

**METODE KLT-DENSITOMETRI SEBAGAI PENETAPAN KADAR BAHAN
AKTIF SEDIAAN FARMASI**

Asri Savitri, Sandra Megantara

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung- Sumedang Km 21 Jatinangor

45363 Telp./Fax. (022) 779 6200

Email: asrisavitri21@gmail.com

Diserahkan 30/06/2019, diterima 01/08/2019

ABSTRAK

Penentuan kadar suatu kandungan senyawa obat digunakan untuk mengetahui banyaknya obat yang dapat terabsoebsi sehingga menimbulkan efek terapi. Dalam penetapan kadar bahan aktif sering menggunakan metode KLT-Densitometri. Metode Densitometri memiliki kelebihan yaitu spesifikasi yang tinggi, hasil yang didapatkan dapat dipercaya, dapat dilakukan dengan mudah serta cepat, fase gerak yang dipilih dapat menghasilkan pleksibilitas besar, optimasi pemisahan dapat dilakukan dengan beragam teknik. Dengan metode KLT-Densitometri akan divalidasi sehingga memperoleh hasil yang dapat dipertanggungjawabkan cukup valid jika semua factor telah terpenuhi.

Kata Kunci: Penetapan kadar, Validasi, KLT-Densitometri

ABSTRACT

Determination of the level of a drug composition is used to determine the number of drugs that can cause therapeutic effects. In determining the level of active ingredients often use the TLC-Densitometry method. Densitometry method has advantages that are high specifications, the results obtained can be trusted, can be done easily and quickly, mobile phase that can produce large flexibility, optimization can be done with a variety of techniques. With the TLC-Densitometry method it will be validated so that the results that can be accounted for are valid enough if all the factors have been fulfilled.

Keywords: Level determination, Validation, TLC-Densitometr

PENDAHULUAN

Kadar suatu obat dalam sediaan farmasi menunjukkan bahwa banyaknya obat yang terabsorpsi dalam tubuh sehingga menimbulkan efek terapi (Muttaqin, et al., 2016). Metode yang banyak digunakan untuk penetapan kadar bahan aktif adalah KLT-Densitometri (Sugihartini, et al., 2012).

Untuk analisis maupun control kualitas dilaboratorium banyak menggunakan Kromatografi lapis tipis. Hal ini karena mudah dilakukan, reagen yang digunakan sensitive dan selektif. Untuk penetapan kadar dapat menggunakan kombinasi KLT dan Densitometri (KLT-Densitometri). Apabila dibandingkan dengan KCKT, KLT fase gerak yang digunakan tidak ada batasan, sampel suspensi atau keruh dapat ditetapkan kadarnya secara langsung, cepat, ekonomis, dan memungkinkan terjadi secara simultan (Yuangsoi, et al., 2008).

Metode Densitometri memiliki kelebihan yaitu spesifikasi yang tinggi, hasil yang didapatkan dipercaya, dapat dilakukan dengan mudah serta cepat,

pemilihan fase gerak akan memberikan fleksibilitas yang besar, dalam melakukan optimasi pemisahan dapat dilakukan dengan berbagai macam teknik, biaya yang dikeluarkan dalam pengoperasian relative murah salah satunya karena pelarut yang digunakan sedikit dan silica gel sebagai fase diam dapat di daur ulang, serta mengubah polaritas pelarut dengan pelarut campuran dapat dilakukan dalam waktu singkat. Setelah dibandingkan antara metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan metode KLT, metode KLT lebih mudah serta murah dalam pelaksanaannya, dan sederhana penggunaan peralatannya. Serta pada proses deteksi bersifat lebih statis jika menggunakan KLT sedangkan bersifat dinamis dengan menggunakan KCKT. (Abdul, 2009)

Untuk menambah data ilmiah pada penelitian perlu dilakukan dengan metode KLT- densitometri sehingga peran ekstrak yang dapat dijadikan sebagai obat pelengkap atau komplementer dan sebagai obat alternatif untuk mencegah dan mengobati dapat ditingkatkan menjadi maksimal serta pertanggungjawaban

penggunaannya menjadi lebih di masyarakat (Syarif, et al., 2015).

Dengan metode KLT-Densitometri memberikan ketelitian, linieritas, serta ketepatan untuk memenuhi persyaratan dan nilai LOD (Limit of Detection) dan LOQ (Limit of Quantitation) dapat diketahui (Sugihartini dkk, 2012). Validasi dilakukan pada suatu metode analisa untuk memberikan data yang valid dengan parameter LOD, LOQ, linearitas, ketelitian dan ketepatan. Dilakukan evaluasi pada parameter tersebut untuk mendapatkan data yang dapat masuk kedalam kemampuan alat yang digunakan untuk mendeteksi sehingga diperoleh hasil yang mendekati sebenarnya dan akan memberikan data yang sama jika dilakukan pengulangan. Hasil yang diperoleh dapat dipertanggungjawabkan cukup valid jika semua faktor telah terpenuhi. Metode analisa yang telah valid dapat digunakan untuk beragam keperluan contohnya penetapan kadar Epigalokatekin galat (EGCG) yang terkandung pada ekstrak teh hijau (Sugihartini, et al., 2012).

KLT-Densitometri adalah salah satu metode yang cocok digunakan untuk

kontrol kualitas botani ekstrak karena akuisisi data yang cepat, sederhana, dan dapat diandalkan (E Bodoki, et al., 2005)

Pada penelitian (Boonyadist, et al., 2013), dilakukan pengembangan dan validasi metode KLT-Densitometri untuk analisis kualitatif terhadap sampel ekstrak *Moringa oleifera* yang didapat dari berbagai lokasi yang berbeda karena sebelumnya telah dilaporkan bahwa dalam ekstrak daun *Moringa oleifera* mengandung isoquercetin, astragalin dan asam kriptoklorogenik. Selain itu, metode ini dapat digunakan untuk kontrol kualitas bahan, ekstrak, dan produk jadi yang mengandung senyawa ini dalam produk kacang organik komersial dan farmasi.

Pengembangan dan validasi metode analitik memungkinkan untuk menentukan empat amina biogenic utama dari anggur (misalnya histamine, tiamin, putresin, dan kadaverin) melalui KLT- Densitometri (Romano, et al., 2012).

Pada penelitian (Bui, et al., 2018), metode ini dapat digunakan untuk menentukan perubahan prion yang diinduksi dalam kandungan lipid dalam

ragi. KLT Densitometri dapat digunakan untuk menetapkan kadar flavonoid total sambiloto terhadap pengaruh beberapa metode pengeringan (Utomo, et al., 2009).

Tujuan pengeringan pada simplisia adalah agar simplisia tidak mudah rusak dan tahan dalam penyimpanan. Sisa air dalam simplisia akan memicu pertumbuhan kapang serta pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Metode pengeringan yang dilakukan dapat terbagi menjadi pengeringan alamiah dengan sinar matahari, baik yang dikeringkan secara langsung maupun pengeringan yang tidak langsung dan pengeringan buatan menggunakan oven atau lemari pengering (Departemen Kesehatan RI, 1985)

Tujuan penulisan artikel ini adalah mengetahui kegunaan KLT-Densitometri dalam menetapkan kadar senyawa aktif baik yang berasal dari bahan alam maupun yang senyawa aktif sintetis serta mengetahui kelebihan penggunaan KLT-Densitometri dalam penetapan kadar.

METODE

Strategi Pencarian

Strategi pencarian data yang dijadikan sumber acuan pada *review article* ini yaitu dengan mencari melalui internet menggunakan *browser Mozilla firefox* pada situs *google.com*. Kata kunci yang digunakan adalah “Penetapan Kadar dengan Menggunakan KLT-Densitometri” dan “TLC Densitometry Method” sehingga diperoleh artikel dalam bentuk pdf.

Kriteria seleksi data (eksklusi dan inklusi)

Dari beberapa sumber jurnal yang telah ditemukan kemudian dilakukan skrining berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi adalah Penetapan kadar dengan menggunakan Metode KLT-Densitometri sedangkan untuk kriteria eksklusi yaitu jurnal acuan yang berada di 10 tahun terakhir atau dibawah 2009.

PEMBAHASAN

Suatu senyawa yang telah dipisahkan dari komponennya dapat dianalisis secara kuantitatif dengan menggunakan analisis instrumental yang didasarkan pada radiasi elektromagnetik dengan terndapat noda analit pada plat. KLT Densitometri digunakan untuk

menentukan kadar senyawa dengan cara noda yang terpisah pada plat KLT tersebut dimasukkan kedalam instrument yang kadarnya ditentukan berdasarkan hubungan *Area Under Curve* (AUC) masing-masing noda pada plat (Sherma, 1994)

KLT Densitometri dan Spektrofotometri memiliki mekanisme kerja yang sama tapi memiliki perbedaan pada sampel kompartemennya yaitu kuvet digunakan pada spektrofotometri sedangkan KLT-Densitometri menggunakan lempeng. Baik KLT-Densitometri maupun Spektrofotometri memiliki rangkaian alat berupa sumber cahaya akan menuju monokromator untuk diubah dari cahaya polikromatik menjadi cahaya monokromatik, selanjutnya cahaya yang telah diubah dipancarkan ke dalam sampel kompartemen yaitu suatu lempeng kemudian dipantulkan dan cahaya akan terdeteksi dengan detektor. Pembacaan yang didapatkan akan diperkuat dengan menggunakan amplivier kemudian hasil yang didapat dibaca pada layar baca atau visual display (Sherma, 1994).

Dengan melakukan validasi terhadap metode analisa, linieritas akan ditentukan dengan mengukur konsentrasi analit dan didapatkan gambaran serta informasi linieritas dengan berdasarkan nilai slope (b), intersep (a), dan koefisien kolerasi (r). LOD merupakan jumlah terkecil dari analit yang dapat terdeteksi dan LOQ adalah jumlah sampel terkecil yang digunakan untuk penetapan secara kuantitatif dengan menggunakan presisi serta akurasi yang baik. Untuk parameter ketelitian dapat digunakan tiga kadar dan dihitung nilai CV nya. Suatu metode dengan ketelitian yang baik jika memiliki nilai CV kurang dari 5%. Selanjutnya dilakukan juga metode Recovery untuk akurasi metode analisis dengan melihat ukuran kedekatan hasil yang uji yang didapatkan dengan nilai yang sebenarnya dapat diterima (Sugihartini, et al., 2012).

Dalam menggunakan alat KLT-Densitometri yang memiliki kepekaan yang tinggi untuk menganalisis senyawa yang dideteksi maka dalam pengerjaan diperhatikan teknik penotolan ekstrak serta

volume ekstrak yang ditotolkan dalam jumlah yang sama (Waris, et al., 2013).

Penelitian yang dilakukan oleh (Badhdady, et al., 2013) menyatakan bahwa metode KLT-Densitometri ini dapat digunakan untuk menentukan campuran EZB0ATVC menggunakan fase gerak yang berbeda dengan komposisi yang relative kompleks. Komposisi fase gerak yang optimal ditemukan menjadi dietil eter-etil asetat (7: 3, v / v). Fase gerak ini memungkinkan pemisahan yang baik tanpa tailing.

Pada penelitian yang dilakukan oleh (Solomon, et al., 2010), menyatakan juga bahwa metode kromatografi lapis tipis kinerja tinggi cepat, selektif dan tepat dikembangkan dan divalidasi untuk estimasi simultan Tramadol Hcl dan Paracetamol dalam bentuk sediaan farmasi. Metode ini menggunakan pelat aluminium TLC yang diendapkan dengan silika gel 60F254 sebagai fase diam. Sistem pelarut terdiri dari Kloroform: Etanol (7: 3 v / v). Metode ini divalidasi untuk ketepatan, keakuratan, dan pemulihan. Jumlah terdeteksi minimum ditemukan 150 ng dan

300 ng untuk masing-masing tramadol HCl dan parasetamol. Batas kuantifikasi ditemukan 450 ng untuk tramadol Hcl dan 900 ng untuk parasetamol. Analisis statistik memberikan bukti bahwa metode ini dapat direproduksi dan selektif untuk estimasi simultan tramadol Hcl dan parasetamol.

Pada penelitian yang dilakukan (Utomo, et al., 2009), dilakukan penentuan kadar flavonoid total terhadap ekstrak herba sambiloto dengan berbagai metode pengeringan yaitu sinar matahari langsung, ditutup kain hitam, dan oven. Perolehan kadar flavonoid dengan menggunakan KLT Densitometri dari berbagai metode pengeringan dapat diketahui flavonoid tertinggi terkandung dalam sampel dengan metode pengeringan dengan kain hitam, lalu dengan oven, dan terendah dengan menggunakan sinar matahari langsung.

Penelitian terhadap kadar fenolik dengan alat densitometri juga dilakukan (Syarif, et al., 2015), pada penelitian ini digunakan ekstrak methanol rimpang kecombrang yang diukur pada panjang gelombang 254nm. Lempeng dilusi dengan eluen yang cocok mengelusi sampel

dan pembanding senyawa fenol yaitu menggunakan eluen n-butanol : asam asetat : air (6 : 1 : 3). Sehingga didapatkan kadar fenolik pada ekstrak methanol rimpang kecombrang (*Etlintera elatior Jack.*) dengan KLT-Densitometri sebesar 0,14443 µg/ml.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian-penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa metode KLT-Densitometri memiliki banyak kelebihan diantaranya spesifikasi yang tinggi, hasil yang didapatkan dapat dipercaya, mudah dan cepat, fleksibilitas besar dalam memilih fase gerak, biaya murah. Serta KLT-Densitometri dapat digunakan untuk penetapan kadar senyawa aktif baik yang berasal dari bahan alam maupun senyawa kimia sintesis.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan rasa syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga review artikel ini dapat diselesaikan oleh penulis. Tidak lupa penulis mengucapkan terimakasih kepada

pihak yang telah membantu dalam penyusunan *literature review* ini yaitu kepada Dr. Sandra Megantara, M.Si., Apt selaku dosen pembimbing dan Rizky Abdullah, Ph.D., Apt selaku dosen mata kuliah Metodologi Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, R., 2009. *Kromatografi Untuk Analisis Obat*. I ed. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Badhdady, Y. Z., Abdel-Aleem, A.-A. E., Al-ghobashy, M. A. & S. A., 2013. Spectrophotometric and TLC-Densitometric Methods For The Simultaneous Determination Of Ezetimibe and Atorvastatin Calcium. *Journal Of Advance Research*, Volume 04.
- Boonyadist, V., Sithisarn, P. & Gritsanapan, W., 2013. Simultaneous Determination of Crypto-Chlorogenic Acid Isoquercetin, and Atragalin Contents in Moringa Oleifera Leaf Extracts by TLC-Densitometric Method. *Handawi Publishing Corporation*.

- Bui, Q., Sherma, J. & Hines, J. k., 2018. Using High Performance Thin Layer Chromatography Densitometry To Study The Influence Of The Prion [RNQ+] and Its Determinant Prion Protein Rnq1 On Yeasr Lipid Profiles. *Separations*, 5(1).
- Depertemen Kesehatan RI, 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Depkes RI.
- E Bodoki, et al., 2005. Fast Determination Of Colchicine By TLC-Densitometry From Pharmaceuticals and Vegetal Extracts. *Journal Of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37(5), pp. 971-977.
- Muttaqin, F. Z., Yuliantini, A., Fitriawati, A. & Asnawi, A., 2016. Penetapan Kadar Senyawa Metampiron dan Diazepam Dalam Sediaan Kombinasi Obat Menggunakan Metode KLT Video Densitometri. *Pharmacy*, Volume 13.
- Romano, A. et al., 2012. Determination of Biogenic Amines In Wine By Thin-Layer Chromatography/Densitometry. *Food Chemistry*, Volume 135, pp. 1392-1396.
- Sherma, J., 1994. *Hanbook Of Thin Layer Chromarography*. 3rd ed. New York: Marcel Dekker Inc.
- Solomon, W. S. et al., 2010. Application Of TLC- Densitometry Method For Simultaneous Estimation Of Tramadol Hcl And Paracetamol In Pharmaceutical Dosage Forms.. *International Journal Of Chemtech Research*, 02(02).
- Sugihartini, N., Fudholi, A., Pramono, S. & S., 2012. Validasi Metode Analisa Penetapan Kadar Epigalokatekin Galat Dengan KLT Densitometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, Volume 2, pp. 81-87.
- Syarif, R. A., Sari, F. & Ahmad, A. R., 2015. Rimpang Kecombrang (Etlingera Elator Jack.) Sebagai

- Sumber Fenolik. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2).
- Utomo, A. D., Rahayu, W. S. & Dhiani, B. A., 2009. Pengaruh Beberapa Metode Pengeringan Terhadap Kadar Flavonoid Total Herba Sambiloto (*Andrographis piniculata*). *Pharmacy*, 06(01).
- Waris, R., Kadir, A. & Akbar, C., 2013. Identifikasi dan Penetapan Kadar Sildenafil Sitrat Pada Jamu Kuat Lelaki Yang Beredar di Kota Makassar. *As-syifaa*, 05(01), pp. 95-102.
- Yuangsoi, B., O, J., N, A. & P, T., 2008. Validated TLC-densitometric Analysis For Determination OF Carotenoids in fancy carp (*Cyprinus carpio*) serum and the application for pharmacokinetic parameter assessment. *Songklanakarin J Sci. Technol*, Volume 30, pp. 693-700.