

EVALUATION OF RE-USED HPTLC PLATE FOR QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS

Evaluasi Lempeng HPTLC Daur Ulang untuk Analisis Kualitatif dan Kuantitatif

Lestyo Wulandari *

Pharmacy Study Program, University of Jember, Jl. Kalimantan 1/2 Jember 68121

Received 14 September 2006; Accepted 17 October 2006

ABSTRACT

The efficiency chromatography of HPTLC plate is better than conventional TLC plate but it more expensive. Due to the higher price of HPTLC plate compare to conventional TLC plate, the application of "re-used" HPTLC plate has been tested. After being used for analyzing samples, the plates were developed again with the mobile phase, then dried for 60 min before using for the next measurement. The qualitative chromatography profile showed that "re-used" HPTLC plate has less contaminant than new HPTLC plate and the RSD of the precision quantitative testing of the plates reused three times showed a value > 2%.

Keywords: reused, HPTLC, TLC, quantitative, qualitative.

PENDAHULUAN

Pada kromatografi lapis tipis (*Thin Layer Chromatography*, TLC), fase diam mempunyai peran penting pada analisis baik kuantitatif maupun kualitatif. Keseragaman dan ukuran partikel adsorben sangat menentukan keberulangan data analisis kuantitatif. Karakteristik kromatografi ditentukan terutama oleh parameter fisika. Oleh sebab itu lempeng TLC dengan ukuran partikel kecil dan keseragaman ukuran partikel baik, diperlukan untuk mendapatkan hasil analisis yang baik [1].

TLC yang beredar di pasaran terdiri dari dua macam yaitu TLC konvensional dan HPTLC. Perbedaan TLC konvensional dengan HPTLC berdasarkan parameter kerjanya adalah ukuran partikel TLC 20 μm HPTLC 5-15 μm , distribusi ukuran partikel TLC 10-60 μm HPTLC distribusinya sempit, volume sampel TLC 1-5 μL HPTLC 0,1-0,2 μL , diameter *starting spot* TLC 3-6 mm HPTLC 1,0-1,5 mm, jarak migrasi solven TLC 10-15 cm HPTLC 36 cm, waktu pengembangan TLC 30-200 menit HPTLC 3-20 menit, Limit deteksi (absorbansi) TLC 1-5 ng, HPTLC 0,1-0,5 ng [2]. Mengingat kelebihan parameter-parameter kerja tersebut HPTLC memiliki efisiensi pemisahan yang lebih baik dibandingkan TLC konvensional. Kekurangan HPTLC adalah harganya lebih mahal dibandingkan TLC konvensional. Untuk memaksimalkan penggunaan HPTLC yang efisien dan ekonomis maka dilakukan daur ulang lempeng HPTLC kemudian lempeng hasil daur ulang dievaluasi untuk mengetahui sejauh mana lempeng daur ulang dapat digunakan untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif.

METODE PENELITIAN

Bahan

Betamethasone base (Tianjin Tianyao Pharma-

ceutical Co. Ltd., Batch No. BE020701; Assay 99,52%; Conforms to USP 23/BP 93) dengan kualitas *pharmaceutical grade* yang memenuhi persyaratan Farmakope [3-5]. Etanol 96%, kloroform dan metanol (Mallincrodt Baker, Inc., Phillipsburg, NJ) dengan kualitas pro analisis. Lempeng HPTLC precoated 20 X 20 cm Lichrospher Si 60 F254 aluminium-backed sheets cat.no 1.05586 (E.Merck, Darmstadt, Germany). Benoson[®] tablet mengandung 0,5 mg betamethasone base produksi PT. Bernofarm, Sidoarjo, Indonesia. Kertas saring Whatman no.40. Camag TLC Scanner 3 dengan WinCats Software.

Prosedur Kerja

Dalam penelitian ini evaluasi lempeng HPTLC ditentukan dengan membandingkan profil kromatogram analisis kualitatif sebelum daur ulang dan sesudah daur ulang. Sedangkan evaluasi analisis kuantitatif dilakukan dengan menghitung perbedaan antara kadar % label claim lempeng baru dengan lempeng daur ulang serta menghitung nilai SD dan RSD data analisis kuantitatif sampel dengan metode yang sudah tervalidasi [6-7]. Lempeng HPTLC baru (belum didaur ulang) digunakan untuk analisis kuantitatif betamethason dalam tablet benoson kemudian lempeng didaur ulang dan digunakan lagi untuk analisis kuantitatif yang sama. Setiap pengukuran kadar tablet benoson diukur nilai presisi dari data analisis kuantitatif dibandingkan dengan larutan standar (Larutan standar dibuat baru setiap analisis dengan rentang konsentrasi 40, 60, 80, 100 ppm).

Pembuatan lempeng daur ulang

Lempeng HPTLC yang sudah digunakan dilusi lagi dengan eluen yang digunakan untuk analisis kuantitatif betamethasone selama 60 menit (empat kali

* Corresponding author.
Email address : wulan@farmasi.unej.ac.id

lebih lama dibandingkan elusi normal). Setelah lempeng terelusi, dikeringkan dalam lemari asam selama 10 menit kemudian lempeng dioven selama 15 menit.

Ekstraksi tablet benoson

Sebanyak 20 tablet Benoson digerus, ditimbang 270 mg (setara dengan 0,6 mg betamethasone base), dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 mL, dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 6 mL, diultrasonik selama 15 menit, didiamkan sampai suhu larutan sama dengan suhu kamar kemudian ditambah etanol 96% sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen. Larutan disaring dengan kertas saring Whatman no.40.

Proses kromatografi

Pada proses kromatografi ini digunakan fase diam HPTLC precoated 20 X 10 cm Lichrospher Si 60 F254 aluminium-backed sheets dan fase gerak campuran kloroform-metanol-air dengan perbandingan 18:5:0,5 [8]. Pengembangan dilakukan dalam chamber Camag *twin-through* dengan waktu pengembangan 15 menit pada suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Setelah dikembangkan dalam fase gerak lempeng diangin-anginkan dahulu sebelum dianalisis. Lempeng dianalisis dengan Camag TLC-Scanner II dengan parameter lebar band 10 nm, lebar celah 4, panjang celah 6, kecepatan scanning 4 mms^{-1} .

Kuantifikasi dari noda menggunakan CATS version 3.17 (1995) software (Camag).

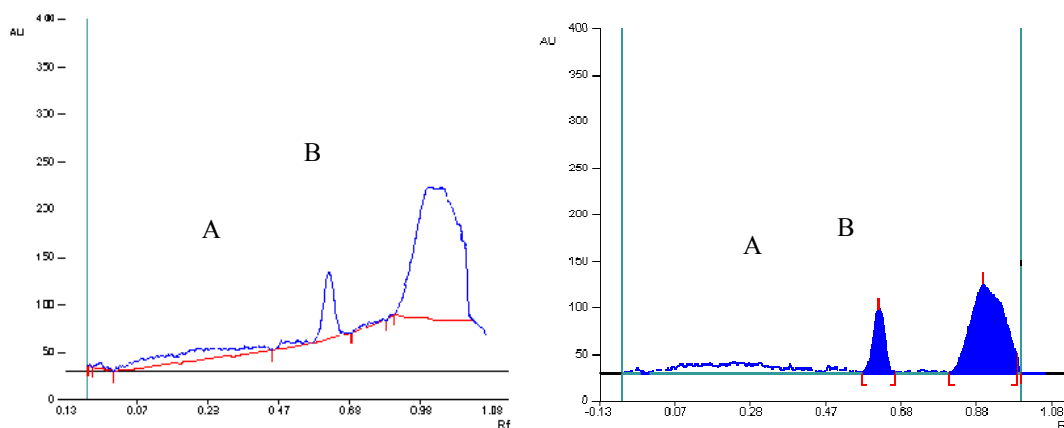
Evaluasi

Evaluasi dilakukan dengan membandingkan hasil analisis kuantitatif lempeng HPTLC baru dan lempeng HPTLC daur ulang menggunakan analisis *one way ANOVA* serta mengukur nilai SD dan RSD.

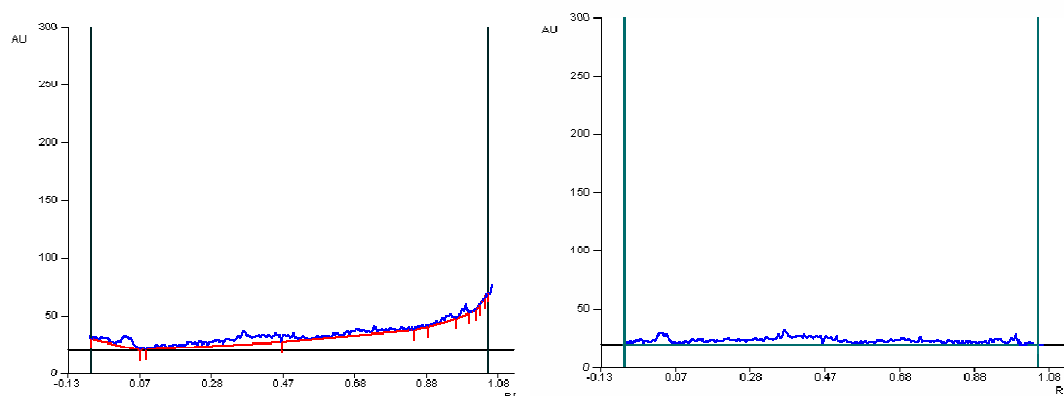
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan lempeng HPTLC baru dan daur ulang bila dideteksi dengan densitometer panjang gelombang 254 nm dapat dilihat pada Gambar 1-3.

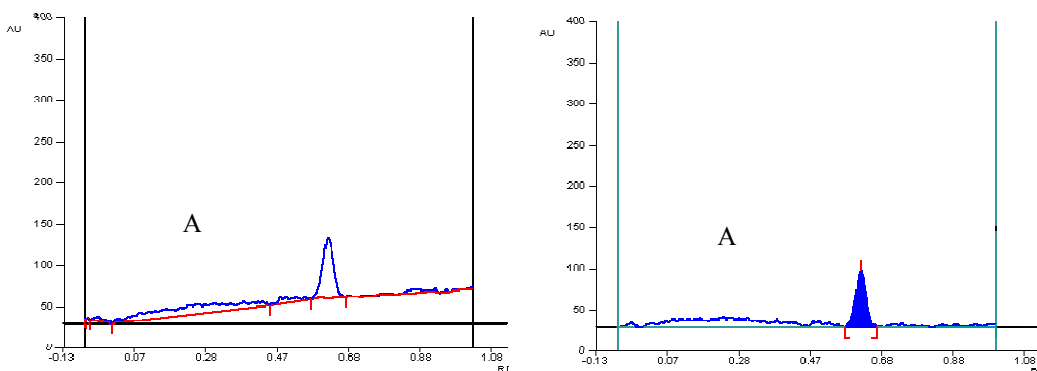
Dari profil kromatografi hasil scanning dengan densitometer menunjukkan bahwa lempeng HPTLC daur ulang lebih bersih atau memiliki pengotor lebih sedikit dibandingkan lempeng baru. Dikarenakan pada lempeng baru, di ujung lempeng atau pada akhir elusi terdapat pengotor yang terlihat dengan lampu UV, meskipun pada analisis kuantitatif pengotor tersebut tidak mengganggu karena mempunyai $R_f > 0,85$ (berada di luar R_f analisis kuantitatif yaitu 0,2-0,8) [1]. Pada lempeng daur ulang pengotor tersebut tidak tampak karena baik noda standar, sampel maupun pengotor akan terelusi oleh eluen.



Gambar 1. Kromatogram (pada λ 245 nm) larutan standar betametason ditotolkan pada lempeng HPTLC baru. Identitas Puncak : (A) Betametason, (B) Pengotor fase diam



Gambar 2. Kromatogram (pada λ 245nm) lempeng pada gambar 1 yang sudah didaur ulang.



Gambar 3. Kromatogram (pada λ 245nm) larutan standar betametason ditotolkan pada lempeng HPTLC daur ulang. Identitas Puncak : (A) Betametason

Tabel 1. Hasil evaluasi lempeng baru dan lempeng daur ulang

Lempeng HPTLC	Label claim (%)					Mean \pm SD	RSD
	n = 5						
Lempeng baru	95,60	97,70	96,00	97,20	94,22	96,14 \pm 1,37	1,43%
Lempeng daur ulang pertama	94,00	97,80	97,20	97,60	94,38	96,20 \pm 1,84	1,92%
Lempeng daur ulang kedua	96,42	97,80	96,48	97,88	94,52	96,62 \pm 1,36	1,41%
Lempeng daur ulang ketiga	100,92	99,48	95,42	94,82	95,02	97,13 \pm 2,85	2,94%

Bila diamati dengan densitometer panjang gelombang 254 nm lempeng daur ulang akan terlihat lebih bersih dibandingkan lempeng baru sehingga untuk pemakaian kualitatif lempeng daur ulang akan lebih menguntungkan dibanding lempeng baru. Daur ulang lempeng HPTLC dapat dilakukan bila larutan pengembang yang digunakan tidak merubah polaritas dari adsorben. Tidak berubahnya polaritas fase diam menyebabkan lempeng HPTLC daur ulang akan memberikan pemisahan yang sama dibandingkan sebelum lempeng HPTLC didaur ulang. Dari hasil pengamatan analisis kuantitatif menunjukkan bahwa lempeng HPTLC daur ulang mempunyai presisi yang cukup baik untuk analisis kuantitatif. Data reproduibilitas lempeng HPTLC baru dibandingkan dengan daur ulang dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari data evaluasi lempeng baru dan lempeng daur ulang didapatkan bahwa lempeng HPTLC daur ulang pertama dan kedua memiliki presisi yang cukup baik untuk analisis kuantitatif (RSD < 2,5%). Untuk lempeng HPTLC daur ulang ketiga memiliki presisi RSD 2,94 sehingga tidak dapat digunakan untuk analisis kuantitatif meskipun dari perhitungan statistik menggunakan one-way ANOVA menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($F_{\text{obs}}=0.27 < F_{\text{tab}}=3.29$, $p=0,05$) pada % label claim yang ditemukan pada analisis kuantitatif dengan lempeng baru maupun lempeng daur ulang.

KESIMPULAN

Dari profil kromatografi hasil scanning dengan densitometer menunjukkan bahwa lempeng HPTLC daur ulang lebih bersih atau memiliki pengotor lebih sedikit

dibandingkan lempeng baru. Untuk data evaluasi analisis kuantitatif lempeng baru dan lempeng daur ulang menunjukkan bahwa lempeng HPTLC daur ulang pertama dan kedua memiliki presisi yang cukup baik untuk analisis kuantitatif (RSD < 2,5%). Pemanfaatan kembali lempeng HPTLC terbukti dapat meningkatkan efisiensi dan nilai ekonomis dari lempeng HPTLC.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dienstrop, E.H., 2000, *Applied Thin Layer Chromatography*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim
2. Sherma, J. and Bernand, F., 2003, *Handbook Of Thin Layer Chromatography*, 3rd Ed, Easton, Pennsylvania, USA, Lafayette College
3. Anonim, 2001, *The United State Pharmacopoeia 25-National Formulary 20*, Asia Ed; Rockville, United States Pharmacopoeial Convention
4. Anonim, 2000, *British Pharmacopoeia 2000*, London, The Stationary Office
5. Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Ed IV, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia
6. Indrayanto, G., and Yuwono, M., 2002, *Validation of TLC Analyses in Encyclopedia of Chromatography*, New York, USA, Marcel Dekker
7. Wulandari L, and Indrayanto G, 2003, *J. Liq. Chromat. & Related Tech*, 26, 2709-2717
8. Anonim, 2003, *Camag Bibliography Service*, Cumulative CD Version 1.09, Camag Muttenz.