu barbital dan fenobarbital. Sedangkan dengan sistem TE terdapat 3 senyawa yang diduga analit, yaitu alobarbital, barbital dan fenobarbital. Dari gabungan kedua data tersebut diperoleh irisan data berupa senyawa yang lolos dalam uji skrining, yaitu barbital dan fenobarbital. Hal tersebut menunjukkan bahwa penggunaan dua sistem fase gerak ini dapat memperkecil jumlah senyawa yang lolos dalam uji skrining.

Uji konfirmasi dilakukan terhadap senyawa-senyawa yang lolos dalam uji skrining dengan membandingkan spektrum UV senyawa tersebut terhadap spektrum UV pada pustaka. Berdasarkan nilai hR_f^c dan perbandingan korelasi spektrum analit dengan data pustaka diperoleh hasil seperti pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 *Hit Factor* berdasarkan nilai $hR_f^c \pm error\ window$ dan korelasi spectrum

Senyawa	<i>Hit Factor</i>				Senyawa
	TD	TE	\sum Irisan	\sum Irisan dan r ($\geq 0,95$)	
Alobarbital	62	308	25	2	Alobarbital Butalbital
Barbital	48	286	8	1	Barbital
Butalbital	64	343	18	1	Butalbital
Fenobarbital	49	285	8	2	Fenobarbital Barbital

Keterangan : *Hit factor* adalah jumlah senyawa pada pustaka yang mempunyai kesesuaian dengan analit pada nilai $hR_f^c \pm error\ window$ dan bentuk spektrum dari pustaka, \sum Irisan adalah jumlah senyawa yang merupakan irisan senyawa dari *hit factor* pustaka (TD) dengan (TE), r adalah korelasi spektrum UV analit terhadap senyawa pada pustaka.

Dari data pada tabel 4.3, diketahui pemisahan senyawa analit menggunakan 1 sistem fase gerak, baik TD maupun TE menghasilkan *hit factor* > 1 senyawa. Irisan data yang diperoleh bila hasil pemisahan kedua fase gerak tersebut digabungkan, masih menunjukkan jumlah senyawa yang relatif banyak (8 s/d 25 senyawa). Dengan memasukkan variabel data korelasi spektrum ($r \geq 0,95$), jumlah *hit factor* yang muncul dapat diminimalkan sampai senyawa barbital dan butalbital berhasil diidentifikasi (*hit factor* = 1), namun untuk senyawa alobarbital dan fenobarbital memiliki *hit factor* = 2 senyawa, sehingga identitas kedua senyawa tersebut masih belum dapat dipastikan. Untuk itu, perlu dilakukan uji konfirmasi lebih

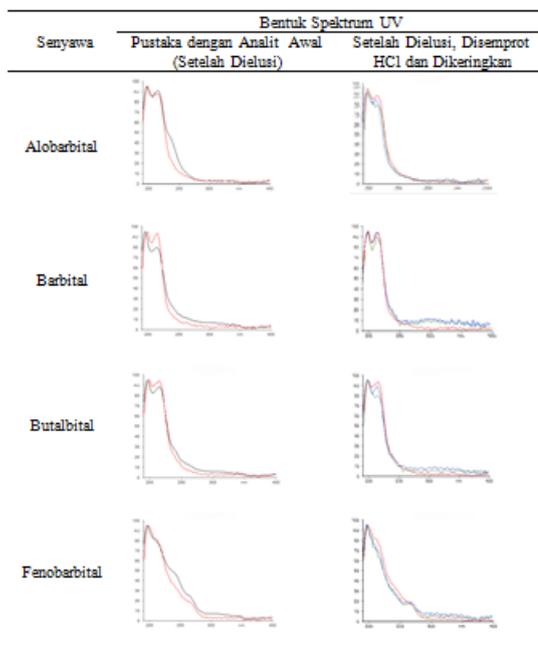
lanjut dengan memanfaatkan data geseran spektrum dari senyawa tersebut untuk memastikan identitasnya.

Data Geseran Spektrum dalam Uji Konfirmasi

A. Pengaruh pH Asam dan Basa Terhadap Bentuk Spektrum UV Senyawa dari Golongan Barbiturat

Dalam penelitian ini variasi pH didapat dengan penyemprotan plat memakai HCl 0,1 M dan KOH 0,1 M. Hasil dapat dilihat pada Tabel 4.4 s/d 4.11.

Tabel 4.4 Bentuk spektrum UV senyawa dari golongan barbiturat setelah dielusi dengan sistem fase gerak TD, disemprot HCl 0,1M dan dikeringkan



Keterangan :

- = Spektrum UV analit dari pustaka
- = Spektrum UV analit awal (setelah dielusi)
- = Spektrum UV analit setelah disemprot HCl
- = Spektrum UV analit setelah dikeringkan

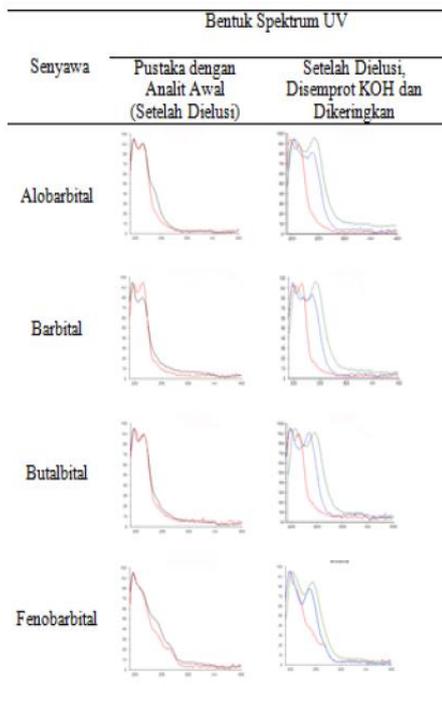
Gambar pada tabel 4.4 menunjukkan bahwa bentuk spektrum UV analit awal mempunyai profil spektrum yang sama dengan bentuk spektrum UV analit pada pustaka. Setelah disemprot dengan HCl baik diukur dalam keadaan basah maupun kering, spektrum UV yang dihasilkan mempunyai kemiripan profil spektrum dengan spektrum UV analit awal. Nilai korelasi spektrum UV analit pada beberapa perlakuan di atas ditampilkan pada tabel 4.5.

Tabel 4.5 Nilai korelasi bentuk spektrum UV senyawa golongan barbiturat setelah dielusi dengan fase gerak sistem TD, disemprot HCl 0,1M dan dikeringkan.

Senyawa	I _{a-p}			I _{a-HCl b}			I _{a-HCl k}		
	\bar{r}	SD	KV (%)	\bar{r}	SD	KV (%)	\bar{r}	SD	KV (%)
Alobarbitol	0,99	0,003	0,29	0,98	0,015	1,31	0,99	0,017	1,74
Barbitol	0,98	0,003	0,33	0,98	0,014	1,46	0,99	0,020	2,07
Butalbitol	0,99	0,009	0,87	0,97	0,020	2,00	0,98	0,018	1,81
Fenobarbitol	0,99	0,003	0,35	0,98	0,010	0,98	0,99	0,014	1,46

Keterangan : r_{a-p} = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan pustaka, $r_{a-HCl b}$ = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan setelah disemprot HCl 0,1 M, $r_{a-HCl k}$ = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan dikeringkan pada suhu 60°C selama 10 menit setelah disemprot HCl, \bar{r} = korelasi rata-rata, SD = standar deviasi, KV = koefisien variansi.

Tabel 4.6 Bentuk spektrum UV senyawa dari golongan barbiturat setelah dielusi dengan sistem fase gerak TD, disemprot KOH 0,1M dan dikeringkan



Keterangan :

- = Spektrum UV analit dari pustaka
- = Spektrum UV analit awal (setelah dielusi)
- = Spektrum UV analit setelah disemprot KOH
- = Spektrum UV analit setelah dikeringkan

Gambar pada tabel 4.6 menunjukkan bahwa bentuk spektrum UV analit awal mempunyai profil spektrum yang sama dengan bentuk spektrum UV analit pada pustaka. Namun apabila disemprot dengan KOH, spektrum UV yang dihasilkan mempunyai profil spektrum yang berbeda dengan spektrum UV analit awal. Nilai korelasi spektrum UV analit pada beberapa perlakuan di atas ditampilkan pada tabel 4.7.

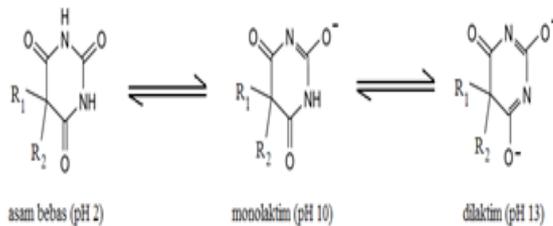
Tabel 4.7 Nilai korelasi bentuk spektrum UV senyawa golongan barbiturat setelah dielusi dengan fase gerak sistem TD, disemprot KOH 0,1M dan dikeringkan

Senyawa	r_{a-p}			$r_{a-KOH b}$			$r_{a-KOH k}$		
	\bar{r}	SD	KV (%)	\bar{r}	SD	KV (%)	\bar{r}	SD	KV (%)
Alobarbital	0,99	0,003	0,29	0,82	0,053	6,51	0,88	0,039	4,28
Barbital	0,98	0,003	0,33	0,79	0,071	8,93	0,88	0,065	7,37
Butalbital	0,99	0,009	0,87	0,83	0,067	8,07	0,88	0,067	7,63
Fenobarbital	0,99	0,003	0,35	0,92	0,024	2,59	0,95	0,017	1,83

Keterangan : r_{a-p} = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan pustaka, $r_{a-KOH b}$ = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan setelah disemprot KOH 0,1 M, $r_{a-KOH k}$ = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan dikeringkan pada suhu 60°C selama 10 menit setelah disemprot KOH, \bar{r} = korelasi rata-rata, SD = standar deviasi, KV = koefisien variansi

Dari tabel 4.5 dan 4.7 dapat dilihat korelasi rata-rata antara spektrum UV analit awal dengan pustaka menunjukkan nilai $\geq 0,95$ dengan $KV \leq 2\%$ yang berarti bahwa analit yang digunakan dalam penelitian adalah analit yang sama dengan pustaka. Setelah disemprot dengan HCl 0,1 M dan dikeringkan, spektrum analit tidak menunjukkan perubahan yang signifikan dengan bentuk spektrum awal. Hal ini menunjukkan bahwa pH asam tidak memberi pengaruh (geseran spektrum) terhadap spektrum UV senyawa dari golongan barbiturat. Namun setelah disemprot KOH 0,1 M dan diukur dalam keadaan basah, spektrum analit menunjukkan

terjadinya perubahan (pergeseran spektrum) terhadap spektrum analit awal dengan nilai korelasi antara 0,79 - 0,92. Nilai korelasi ini akan membesar (0,88 - 0,95) apabila diukur dalam keadaan kering. Geseran batokromik spektrum UV analit pada pH basa disebabkan oleh terjadinya ionisasi pada struktur senyawa barbiturat dari bentuk tak terionkan (asam bebas) menjadi bentuk terionkan (bentuk dilaktim), yaitu dengan terbentuknya ikatan rangkap terkonjugasi pada gugus C=N-C=N-C=O [13].



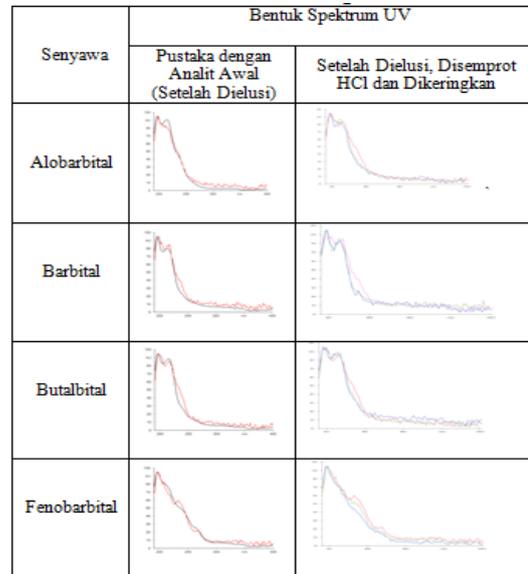
Gambar 4.2 Perubahan struktur senyawa barbiturat pada berbagai pH

Untuk sistem fase gerak TE, bentuk dan nilai korelasi dari spektrum UV senyawa golongan barbiturat pada berbagai perlakuan adalah sebagai berikut.

Gambar pada tabel 4.8 di bawah ini, menunjukkan bahwa bentuk spektrum UV analit awal mempunyai profil spektrum yang sama dengan bentuk spektrum UV analit pada pustaka. Setelah disemprom dengan HCl, spektrum UV yang dihasilkan mempunyai kemiripan profil spektrum dengan spektrum UV analit awal.

Tabel 4.8 Bentuk spektrum UV senyawa dari golongan barbiturat setelah dielusi dengan sistem fase

gerak TE, disemprom HCl 0,1M dan dikeringkan



Keterangan :

- = Spektrum UV analit dari pustaka
- = Spektrum UV analit awal (setelah dielusi)
- = Spektrum UV analit setelah disemprom HCl
- = Spektrum UV analit setelah dikeringkan

Nilai korelasi spektrum UV analit pada beberapa perlakuan di atas ditampilkan pada tabel 4.9.

Tabel 4.9 Nilai korelasi bentuk spektrum UV senyawa golongan barbiturat setelah dielusi dengan fase gerak sistem TE, disemprom HCl 0,1M dan dikeringkan

Senyawa	I _{a-p}			I _{a-HCl b}			I _{a-HCl k}		
	r	SD	KV (%)	r	SD	KV (%)	r	SD	KV (%)
Alobarbitol	0,99	0,007	0,71	0,98	0,010	1,04	0,97	0,024	2,46
Barbital	0,98	0,020	2,01	0,98	0,013	1,37	0,96	0,024	2,49
Butalbital	0,98	0,014	1,46	0,98	0,011	1,15	0,96	0,024	2,48
Fenobarbital	0,99	0,011	1,10	0,97	0,014	1,39	0,96	0,019	1,96

Keterangan : r_{a-p} = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan pustaka, r_{a-HCl b} = korelasi

antara bentuk spektrum UV analit awal dengan setelah disemprot HCl 0,1 M, $r_{a-HCl k}$ = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan dikeringkan pada suhu 60°C selama 10 menit setelah disemprot HCl, \bar{r} = korelasi rata-rata, SD = standar deviasi, KV = koefisien variansi.

Tabel 4.10 Bentuk spektrum UV senyawa dari golongan barbiturat setelah dielusi dengan sistem fase gerak TE, disemprot KOH 0,1M dan dikeringkan

Senyawa	Bentuk Spektrum UV					
	Pustaka dengan Analit Awal (Setelah Dielusi)			Setelah Dielusi, Disemprot KOH dan Dikeringkan		
Alobarbital						
Barbital						
Butalbital						
Fenobarbital						

Keterangan :

- = Spektrum UV analit dari pustaka
- = Spektrum UV analit awal (setelah dielusi)
- = Spektrum UV analit setelah disemprot KOH
- = Spektrum UV analit setelah dikeringkan

Gambar pada tabel 4.10 menunjukkan bahwa bentuk spektrum UV analit awal mempunyai profil spektrum yang sama dengan bentuk spektrum UV analit pada pustaka. Namun, setelah disemprot dengan KOH, spektrum UV yang dihasilkan mempunyai profil spektrum yang berbeda dengan spektrum UV analit awal. Nilai korelasi spektrum UV analit pada beberapa

perlakuan di atas ditampilkan pada tabel 4.11.

Tabel 4.11 Nilai korelasi bentuk spektrum UV senyawa golongan barbiturat setelah dielusi dengan fase gerak sistem TE, disemprot KOH 0,1M dan dikeringkan

Senyawa	I_{a-p}			$I_{a-KOH b}$			$I_{a-KOH k}$		
	\bar{r}	SD	KV (%)	\bar{r}	SD	KV (%)	\bar{r}	SD	KV (%)
Alobarbital	0,99	0,007	0,71	0,89	0,043	4,89	0,94	0,053	5,59
Barbital	0,98	0,020	2,01	0,82	0,061	7,46	0,92	0,071	7,74
Butalbital	0,98	0,014	1,46	0,86	0,068	7,89	0,95	0,053	5,56
Fenobarbital	0,99	0,011	1,10	0,93	0,037	3,96	0,98	0,023	2,39

Keterangan : r_{a-p} = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan pustaka, $r_{a-KOH b}$ = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan setelah disemprot KOH 0,1 M, $r_{a-KOH k}$ = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan dikeringkan pada suhu 60°C selama 10 menit setelah disemprot KOH, \bar{r} = korelasi rata-rata, SD = standar deviasi, KV = koefisien variansi

Dari tabel 4.9 dan 4.11 dapat dilihat korelasi rata-rata antara spektrum UV analit awal (setelah elusi) dengan pustaka menunjukkan nilai $\geq 0,95$ dengan $KV \leq 2\%$ yang berarti bahwa analit yang digunakan dalam penelitian adalah analit yang sama dengan pustaka. Setelah disemprot dengan HCl 0,1 M baik diukur dalam keadaan basah maupun kering, spektrum analit tidak menunjukkan perubahan yang signifikan dengan bentuk spektrum awal. Hal ini menunjukkan bahwa pH asam tidak memberi pengaruh (geseran spektrum) terhadap spektrum UV

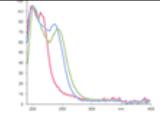
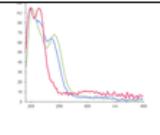
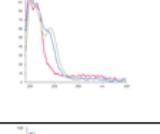
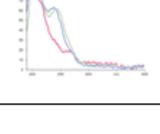
senyawa dari golongan barbiturat. Namun, setelah disemprot dengan KOH 0,1 M, dalam keadaan basah diukur spektrum analit menunjukkan terjadinya perubahan (pergeseran spektrum) terhadap spektrum analit awal. Spektrum analit dikatakan bergeser karena memberikan nilai korelasi < 0,95 (0,82-0,93). Setelah dikeringkan spektrumnya kembali mengarah ke bentuk spektrum UV awal, yang ditandai dengan meningkatnya nilai korelasi analit menjadi 0,92-0,98.

Data ini menunjukkan bahwa dengan derajat bebas 5% dan taraf kepercayaan 95%, nilai korelasi spektrum senyawa golongan barbiturat tidak mengalami pergeseran setelah diberikan perlakuan dengan penyemprotan HCl 0,1 M tetapi spektrumnya bergeser apabila diberikan perlakuan dengan penyemprotan KOH 0,1 M. Hal ini bersesuaian dengan penelitian sebelumnya dimana senyawa-senyawa golongan barbiturat mengalami geseran spektrum ke arah batokromik apabila berada dalam suasana basa (KOH 0,1 M).

B. Pengaruh Perbedaan Perlakuan Penyemprotan dari HCl ke KOH atau KOH ke HCl Terhadap Bentuk Spektrum UV Senyawa dari Golongan Barbiturat

Bentuk dan nilai korelasi dari spektrum UV senyawa golongan barbiturat dengan fase gerak TD pada perlakuan penyemprotan yang berbeda adalah sebagai berikut.

Tabel 4.12 Bentuk spektrum UV senyawa dari golongan barbiturat dengan perlakuan penyemprotan HCl ke KOH setelah dielusi dengan sistem TD

Senyawa	Bentuk Spektrum UV	Keterangan
Alobarbital		— = Spektrum UV analit setelah dikeringkan pasca penyemprotan dengan HCl
Barbital		— = Spektrum UV analit setelah disemprot KOH — = Spektrum UV analit setelah dikeringkan pasca penyemprotan dengan KOH
Butalbital		
Fenobarbital		

Gambar pada tabel 4.12 menunjukkan bahwa bentuk spektrum UV analit setelah dikeringkan pasca penyemprotan dengan HCl mempunyai profil spektrum yang berbeda dengan spektrum UV analit setelah disemprot KOH dan dikeringkan. Nilai korelasi spektrum UV analit pada beberapa perlakuan di atas ditampilkan pada tabel 4.13

Tabel 4.13 Nilai korelasi bentuk spektrum UV senyawa golongan barbiturat dengan perlakuan penyemprotan HCl ke KOH setelah dielusi dengan sistem TD

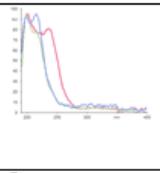
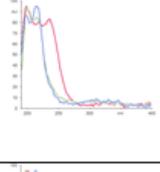
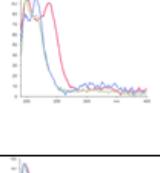
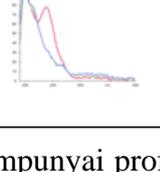
Senyawa	I _a -KOH _b			I _a -KOH _k		
	\bar{r}	SD	KV (%)	\bar{r}	SD	KV (%)
Alobarbital	0,87	0,023	2,64	0,92	0,025	2,68
Barbital	0,85	0,031	3,67	0,93	0,032	3,41
Butalbital	0,89	0,027	2,99	0,94	0,019	2,08
Fenobarbital	0,94	0,019	2,06	0,97	0,012	1,22

Keterangan : $r_{a-KOH\ b}$ = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan setelah disemprot KOH 0,1 M, $r_{a-KOH\ k}$ = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan spektrum UV setelah disemprot KOH dan dikeringkan pada suhu 60°C selama 10 menit, \bar{r} = korelasi rata-rata, SD = standar deviasi, KV = koefisien variansi

Data tabel 4.13 menunjukkan bahwa terjadi perubahan spektrum (geseran spektrum) yang signifikan setelah diberikan perlakuan penyemprotan KOH 0,1M yang didahului oleh penyemprotan HCl 0,1 M. Setelah dikeringkan, spektrumnya bergeser kembali mengarah bentuk spektrum UV analit awal yang ditandai meningkatnya nilai korelasi analit menjadi 0,92 -0,97.

Pada perlakuan penyemprotan yang berbeda yakni penyemprotan dari KOH ke HCl menghasilkan data sebagai berikut.

Tabel 4.14 Bentuk spektrum UV senyawa dari golongan barbiturat dengan perlakuan penyemprotan KOH ke HCl setelah dielusi dengan sistem TD

Senyawa	Bentuk Spektrum UV	Keterangan
Alobarbital		— = Spektrum UV analit setelah dikeringkan pasca penyemprotan dengan KOH — = Spektrum UV analit setelah disemprot HCl
Barbital		— = Spektrum UV analit setelah dikeringkan pasca penyemprotan dengan HCl
Butalbital		
Fenobarbital		

KOH mempunyai profil spektrum yang berbeda dengan spektrum UV analit setelah disemprot HCl dan dikeringkan. Nilai korelasi spektrum UV analit pada beberapa perlakuan di atas ditampilkan pada tabel 4.15.

Tabel 4.15 Nilai korelasi bentuk spektrum UV senyawa golongan barbiturat dengan perlakuan penyemprotan KOH ke HCl setelah dielusi dengan sistem TD

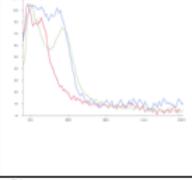
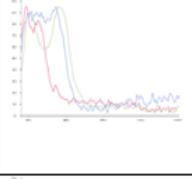
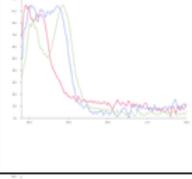
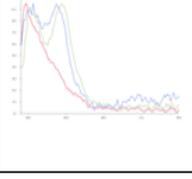
Senyawa	$r_{a-HCl\ b}$			$r_{a-HCl\ k}$		
	\bar{r}	SD	KV (%)	\bar{r}	SD	KV (%)
Alobarbitol	0,97	0,015	1,54	0,99	0,002	0,18
Barbital	0,97	0,012	1,23	0,99	0,001	0,11
Butalbitol	0,97	0,019	1,97	0,99	0,006	0,64
Fenobarbital	0,99	0,003	0,34	0,99	0,003	0,29

Keterangan : $r_{a-HCl\ b}$ = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan setelah disemprot HCl 0,1 M, $r_{a-HCl\ k}$ = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan spektrum UV setelah disemprot HCl dan dikeringkan pada suhu 60°C selama 10 menit, \bar{r} = korelasi rata-rata, SD = standar deviasi, KV = koefisien variansi

Data pada tabel 4.15 menunjukkan bahwa terjadi perubahan spektrum (geseran spektrum) pada perlakuan penyemprotan HCl 0,1 M yang didahului oleh penyemprotan KOH 0,1 M. Perubahan spektrum yang terjadi mengarah ke bentuk spektrum UV analit awal sehingga spektrumnya memiliki profil spektrum yang sama dengan spektrum UV analit awal. Hal ini menunjukkan reaksi pergeseran spektrum senyawa barbiturat bersifat reversibel.

Untuk sistem fase gerak TE, bentuk dan nilai korelasi dari spektrum UV senyawa golongan barbiturat pada perlakuan penyemprotan yang berbeda adalah sebagai berikut.

Tabel 4.17 Bentuk spektrum UV senyawa dari golongan barbiturat dengan perlakuan penyemprotan HCl ke KOH setelah dielusi dengan sistem TE

Senyawa	Bentuk Spektrum UV	Keterangan
Alobarbitol		— = Spektrum UV analit setelah dikeringkan pasca penyemprotan dengan HCl — = Spektrum UV analit setelah disemprot KOH
Barbital		— = Spektrum UV analit setelah dikeringkan pasca penyemprotan dengan KOH
Butalbitol		
Fenobarbital		

Gambar pada tabel 4.17 menunjukkan bahwa bentuk spektrum UV analit setelah dikeringkan pasca penyemprotan dengan HCl mempunyai profil spektrum yang berbeda dengan spektrum UV analit setelah disemprot KOH dan dikeringkan. Nilai korelasi spektrum UV analit pada beberapa perlakuan di atas ditampilkan pada tabel 4.18.

Tabel 4.18 Nilai korelasi bentuk spektrum UV senyawa golongan barbiturat dengan perlakuan penyemprotan HCl ke KOH setelah dielusi dengan sistem TE

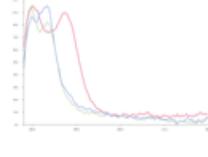
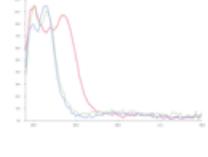
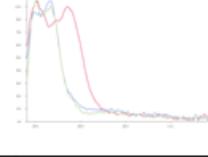
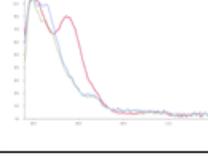
Senyawa	$r_{a-KOH\ b}$			$r_{a-KOH\ k}$		
	\bar{r}	SD	KV (%)	\bar{r}	SD	KV (%)
Alobarbital	0,90	0,041	4,55	0,92	0,065	7,11
Barbital	0,80	0,039	4,94	0,89	0,088	9,91
Butalbital	0,87	0,078	8,91	0,93	0,070	7,51
Fenobarbital	0,92	0,046	5,04	0,96	0,026	2,69

Keterangan : $r_{a-KOH\ b}$ = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan setelah disemprot KOH 0,1 M, $r_{a-KOH\ k}$ = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan spektrum UV setelah disemprot KOH dan dikeringkan pada suhu 60°C selama 10 menit, \bar{r} = korelasi rata-rata, SD = standar deviasi, KV = koefisien variansi

Data pada tabel 4.18 menunjukkan bahwa terjadi pergeseran spektrum UV dari analit setelah diberikan perlakuan penyemprotan KOH 0,1M yang didahului oleh penyemprotan HCl 0,1 M. Setelah dikeringkan, spektrumnya bergeser kembali mengarah bentuk spektrum UV analit awal yang ditandai dengan meningkatnya nilai korelasi menjadi 0,89 – 0,96.

Pada perlakuan penyemprotan yang berbeda yakni penyemprotan dari KOH ke HCl menghasilkan data sebagai berikut.

Tabel 4.19 Bentuk spektrum UV senyawa dari golongan barbiturat dengan perlakuan penyemprotan KOH ke HCl setelah dielusi dengan sistem TE

Senyawa	Bentuk Spektrum UV	Keterangan
Alobarbital		— = Spektrum UV analit setelah dikeringkan pasca penyemprotan dengan KOH
Barbital		— = Spektrum UV analit setelah disemprot HCl
Butalbital		— = Spektrum UV analit setelah dikeringkan pasca penyemprotan dengan HCl
Fenobarbital		

Gambar pada tabel 4.19 menunjukkan bahwa bentuk spektrum UV analit setelah dikeringkan pasca penyemprotan dengan KOH mempunyai profil spektrum yang berbeda dengan spektrum UV analit setelah disemprot HCl dan dikeringkan. Nilai korelasi spektrum UV analit pada beberapa perlakuan di atas ditampilkan pada tabel 4.20.

Tabel 4.20 Nilai korelasi bentuk spektrum UV senyawa golongan barbiturat dengan perlakuan penyemprotan KOH ke HCl setelah dielusi dengan sistem TE

Senyawa	$r_{a-HCl\ b}$			$r_{a-HCl\ k}$		
	\bar{r}	SD	KV (%)	\bar{r}	SD	KV (%)
Alobarbital	0,98	0,004	0,44	0,95	0,021	2,17
Barbital	0,98	0,004	0,39	0,94	0,017	1,83
Butalbital	0,98	0,004	0,45	0,94	0,022	2,34
Fenobarbital	0,96	0,009	0,91	0,95	0,015	1,54

Keterangan : $r_{a-HCl\ b}$ = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan setelah disemprot HCl 0,1 M, $r_{a-HCl\ k}$ = korelasi antara bentuk spektrum UV analit awal dengan spektrum UV setelah disemprot HCl dan dikeringkan pada suhu 60°C selama 10 menit, \bar{r} = korelasi rata-rata, SD = standar deviasi, KV = koefisien variansi

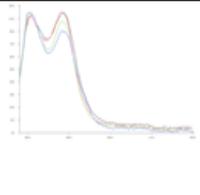
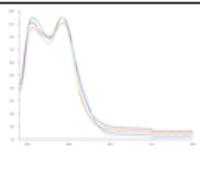
Data pada tabel 4.20 menunjukkan bahwa terjadi pergeseran spektrum UV dari analit pada perlakuan penyemprotan HCl 0,1 M yang didahului oleh penyemprotan KOH 0,1 M. Perubahan spektrum yang terjadi mengarah ke bentuk spektrum UV analit awal sehingga spektrumnya memiliki profil spektrum yang sama dengan spektrum UV analit awal.

Dari data pada tabel 4.12 s/d 4.20 menunjukkan bahwa pola penyemprotan yang berbeda ternyata memberikan pengaruh yang signifikan terhadap perubahan spektrum UV senyawa golongan barbiturat, baik yang dielusi dengan sistem fase gerak TD maupun sistem fase gerak TE.

Pemanfaatan Data Geseran Spektrum dalam Uji Konfirmasi

Bentuk dan nilai korelasi pergeseran spektrum UV antar senyawa golongan barbiturat ditampilkan pada tabel 4.22 s/d 4.25.

Tabel 4.22 Perbandingan bentuk spektrum UV antar senyawa dari golongan barbiturat setelah penyemprotan KOH dan diukur dalam keadaan basah

Sistem Fase Gerak	Bentuk spektrum UV	Keterangan
TD		<ul style="list-style-type: none"> — = Spektrum UV alobarbital — = Spektrum UV barbital
TE		<ul style="list-style-type: none"> — = Spektrum UV butalbital — = Spektrum UV fenobarbital

Gambar pada tabel 4.22 menunjukkan bahwa bentuk pergeseran spektrum UV dari keempat analit ketika plat diukur dalam keadaan basah, mempunyai profil spektrum yang sama. Nilai korelasi spektrum UV antar keempat analit ditampilkan pada tabel 4.23.

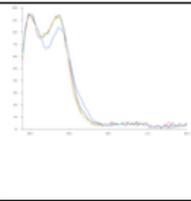
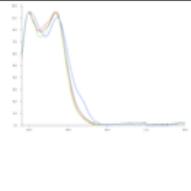
Tabel 4.23 Nilai korelasi bentuk spektrum UV antar senyawa golongan barbiturat setelah penyemprotan KOH dan diukur dalam keadaan basah

Sistem Fase Gerak	Senyawa	Alobarbital	Barbital	Butalbital	Fenobarbital
TD	Alobarbital		0,99	0,99	0,99
	Barbital			0,99	0,99
	Butalbital				0,99
	Fenobarbital				
TE	Alobarbital		0,99	0,98	0,99
	Barbital			0,99	0,99
	Butalbital				0,98
	Fenobarbital				

Tabel 4.25 Nilai korelasi bentuk spektrum UV antar senyawa golongan barbiturat setelah penyemprotan KOH diukur dalam keadaan kering

Sistem Fase Gerak	Senyawa	Alobarbital	Barbital	Butalbital	Fenobarbital
TD	Alobarbital		0,99	0,99	0,99
	Barbital			0,99	0,98
	Butalbital				0,98
	Fenobarbital				
TE	Alobarbital		0,99	0,99	0,99
	Barbital			0,99	0,98
	Butalbital				0,98
	Fenobarbital				

Tabel 4.24 Perbandingan bentuk spektrum UV antar senyawa dari golongan barbiturat setelah penyemprotan KOH dan diukur dalam keadaan kering

Sistem Fase Gerak	Bentuk spektrum UV	Keterangan
TD		— = Spektrum UV alobarbital — = Spektrum UV barbital
TE		— = Spektrum UV butalbital — = Spektrum UV fenobarbital

Gambar pada tabel 4.24 menunjukkan bahwa bentuk pergeseran spektrum UV dari keempat analit ketika plat diukur dalam keadaan kering, mempunyai profil spektrum yang sama. Nilai korelasi spektrum UV antar keempat analit ditampilkan pada tabel 4.25.

Pada tabel 4.23 dan 4.25 dapat dilihat korelasi rata-rata spektrum UV antar keempat analit menunjukkan nilai $\geq 0,95$ yang berarti keempat analit memiliki profil pergeseran spektrum yang sama, baik dalam keadaan plat basah maupun kering.

Data geseran spektrum ini tidak dapat digunakan dalam uji konfirmasi senyawa barbiturat karena pergeseran spektrum yang terjadi antar keempat analit memiliki profil yang sama sehingga tidak dapat ditentukan identitasnya masing-masing.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Penggunaan dua sistem fase gerak yang berbeda (sistem TD dan TE) dalam uji konfirmasi senyawa golongan barbiturat dengan metode TLC-Spektrofotodensitometri dapat memperkecil jumlah senyawa yang lolos dalam uji skrining.

2. Senyawa golongan barbiturat mengalami pergeseran spektrum pada pH basa, sedangkan pada pH asam tidak terjadi.
3. Keempat analit memiliki pergeseran spektrum yang sama, sehingga data geseran spektrum ini tidak dapat dimanfaatkan untuk uji konfirmasi senyawa golongan barbiturat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr.rer.nat I Made Agus Gelgel Wirasuta, Apt., M.Si. selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana yang telah membantu selama penelitian.
2. Bapak Drs. I Nyoman Kadjeng Widjaja, M.Si., Apt. dan Ibu Luh Putu Mirah K.D., S.F., Apt. yang telah membantu dengan segenap tenaga, pikiran, motivasi, dorongan, nasihat, saran dan waktu dari awal penelitian ini.
3. Kepada seluruh keluarga besar Farmasi Udayana yang telah membantu.
4. Kepada semua pihak yang namanya tidak bisa penulis sebutkan satu per satu, penulis mengucapkan terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Badan Narkotika Nasional. 2008. *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium Narkotika, Psikotropika dan Obat Berbahaya*. Depok : Badan Narkotika Negara-Departemen Kesehatan
- [2]. Badan Narkotika Nasional dan Puslitkes Universitas Indonesia. 2008. *Studi Kerugian Ekonomi dan Sosial Akibat Narkoba Tahun 2008*. Depok : Puslitkes Universitas Indonesia
- [3]. Nasution, I. 2001. *Memahami Narkoba dari Aspek Farmakologi*. Semarang: Universitas Diponegoro
- [4]. Purba, J.M., S.E. Wahyuni, M.L. Nasution dan W. Daulay. 2008. *Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Masalah Psikososial dan Gangguan Jiwa*. Medan : USU Press
- [5]. Wirasuta, I.M.A.G. 2008. *Pemanfaatan TLC dalam Drugs Screening dan Uji Konfirmasi*. Bukit Jimbaran : Lembaga Forensik Sains dan Kriminologi, Universitas Udayana
- [6]. Flanagan R.J., R.A. Braithwaite, S.S. Brown, B. Widdop and F.A. de Wolff. 1995. *Basic Analytical Toxicology*. Geneva: World Health Organization.p.2-4
- [7]. Ojanpera, I and E. Vouri. 1994. *Identification of Drugs in Autopsy Liver Samples by Instrumental Qualitative Thin Layer Chromatography*. Journal of Chromatography A 674. p. 147-152
- [8]. Primaningrum, I.A.S. 2009. *Uji Skrining dan Determinasi Senyawa Morfin dalam Darah Menggunakan Metode TLC/HPTLC Spektrofotodensitometri (Skripsi)*. Bukit Jimbaran : Universitas Udayana
- [9]. Sari, P.N.A. 2009. *Uji Skrining dan Determinasi Kodein dalam Darah*

- Menggunakan Metode TLC/HPTLC Spektrofotodensitometri (Skripsi). Bukit Jimbaran : Universitas Udayana
- [10]. Moffat, A. C., O. David and W. Brian. 2005. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons In Pharmaceuticals, Body Fluids and Post-Mortem Material* 3rd edition Book 2. London: Pharmaceutical Press
- [11]. Sherma, J. and B. Fried. 1996. *Handbook of Thin Layer Chromatography*, 2nd Edition, Revised and Expanded. New York: Marcel Dekker
- [12]. Zeeuw, R. A. 1992. *DFG/TIAFT Thin Layer Chromatographic Rf Values of Toxicologically Relevant Substances on Standardized Systems*. Weinheim: VCH
- [13]. Chao, M.K.C., Albert K.S and Fusari. 1977. *Phenobarbiturat, in Florey K., Analytical Profile of Drugs Substance*. New York : Academic Press
- [14]. Braun, R.D. 1987. *Introduction to Instrumental Analysis*. New York : McGraw-Hill Book Company
- [15]. De instrop, H.E. 2007. *Applied Thin-Layer Chromatography Best Practice and Avoidance of Mistakes Second, Revised and Enlarged Edition*. Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA
- [16]. Flanagan, R.J., A. Taylor, I.D. Watson and R. Whelpton. 2007. *Fundamental of Analytical Toxicology*. West Sussex: John Wiley and Sons ltd.p.376
- [17]. Harmita. 2004. *Petunjuk Cara Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol. I (3): 117-135
- [18]. Rohman, A dan I.G. Gandjar. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- [19]. Schmutz, H.R. 1980. *In situ Evaluation of High Performance Thin Layer Chromatograms in Chromatographic Methods*. New York: Bad Durkheim
- [20]. Sherma, J. and B. Fried. 2003. *Handbook of Thin-Layer Chromatography*, Third Edition, Revised and Expanded. New York: Marcel Dekker
- [21]. Vina, R.S., C. M. O'Donnell and D.V. Gokhale. 1988. *Confirmation and Certainty in Toxicology Screening*. Journal of Clin. Chem. Vol. 34, No. 8(1988) 1535-1539
- [22]. Wirasuta, I.M.A.G., N.G., Indriyaningsih, N.M. Suaniti. 2008. *Studi perubahan Bentuk Spektrum Senyawa Turunan Asam Barbiturat Pada Plat Al-TLC Si G 60 F254 Setelah Diekspos dengan Berbagai Pengeluen*. Bukit Jimbaran : Universitas Udayana
- [23]. Auterhoff, H. and A. Kovar. 1987. *Identifikasi Obat*, Terjemahan N.C. Sugiarto Terbitan Kelima. Bandung: Institut Teknologi Bandung