

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kratom

2.1.1 Deskripsi

Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) merupakan salah satu tanaman endemik di Asia Tenggara seperti Thailand, Malaysia dan Indonesia yang telah digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. Kandungan utama dari daun kratom ini adalah alkaloid indol, yaitu mitraginin (66,2 %) dan 7-hidroksimitraginin bekerja pada ujung saraf dan menghambat pelepasan neurotransmitter selain alkaloid ada juga terdapat flavonoid, saponin, dan derivat glikosida juga terdapat pada daun kratom (Novindriana *et al.*, 2013).

Kratom adalah pohon hutan yang tumbuh hingga ketinggian 10-25 meter. Daun berbentuk bulat panjang , 8,5-14 cm panjang, 5-10 cm lebar, lebih kecil di ujung branchlets,menunjuk ujung,bulat atau agak berbentuk hati didasar, dan berbulu pada saraf bawah. Petioles yang 2-4cm panjang. Bunga bewarna kuning , ramai di putaran,berbungaan terminal 3-5 cm panjang, kepala berbunga yang terdiri dari hingga 120 kuntum setiap kelopak tabung pendek dan berbentuk cangkir dengan lobus bulat, tabung corolla adalah 5 mm panjang, mulus tanpa berbulu di dalam, lobus 3 mm panjang, halus dan revolute di margin. Buah adalah lonjong bulat telur dan panjang 5-7 mm, dengan 10 pegunungan

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.)

Tanaman Kratom dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Genus : *Mitragyna*
Famili : *Rubiaceae*
SubFamili : *Cinchonoideae*

Tribe : Naucleaeae
(NPGS, 2012)

2.1.3 Habitat

Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) merupakan salah satu tanaman endemik di Asia Tenggara seperti Thailand, Malaysia dan Indonesia. (Novindriana *et al.*, 2013).



Gambar 2.1 Daun Kratom

2.1.4 Khasiat dan Kandungan Kimia

Beberapa khasiat daun kratom bagi kesehatan adalah mengatasi kecanduan narkoba, mengatasi diare, meningkatkan daya tahan tubuh, menurunkan tekanan darah tinggi, meningkatkan energy, mengatasi depresi, mengontrol kadar gula darah . Daun kratom dan manfaatnya untuk kesehatan (La'store, 2013). Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) merupakan salah satu tanaman endemik di Asia Tenggara seperti Thailand, Malaysia dan Indonesia yang telah digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. Kandungan utama dari daun kratom ini adalah alkaloid indol, yaitu mitraginin (66,2 %) dan 7-hidroksimitraginin bekerja pada ujung saraf dan menghambat pelepasan neurotransmitter selain alkaloid ada juga terdapat flavonoid, saponin, dan derivet glikosida juga terdapat pada daun kratom (Novindriana *dkk.*, 2013).

2.2 Senyawa Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa metabolik sekunder yang memiliki struktur inti C6-C3-C6 yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan 3 atom C, biasanya dengan ikatan atom O yang berupa ikatan oksigen heterosiklik. Senyawa ini dapat dimasukkan sebagai senyawa polifenol karena mengandung dua atau lebih gugus hidroksil, bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Umumnya flavonoid ditemukan berikatan dengan gula membentuk glikosida yang menyebabkan senyawa ini lebih mudah larut dalam pelarut polar, seperti metanol, etanol, butanol, etil asetat. Bentuk glikosida memiliki warna yang lebih pucat dibandingkan bentuk aglikon. Dalam bentuk aglikon, sifatnya kurang polar, cenderung lebih mudah larut dalam pelarut kloroform dan eter (Hanani, 2015).

Senyawa flavonoid tersebar luas pada divisi Angiospermae dalam bentuk berbagai jenis flavonoid seperti flavon, isoflavon, auron, flavonon, atau kalkon. Pada divisi prokariota jarang ditemukan adanya flavonoid, sedangkan pada divisi Angiospermae, penyebaran flavonoid cukup luas. Flavonoid juga tersebar pada jenis paku-pakuan, lumut, dan Gymnospermae. Senyawa flavonoid hampir tersebar pada semua bagian tumbuhan baik pada akar, daun, kulit kayu, bunga, buah, ataupun biji (Hanani, 2015).

2.2.1 Klasifikasi Senyawa Flavonoid

Menurut Robinson (1995), flavonoid dapat dikelompokkan berdasarkan keragaman pada rantai C3 yaitu:

2.2.1.1 Flavonol

Flavonol paling sering terdapat sebagai glikosida, biasanya 3-glikosida, dan aglikon flavonol yang umum yaitu kamfenol, kuersetin, dan mirisetin yang berkhasiat sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Flavonol lain yang terdapat di alam bebas kebanyakan merupakan variasi struktur sederhana dari flavonol. Larutan flavonol dalam suasana basa dioksidasi

oleh udara tetapi tidak begitu cepat sehingga penggunaan basa pada pengerjaanya masih dapat dilakukan.

2.2.1.2 Flavon

Flavon berbeda dengan flavonol dimana pada flavon tidak terdapat gugus 3-hidroksi. Hal ini mempunyai serapan UV-nya gerakan kromatografi, serta reaksi warnanya. Flavon terdapat juga sebagai glikosidanya lebih sedikit daripada jenis glikosida pada flavonol. Flavon yang paling umum dijumpai adalah apigenin dan luteolin merupakan zat warna yang pertama kali dipakai di Eropa. Jenis yang paling umum adalah 7-glukosida dan terdapat juga flavon yang terikat pada gula melalui ikatan karbon-karbon. Contohnya luteolin 8-C-glikosida. Flavon dianggap sebagai induk dalam nomenklatur kelompok senyawa flavonoida. Flavon berkhasiat sebagai antioksidan, anti mikroba, dan anti inflamasi.

2.2.1.3 Isoflavon

Isoflavon merupakan isomer flavon, tetapi jumlahnya sangat sedikit dan sebagai fitoaleksin yaitu senyawa pelindung yang terbentuk dalam tumbuhan sebagai pertahanan terhadap serangan penyakit. Isoflavon sukar dicikan karena reaksinya tidak khas dengan pereaksi warna manapun. Beberapa isoflavon (misalnya daidzein) memberikan warna biru muda cemerlang dengan sinar UV bila diuapi ammonia, tetapi kebanyakan yang lain tampak sebagai bercak lembayung yang pudar dengan ammonia berubah menjadi coklat. Isoflavon berkhasiat untuk mencegah penyakit tulang dan mencegah kanker.

2.2.1.4 Flavonon

Flavonon terdistribusi luas di alam. Flavonon glikosida merupakan konstituen utama dari tanaman genus prenu dan buah jeruk, dua glikosida yang paling lazim adalah neringenin dan hesperitin, terdapat dalam buah anggur dan jeruk. Flavonon berkhasiat sebagai anti kanker.

2.2.1.5 Flavanonol

Senyawa ini berkhasiat sebagai antioksidan dan hanya terdapat sedikit sekali jika dibandingkan dengan flavonoid lain. Sebagian besar senyawa ini diabaikan karena konsentrasinya rendah dan tidak berwarna. Katekin terdapat pada seluruh dunia tumbuhan, terutama pada tumbuhan berkayu. Senyawa ini mudah diperoleh dalam jumlah besar dari ekstrak kental *Uncaria gambir* dan daun the kering yang mengandung kira-kira 30% senyawa ini. Katekin berkhasiat sebagai antioksidan.

2.2.2 Sifat Flavonoid

2.2.2.1 Sifat Fisika dan Kimia Senyawa Flavonoid

Aglikon flavonoid adalah polifenol dan karena itu mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih, atau suatu gula, flavonoid merupakan senyawa polar. Maka umumnya flavonoid cukup larut dalam 11 pelarut polar seperti etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH), aseton, dimetilsulfoksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), air, dan lain-lain. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, dan flavon serta flavonol yang

termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air. Mereka dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau ammonia, jadi mereka mudah di deteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Harborne, 1987).

Sifat-sifat kimia dari senyawa fenol adalah sama, akan tetapi dari segi biogenetic senyawa senyawa ini dapat dibedakan atas dua jenis utama, yaitu:

1. Senyawa fenol yang berasal dari asam shikimat atau jalur shikimat.
2. Senyawa fenol yang berasal dari jalur asetat-malonat.

2.2.2.2 Sifat Kelarutan Flavonoid

Aglikon flavonoid adalah polifenol dan karena itu mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa, tetapi bila dibiarkan dalam larutan basa dan di samping itu terdapat oksigen, banyak yang akan terurai. Karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih, atau suatu gula, flavonoid merupakan senyawa polar, maka umumnya flavonoid cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, aseton, air, dimetil-sulfoksida, dimetilformamida, butanol, dll (Markham, 1998).

2.3 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu cara untuk menarik suatu atau lebih zat dari bahan asal dengan menggunakan pelarut (Syamsuni, 2006). Dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain (Depkes, 2000). Tujuan utama ekstraksi ini adalah untuk mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan (Syamsuni, 2006).

Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan beberapa cara (Depkes, 2000). yaitu:

2.3.1 Maserasi

Maserasi berasal dari kata "*macerare*" artinya melunakkan. Maserat adalah hasil penarikan simplisia dengan cara maserasi, sedangkan maserasi adalah penarikan cara penarikan simplisia dengan merendam simplisia tersebut dalam cairan penyari (Syamsuni, 2006).

Penyarian zat-zat berkhasiat dari simplisia, baik simplisia dengan zat khasiat yang tidak tahan pemanasan. Sampel biasanya direndam selama 3-5 hari, sambil diaduk sesekali untuk mempercepat proses pelarutan komponen kimia yang terdapat dalam sampel. Maserasi dilakukan dalam botol yang berwarna gelap dan ditempatkan pada tempat yang terlindung cahaya. Ekstraksi dilakukan berulang-ulang kali sehingga sampel terekstraksi secara sempurna yang ditandai dengan pelarut pada sampel berwarna bening (Depkes, 2000).

Keuntungan dari metode ini :

1. Unit alat yang dipakai sederhana, hanya dibutuhkan bejana perendam
2. Biaya operasionalnya relatif rendah
3. Prosesnya relatif hemat penyari
4. Tanpa pemanasan

Kelemahan dari metode ini :

1. Proses penyariannya tidak sempurna, karena zat aktif hanya mampu terekstraksi sebesar 50% saja
2. Prosesnya lama, butuh waktu beberapa hari

2.3.2 Modifikasi Metode Maserasi

Maserasi dapat dilakukan modifikasi misalnya :

1. Digesti

Digesti adalah cara maserasi dengan menggunakan pemanasan lemah, yaitu pada suhu 400-500°C. Cara maserasi ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan.

2. Maserasi dengan Mesin Pengaduk

Penggunaan mesin pengaduk yang berputar terus-menerus, waktu proses maserasi dapat dipersingkat menjadi 6 sampai 24 jam.

3. Remaserasi

Cairan penyari dibagi menjadi seluruh serbuk simplisia di maserasi dengan cairan penyari pertama, sesudah diendapkan, tuangkan dan diperas, ampas dimaserasi lagi dengan cairan penyari yang kedua.

4. Maserasi Melingkar

Maserasi dapat diperbaiki dengan mengusahakan agar cairan penyari selalu bergerak dan menyebar. Dengan cara ini penyari selalu mengalir kembali secara berkesinambungan melalui serbuk simplisia dan melarutkan zat aktifnya.

5. Maserasi Melingkar Bertingkat

Pada maserasi melingkar, penyarian tidak dapat dilaksanakan secara sempurna, karena pemindahan massa akan berhenti bila keseimbangan telah terjadi masalah ini dapat diatasi dengan maserasi melingkar bertingkat (M.M.B).

2.4 Kromatografi

2.4.1 Definisi Kromatografi

Kromatografi merupakan teknik analisis yang paling sering digunakan dalam analisis sediaan farmasetik. Kromatografi menyangkut dua hal: metode pemisahan dan metode penentuan kualitatif dan kuantitatif (Gandjar & Rohman, 2009).

Kromatografi merupakan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri atas dua fase atau lebih. Salah satu fase bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan di dalamnya, zat-zat terlarut menunjukkan perbedaan mobilitas yang disebabkan oleh perbedaan adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul, atau kerapatan muatan ion. Dengan demikian, masing-masing zat dapat diidentifikasi atau ditetapkan dengan metode analitik (Harmita, 2014).

2.4.2 Sejarah Kromatografi

Istilah kromatografi sekarang meliputi beberapa teknik pemisahan yang didasarkan atas partisi sampel di antara fase gerak (zat cair atau gas) dan fase diam (zat cair atau zat padat). Pada tahun 1903, Tswett (Rusia) menemukan teknik kromatografi dengan memisahkan klorofil dari daun dengan kolom yang terbuat dari kapur. Penemuan Tswett dipublikasikan pada tahun 1906. Pada tahun 1938, Izmailov dan Shraiber meletakkan dasar-dasar kromatografi lapis tipis (KLT/TLC). Dasar-dasar ini kemudian dikembangkan oleh Stahl pada tahun 1958. Di tahun 1941, Martin dan Sygne menerima hadiah nobel atas penemuan "*liquid partition chromatography*". Hal ini selanjutnya menstimulasi perkembangan kromatografi cair (*liquid chromatography*), kromatografi kertas (*paper chromatography*), dan kromatografi gas (*gas chromatography*).

2.4.3 Jenis- jenis Kromatografi

Penggolongan kromatografi berdasarkan fase gerak yang digunakan adalah sebagai berikut.

2.4.3.1 Kromatografi Gas

- a. KGC (Kromatografi Gas-Cair)
- b. KGP (Kromatografi Gas Padat)

1.4.3.2 Kromatografi Cair

- a. KCKT (Kromatografi Cair-Kinrja-Tinggi)
- b. KCC-KK (Kromatografi Cair-Cair-Kromatografi Kertas)
- c. KCP-KLT,kolom (Kromatografi Cair-Padat-Kromatografi Lapis Tipis)
- d. Penukar ion
- e. Pemisahan berdasarkan ukuran molekul (Eksklusi):
 1. PG (Permeasi Gel)
 2. FG (Filtrasi Gel)

(Harmita, 2014).

2.4.4 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) dikembangkan oleh Izmailoff dan Schraiber pada tahun 1983. KLT merupakan bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas dan elektroforesis. Berbeda dengan kromatografi kolom yang mana fase diamnya diisikan atau dikemas di dalamnya, pada kromatografi lapis tipis, fase diamnya berupa lapisan yang seragam (*uniform*) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik. Meskipun demikian, kromatografi planar ini dapat dikatakan sebagai bentuk terbuka dari kromatografi kolom.

Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara menaik (*ascending*), atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*).

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensinya dan resolusinya.

Penjerap yang paling sering digunakan adalah silika dan serbuk selulosa, sementara mekanisme sorpsi yang utama pada KLT adalah partisi dan adsorbansi. Lapisan tipis yang digunakan sebagai penjerap juga dapat dibuat dari silika yang telah dimodifikasi, resin penukar ion, gel eksklusi, dan siklodekstrin yang digunakan untuk pemisahan kiral. Beberapa penjerap KLT serupa dengan penjerap yang digunakan pada KCKT. Kebanyakan penjerap dikontrol keadaan ukuran partikel dan luas permukaannya (Gandjar & Rohman, 2007).

Kromatografi Lapis Tipis digunakan untuk tujuan sebagai berikut:

1. Untuk memeriksa komposisi campuran secara cepat.
2. Untuk menentukan kondisi percobaan kromatografi kolom.
3. Untuk mengetahui kesempurnaan suatu reaksi.
4. Untuk mengidentifikasi obat, ekstrak tanaman, preparat biokimia.
5. Untuk mendeteksi kontaminan, pemalsuan, dan lain-lain

(Harmita, 2014).

Keuntungan KLT dibanding dengan kromatografi lain

1. KLT memberikan fleksibilitas yang lebih besar dalam hal memilih fase gerak.
2. Berbagai macam teknik untuk optimal pemisahan seperti pengembangan 2 dimensi, pengembangan bertingkat, dan pembacaman penyerap dapat dilakukan pada KLT.
3. Proses Kromatografi dapat diikuti dengan mudah dan dapat dihentikan kapan saja.
4. Semua komponen dalam sampel dapat dideteksi.

2.4.5 Fase Diam

Fase Diam yang paling sering digunakan pada KLT adalah silika gel dan serbuk selulosa, sementara mekanisme sorpsidesorpsi (suatu mekanisme perpindahan solute dari fase diam ke fase gerak atau sebaliknya) yang utama pada KLT adalah partisi dan adsorbs. Lapisan tipis yang digunakan sebagai fase diam juga dapat dibuat dari silika yang telah dimodifikasi, resin penukar ion, gel eksklusi, dan siklodekstrin yang digunakan untuk pemisahan kiral. Kebanyakan fase diam dikontrol ukuran partikel dan luas permukaannya (Gandjar & Rohman, 2009).

2.4.6 Fase Gerak

Pemilihan fase gerak sering dilakukan dengan coba-coba karena waktunya yang sebentar. Sistem yang paling sederhana ialah campuran dua pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat berlangsung secara optimal (Gandjar & Rohman, 2013).

Berikut adalah beberapa petunjuk dalam memilih dan mengoptimasi fase gerak:

1. Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif.
2. Daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f solut terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan.
3. Untuk pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut yang berarti juga menentukan nilai R_f . Penambahan pelarut yang bersifat polar seperti dietil eter ke dalam pelarut non polar seperti metil benzene akan meningkatkan harga R_f secara signifikan (Gandjar & Rohman, 2009).

2.4.7 Teknik pengembangan

Ada beberapa teknik pengembangan pada KLT yang akan diuraikan dibawah ini:

1. Konvensional

Pengembangan pelarut biasanya dilakukan dengan cara menaik (*ascending*), yang mana ujung bawah lempeng dicelupkan kedalam pelarut pengembangan. Untuk menghasilkan reproduibilitas kromatografi yang baik, wadah fase gerak (*chamber*) harus dijenuhkan dengan uap fase gerak.

Jarak pengembangan fase gerak biasanya kurang lebih 10-15cm, akan tetapi beberapa ahli kromatografi memilih mengembangkan lempeng pakai jarak 15-20cm.

2. Pengembangan 2 Dimensi

KLT 2 arah atau 2 dimensi ini bertujuan untuk meningkatkan resolusi sampel ketika komponen-komponen solut mempunyai karakteristik kimia yang hampir sama, karenanya nilai R_f juga

hampir sama, sebagaimana dalam sampel asam-asam amino. Selain itu 2 sistem fase gerak yang sangat berbeda dapat digunakan secara berurutan pada suatu campuran tertentu sehingga memungkinkan untuk melakukan pemisahan analit yang mempunyai tingkat polaritas yang hampir sama.

KLT 2 dimensi dilakukan dengan melakukan penotolan sampel di salah satu sudut lapisan lempeng tipis dan mengembangkannya sebagaimana biasa dengan eluen pertama. Lempeng kromatografi selanjutnya dipindahkan dari *chamber* pengembang dan eluen dibiarkan menguap dari lempeng. Selanjutnya, lempeng dimasukkan dalam *chamber* yang menggunakan eluen kedua sehingga pengembangan dapat terjadi pada arah kedua yang tegak lurus dengan arah pengembangan yang pertama. Suksesnya pemisahan tergantung pada kemampuan untuk memodifikasi selektifitas eluen kedua dibandingkan dengan selektifitas eluen pertama.

3. Pengembangan Kontinyu

Pengembangan kontinyu (pengembangan terus menerus) dilakukan dengan cara mengalirkan fase gerak secara terus-menerus pada lempeng KLT melalui suatu wadah (biasanya alas tangki) melalui suatu lapisan, dan dibuang dengan cara tertentu pada ujung lapisan.

4. Pengembangan Gradien

Pengembangan ini dilakukan dengan menggunakan komposisi fase gerak yang berbeda-beda. Lempeng yang berisi analit dapat dimasukkan kedalam bejana kromatografi yang berisi fase gerak tertentu lalu komponen fase gerak selanjutnya ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam bejana dan diaduk sampai homogen.

Tujuan utama sistem ini adalah untuk mengubah polaritas fase gerak. Meskipun demikian untuk memperoleh komposisi fase gerak yang reproduibel sangatlah sulit sehingga teknik kromaografi ini kurang begitu populer.

2.4.8 Pemisahan Kromatografi Lapis Tipis

Pemisahan kromatografi planar ini pada umumnya dihentikan sebelum semua fase gerak melewati seluruh permukaan fase diam. Solut pada kedua kromatografi ini dikarakterisasi dengan jarak migrasi solut terhadap jarak ujung fase geraknya. Faktor retardasi solut (R_f) didefinisikan sebagai berikut:

$$R_f = \frac{1}{1 + K}$$

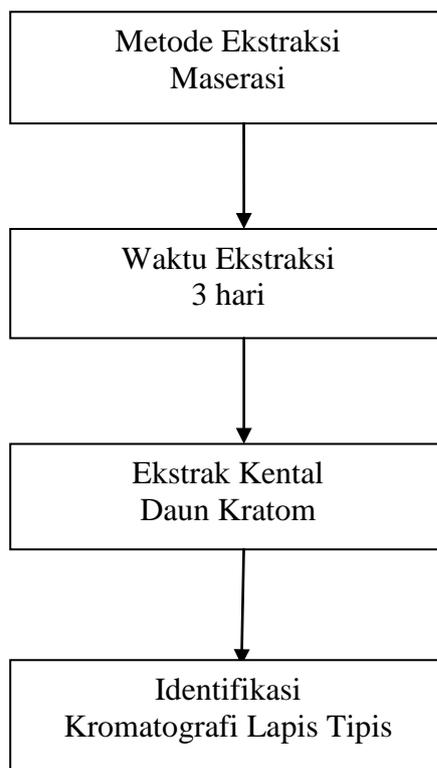
Nilai R_f dihitung dengan menggunakan perbandingan, seperti berikut ini:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Nilai maksimum R_f adalah 1 dan ini dicapai ketika solut mempunyai perbandingan distribusi (D) dan faktor resensi (k') sama dengan 0 yang berarti solut bermigrasi dengan kecepatan yang sama dengan fase gerak. Nilai minimum R_f adalah 0 dan ini teramati jika solut tertahan pada posisi titik awal dipermukaan fase diam (Ganjar & Rohman, 2010).

2.5 Kerangka Konsep

Kerangka konsep adalah abstraksi yang terbentuk oleh generalisasi dari hal khusus. Konsep hanya dapat diamati atau diukur melalui konstruktor atau yang lebih dikenal dengan nama variable (Notoadmodjo, 2005).



Gambar 2.2 Kerangka Konsep