

PENETAPAN KADAR DEHIDRODIISOEUGENOL DALAM TABLET EKSTRAK PALA DENGAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

Dwi Lestari Sulistyaningsih, Mutakin, Keri Lestari, Jutti Levita

Abstrak

Penetapan kadar dehidrodiisoeugenol dalam tablet ekstrak pala dapat menggunakan KCKT fase terbalik dengan kolom C18, fase gerak metanol dan air dengan perbandingan 73:27 menggunakan detektor ultraviolet pada panjang gelombang 282 nm dan waktu retensi dehidrodiisoeugenol 13,79 menit. Perolehan kembali dehidrodiisoeugenol 100,14%±0,55% Batas deteksi 0,892 µg/ml dan batas kuantisasi 2,97 µg/ml. Kadar tablet ekstrak pala 300 mg mengandung dehidrodiisoeugenol sebanyak 0,818 mg.

Kata kunci : dehidrodiisoeugenol, validasi, KCKT

Abstract

Pendahuluan

Pengembangan metoda analisis penetapan kadar dehidrodiisoeugenol dalam tablet ekstrak pala pada saat ini belum dilaporkan, tetapi telah dilakukan penelitian secara klinik dehidrodiisoeugenol sebagai obat antidiabetes dari ekstrak biji pala yang telah dihilangkan miristisin dan safrolnya (Lestari, 2010).

Metode analisis spektrofotometri dan KCKT dapat dilakukan untuk bahan aktif maupun sediaan yang berasal dari bahan alam, contohnya dehidrodiisoeugenol, miristisin dan safrol yang terdapat dalam ekstrak biji pala (Archer AW. 1988).

Metode KCKT merupakan salah satu teknik kromatografi yang memiliki sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi tinggi, yang menerapkan kemampuan kemajuan teknologi kolom, sistem pompa bertekanan tinggi dan detektor yang sensitif. Kromatografi ini terdiri dari fase diam yang terikat secara kimia pada penyangga, fase gerak yang dialirkan cepat dengan bantuan tekanan tinggi dan hasil analisis dapat dideteksi dengan instrumen (Gritter, *et al.*, 1991).

Ekstrak pala dalam pengembangan formula di industri farmasi dapat diformulasikan menjadi sediaan

tablet, dimana diperlukan metode analisis yang praktis untuk pengawasan mutu secara menyeluruh.

Sediaan tablet ekstrak pala mengandung berbagai zat dengan karakteristik yang beragam, salah satunya adalah dehidrodiisoeugenol, sehingga menimbulkan kesulitan dalam analisis. Metode KCKT fase balik dapat digunakan untuk menganalisis tablet ekstrak pala secara simultan.

Tujuan penelitian ini adalah memperoleh kadar dehidrodiisoeugenol dalam tablet ekstrak pala dengan metode KCKT.

Metode

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah baku dehidrodiisoeugenol (Fluka), tablet ekstrak pala yang mengandung dehidrodiisoeugenol (Kimia Farma), aquadest, aquabidest (IPHA Lab dan metanol untuk KCKT (JT Baker). Peralatan yang digunakan adalah Neraca analitik (Sartorius), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Dionex ultimate 3000), kolom kromatografi C18

(LiChroCART 250-4, LiChrospher 100 RP 18e (5 μm), photodiode array (Waters 2998) dan alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

Pembuatan Larutan Baku Induk

Larutan baku dehidrodiisoeugenol (80 $\mu\text{g}/\text{ml}$) diambil sebanyak 200 μl , diencerkan dengan methanol sampai 1000 μl , kemudian disaring dan disonikasi, sehingga diperoleh konsentrasi 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Pembuatan Fase Gerak

Fase gerak dipilih sesuai dengan kelarutan bahan aktif yang akan digunakan pada campuran. Fase gerak yang digunakan adalah campuran metanol : air (73 : 27).

Kondisi KCKT

Kromatografi yang digunakan adalah KCKT fase balik dengan kolom C18, dengan fase gerak pelarut A (metanol) dan pelarut B (air) dengan perbandingan 73:27, laju alir 1 ml/menit, dideteksi dengan menggunakan detektor ultraviolet pada panjang gelombang 282 nm.

Pembuatan Kurva Baku

Sejumlah larutan baku dehidrodiisoeugenol dengan 5 konsentrasi yang berbeda yaitu 1; 2; 4; 8; dan 16 ppm, masing-masing disuntikkan ke dalam KCKT. Kurva hubungan antara AUC dengan konsentrasi dibuat untuk masing-masing analit dan dihitung persamaan garis liniernya.

Validasi Metoda Analisis

Validasi metoda analisis meliputi kecermatan, keseksamaan, linieritas, batas deteksi dan batas kuantisasi.

Kecermatan

Kecermatan diukur dengan cara menentukan perolehan kembali sejumlah analit yang ditambahkan ke dalam basis tablet (metode simulasi atau *spiked placebo recovery methode*). Ke dalam masing-masing enam labu ukur 50 ml dimasukkan sejumlah sampel simulasi yang mengandung dehidrodiisoeugenol dan ditimbang seksama, dilarutkan dalam metanol, disaring dan disonikasi. Dianalisis dengan metode KCKT dihitung perolehan kembali. Hasil dapat dilihat pada tabel 2.

Keseksamaan

Keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Hasil dapat dilihat pada tabel 2.

Linieritas

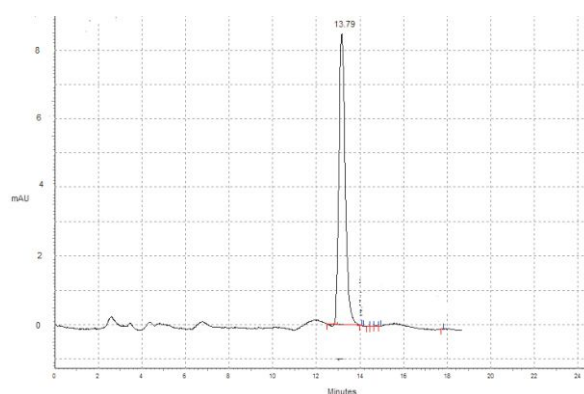
Linieritas metode analisis dilakukan dengan menggunakan satu seri larutan campuran yang berbeda konsentrasinya seperti pada pembuatan kurva baku. Hasil dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 2.

Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi

Penentuan batas deteksi dan batas kuantisasi dilakukan dengan cara perhitungan menggunakan rumus.

Penetapan Kadar

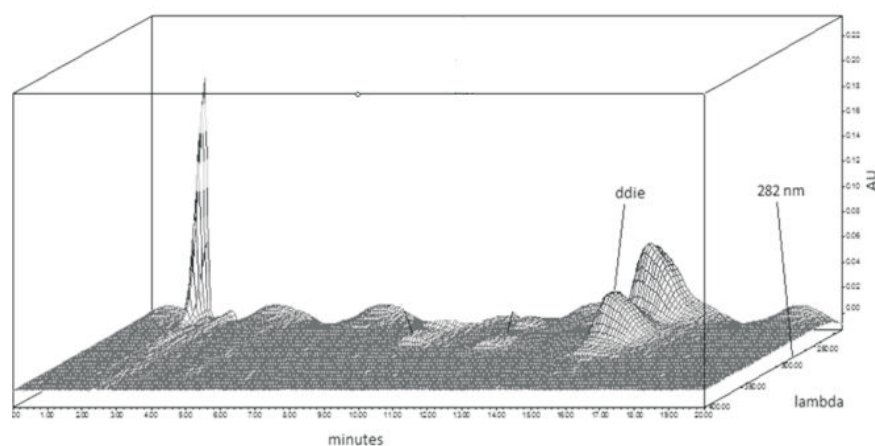
Ditimbang 20 tablet dan ditentukan bobot rata-ratanya, kemudian digerus dan ditimbang seksama setara dengan dehidrodiisoeugenol 500 mg, dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur hingga 50 ml (1000 ppm) dan disaring dengan penyaring berpori 0,45 μm dan disonikasi. Dipipet sebanyak 20 μl dan disuntikkan ke dalam KCKT. Hasil dapat dilihat pada Tabel 3.



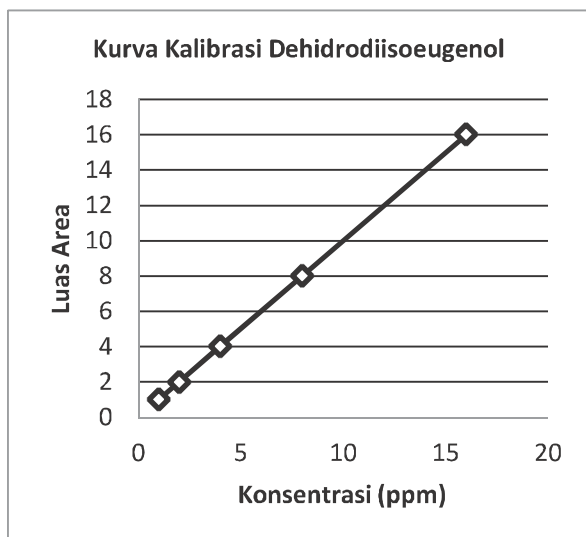
Gambar 2. Kromatogram KCKT Dehidrodiisoeugenol

Tabel 1. Data Kurva Kalibrasi Dehidrodiisoeugenol

Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Luas Area
1	0.8031
2	1.8897
4	4.5158
8	8.4328
16	18.4963



Gambar 1
Kromatogram PDA DDIE



Gambar 3. Kurva Kalibrasi Dehidrodiisoeugenol, persamaan garisnya : $y = 1,172x - 0,439$, $r = 0,999$, Batas Deteksi = $0,892 \mu\text{g/ml}$, Batas Kuantisasi = $2,97 \mu\text{g/ml}$

Tabel 2. Penentuan Kecermatan dan Keseksamaan Dehidrodiisoeugenol

Kadar yang ditimbang (ppm)	Kadar yang diperoleh (ppm)	Perolehan kembali (%)
4 ppm	3,969	99,23
	4,013	100,33
	3,978	99,45
	4,014	100,35
	4,020	100,50
	4,014	100,35

Keterangan :

Rata-rata perolehan kembali = 100,035 %,

Koefesien variasi = 0,55%,

Simpangan baku = 0,55%

Tabel 3 Kadar dehidrodiisoeugenol dalam tablet ekstrak pala

Kadar ekstrak pala (ppm)	Kadar dehidrodiisoeugenol yang diperoleh (ppm)	Kadar tiap tablet (300 mg ekstrak pala)
10.000	27,76	0,833 mg
	28,61	0,858 mg
	28,14	0,844 mg
	27,76	0,833 mg
	25,45	0,764 mg
	25,76	0,773 mg

Kadar rata-rata tiap tablet yang mengandung ekstrak pala 300 mg = 0,818 mg.

Pembahasan

Penetapan kadar dehidrodiisoeugenol dalam tablet dengan KCKT menggunakan fase gerak yang dipilih adalah campuran metanol dan air dengan perbandingan 73: 27, laju alir 1 ml/menit. Panjang gelombang yang dipilih 282 nm dengan menggunakan detektor UV, waktu retensi dehidrodiisoeugenol 13,79 menit. panjang gelombang 282 nm dipilih berdasarkan hasil pengujian menggunakan detektor PDA (lihat gambar 1)

Kurva baku dehidrodiisoeugenol menunjukan garis linier persamaan garis $y = 1,172x - 0,439$ ($r = 0,999$), batas deteksi dehidrodiisoeugenol $0,892 \mu\text{g/ml}$ dan batas kuantisasi dehidrodiisoeugenol $2,97 \mu\text{g/ml}$.

Perolehan kembali dehidrodiisoeugenol memberikan hasil yang baik yaitu 100,14 %, koefesien variasi = 0,55%, simpangan baku = 0,55%.

Penetapan kadar dehidrodiisoeugenol dalam tablet ekstrak pala yang mengandung 300 mg ekstrak / tablet adalah 0,818 mg.

Kesimpulan

Metoda KCKT fase terbalik dapat digunakan untuk menentukan kadar dehidrodiisoeugenol dalam tablet ekstrak pala dengan kolom C18, fase gerak metanol dan air dengan perbandingan 73:27, laju alir 1 ml/menit, menggunakan detektor ultraviolet pada panjang gelombang 282 nm dan waktu retensi Dehidrodiisoeugenol 13,79 menit.

Daftar Pustaka

- Archer AW. 1988. *Determination of safrole and myristicin in nutmeg and mace by high-performance liquid chromatography*. J chromatogr. 1988 Apr 1;438(1):117-21. DOI: 10.1021/jf60220a043 J. Agric. Food Chem., 1978, 26 (6), pp 1390–1393
- Gritter, R.J., Bobbit, G.M., Schwarting, A.E., 1991, *Pengantar Kromatografi*, Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata, Bandung : Penerbit ITB, hal.186
- Ibrahim, S, 2001, *Penggunaan Statistika dalam Validasi Metode Analitik dan Penerapannya*, Prosiding Temu Ilmiah Nasional Bidang Farmasi, VI-15.
- Ibrahim, S, 1998, *Pengembangan Metode Analisis Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*, Seminar on HPLC Application for Analysis of Drugs, Food, and Environment, Bandung : Penerbit ITB. hal. 2-8.
- Lestari K. 2010. *Ringkasan Disertasi Pengembangan Biji Pala (Myristica fragrans Hout) sebagai Antihiperlipidemik dan Antidislipidemik dengan Efek Agonis Ganda pada PPAR γ* . Bandung: Universitas Padjadjaran.
- Li, F. and X.W. Yang, 2012, *Analysis of anti-inflammatory dehydrodiisoeugenol and metabolites excreted in rat feces and urine using HPLC-UV*, Biomed Chromatogr, 2012. 26 (6) : hal.703-7.
- U.S., Pharmacopoeia Convention Inc., 2007, *The Official Compendia of Standard USP 30/ NF 25 U.S.*, Pharmacopoeia and National Formulary, vol 1, Rochville, MD.