

**KAJIAN PUSTAKA PENGEMBANGAN METODE KLT VIDEO DENSITOMETRI SEBAGAI
PENETAPAN KADAR SEDIAAN FARMASI**

Laporan Tugas Akhir

**Agnes Monica Ratu
11161122**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

**KAJIAN PUSTAKA PENGEMBANGAN METODE KLT VIDEO DENSITOMETRI
SEBAGAI PENETAPAN KADAR SEDIAAN FARMASI**

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

**Agnes Monica Ratu
11161122**

Bandung, ...September 2020

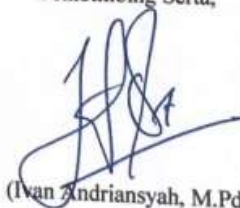
Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(Dr. apt. Fauzan Zein Muttaqin, M.Si)

Pembimbing Serta,



(Ivan Andriansyah, M.Pd)

ABSTRAK

KAJIAN PUSTAKA PENGEMBANGAN METODE KLT VIDEO DENSITOMETRI SEBAGAI PENETAPAN KADAR SEDIAAN FARMASI

Oleh :

Agnes Monica Ratu

11161122

Sediaan obat terdapat lebih dari satu komponen zat aktif (sediaan kombinasi) yang bertujuan untuk meningkatkan efek terapi dan kemudahan dalam pemakaian, namun banyak sediaan kombinasi yang tidak memenuhi persyaratan terapi rasional dan tidak tepat sasaran. Metode KLT video densitometri dapat menganalisis sediaan multikomponen sama halnya dengan metode KCKT, tetapi pada metode KLT video densitometri ini belum banyak yang terpublikasi. Penulisan artikel ini bertujuan untuk mengkaji pengembangan metode KLT video densitometri sebagai penetapan kadar sediaan farmasi. Metode yang digunakan pada review artikel ini yaitu kajian sistemik (*systematic review*) dari hasil penelusuran secara *online* pada *database Pubmed* dan *Google Scholar*. Hasil kajian menunjukkan bahwa metode KLT Video Densitometri dan KLT Densitometri memiliki banyak kelebihan diantaranya yaitu spesifikasi yang tinggi, pengerjaan relatif mudah dan cepat, biaya pengoperasian relatif murah. Metode KLT Video Densitometri juga dikatakan valid untuk menganalisis alduteran pada bahan alam. Selain itu KLT Video Densitometri dan KLT Densitometri mampu melakukan pemisahan kromatogram dengan berbagai komposisi fase gerak dan dapat digunakan untuk penetapan kadar senyawa aktif baik yang berasal dari bahan alam maupun senyawa kimia sintesis.

Kata kunci : KLT videodensitometri, penetapan kadar, sediaan farmasi

ABSTRACT

STUDY OF DEXAMETHASONE AND DEKSKLORFENIRAMIN MALEATE RATES IN COMBINATION CAPLETS USING KLT DENSITOMETRY METHOD

By :

Agnes Monica Ratu

11161122

Medicinal preparations contain more than one active ingredient (combined preparation), which aims to enhance the therapeutic effect and use during use, but many combination preparations do not meet the requirements of rational therapy and are not well targeted. The video densitometric TLC method can analyze multicomponent preparations in the same way as the HPLC method, however the video densitometric TLC method has not been widely published. This article aims to study the development of the TLC video densitometry method to determine the levels of pharmaceutical preparations. The method used in this review article is a systematic review (systematic review) of the results of online browsing on the Pubmed and Google Scholar databases. The results of the research make the TLC video densitometry and TLC densitometry methods have many advantages including high specifications, relatively easy and fast manufacturing, relatively cheap loading costs. The TLC video densitometry method is also considered valid for the analysis of albuterol in natural materials. In addition, TLC video densitometry and TLC densitometry are able to separate chromatograms from various mobile phase compositions and can be used to determine levels of active compounds, both natural and synthetic chemicals.

Key words: KLT Videodensitometri, dosage, pharmaceutical preparation

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Kuasa, karena atas berkat dan kasih karunia-Nya, Penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik. Penulis telah menyusun skripsi dengan judul “Kajian pustaka Penetapan Kadar Deksmetason dan Deksklorfeniramin Maleat pada sediaan kaplet kombinasi menggunakan metode KLT Densitometri “

Penulis menyadari banyak kekurangan dan kesalahan dalam penyusunan Skripsi ini, akan tetapi atas doa dan dukungan dari orangtua, dosen pembimbing, teman serta kampus Universitas Bhakti Kencana, Penulis berhasil menyelesaikan skripsi ini. Penulis mengucapkan terimakasih kepada berbagai pihak yang senantiasa mendukung Penulis dalam penyusunan skripsi ini guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi, diantaranya :

1. Bapak Dr. apt. Fauzan Zein Muttaqin, M.Si, selaku pembimbing I Penulis, yang senantiasa memberikan bimbingan yang penuh kasih kepada penulis selama penyusunan tugas akhir ini.
2. Bapak Ivan Andriansyah, M.Pd, selaku pembimbing II Penulis, yang juga memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penyusunan tugas akhir Penulis.
3. Kepada orangtua , Dominggu Ratu dan Magdalena Ratu Rohi Laga yang senantiasa memberikan dukungan doa serta material kepada Penulis dalam penyelesaian tugas akhir Penulis.
4. Kepada sodara , Erny Abriana Ratu dan Raymond Ratu yang selalu memberikan dukungan doa dan semangat kepada Penulis untuk menyelesaikan tugas akhir dengan baik.
5. Seluruh Dosen dan Staf civitas Kampus Universitas Bhakti Kencana Bandung yang telah senantiasa mendidik, mengarahkan dan mengajarkan semuanya untuk bekal dimasa depan.
6. Kelas FA3 serta angkatan 2016 penulis yang senantiasa memberikan dukungan doa dan semangat kepada Penulis dalam penyelesaian tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir yang telah disusun masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi Penulis berharap Skripsi ini dapat bermanfaat bagi Penulis, Pembaca dan juga Peneliti yang ingin mengembangkan Skripsi ini. Kritik dan saran yang membangun tetap diharapkan Penulis.

Semoga Bermanfaat.

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	vii
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang	1
I.2. Rumusan Masalah	1
I.3. Tujuan Penelitian	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	8
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	9
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	10
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN	24
VI.1. Kesimpulan	24
VI.2. Saran	24
DAFTAR PUSTAKA	25

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Deksametason	4
Gambar 2.2 Struktur Deksklorfeniramin Maleat	5
Gambar 4.1 Hasil elusi deksametason dan deksklorfeniramin maleat dengan fase gerak etil asetat p.a : metanol p.a : larutan amonia 25% p.a (25 :4 :1).....	15

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	MAKNA
AST	Aspartate Aminotransferase
ALT	Alanine Aminotransferase
ALP	Alkaline Phosphatase
DILI	Drug Induced Liver Injury
IDILI	Idiosyncratic Drug Induced Liver Injury

BAB I. PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Pada jaman sekarang banyak masyarakat mengenal obat, karena obat biasa digunakan dalam penyembuhan suatu penyakit yang diderita, obat dapat digunakan dengan cara memperhatikan efek samping obat, cara pemakaian obat, dan tanggal kadaluarsa obat tersebut saat di konsumsi oleh suatu pasien yang sakit..

Sediaan obat terdapat lebih dari satu komponen zat aktif (sediaan kombinasi). Sediaan kombinasi bertujuan untuk meningkatkan efek terapi dan kemudahan dalam pemakaian (Damayanti et al., 2003). Pertimbangan metode analisis yang dipilih dalam penentuan kadar suatu zat aktif adalah mudah dan memenuhi persyaratan yang ditentukan oleh suatu standar/regulasi. Metode analisis yang dapat digunakan untuk pemisahan campuran senyawa antara lain kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dan spektrofotometri UV. Metode yang saat ini banyak digunakan adalah KCKT yang dapat menganalisis berbagai sediaan multikomponen dengan hasil yang baik dalam kondisi analitik yang optimum tetapi peralatannya membutuhkan spesifikasi pelarut dengan *grade* KCKT. Metode KLT video densitometri dapat menganalisis sediaan multikomponen sama halnya dengan metode KCKT, tetapi pada metode KLT video densitometri ini belum banyak yang terpublikasi.

Video densitometri adalah metode analisis kualitatif dan kuantitatif yang berdasarkan analisis gambar (Saragih, 2015). Dengan metode KLT video densitometri memberikan data yang valid dengan parameter ketelitian, linearitas, serta ketepatan untuk memenuhi persyaratan dan nilai LOD (Limit of Detection) dan LOQ (Limit of Quantitation) yang dapat diketahui. Dilakukan evaluasi pada parameter tersebut untuk memperoleh data sebagai syarat dari kemampuan alat untuk mendeteksi, sehingga diperoleh hasil yang mendekati sebenarnya dan akan memberikan data yang sama jika dilakukan pengulangan. Metode analisa yang telah valid dapat digunakan untuk beragam keperluan contohnya penetapan kadar. Tujuan untuk mengkaji pengembangan metode KLT video densitometri sebagai penetapan kadar sediaan farmasi.

I.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimana analisis kadar campuran sediaan farmasi menggunakan metode KLT Video densitometri
2. Bagaimana cara menentukan kadar campuran sediaan farmasi menggunakan metode KLT Video densitometri

I.3. Tujuan Penelitian

1. Menganalisis campuran senyawa sediaan farmasi metode KLT Video densitometri.
2. Menentukan kadar senyawa sediaan farmasi menggunakan metode KLT densitometri.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Sediaan Farmasi

Obat yang umumnya dipakai pasien berupa bentuk sediaan padat yaitu tablet. Sebagian besar dari obat-obat sediaan padat memberikan efek sistemik, sedangkan sebagian yang lain memberikan efek lokal

II.2. Penetapan Kadar

Metode penetapan kadar obat didalam farmakope umumnya sebagai obat tunggal. Penetapan kadar untuk sediaan setengah jadi tidak dimaksudkan untuk mengevaluasi sediaan setengah jadi sebelum diserahkan, tetapi berfungsi sebagai uji resmi jika ada pertanyaan atau perdebatan mengenai pemenuhan persyaratan terhadap standar resmi. Penetapan kadar bahan dan sediaan resmi dicantumkan dalam masing-masing monografi (Farmakope,2014).

II.3. Kromatografi Lapis Tipis

Prinsip dari kromatografi lapis tipis yaitu memisahkan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut (Gandjar dan Rohman, 2007).

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah metode analisis kromatografi planar dengan mekanisme adsorpsi, desorpsi, dan elusi. Adsorpsi adalah proses dimana solut menempel pada fase diam, desorpsi adalah proses ketika posisi solut difase diam mulai tergantikan oleh fase gerak, dan elusi adalah proses dimana fase gerak melarutkan solut. Fase diam pada KLT dapat berupa silika gel, dan selulosa. Terdapat beberapa jenis silika gel berdasarkan komponen pengikatnya seperti silika gel G, silika gel F, dan silika gel H. Untuk penyangga dari fase diam dapat berupa kaca, plastik, atau aluminium. Terdapat 3 tahap untuk melakukan pemisahan menggunakan metode KLT yaitu penotolan sampel, pengembangan, dan identifikasi bercak (Rouessac dan Rouessac, 2007).

II.3.1 Fase Diam

Penyerap untuk KLT umumnya dapat digolongkan menjadi 2 yaitu penyerap silika gel dan alumina. Silika gel bersifat asam, jadi lebih sering digunakan untuk memisahkan senyawa yang bersifat asam. Sedangkan alumina bersifat basa digunakan untuk memisahkan senyawa yang bersifat basa. Hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya pengikatan secara kuat senyawa dengan penyerap karena ikatan ion antara keduanya. Selain silika gel dan alumina dapat juga digunakan penyerap lain seperti selulosa atau poliamida (utama, 2008).

II.3.2 Fase Gerak

Fase gerak yaitu merupakan sesuatu yang terdiri atas pelarut yang biasa digunakan, pelarut yang digunakan dalam fase gerak yaitu pelarut yang bertingkat (Stahl, 1985).

Untuk mendapatkan fase gerak yang baik maka dibutuhkan optimasi dari campuran fase gerak tersebut. Fase gerak harus mempunyai kemurniaan yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif.

1. Daya eluasi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f terletak antara 0,2-0,8 untuk mendapatkan pemisahaan yang maksimal.
2. Solut-solut ionik dan solut-solut polarity lebih baik digunakan campuran pelarut sebagai fase geraknya, seperti campuran air dan metanol dengan perbandingan tertentu. Penambahan sedikit asam etanoat dan ammonia masing-masing akan meningkatkan solut-solut yang bersifat basa dan asam.

II.4. KLT Densitometri

Densitometri merupakan suatu metode yang dapat digunakan untuk analisis, dapat digunakan dalam melihat bercak, yang dapat ditentukan yaitu berupa adsorpsi, pantulan dan tranmisi. Densitometri merupakan metode penetapan kadar suatu senyawa pada plat KLT, menggunakan instrument *TLC scanner*, pengukuran dilakukan dnegan cara mengukur serapan analit.

Pada densitometer ada 3 sumber radiasi tergantung dari panjang gelombang yang digunakan. Lampu tungsten dugunakan untuk mengukur daerah sinar tampak (400-800 nm) dan untuk pengukuran daerah Ultraviolet (190-400 nm) digunakan lampu deuterium. Zat yang berpendar sendiri (*self-fluorescence*) diukur fluoresensinya menggunakan lampu uap merkuri bertekanan tinggi yang memiliki panjang gelombang antara 254–578 nm (Deinstrop H, 2007).

II.5. KLT Videodensitometri

II.5.1 Prinsip KLT Videodensitometri

Videodensitometri merupakan metode yang mempunyai prinsip pemindaian optik yang berlangsung secara elektronik, menggunakan computer dengan video digital, sumber cahaya, monokromator dan optic yang tepat untuk menerangi plat dan fokus gambar ke perangkat *charge-coupled* (CCD) kamera video..

Video densitometri menggunakan sistem pencitraan yang terdiri dari:

1. Kamera CCD resolusi tinggi dengan zoom untuk focus dan memperbesar kromatogram, jika diperlukan dan sistem pencahayaan yang sesuai.
2. Kamera ini dihubungkan ke komputer dan printer video.
3. *Software* untuk mengatur kamera dan semua parameter seperti kecerahan, kontras, keseimbangan warna dan intesitas.
4. Kromatogram dapat disajikan dalam bentuk gambar pada printer video dan dapat diukur untuk mengetahui konsentrasi analit seperti pada pemindaian densitometri.
5. Untuk analit yang lemah berfluoresensi, digunakan *aperture* kamera yang kecil (F : 22) dapat digunakan dengan integrasi lama (Fried, 1999).

II.5.2 Peralatan KLT Videodensitometri

Pada penetapan kadar menggunakan metode KLT Videodensitometri terdapat empat sumber utama:

- a. Penotolan bercak secara kuantitatif menggunakan jarum suntik, *microcap* atau *micropipettor*.

- b. Pengambilan data dengan kamera digital.
- c. Kuantifikasi dengan *software* pengolah gambar ImageJ (INH, USA).
- d. Diaplikasikan ke dalam persamaan matematika yang sederhana untuk mengubah data mentah ke dalam bentuk linear.

Peralatan :

1. *Microcaps*
Untuk penotolan bercak digunakan *microcap* dengan volume tetap (kapasitas 0,5 – 5 μL), *microcap* dipilih karena memiliki harga yang murah dan digunakan untuk sekali pakai tetapi memiliki kemampuan yang sangat baik dalam pembagian presisi. Data yang baik diperoleh ketika analit yang ditotolkan dilarutkan dalam pelarut yang kepolarannya lebih rendah dari fase gerak KLT dan ketika diperoleh spot yang melingkar. *Microcap* yang digunakan memiliki tingkat kesalahan $\pm 1\%$, namun kesalahan hanya berlaku jika pengisian dan pengosongan sampel pada *microcap* dilakukan dengan benar. Ketika mengisi *microcap* *microcap* harus benar-benar terisi penuh. Dan ketika menotolkan sampel pada plat *microcap* harus benar-benar sampai kosong. Bercak sampel harus benar-benar kering sebelum plat dimasukkan ke dalam *chamber*.
2. Kamera digital
setelah plat dielusikan dalam *chamber*, kemudian plat difoto dengan menggunakan kamera digital. Foto-foto tersebut diambil di bawah sinar 254 nm dengan pencahayaan dari lampu ultraviolet 4 W. Tidak ada kamera khusus yang diperlukan untuk teknik KLT densitometri. Untuk menghasilkan hasil kuantifikasi yang baik, plat KLT pada saat difoto tidak memerlukan pencahayaan yang terlalu banyak. Pengaturan terbaik untuk kamera dan plat yang akan difoto ditentukan oleh kontras dan cahaya pada kamera tersebut.
3. *Software*
Setelah didapatkan beberapa data dari setiap zat aktif yang dilakukan dengan menggunakan TLC analyzer, untuk mendapatkan kadar dapat dihitung dari kurva pada zat aktif tersebut. Adapun penyerapan cahaya oleh analit pada plat KLT ini mengikuti hukum Lambert-Beer dan data yang didapatkan membutuhkan metode matematika untuk menghasilkan kurva standar yang diinginkan untuk suatu metode analisis.

II.5.3. Software untuk Menganalisis Bercak

Perkembangan terbaru untuk kuantifikasi kromatogram secara densitometri adalah menggunakan “analisis gambar. Metode KLT video densitometri secara teknis didasarkan pada analisis gambar, istilah mengacu pada penggunaan kamera digital untuk mendapatkan gambar kromatogram pada plat, lalu mengupload hasil gambar tersebut pada computer, dan evaluasi kualitatif dan kuantitatif dengan menggunakan berbagai program perangkat lunak yang tersedia tanpa perlu membeli instrument komersial. Ada beberapa pilihan perangkat lunak untuk analisis gambar, diantaranya adalah TLC Analyzer, ImageJ, Just-TLC, dan Sorbfil TLC. Software yang digunakan yaitu Image J. ImageJ adalah suatu program yang dikembangkan oleh National Institutes of Health (NIH) Departemen kesehatan dan Layanan Kemanusiaan di Amerika Serikat yang terbukti paling sederhana, mudah, dan serbaguna meskipun jenis software lainnya

dapat juga dimanfaatkan. Software (perangkat lunak) ImageJ memakai format gambar dapat dalam bentuk JPEG ataupun TIFF. Gambar dapat dioptimalkan dengan pemilihan warna domain terbaik. Sebagai contoh, gambar dari plat KLT yang melibatkan fluoresensi *quenching* dengan analit atau deteksi oleh warna dengan reaksi warna biasanya akan memerlukan pemilihan domain warna yang tepat dan diperlukan gambar terbalik sehingga piksel analit memiliki nilai-nilai positif terhadap *piksel background*, yang idealnya akan memiliki nilai kecil. ImageJ dapat mengkompensasi secara otomatis untuk setiap perbedaan luas area (Sherma, dkk 2014).

II.5.1. Keuntungan Videodensitometri

Visualisasi berupa kromatogram, sederhana, dapat digunakan untuk berbagai sampel, mereduksi biaya operasional dan perawatan yang murah (Fried, 1999). Memiliki kelebihan yang murah dan mudah digunakan, memiliki teknik pemisahan yang bagus (Gritter dkk, 1991).

II.6. Validasi metode Analisis

Validasi metode analisis merupakan suatu yang dapat dinilai pada parameter tertentu, yang percobaannya dapat dilakukan di laboratorium, sehingga mendapatkan hasil bahwa parameter tersebut dapat digunakan untuk memvalidasi metode analisis (Harmita, 2004).

Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis dijelaskan dan didefinisikan sebagai penentuan jalur.

II.6.1. Selektivitas

Selektivitas merupakan suatu kemampuan yang hanya dapat mengukur zat tertentu dan mendapatkan hasil yang bagus yaitu hasil yang didapatkan hasil yang cermat dan secara seksama dengan adanya suatu komponen lain (Harmita, 2004).

Faktor selektivitas (α) dan resolusi dapat dicari dengan:

$$\text{Faktor selektivitas } (\alpha) = \frac{drA}{drB}$$

$$R_s \text{ baku ataupun } R_s \text{ sampel} = \frac{2(drA - drB)}{(wA + wB)}$$

II.6.2. Linearitas

Linearitas yaitu suatu metode yang mempunyai kemampuan memberikan respon secara langsung. Dengan menggunakan kalkulator atau perangkat lunak computer, semua perhitungan matematik tersebut dapat diukur

$$S_y = \sqrt{\frac{\sum(y_1 - y)^2}{n-2}}$$

II.6.3. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas Deteksi yaitu suara konsentrasi yang terendah dalam analit dalam sampel. Batas kuantitasi yaitu suatu yang terendah dalam analit yang dapat di tentukan dengan presisi dan akurasi.

$$BD = \frac{3Sy/x}{b}$$

$$BK = \frac{10Sy}{b}$$

Sy/x adalah simpangan baku dari *intercept* dan merupakan kemiringan dari kurva standar (*slope*) (Harmita, 2004).

II.6.4. Akurasi

Akurasi yaitu sesuatu yang mengukur suatu derajat kedekatan hasil analisis yang didapat dengan kadar analit (Harmita, 2004). Menurut Harmita (2004) dalam metode adisi (penambahan bahan baku), sejumlah sampel yang dianalisis ditambah analit dengan konsentrasi biasanya 80% sampai 120% dari kadar analit yang diperkirakan, dicampur, dan dianalisis dengan metode yang akan divalidasi.

$$\% \text{ Akurasi} = \frac{\text{Nilai Pengukuran}}{\text{Nilai Debenarnya}} \times 100\%$$

II.6.5. Presisi

Presisi adalah derajat kesesuaian antara masing-masing hasil tes individu dapat diukur dengan mengerahkan hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan beberapa kali dalam sampel yang diambil dari campuran homogen. Mengingat kriteria ketat jikametode memberikan standar deviasi relatif atau koefisien variasi dari 2% atau kurang (Harmita, 2004).

- a. Standar Deviasi (SD)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x_1-x)^2}{n-1}}$$

- b. Koefisien Variasi (KV)

$$KV = \frac{SD}{x} \times 100\%$$