

PENETAPAN KADAR TRIPROLIDINA HIDROKLORIDA DAN PSEUDOEFEDRINA HIDROKLORIDA DALAM SEDIAAN SIRUP OBAT INFLUENZA SECARA KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DENSITOMETRI

Hayun, Nelly D. Leswara dan Camelia D.P. Masrijal
Departemen Farmasi FMIPA-UI, Kampus UI Depok, 16424

ABSTRACT

The determination of pseudoephedrine hydrochloride and triprolidine hydrochloride in influenza syrup medicine has been performed using TLC densitometric method. Pseudoephedrine hydrochloride and triprolidine hydrochloride were extracted using chloroform at pH 12 from the syrup, and separated using HPTLC silica Kieselguhr glass plates 60 F 254, 20x10 cm² as stationary phase, and a mixture of methanol, ammonia and chloroform (40:2:30) as mobile phase. The plates were analyzed using Camag TLC Scanner 3 with UV-detector at 257 nm for pseudoephedrine hydrochloride and at 290 nm for triprolidine hydrochloride. The results showed that the linearity, limit of detection, and limit of quantitation of the method for pseudoephedrine hydrochloride were 0.9999, 0.0064 µg, and 0.2124 µg respectively; while for triprolidine hydrochloride were 0.9999, 0.0076 µg, and 0.0254 µg respectively. The coefficient of variance (CV) of repeatability for the two substances were less than 2.0%; and the recovery values for pseudoephedrine hydrochloride and triprolidine hydrochloride were 99.98 + 1.05% and 99.73 + 1.54% respectively. The result showed that the samples analysed contained pseudoephedrine hydrochloride 94.36% of the labeled amount, and triprolidine hydrochloride 94.44% of the labeled amount.

Key words : *pseudoephedrine hydrochloride, triprolidine hydrochloride, TLC densitometric method.*

PENDAHULUAN

Campuran pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl merupakan salah satu jenis kombinasi dalam formula sirup obat influenza (Anonim, 2005). Metode analisis yang telah digunakan untuk menetapkan kadar kedua komponen itu adalah dengan

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Anonim, 2003; Akhtar, 2007), dan spektrofotometri derivatif (Hayun *et al.*, 2006). Metode KCKT memerlukan waktu persiapan dan pelaksanaan analisis yang relatif lama dan biaya operasional yang tinggi, sedangkan metode spektrofotometri

derivatif lebih mudah pelaksanaannya dan murah biaya operasionalnya, tetapi tidak dapat diterapkan untuk sediaan sirup.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) - Densitometer (*TLC Scanner*) merupakan instrumen pengukur densitas bercak hasil pemisahan kromatografi lapis tipis. Instrumen dilengkapi dengan suatu perangkat optik, sumber cahaya dan detektor seperti halnya spektrofotometer (Touchstone dan Dobbins, 1983; Poole dan Khatib, 1987; Touchstone dan Sherma, 1979). Keuntungan utama analisis secara KLT-densitometri adalah memerlukan waktu lebih singkat dan lebih murah biaya operasionalnya dibandingkan KCKT (Jork *et al.*, 1990).

Tujuan penelitian ini adalah memperoleh kondisi analisis optimum dan tervalidasi untuk penetapan kadar pseudoefedrina hidroklorida dan triprolidina hidroklorida dalam sediaan sirup obat influenza secara KLT-densitometri.

BAHAN DAN CARA KERJA

BAHAN

Pseudoefedrina HCl (Mongolia Ertok Qianqi Fupin Ephedrine Factory), triprolidina HCl (Effepl Pharmaceutica), lempeng kaca 20 x 10 cm² HPTLC silika gel Kieselguhr 60 F 254 (Merck), metanol p.a. (Mallinckrodt), natrium hidroksida p.a., asam klorida, dan kloroform (Merck), sampel sirup merek dagang yang mengandung pseudoefedrina HCl 30 mg dan

triprolidina HCl 1,25 mg per 5 mL sirup.

ALAT

TLC-Scanner 3 yang dilengkapi program winCATS (Camag), bejana KLT 25x25x10 cm³ (Camag), mikrokapiler 1,0 µL (Camag), spektrofotometer UV-1601 (Shimadzu), sentrifugator, pH meter, alat pengaduk ultrasonik, timbangan analitik, dan alat-alat gelas.

CARA KERJA

Pemilihan panjang gelombang optimum detektor

Larutan pseudoefedrina HCl 600 ppm dan triprolidina HCl 25 ppm dalam HCl 0,1N masing-masing dibuat kurva serapannya menggunakan spektrofotometer uv-vis pada 200-400 nm dan dicatat λ maksimum yang diperoleh.

Pemilihan fase gerak untuk pemisahan zat uji

Larutan baku pseudoefedrina HCl dengan konsentrasi 6000 ppm dan triprolidina HCl dengan konsentrasi 2500 ppm dalam metanol masing-masing ditotolkan 1,0 µL pada lempeng HPTLC yang telah diaktifkan. Lempeng kemudian dielusi 8 cm dan bercak-bercak zat uji pada lempeng dianalisis menggunakan *TLC scanner*.

Elusi menggunakan fase gerak

campuran metanol, ammonia dan kloroform (80:1,5:20), (60:1,5:40), (45:2:35), (40:2:30) dan (37:2:32); dalam bejana KLT 25x25x10 cm³ yang dijenuhkan dengan uap fase gerak selama 2 jam. Pengaktifan lempeng dilakukan dengan cara pemanasan dalam oven 110°C selama 30 menit.

Uji Keterulangan

Larutan baku pseudoefedrina HCl dengan konsentrasi 3000, 6000 dan 9000 ppm dan triprolidina HCl dengan konsentrasi 1000, 2500 dan 7000 ppm dalam methanol, masing-masing ditotolkan 1,0 µL pada lempeng HPTLC yang telah diaktifkan, masing-masing enam kali penotolan dengan jarak penotolan 1,5 cm. Lempeng kemudian dielus 8 cm, dan bercak-bercak zat uji dianalisis menggunakan *TLC scanner*, serta dihitung simpangan baku dan koefisien variasi luas puncak densitogram yang diperoleh.

Linearitas, limit deteksi (LOD) dan limit kuantitasi (LOQ)

Larutan pseudoefedrina HCl dengan konsentrasi 3000, 5000, 6000, 7000, 9000, dan 10000 ppm dan larutan triprolidina HCl dengan konsentrasi 1000, 2000, 25000, 4000, 7000, dan 10000 ppm dalam metanol, masing-masing ditotolkan 1,0 µL pada lempeng HPTLC yang telah diaktifkan, dengan jarak penotolan 1,5 cm. Lempeng kemudian dielus 8 cm, bercak-bercak zat uji dianalisis

menggunakan *TLC scanner*, dan dibuat kurva kalibrasi, dianalisis hubungan antara konsentrasi dengan luas puncak densitogram, sehingga didapat persamaan regresi linear $y = a + bx$ beserta nilai koefisien korelasinya. Berdasarkan data kurva kalibrasi ini dilakukan pula perhitungan limit deteksi (LOD) dan limit kuantitasi (LOQ).

Pemilihan cara ekstraksi zat uji dalam sampel

Sampel ditimbang saksama setara dengan 50,0 mL enam kali, masing-masing ditambah 20 mL NaOH 25% sehingga diperoleh pH 12, diekstraksi dengan 100 mL kloroform (2x40 mL dan 1x20 mL); (1x40 mL dan 3x20 mL); atau (5x20 mL), pengocokan menggunakan vortex 1 menit, dan disentrifugasi 4000 rpm selama 20 menit. Fraksi kloroform dipisahkan dan diuapkan di atas penangas air, serta volume dicukupkan dengan metanol hingga :

- 50,0 mL, pada ekstraksi untuk analisis pseudoefedrina HCl; atau
- 5,0 mL, pada ekstraksi untuk analisis triprolidina HCl.

Kemudian larutan hasil ekstraksi ditotolkan 1,0 µL pada lempeng HPTLC yang telah diaktifkan masing-masing tiga kali penotolan dengan jarak penotolan 1,5 cm. Lempeng dielus 8 cm, dan bercak-bercak pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl dianalisis meng-

gunakan *TLC scanner*, serta dihitung kadarnya.

Penetapan kadar pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl dalam sampel

Sampel ditimbang saksama setara dengan 50,0 mL enam kali, tiga sampel diekstraksi dengan cara ekstraksi terpilih untuk pseudoefedrina HCl dan tiga sampel lainnya diekstraksi dengan cara ekstraksi terpilih untuk triprolidina HCl. Larutan hasil ekstraksi ditotolkan 1,0 μ L pada lempeng HPTLC yang telah diaktifkan masing-masing tiga kali penotolan dengan jarak penotolan 1,5 cm. Lempeng kemudian dielusi 8 cm, bercak-bercak pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl dianalisis menggunakan *TLC scanner*, dan dihitung kadarnya.

Uji perolehan kembali

A. Pseudoefedrina HCl

Sampel ditimbang saksama setara dengan 25,0 mL tiga kali, kemudian ditambahkan masing-masing 25,0 mL larutan baku pseudoefedrina HCl 3600, 6000, dan 8400 ppm, diekstraksi dengan cara ekstraksi terpilih untuk pseudoefedrina HCl, hasil-hasil ekstraksi ditotolkan 1,0 μ L pada lempeng HPTLC yang telah diaktifkan masing-masing tiga kali penotolan dengan jarak penotolan 1,5 cm. Lempeng kemudian dielusi 8 cm, bercak-bercak pseudoefedrina HCl dianalisis menggunakan *TLC scanner*, dan dihitung kadar perolehan kembalinya.

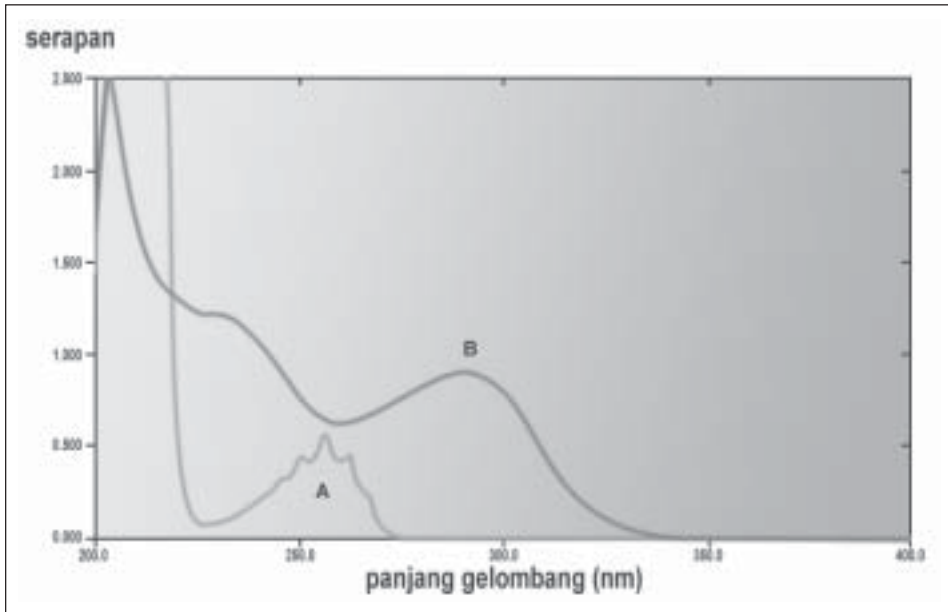
B. Triprolidina HCl

Sampel ditimbang saksama setara dengan 25,0 mL tiga kali, kemudian ditambahkan masing-masing 25,0 mL larutan baku triprolidina HCl 1500, 2500, dan 3500 ppm, diekstraksi dengan cara ekstraksi terpilih untuk triprolidina HCl, hasil-hasil ekstraksi ditotolkan 1,0 μ L pada lempeng HPTLC yang telah diaktifkan masing-masing tiga kali penotolan dengan jarak penotolan 1,5 cm. Lempeng kemudian dielusi 8 cm, bercak-bercak triprolidina HCl dianalisis menggunakan *TLC scanner*, dan dihitung kadar perolehan kembalinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemilihan panjang gelombang optimum detektor

Untuk membuat kurva serapan, larutan pseudoefedrina HCl dibuat dengan konsentrasi 600 ppm, sedangkan triprolidina HCl dibuat dengan konsentrasi 25 ppm. Hal ini disebabkan $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ pseudoefedrina HCl = 0,8, sedangkan $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ triprolidina HCl = 347 (Moffat, 1986). Panjang gelombang (λ) maksimum pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl masing-masing 257 dan 290 nm (Gambar 1). Pada λ 290 nm pseudoefedrina HCl tidak memberikan serapan, sedangkan pada λ 257 nm serapan triprolidina HCl minimum, sehingga pengukuran luas puncak densitogram bercak kedua zat uji ini dilakukan pada λ maksimum masing-masing.



Gambar 1. Kurva serapan pseudoefedrina HCl 600 ppm (A) dan triprolidina HCl 25 ppm (B) dalam HCl 0,1N. Panjang gelombang (λ) maksimum pseudoefedrina HCl 257 nm dan triprolidina HCl 290 nm.

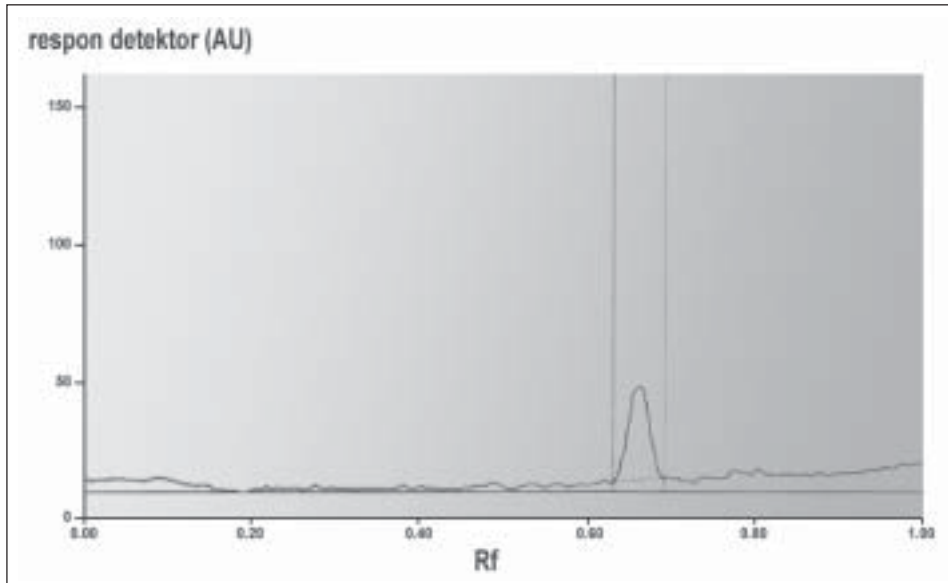
Pemilihan fase gerak untuk pemisahan zat uji

Data Rf pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl hasil elusi menggunakan lempeng HPTLC silika gel Kieselguhr 60 F 254 (Merck) dan fase gerak campuran metanol, amonia dan kloroform (80:1,5:20), (60:1,5:40),

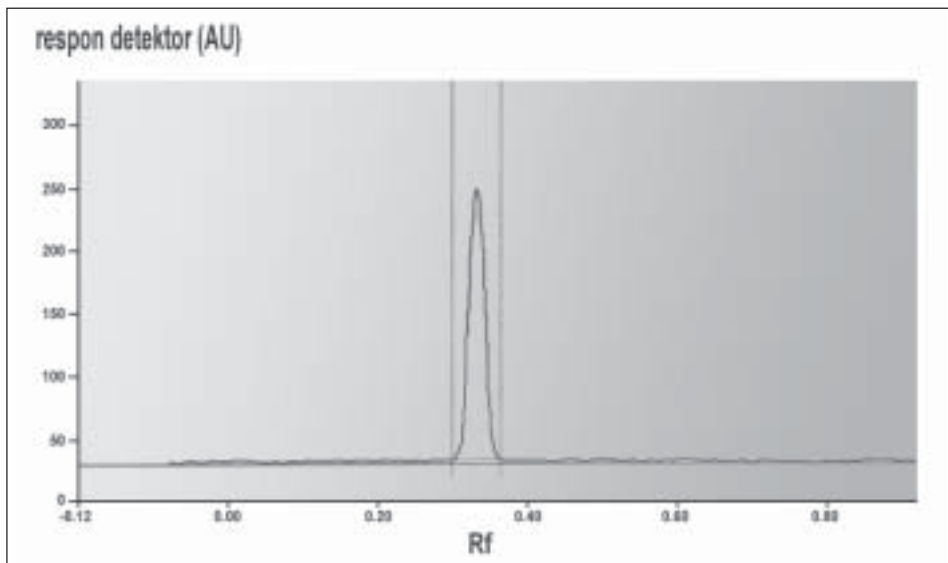
(45:2:35), (40:2:30) dan (37:2:32) dapat dilihat pada Tabel 1. Fase gerak campuran metanol, amonia dan kloroform (40:2:30) menghasilkan pemisahan terbaik, sehingga fase gerak ini dipilih sebagai fase gerak pada percobaan berikutnya (Gambar 2-3).

Tabel 1. Rf Pseudoefedrina HCl dan Triprolidina HCl dengan berbagai fase gerak.

Fase gerak	Perbandingan	Rf	
		Pseudoefedrina HCl	Tripolidina HCl
Metanol + amonia + kloroform	80:1,5:20	0,92	0,80
	60:1,5:40	0,89	0,65
	45:2:35	0,83	0,62
	40:2:30	0,65	0,36
	37:2:32	0,54	0,48



Gambar 2. Densitogram baku pseudoefedrina HCl. Fase diam lempeng kaca HPTLC silika gel Kieselguhr 60 F254, 20 x 10 cm², fase gerak campuran metanol, amonia, dan kloroform (40:2:30). Rf pseudoefedrina HCl 0,65.



Gambar 3. Densitogram baku triprolidina HCl. Fase diam lempeng kaca HPTLC silika gel Kieselguhr 60 F254, 20 x 10 cm², fase gerak campuran metanol, amonia, dan kloroform (40:2:30). Rf triprolidina HCl 0,36.

Tabel 2. Hasil uji keterulangan pseudoefedrina HCl

Kandungan zat uji pada bercak (μg)	Rata-rata Luas puncak densitogram bercak	Simpangan baku	Koefisien variasi (KV) (%)
3,00	285,11	0,2938	0,1030
6,00	496,07	0,3204	0,0646
9,00	707,84	0,4688	0,0662

Tabel 3. Hasil uji keterulangan triprolidina HCl

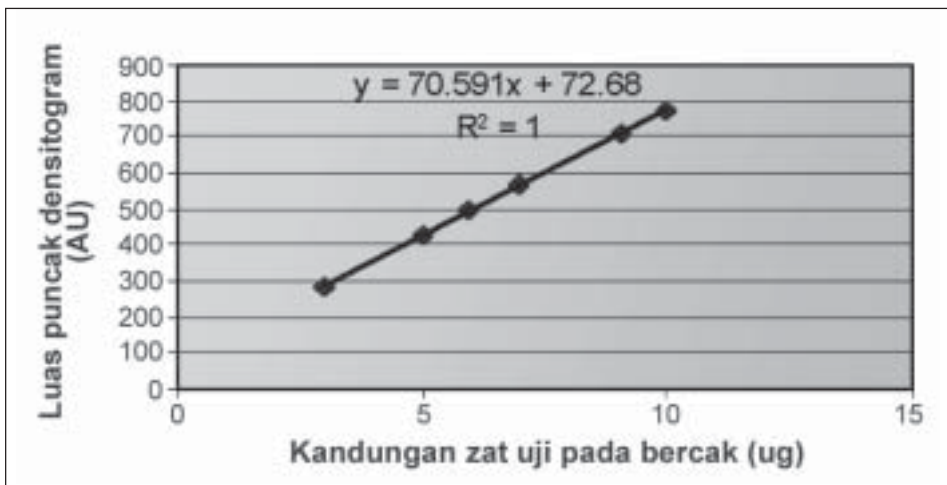
Kandungan zat uji pada bercak (μg)	Rata-rata Luas puncak densitogram bercak	Simpangan baku	Koefisien variasi (KV) (%)
1,00	3502,36	0,3592	0,0103
2,50	4108,80	0,7043	0,0171
7,00	5930,81	0,8190	0,0138

Uji Keterulangan

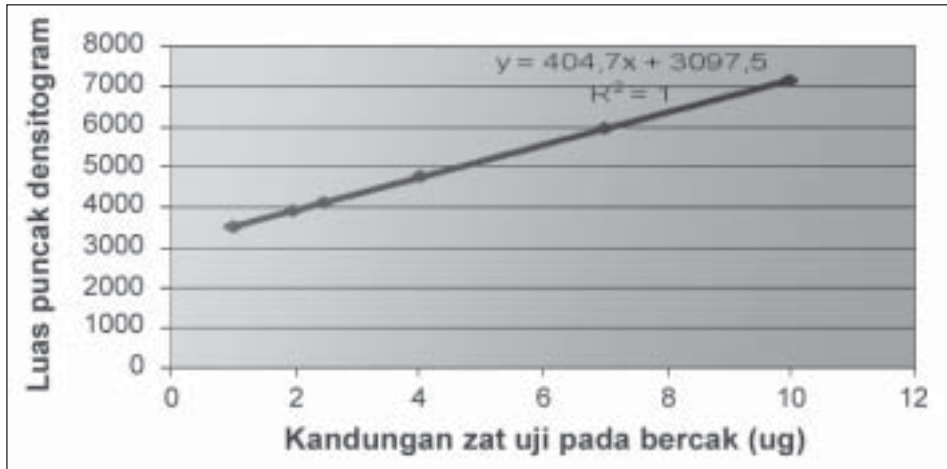
Hasil uji keterulangan analisis baku pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl menunjukkan metode ini mempunyai presisi yang baik, dengan nilai koefisien variasi (KV) lebih kecil dari 2% (Tabel 2-3).

Linearitas, limit deteksi (LOD) dan limit kuantitasi (LOQ)

Hasil analisis hubungan luas puncak densitogram pseudoefedrina HCl pada konsentrasi 3000 - 10000 ppm dan triprolidina HCl 1000 - 10000 ppm menghasilkan persamaan



Gambar 4. Kurva kalibrasi pseudoefedrina HCl



Gambar 5. Kurva kalibrasi triprolidina HCl

regresi linier $y = 70,59x + 72,68$ dengan koefisien korelasi (r) = 0,9999 untuk pseudoefedrina HCl, dan $y = 404,7x + 3097,5$ dengan koefisien korelasi (r) = 0,9999 untuk triprolidina HCl; limit deteksi (LOD) dan limit kuantitasi (LOQ) untuk bercak pseudoefedrina HCl berturut-turut 0,0064 μg dan 0,2124 μg ; sedangkan untuk bercak triprolidina HCl

berturut-turut 0,0076 μg dan 0,0254 μg (Tabel 4-5; dan Gambar 4-5).

Pemilihan cara ekstraksi zat uji dalam sampel

Kondisi ekstraksi dengan penambahan natrium hidroksida hingga pH12, diekstraksi 1x40 mL dan 3x20 mL, pengocokan dengan vortex 1 menit, dan disentrifugasi 4000 rpm

Tabel 4. Data dan perhitungan limit deteksi (LOD) dan limit kuantitasi (LOQ) pseudoefedrina HCl

Kandungan zat uji pada bercak (μg)	Luas puncak densitogram y(AU)	y' (AU)	$(y-y')^2$
3,02	285,82	285,86	0,0020
5,01	426,34	426,34	0
5,96	493,62	493,40	0,0474
6,99	565,91	566,11	0,0404
9,05	711,53	711,53	0
9,98	777,19	777,18	0,0001
			$\Sigma = 0,0900$
$r = 0,9999$		LOD = 0,0064 μg	
$y = 70,591x + 72,68$		LOQ = 0,2124 μg	

Tabel 5. Data dan perhitungan limit deteksi (LOD) dan limit kuantitasi (LOQ) triprolidina HCl

Kandungan zat uji pada bercak (μg)	Luas puncak densitogram $y(\text{AU})$	y' (AU)	$(y-y')^2$
1,0	3501,60	3502,2	0,3600
1,98	3900,18	3898,81	1,8879
2,49	4105,48	4105,20	0,0767
4,04	4731,14	4732,49	1,8171
7,00	5930,47	5930,40	0,0049
9,99	7140,71	7140,45	0,0660
			$\Sigma = 4,2127$
$r = 0,9999$		LOD = 0,0076 μg	
$y = 404,7 x + 3097,5$		LOQ = 0,0254 μg	

Tabel 6. Hasil ekstraksi pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl dari sampel dengan berbagai kondisi.

No.	Ekstraksi kloroform	Kadar (%)	
		Pseudoefedrina HCl	Tripolidina HCL
1	2x40 mL, 1x20 mL	91,19	91,89
2	1x40 mL, 3x20 mL	94,19	95,85
3	5x20 mL	84,16	69,18

Tabel 7. Hasil penetapan kadar pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl dalam sampel.

Zat Uji	Kadar pada label (mg/mL)	Luas puncak densitogram (AU)	Kadar hasil penetapan (mg/mL)	Kadar rata-rata (mg/mL)	Kadar dari label (%)
Pseudoefedrina HCl	6,00	471,7928	5,6539	5,6614 + 0,0115	94,36
		473,2534	5,6746		
		471,9198	5,6557		
Triprolidina HCl	0,25	4049,7406	0,2353	0,2361 + 0,0031	94,44
		4042,4173	0,2335		
		4066,4910	0,2394		

selama 20 menit, menghasilkan kadar pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl terbesar (Tabel 6). Kondisi ini dipilih sebagai kondisi ekstraksi pada percobaan berikutnya.

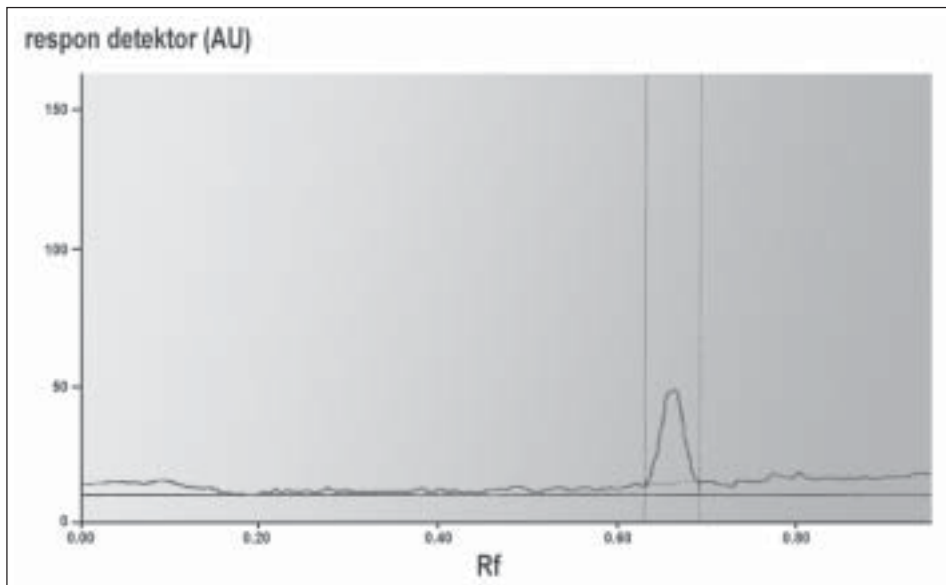
Penetapan kadar pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl dalam sampel

Rf puncak densitogram dan spektrum serapan bercak hasil ekstraksi sama dengan Rf puncak densitogram dan spektrum serapan bercak baku pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl (Gambar 6-9). Kadar rata-rata pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl dalam sampel masing-masing $5,6514 \pm 0,0115$ mg/mL dan $0,2361 \pm 0,0031$ mg/mL, atau 94,36 dan 94,44 % dari yang tertulis

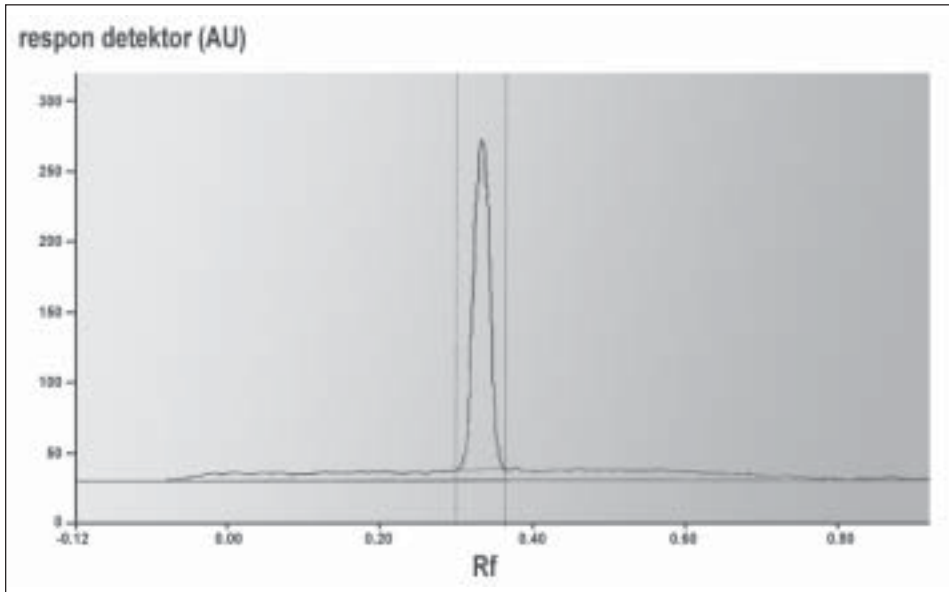
pada label (Tabel 7). Sirup pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl, menurut USP 26-NF 21 harus mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl yang tertulis pada label (Anonim, 2003).

Uji perolehan kembali

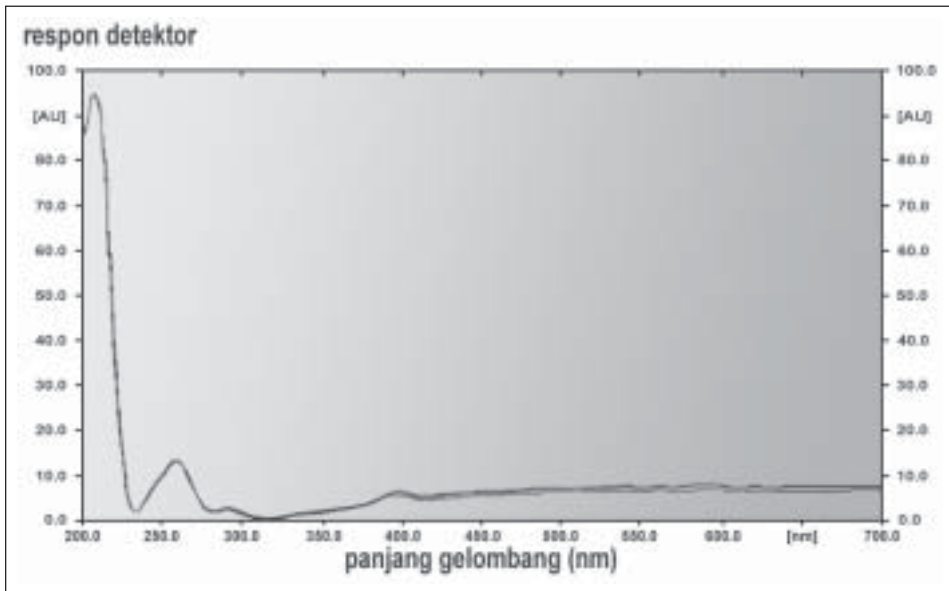
Uji perolehan kembali (UPK) dilakukan untuk mengetahui akurasi metode ini. Uji ini dilakukan dengan menggunakan metode adisi, karena komposisi lengkap dari sampel tidak diketahui. Hasil UPK pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl dari sirup obat influenza pada rentang kadar 80-120 % dari yang tertulis pada label adalah 100,26 % untuk pseu-



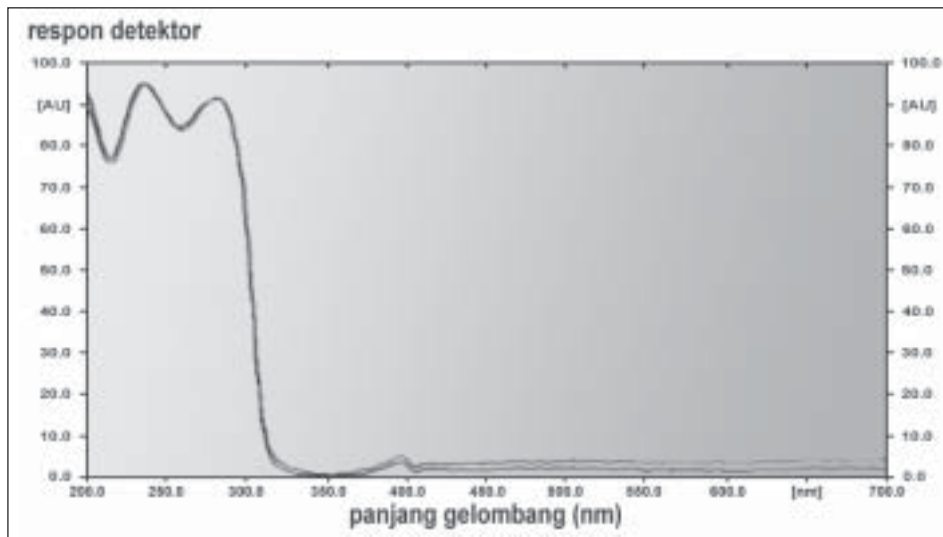
Gambar 6. Densitogram pseudoefedrina HCl dari sampel. Fase diam lempeng kaca HPTLC silika gel Kieselguhr 60 F254 20 x 10 cm², fase gerak campuran metanol, ammonia, dan kloroform (40:2:30).



Gambar 7. Densitogram triprolidina HCl dari sampel. Fase diam lempeng kaca HPTLC silika gel Kieselguhr 60 F254 20 x 10 cm², fase gerak campuran metanol, ammonia, dan kloroform (40:2:30).



Gambar 8. Perbandingan spektrum serapan bercak pseudoefedrina HCl dari sampel dan baku.



Gambar 9. Perbandingan spektrum serapan bercak triprolidina HCl dari sampel dan baku.

Tabel 8. Hasil uji perolehan kembali pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl dari sirup obat influenza

Zat Uji	Luas puncak densitogram (AU)	Kadar (mg/mL)			Perolehan Kembali (%)
		Hasil penetapan	Rata2 Hasil penetapan	Kadar seharusnya	
Pseudo-efedrina HCl	408,896	4,7629	4,7296	4,6308	102,13
	403,956	4,6929			
	406,779	4,7329			
	470,988	5,6425	5,6435	5,8308	96,79
	469,793	5,6255			
	472,400	5,6625			
	578,240	7,1618	7,1618	7,0308	101,86
576,828	7,1418				
579,651	7,1818				
				Rata-rata (%)	100,26
Tripro- lidina HCl	3915,292	0,2021	0,2014	0,1931	104,29
	3899,108	0,1981			
	3923,384	0,2041			
	4101,408	0,2481	0,2491	0,2431	102,68
	4113,546	0,2511			
	4101,408	0,2481			
	4259,202	0,2871	0,2898	0,2931	98,87
4263,248	0,2881				
4287,524	0,2941				
				Rata-rata (%)	101,95

doefedrina HCl dan 101,95 % untuk triprolidina HCl. Dari hasil ini menunjukkan bahwa metode ini mempunyai akurasi yang baik. UPK dilakukan dengan cara adisi karena formula sampel sirup yang dianalisis tidak diketahui. Data hasil UPK dapat dilihat pada Tabel 8.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa metode KLT-densitometri dapat digunakan untuk penetapan kadar pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl dalam sediaan sirup obat influenza dengan kondisi sebagai berikut : pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl diekstraksi dengan kloroform pada pH 12 dari sirup, dipisahkan menggunakan fase diam lempeng HPTLC silika Kieselguhr 60 F 254, 20x10 cm² dan fase gerak campuran metanol, ammonia dan kloroform (40:2:30).

Linieritas, presisi dan akurasi memenuhi persyaratan. LOD dan LOQ untuk pseudoefedrina HCl 0,0064 µg dan 0,2124 µg, untuk triprolidina HCl 0,0076 µg dan 0,0254 µg.

Kadar rata-rata pseudoefedrina HCl dan triprolidina HCl dalam sampel memenuhi persyaratan USP 26-NF 21.

DAFTAR ACUAN

Anonim. 2005. *Informasi Spesialite Obat Indonesia*, volume 40. Jakarta:

Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia, 327–338.

Anonim. 2003. *United States Pharmacopoeia 26-NF 21*. Rockville : United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 579–581, 878–885, 1588–1591, 1897–1901.

Akhtar, M.J. 2007. High Performance Liquid Chromatographic Assay for the Determination of Paracetamol, Pseudoephedrine Hydrochloride and Triprolidine Hydrochloride. *http://www.sciencedirect.com/journal-of-pharmaceutical-and-biomedical-analysis*. Vol 12, No. 3, p.379-382. January 10th, 2007, at 14: 30.

Hayun *et al.*, 2006. Penetapan Kadar Triprolidina Hidroklorida dan Pseudoefedrina Hidroklorida dalam tablet antiinfluenza secara Spektrofotometri Derivatif. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol 3, No. 2, Agustus 2006.

Jork, H., Funk, W., Fischer, W. and Wimmer, H. 1990. *Thin-Layer Chromatography, Reagents and Detection Methods*. Weinheim : VCH Verlagsgesellschaft mbH, 3-7.

Moffat, A.C. 1986. *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*, 2nd edition. London : The Pharmaceutical Press, 1187, 1328.

Poole, C.F. and Khatib, S. 1987. Quantitative Thin Layer Chromatography. In Katz E. *Quantitative Analysis Using Chromatography Techniques*, Chapter 6. Norwalk: John Wiley & Sons, Ltd, 441-442.

- Touchstone, J.C. and Sherma, J.1979. *Densitometry in Thin Layer Chromatography Practice and Applications*. New York : John Wiley & Sons, Ltd., 128-129.
- Touchstone, J.C. and Dobbins, J.C. 1983. *Practice of Thin Layer Chromatography*. 2nd edition. New York : John Wiley & Sons, Inc., 315.