

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tanaman *Swietenia mahagoni* L

2.1.1 Taksonomi

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Rurales
Suku : Meliaceae
Marga : *Swietenia*
Spesies : *Swietenia mahagoni* L (Van, 2008).



Gambar 2.1 Tanaman *Swietenia mahagoni* L. (Dokumen Pribadi)

2.1.2 Distribusi

Tanaman mahoni adalah spesies tanaman yang memiliki kemampuan untuk tumbuh subur dalam kondisi tanah yang gersang. Secara khusus, mahoni dapat bertahan dan tumbuh bahkan ketika tingkat kelembaban tanah relatif rendah. Toleransi terhadap kekeringan ini memungkinkan mahoni untuk tumbuh subur di lingkungan dengan ketersediaan air yang terbatas. Budidaya mahoni sangat cocok untuk lahan dengan ketinggian 1.500 mdpl. 1.524-5.085 mm/tahun curah hujan dan dengan suhu rata-rata berkisar antara 11 hingga 36°C. *Swietenia mahagoni* L umumnya dikenal sebagai mahoni berdaun lebar, merupakan spesies pohon tropis yang cocok untuk dibudidayakan di iklim yang memenuhi parameter tersebut. Mahoni berasal dari Amerika serta

tumbuh di wilayah Pasifik dan Asia Tenggara, seperti Indonesia, India, Sri Lanka, serta Filipina (Ahmad *et al.*, 2019).

2.1.3 Morfologi

Swietenia mahagoni L. adalah spesies pohon tahunan yang tumbuh hingga ketinggian antara 5-25 meter. Memiliki batang yang berkayu, bercabang, bulat, dan memiliki kulit kayu dengan warna putih kotor. Bentuk daun menyirip majemuk dengan helai berbentuk bulat telur yang meruncing ke ujung. Panjang daun sekitar 3 sampai 15 cm. Warna daun yang masih muda berwarna merah yang kemudian berubah hijau saat daun menjadi dewasa. Bunga mahoni tersusun dalam perbungaan majemuk yang muncul dari ketiak daun. Pada tangkai bunga mahoni berbentuk silinder dengan warna coklat muda kelopaknya mirip dengan sendok dan berwarna hijau. Mahoni memiliki mahkota bunga berbentuk silinder coklat kekuningan serta terdapat benang sari yang menempel pada mahkota bunga. Kepala sari memiliki warna putih sampai coklat kekuningan. Buah *Swietenia mahagoni* L. memiliki bentuk seperti kotak, bulat telur dengan lima lekukan dan bagian luar berwarna coklat. Pada buah mahoni, didalamnya terdapat biji berbentuk pipih dengan ujung yang agak tebal. Biji tersebut berwarna hitam atau coklat. Mahoni memiliki akar tunggang berwarna coklat (Van, 2008).

2.1.4 Kandungan Senyawa

Swietenia mahagoni L. adalah salah satu spesies tanaman yang mengandung beberapa senyawa bioaktif antara lain alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, serta senyawa terpenoid (Suprapti *et al.*, 2020). Flavonoid merupakan golongan senyawa kimia yang berperan sebagai antioksidan dan juga meningkatkan kekebalan tubuh. Hasil penelitian (Pratama *et al.*, 2022) menunjukkan ekstrak daun mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) memiliki kandungan antioksidan cukup tinggi sebesar 91.01 mg/mL selain itu terdapat kadar flavonoid sebesar 44,6 QE. Ekstrak biji mahoni mengandung senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, dan juga saponin (Nikmah *et al.*, 2022). Selain itu, pada kulit buah mahoni

juga terdapat senyawa alkaloid, tanin, flavonoid, dan saponin apabila menggunakan metode ekstraksi sokletasi (Apriani *et al.*, 2022).

2.1.5 Tinjauan Aktivitas Antijamur *Swietenia mahagoni L*

Analisis kualitatif senyawa bioaktif ekstrak metanol daun *Swietenia mahagoni L* mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, triterpenoid, glikosida, tanin, dan karbohidrat (Syame *et al.*, 2022). Senyawa tertentu telah terbukti menunjukkan sifat antijamur. Senyawa alkaloid dapat menghambat biosintesis asam nukleat di dalam jamur, sehingga menghambat pertumbuhan jamur (Sari *et al.*, 2019). Senyawa flavonoid memiliki kemampuan untuk menginduksi perubahan dalam konstituen organik dan jalur transportasi nutrisi di dalam sel jamur, yang pada akhirnya mengakibatkan sel tersebut lisis. Secara khusus, flavonoid dapat menyebabkan modifikasi pada komponen-komponen yang membentuk organisme hidup serta cara-cara yang digunakan untuk mengangkut nutrisi ke seluruh sistem biologis. Senyawa tannin bersifat lipofilik dan mudah terikat pada dinding sel jamur sehingga menyebabkan kerusakan. Saponin berfungsi sebagai surfaktan, dapat menurunkan tegangan pada permukaan membran sterol di dinding sel *Candida albicans*. Saponin berinteraksi dengan sterol dalam membran jamur, menyebabkan peningkatan permeabilitas dan kebocoran komponen intraseluler. Hal ini mengganggu integritas membran sel *Candida albicans* dan pada akhirnya menyebabkan kematian sel (Maghfiroh *et al.*, 2021).

Berdasarkan penelitian (Syame *et al.*, 2022) menunjukkan hasil aktivitas antijamur dari ekstrak metanol yang berasal dari daun *Swietenia mahagoni L*. Secara khusus, penelitian ini menemukan bahwa ekstrak dari daun ini menghasilkan zona hambat ketika diuji terhadap jamur *Candida albicans*. Penelitian tersebut memberikan hasil sebagai berikut:

Tabel II.1 Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol Daun *Swietenia mahagoni* L. (Syame *et al.*, 2022)

<i>Fungal strain</i>	50 mg/mL	25 mg/mL	15 mg/mL
<i>Inhibition Zona (mm)</i>			
<i>A. Flavus</i>	18,0 ± 0,2	13,4 ± 0,3	9,5 ± 0,6
<i>A. Niger</i>	17,2 ± 0,1	12,0 ± 0,5	10,0 ± 1,0
<i>A. Fumingatus</i>	-	-	-
<i>C. albicans</i> (ATCC 10,231)	22,1 ± 1,1	18,1 ± 0,2	13,1 ± 0,3
<i>C. glabrata</i>	-	-	-

2.2 Tinjauan Umum *Candida albicans*

2.2.1 Taksonomi

Kingdom : Fungi
 Divisi : Ascomycota
 Subdivisi : Ascomycotina
 Kelas : Ascomycetes
 Ordo : Saccharomycetales
 Family : Saccharomycetaceae
 Genus : *Candida*
 Spesies : *Candida albicans* (Hartina *et al.*, 2022)

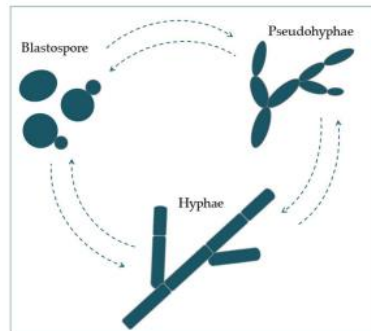


Gambar 2.2 *Candida albicans* (Mutiawati, 2003)

2.2.2 Morfologi dan Sifat

Jamur *Candida albicans* memiliki kemampuan untuk mengambil bentuk yang berbeda. Ia dapat tumbuh sebagai sel ragi elipsoid oval atau memanjang yang mengalami pertunasan, dengan penyempitan yang terbentuk di tempat pembelahan (pseudohifa). Ia juga dapat tumbuh

sebagai hifa sejati, dengan dinding sel yang paralel. Morfologi tambahan termasuk sel putih dan buram, yang dikembangkan selama transisi, dan klamidospora. Klamidospora adalah struktur berdinding tebal seperti spora. (Mayer *et al.*, 2018).



Gambar 2.3 Peralihan dan Transisi Morfologi *Candida albicans* (Talapko *et al.*, 2021)

Rantai sel ragi yang memanjang menjadi ciri pseudohifa, dan bentuk hifa dicirikan oleh rantai sel tubular yang bercabang. Filamentasi ditingkatkan dengan suhu lebih tinggi dari 37°C, pH basa, serum, dan konsentrasi CO tinggi. Dengan cara yang sama, hal ini juga ditingkatkan oleh kekurangan nitrogen dan karbon dengan adanya N-asetilglukosamin. Transisi dari blastospora ke hifa ditandai dengan aktivasi jaringan pengatur jalur sinyal yang kompleks, yang mencakup banyak faktor transkripsi. Perbedaan utama antara komposisi ragi dan hifa adalah dinding hifa mempunyai kandungan kitin yang sedikit lebih banyak dibandingkan ragi (Talapko *et al.*, 2021).

Dinding sel terbuat dari glukukan, kitin, dan protein. Perannya adalah untuk melindungi sel dari kondisi stres di lingkungan, seperti perubahan osmotik, dehidrasi, dan perubahan suhu, serta melindungi sel dari pertahanan kekebalan tubuh inang. Komunikasi sel dengan lingkungan luar terjadi melalui membran sel. Sterol dalam membran sel sangat penting, memberikan stabilitas, kekakuan, dan ketahanan sel terhadap stres fisik. Ergosterol adalah sterol yang paling banyak diwakili dan merupakan karakteristik membran sel jamur. Ini disintesis pada retikulum endoplasma dan badan lipid. Di dalam membran sel terdapat lapisan ganda fosfolipid yang mengandung protein yang berperan

sebagai reseptor, namun ada juga yang berperan sebagai transpor dan juga transduksi sinyal. Dalam metabolismenya, *Candida albicans* menggunakan asam amino sebagai sumber nitrogen dan glukosa sebagai sumber karbon (Talapko *et al.*, 2021).



Gambar 2.4 Koloni *Candida albicans* (Suraini, 2023)

2.2.3 Manifestasi Klinik

Candida albicans adalah bagian dari mikrobiota normal pada sekitar 50% individu. Infeksi *Candida* sp mempunyai berbagai manifestasi klinis, mulai dari gangguan mukokutan superfisial hingga infeksi invasif yang mengenai banyak organ. Manifestasi klinis dari *Candida albicans* antara lain pada rongga mulut, mukosa usus, kulit, serta infeksi invasif (Talapko *et al.*, 2021).

a. Rongga Mulut

Kandidiasis oral mempunyai manifestasi klinis yang luas. Oleh karena itu, terdapat pembagian menjadi kandidiasis primer ketika infeksi hanya menyerang rongga mulut dan daerah peroral, serta kandidiasis sekunder ketika infeksi terjadi sebagai bagian dari penyakit sistemik. Mukosa sudah berubah dan cocok untuk infeksi dan lesi yang terkait dengan jamur *Candida albicans*. Menurut gambaran klinisnya, yang meliputi perubahan warna, kandidiasis sering dibagi menjadi putih dan merah.

b. Mukosa Usus

Interaksi dari *Candida albicans* sebagai patogen pada mukosa usus terjadi dalam bentuk adhesi, invasi, kerusakan, dan apoptosis. Peran utama dalam infeksi, dan akibatnya patogenisitas, dimainkan oleh zat yang disekresikan oleh hifa jamur.

c. Kulit

Candida albicans umumnya menyebabkan infeksi kulit superfisial. Namun, pada pasien dengan defisiensi sistem kekebalan tubuh yang serius, infeksi jamur invasif dapat timbul. Hal tersebut mengakibatkan penetrasi dan kandidiasis sistemik seringkali berakibat fatal.

d. Infeksi Invasif

Kandidiasis invasif mengacu pada infeksi aliran darah yang disebabkan oleh *Candida albicans* yang paling sering terjadi setelah melewati penghalang usus. Misalnya setelah operasi bisa menyebar ke rongga perut, masuk ke aliran darah dan menyebabkan kandidiasis.

2.2.4 Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Jamur

Menurut (Ozdemir, 2022) pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* adalah sebagai berikut:

Tabel II.2 Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Jamur

Diameter Zona Bening	Respon Hambatan Pertumbuhan Jamur
>20 mm	Kuat
12 – 20 mm	Sedang
6 – 12 mm	Lemah

2.3 Tinjauan Nistatin

Nistatin adalah molekul antijamur dari keluarga poliena dan termasuk amfoterisin B, serta *Candicidin*. Nistatin telah dikenal selama bertahun-tahun sebagai pengobatan infeksi jamur, terutama kandidiasis mulut, serta untuk penelitian yang digunakan sebagai aditif kultur sel (Amir *et al.*, 2022). Nistatin, suatu antibiotik poliena, berinteraksi dengan ergosterol pada membran sel jamur dan rentan terhadap lisis, sehingga memberikan efek antijamur. Pedoman praktik klinis untuk pengelolaan kandidiasis oral diberikan oleh *Infectious Diseases Society of America* yang merekomendasikan penggunaan suspensi nistatin. Nistatin memiliki konsentrasi 100.000 IU/mL dengan dosis 4 – 6 mL empat kali sehari atau satu hingga dua pastiles nistatin (200.000 IU). *World*

Health Organisation (WHO) telah merekomendasikan terapi topikal dengan nistatin dalam bentuk suspensi untuk pengganti flukonazol oral. Obat tersebut digunakan untuk mengobati kandidiasis oral dan orofaring bahkan pada orang HIV-positif. Namun, penggunaan nistatin, ketersediaan dan cara pemberiannya berbeda-beda di berbagai negara dan populasi (Rai *et al.*, 2022).

2.4 Tinjauan Tentang Ekstraksi

Ekstraksi adalah sediaan yang dibuat dengan menyuling bahan tanaman, menghindari sinar matahari langsung (Kemenkes RI, 2017). Tujuan ekstraksi adalah untuk mengisolasi konstituen kimia atau bahan aktif dari sampel. Pemilihan pelarut didasarkan pada penilaian polaritas, apakah pelarut tersebut sangat polar atau semipolar. Prinsip ekstraksi bergantung pada pendistribusian zat terlarut yang mengandung senyawa aktif antara dua pelarut yang tidak bercampur atau yang memiliki karakteristik polaritas yang berbeda. Hal ini memungkinkan pemisahan senyawa yang diinginkan dari bahan tanaman. Pemilihan pelarut yang tepat dan teknik distilasi terkontrol diperlukan untuk mengekstrak konstituen yang ditargetkan secara efisien dengan tetap menjaga integritas produk (Handoyo, 2020).

Ada tiga jenis utama ekstrak berdasarkan sifat dan komposisinya. Ekstrak encer, juga disebut (*extractum tenue*), memiliki konsentrasi dan tekstur yang mirip dengan madu, sehingga mudah dituang. Ekstrak kental, atau (*extractum spissum*), terlalu padat untuk dituang saat dingin karena konsentrasinya yang tinggi. Ekstrak kering, (*extractum siccum*), memiliki bentuk kering yang dapat dihancurkan atau digosok dengan mudah. Cairan pengekstraksi diuapkan dan dikeringkan, sehingga menghasilkan produk atau ekstrak dengan kadar air tidak lebih dari 5% (Handoyo, 2020).

2.4.1 Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi yang dilakukan pada suhu dingin atau suhu ruangan tanpa meningkatkan panas. Teknik ini melibatkan ekstraksi sampel dengan cara mengocok atau mengaduk berulang kali untuk mempercepat waktu ekstraksi larutan penyari. Metode ini digunakan untuk simplisia atau bahan alami yang sensitif terhadap panas untuk mencegah kerusakan atau penguraian beberapa

komponen kimia aktif (Handoyo, 2020). Kerugian utama dari maserasi adalah komitmen waktu yang signifikan dan jumlah pelarut yang cukup besar. Namun, maserasi dapat menghindari kerusakan senyawa yang mudah rusak akibat panas (Mukhriani, 2014).

2.4.2 Perkolasi

Metode perkolasi merupakan teknik ekstraksi yang melibatkan pelarut terus mengalir di atas bahan sampel serbuk (Silviani *et al.*, 2020). Proses ini melibatkan penambahan pelarut ke lapisan atas serbuk, yang memungkinkan pelarut meresap secara perlahan dan menetes ke lapisan bawah. Perkolasi pelarut yang terus menerus ini mengekstrak komponen yang larut dan tersuspensi dari serbuk ke dalam larutan (Mukhriani, 2014).

2.4.3 Soxhlet

Penggunaan soxhlet yang dipanaskan dengan sirkulasi pelarut memberikan manfaat pengawetan sampel. Melalui pembasahan sampel secara konstan melalui aliran pelarut, teknik ini menjaga integritas sampel. Sirkulasi pelarut yang diaktifkan oleh desain soxhlet ini memungkinkan aplikasi panas tanpa degradasi termal analit yang rentan. Pendekatan inovatif ini memanfaatkan gerakan pelarut untuk melindungi komposisi sampel selama analisis yang dipanaskan (Mukhriani, 2014).

2.4.4 Refluks

Refluks merupakan proses di mana pelarut yang digunakan suhu titik didihnya dengan jangka waktu tertentu dalam jumlah pelarut tetap. Pendinginan balik diterapkan untuk mempertahankan suhu titik didih yang konsisten dengan adanya ekstraksi pelarut (Rezeki *et al.*, 2017).

2.4.5 Digesti

Digesti adalah proses kinetik yang melibatkan pengadukan dan penguraian bahan pada suhu lebih tinggi dari suhu ruang umumnya dilakukan di kisaran 40-50°C (Rezeki *et al.*, 2017).

2.4.6 Infundasi

Infundasi adalah proses yang umum digunakan untuk mengekstrak komponen aktif, larut dalam air dan merupakan bahan

tumbuhan. Proses ini dilakukan selama 15 menit pada suhu 90°C (Rezeki *et al.*, 2017).

2.4.7 Dekok

Dekok adalah jenis infus yang melibatkan ekstraksi bahan tanaman dalam air pada suhu lebih tinggi dengan durasi cukup lama dibandingkan infus tradisional. Bahan tanaman direndam dalam air mendidih dan kemudian dididihkan pada suhu antara 90-100 °C selama kurang lebih 30 menit (Rezeki *et al.*, 2017).

2.5 Metode Pengujian Antijamur

2.5.1 Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram menyediakan cara mudah untuk menilai aktivitas antimikroba secara menyeluruh. Teknik ini melibatkan penentuan apakah area yang jernih terbentuk di sekitar cakram, yang menandakan tidak adanya pertumbuhan jamur dan dengan demikian menunjukkan kemampuan sampel untuk menghambat proliferasi mikroba. Diameter zona penghambatan yang dihasilkan dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti tingkat difusi yang berbeda-beda dari zat yang berbeda melalui medium serta perbedaan dalam bagaimana mikroba merespon senyawa yang diuji. Secara khusus, bahan kimia yang berdifusi lebih cepat dan penghambatan mikroba yang lebih kuat akan menghasilkan jari-jari yang lebih besar. Secara keseluruhan, uji difusi cakram menawarkan pendekatan yang efektif untuk memastikan apakah sampel yang dianalisis memberikan efek antijamur. Keuntungan difusi cakram diantaranya pengujiannya cepat, biaya relatif murah, mudah, dan tidak memerlukan keahlian khusus. Untuk kelemahannya sendiri yaitu sulit untuk diaplikasikan pada mikroorganisme yang perkembangannya lambat (Fajrina *et al.*, 2020).

2.5.2 Metode Difusi Sumur

Metode difusi sumur melibatkan pembuatan lubang-lubang pada lempeng agar yang sudah diinokulasi menggunakan bakteri uji. Letak dan jumlah lubang dapat disesuaikan menurut tujuan penelitian, setelah itu sampel yang akan di uji dimasukkan ke dalam lubang. Kemudian

setelah diinkubasi, diamati pertumbuhan bakteri untuk menentukan apakah terdapat area penghambatan pada daerah sekitar lubang. Membuat sumur menghadirkan beberapa tantangan, seperti potensi residu pada media agar yang akan digunakan untuk membentuk sumur. Ada juga kemungkinan besar media agar retak bahkan pecah dibagian sekitar lokasi sumur, dapat mengganggu penyerapan antibiotik ke dalam medium serta mempengaruhi pembentukan zona bening selama pengujian sensitivitas (Nurhayati *et al.*, 2020).

2.5.3 Metode Dilusi Tabung

Metode dilusi merupakan teknik yang digunakan untuk mendapati potensi suatu senyawa terkait fungsi mikroba menggunakan cara menghitung Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KMB). Metode dilusi memiliki prinsip kerja yang melibatkan pengenceran pada larutan antijamur secara berurutan terhadap media pengembangan jamur, mulai dari konsentrasi rendah ke tinggi. Selanjutnya, pertumbuhan jamur diinokulasi dengan sampel yang akan dilakukan pengujian dalam jumlah yang tetap.

Metode dilusi berfungsi untuk memperoleh data Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) obat antimikroba. Metode dilusi ini merupakan serangkaian tabung reaksi yang berisi media cair dan sel jamur yang akan diuji. KHM obat ditunjukkan oleh konsentrasi terendah antijamur dalam tabung di mana kultur tampak jernih, menandakan penghambatan pertumbuhan mikroba. KBM obat terhadap jamur uji adalah konsentrasi terendah di mana tidak ada koloni mikroba yang terbentuk pada media kultur padat (Fitriana *et al.*, 2020).

2.6 Tinjauan Pelarut Etil Asetat

Etil asetat ($C_4H_8O_2$) adalah suatu bahan kimia organik berbentuk cair, mudah menguap dengan bau seperti buah, wangi, tidak berwarna, sedikit asam, serta merupakan senyawa kimia yang mudah terbakar. Pelarut Etil asetat memiliki sinonim, yaitu asetat eter, asetoksietana, ester asetat, asam asetat etil ester, dan etil etanoat. Sedangkan dalam sediaan farmasi, etil asetat digunakan

sebagai pelarut. Menurut (Muthia *et al.*, 2018) pelarut etil asetat ialah pelarut semi polar yang dapat menarik senyawa seperti fenol yaitu flavonoid. Pelarut etil asetat menyediakan cara yang efektif untuk ekstraksi karena kemampuannya untuk menguap dengan mudah, tidak memiliki sifat higroskopis. Pada pelarut etil asetat toksisitasnya yang rendah, dan sifatnya yang semi polar yang memungkinkan untuk mengekstrak senyawa polar dan non polar. Selain itu, toksisitas etil asetat yang rendah, kurangnya higroskopisitas, dan penguapan yang mudah membuatnya cocok untuk aplikasi ekstraksi. Larutan ini sangat cocok untuk aplikasi yang melibatkan pemisahan dan isolasi senyawa. Etil asetat menunjukkan sifat-sifat yang menjadikannya pilihan yang menguntungkan untuk tujuan ekstraksi.

2.7 Tinjauan Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah teknik pemisahan yang menggunakan lapisan tipis yang seragam sebagai fase diam (Karima *et al.*, 2019). Langkah-langkah utama dalam proses analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dimulai dengan mengaplikasikan sampel sebagai zona awal. Pada salah satu ujung fase diam, yang biasanya berupa lapisan tipis yang dilapisi pada plat pendukung. Sampel kemudian dikeringkan. Ujung fase diam yang berisi zona sampel awal dicelupkan ke dalam ruang pengembangan yang berisi fase gerak, yang dapat berupa pelarut tunggal atau campuran dua hingga empat pelarut murni. Jika fase diam dan fase gerak dipilih dengan benar, masing-masing komponen dalam campuran sampel akan bermigrasi di sepanjang fase diam dengan kecepatan yang berbeda saat fase gerak bergerak ke atas. Pemisahan komponen sampel ini dikenal sebagai pengembangan kromatogram. Setelah fase gerak menempuh jarak yang diinginkan, biasanya ditentukan oleh garis referensi, fase diam dikeluarkan dari ruang pengembangan. Fase gerak yang terperangkap di dalam lapisan kemudian dikeringkan, sehingga analit yang terpisah terlihat sebagai zona diskrit yang dapat dideteksi secara langsung dengan mata telanjang di bawah sinar normal atau ultraviolet, dengan atau tanpa penambahan zat visualisasi yang sesuai (Wulandari, 2011).

Identifikasi senyawa awal melalui kromatografi lapis tipis pada perbandingan nilai R_f yang diamati dengan standar yang diketahui. Namun, nilai R_f dapat bervariasi antar laboratorium dan bahkan dalam laboratorium yang sama dari waktu ke waktu. Oleh karena itu, adalah bijaksana untuk mempertimbangkan nilai R_f relatif ketika mengidentifikasi senyawa, di mana R_f sampel uji dibandingkan dengan sampel lain yang dijalankan secara bersamaan di atas lempeng yang sama. Faktor-faktor yang mempengaruhi nilai R_f termasuk dimensi dan bahan ruang pengembangan, karakteristik plat kromatografi seperti ukuran dan bahan, arah aliran fase gerak, volume, kondisi kesetimbangan, kelembaban, dan teknik preparasi sampel sebelumnya. Konfirmasi identifikasi senyawa dapat diperoleh dengan mengikis tempat sampel yang divisualisasikan dari pelat dan kemudian mengeluarkan dan menganalisis bahan yang dikumpulkan menggunakan metode spektrometri seperti spektrometri inframerah, spektrometri resonansi magnetik, spektrometri massa, atau teknik lain, asalkan bahan yang cukup tersedia untuk analisis. Pertimbangan yang cermat terhadap parameter eksperimental dan penggunaan perbandingan relatif dapat membantu menjelaskan variabilitas nilai R_f dan mendukung identifikasi senyawa yang dapat diandalkan dengan kromatografi lapis tipis (Wulandari, 2011).

Penentuan (R_f) analit melibatkan perbandingan jarak migrasi noda analit dengan jarak migrasi fase gerak atau eluen. Faktor R_f dihitung sebagai rasio dari kedua jarak. Nilai R_f memberikan informasi tentang distribusi analit antara fase diam dan fase gerak dalam kromatografi. Membandingkan R_f analit dengan nilai literatur dapat membantu dalam identifikasi. Menentukan R_f adalah praktik umum dalam teknik analitik seperti kromatografi lapis tipis yang memungkinkan pemisahan, identifikasi, dan kuantifikasi senyawa dalam campuran.

$$R_f = \frac{\text{Jarak migrasi analit}}{\text{Jarak migrasi eluen}} = \frac{Z_s}{Z_f}$$