

STUDI PENGARUH BAHAN TAMBAHAN PADA POLA PUNCAK KROMATOGRAM TABLET PARASETAMOL DENGAN TLC-SPEKTROFOTODENSITOMETRI UNTUK DRUG PROFILING

Kadek Joni Prayoga¹, Ni Putu Linda Laksmiani¹, I Nengah Kadjeng Widjaja¹

¹Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

artmostphere@yahoo.com

ABSTRACT

The study of chromatogram peak pattern by influence of excipient in paracetamol tablet with TLC-Spectrophotodensitometry method for drug profiling has been done. Sample (6 kind of paracetamol tablets from different factory) and reference compounds were analyzed with TB (cyclohexane : toluene: diethylamine = 75:15:10) and TAEA (toluene : acetone : ethanol: ammonia = 45:45:7:3) as mobile phase and Al-TLC Si 60 G F254 as stationary phase.

The initial step was non analyte peak reduction on Al-TLC plate with washing method, drying time and temperature variation. Sample was extracted with 1 ml chloroform and Na₂CO₃ buffer pH 10 and spotted on AL-TLC plate. First, sample extract from same factory was spotted on one plate, continued by sample extract from 6 different factories on one plate which is replicated five fold on each plate that different. Plate was eluted and scanned at 210 nm. Chromatogram was analyzed by cosine and cluster function. C₉₅ value that was calculated from sample was used as a parameter to determine the influence of excipient toward chromatogram peak pattern.

The result of this research showed that each tablet from same factory gave C₉₅ value near 100 if calculated with cosine function (96 - 98,7 for TB and 78 - 83 for TAEA), whereas if all tablets from 6 different factories was used, the excipient from each tablet will give C₉₅ value alteration (63 for TB and 68 for TAEA). Cluster analysis will divide sample into 3 different groups for TB and 1 group for TAEA.

Keywords : excipient, chromatogram peak pattern, cosine function, cluster analysis, TLC-Spectrophotodensitometry.

I. PENDAHULUAN

Penyalahgunaan dan peredaran gelap narkoba di Indonesia menunjukkan kecenderungan yang terus meningkat, dan bahkan telah sampai pada batas yang mengkhawatirkan kehidupan masyarakat, bangsa dan negara. Indonesia saat ini bukan hanya sebagai tempat transit dalam perdagangan dan peredaran gelap narkoba, tetapi telah menjadi tempat pemasaran dan bahkan telah menjadi tempat produksi narkoba. Penyalahgunaan narkotika dan psikotropika tahun 2002 ada 3.751 kasus, tahun 2006 sebanyak 17.355 kasus, dan tahun 2007 mencapai 20.669 kasus (BNN, 2008). Strategi yang ditempuh oleh lembaga-lembaga penegak hukum untuk mengatasi peningkatan jumlah kasus narkoba, berkembangnya laboratorium narkoba ilegal, serta meluasnya peredaran narkoba adalah *drugs profiling* (Dayrit and Dumlaol, 2004).

Drug profiling merupakan karakterisasi fisika dan kimia sediaan narkoba sehingga diperoleh profil/sidik jari sediaan tersebut (Esseiva, *et al.*, 2003). Selain senyawa utama pada setiap sediaan, *drugs profiling* juga harus dilakukan terhadap bahan-bahan lainnya yang ada dalam sediaan seperti pengencer (*diluents*),

pencampur (*adulterants*), pengotor pada prekursor dan bahan baku kimia lainnya yang muncul selama proses produksi, terbentuk sebagai hasil samping selama proses sintesis, atau selama penyimpanan (United Nations Office and Drug Crime, 2001). Profil dari pengotor (*impurities*) dapat menyediakan informasi berharga yang berhubungan dengan metode sintesis yang digunakan dan berguna dalam identifikasi dari suatu sampel narkoba dengan sumber atau *batch* yang sama (Kochana *et al.*, 2003). Diharapkan dengan analisis *drug profiling* ini, karakterisasi sifat kimia dan fisika dari senyawa yang terkandung dalam suatu sediaan narkoba dapat ditetapkan.

Obat-obatan biasanya terdapat dalam campuran, sangat jarang dalam bentuk senyawa aktif itu sendiri. Karena perbedaan produsen, komposisi kimia dari obat-obatan tersebut menunjukkan variabilitas yang luas. Pola kromatogram yang dimiliki bahan-bahan tambahannya menentukan profil sediaan secara total, dengan demikian setiap sediaan akan memiliki pola kromatogram yang khas (United Nations Office on Drugs and Crime, 2001).

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan pemanfaatan TLC dan HPTLC Spektrofotodensitometri untuk analisis *drugs*

profiling dengan dua sistem kromatografi yang berbeda yaitu sistem TB (sikloheksana:toluen:dietil amin = 75:15:10) dan TAEA (toluen:aseton:etanol:ammonia = 45:45:7:3), menggunakan model tablet Molexflu[®] dan Decolsin[®] dengan nomor *batch* yang sama dalam simulasi serta memanfaatkan fungsi cosinus dalam analisis data. Nilai C yang lebih tepat akan diberikan oleh pengelompokan sampel berdasarkan harga hR_f dan perhitungan Nilai C berdasarkan semua puncak dibandingkan dengan yang berdasarkan puncak analit memberikan distribusi Nilai C yang berbeda (Aristana, 2009; Astuti, 2009). Sedangkan Wijayanti (2009) melakukan studi keterulangan pola puncak kromatogram HPTLC metamfetamin yang dielusi dengan fase gerak TB dimana variasi harga hR_f analit ini dapat direduksi dengan mengkoreksinya menjadi hR_f.

Pada penelitian ini akan dilakukan pemanfaatan TLC Spektrodensitometri untuk mengetahui pengaruh bahan tambahan terhadap pola kromatogram yang dihasilkan dengan menggunakan beberapa tablet dengan kandungan utama yang sama tetapi berasal dari tempat produksi yang berbeda. Sebagai model akan digunakan beberapa tablet farmasetika yang mengandung parasetamol dari pabrik yang berbeda, karena obat ini mudah didapatkan di pasaran serta kesulitan dalam memperoleh sampel narkoba dalam jumlah yang besar untuk keperluan penelitian ini.

II. BAHAN DAN METODE

2.1 Reduksi Puncak Non Analit pada Plat Al-TLC

A. Reduksi Puncak Non Analit pada Plat Al-TLC Melalui Berbagai Cara Pencucian dengan Metanol

Reduksi dilakukan dengan 3 perlakuan pencucian plat Al-TLC. Perlakuan pertama, plat dielusi dengan metanol sampai ujung atas plat; perlakuan kedua, plat dielusi dengan metanol dibiarkan tetap terelusi selama 30 menit setelah metanol mencapai tepi atas plat; dan perlakuan ketiga, plat dielusi dengan cara yang sama hanya saja ditambahkan kertas tissue pada tepi atas chamber hingga metanol mencapai kertas tissue selama 30 menit. Ketiga plat dipanaskan dalam oven 120⁰C selama 20 menit, didinginkan 30 menit kemudian discan pada panjang gelombang 210 nm hingga didapatkan kromatogram dari pengotor akibat pencucian plat.

Dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali dengan metode yang sama. Dihitung nilai C₉₅, SD dan KV masing-masing perlakuan. Hasil paling optimal (nilai C₉₅ paling mendekati 100, SD dan KV terkecil) akan digunakan pada prosedur berikutnya.

B. Reduksi Puncak Non Analit pada Plat Al-TLC Setelah Pengerinan dengan Variasi Waktu dan Suhu

Reduksi dilakukan setelah plat dielusi dengan fase gerak TB dan TAEA. Dilakukan variasi suhu dan waktu pengerinan dalam oven dengan suhu 60⁰ C selama 5 menit, 10 menit, dan 20 menit serta dengan suhu 70⁰ C selama 5 menit dan 10 menit. Plat didinginkan selama 30 menit lalu di-*scan* pada panjang gelombang 210 nm. Dilakukan pengulangan terhadap 15 plat lainnya dengan metode yang sama menggunakan TAEA sebagai fase gerak. Dihitung nilai C₉₅, SD dan KV masing-masing perlakuan. Hasil paling optimal (nilai C₉₅ paling mendekati 100, SD dan KV terkecil) akan digunakan pada prosedur berikutnya.

2.2 Metode Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan pada 6 tablet parasetamol dari pabrik yang berbeda sebanyak 5 kali pengulangan. Sampel digerus dalam mortir terpisah hingga menjadi serbuk yang homogen kemudian ditimbang. Serbuk sampel dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi yang berbeda dan diberi label. Ke dalam masing-masing tabung reaksi ditambahkan 10 ml dapar Na₂CO₃ pH 10, dikocok dengan alat pengaduk mekanik pada kecepatan 2000 rpm selama 30 menit. Larutan yang telah bercampur homogen selanjutnya disaring dengan kertas saring *whatman*. Filtrat ditampung ke dalam masing-masing tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml kloroform, dikocok dengan alat pengaduk mekanik pada kecepatan 2500 rpm selama 30 menit, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Fase kloroform ditampung dan dimasukkan ke dalam tabung ependorf.

2.3 Penentuan Kromatogram Sampel

Masing-masing 2 µl fase kloroform dan campuran larutan standar kodein, MDMA, amitriptilin, bromheksin untuk TB dan morfin, kodein, kafein, papaverin dan

bromheksin untuk TAEA ditotolkan pada plat Al-TLC yang telah dicuci dan diaktifkan dengan perlakuan pencucian terbaik. Penotolan pertama dilakukan dengan menotolkan sampel yang berasal dari pabrik dan batch yang sama dalam 1 plat, dilanjutkan dengan penotolan sampel yang berasal dari 6 pabrik berbeda dalam 1 plat dengan 5 kali pengulangan. Penotolan analit menggunakan nanomat dengan jarak antar penotolan 10 mm dan 10 mm dari tepi plat. Plat dimasukkan ke dalam chamber yang telah dijenuhkan dengan fase gerak sistem TB selama 30 menit. Plat dielusi secara vertikal dengan fase gerak sistem TB sejauh 8 cm dari tepi bawah plat. Selanjutnya plat dikeluarkan dan didinginkan, pengeringan plat menggunakan perlakuan pengeringan terbaik. Plat yang sudah kering *discan* pada panjang gelombang 210 nm dengan *TLC Scanner 3* (Spektrofotodensitometri) sehingga diperoleh data berupa hRf dan AUC dari sampel. Dilakukan pengulangan dengan metode yang sama menggunakan TAEA sebagai fase gerak.

2.4 Evaluasi Data

- A. Masing-masing 5 ekstrak sampel dari pabrik yang sama ditotolkan dalam 1 plat. Dilakukan perhitungan hRfc, lalu AUC dari masing-masing puncak kromatogram pada masing-masing sampel dikelompokkan berdasarkan harga hRfc. Data hRfc dan AUC ini dimasukkan ke dalam persamaan cosinus kemudian dihitung dengan program *Microsoft excell* dan SPSS, sehingga diperoleh distribusi nilai korelasi cosinus dengan tingkat kesalahan 5% (C_{95}) masing-masing sampel.
 - B. Ekstrak sampel dari 6 pabrik berbeda ditotolkan pada 1 plat dan dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Dilakukan perhitungan hRfc, lalu AUC dari masing-masing puncak kromatogram pada masing-masing sampel dikelompokkan berdasarkan harga hRfc. Data hRfc dan AUC sampel yang sama pada 5 plat berbeda ini dimasukkan ke dalam persamaan cosinus kemudian dihitung dengan program *Microsoft excell* dan SPSS, sehingga diperoleh distribusi nilai korelasi cosinus dengan tingkat kesalahan 5% (C_{95}) masing-masing sampel. Apabila nilai C_{95} masing-masing sampel tidak mendekati nilai 100,
- sebaiknya pengaruh puncak non analit diminimalkan terlebih dahulu.
 - C. Meminimalkan puncak non analit dilakukan dengan cara menaikkan integrasi tinggi minimum puncak pada titik 20 AU, 30 AU, dan 40 AU, lalu memotong *baselinenya* pada titik tersebut pada program *Wincats*. Nilai C_{95} masing-masing sampel pada titik perpotongan dihitung, kemudian perpotongan yang memberikan nilai C_{95} paling mendekati 100 akan digunakan pada perhitungan prosedur berikutnya.
 - D. Ekstrak sampel dari 6 pabrik berbeda ditotolkan pada 1 plat dan dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Dilakukan perhitungan hRfc, kemudian AUC dari masing-masing puncak kromatogram pada masing-masing sampel kemudian dikelompokkan berdasarkan harga hRfc. Data hRfc dan AUC sampel dimasukkan ke dalam persamaan cosinus kemudian dihitung dengan program *Microsoft excell* dan SPSS, sehingga diperoleh distribusi nilai korelasi cosinus dengan tingkat kesalahan 5% (C_{95}). Setelah itu dilakukan pengelompokan dengan program MINITAB dan diolah secara statistika melalui analisis *cluster* dengan metode pengelompokan *single linkage*. Batas kemiripan (*Similarity level*) yang digunakan dalam menentukan pengelompokan adalah nilai C_{95} tertinggi yang didapatkan dari perhitungan cosinus sampel dari *batch* yang sama.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Reduksi Puncak Non Analit pada Plat Al-TLC

A. Reduksi Puncak Non Analit pada Plat Al-TLC Melalui Berbagai Cara Pencucian dengan Metanol

Puncak-puncak non analit yang muncul pada plat Al-TLC pada masing-masing perlakuan dimasukkan ke dalam persamaan cosinus, kemudian dihitung menggunakan program *Microsoft Excell 2007* dan SPSS 15.0, sehingga diperoleh distribusi nilai korelasi cosinus (C) dan nilai korelasi cosinus dengan tingkat kesalahan 5% (C_{95}) masing-masing perlakuan yang ditampilkan dalam bentuk histogram.

Setelah dilakukan perhitungan, maka diperoleh hasil pada tabel 3.1. Parameter yang digunakan dalam menentukan perlakuan pencucian plat Al-TLC terbaik

adalah nilai C_{95} rata-rata (C_{95}) yang paling mendekati nilai 100, serta standar deviasi (SD) dan koefisien variasi (KV) terkecil dari masing-masing perlakuan. Menurut Veryanti (2010) yang melakukan penelitian menggunakan tablet parasetamol, korelasi sampel dikatakan mendekati 100 apabila memiliki nilai C_{95} lebih besar atau sama dengan 84, karena pada nilai ini sampel dikatakan berada pada satu *batch*. Dari tabel 4.1 terlihat bahwa perlakuan ketiga memberikan hasil pencucian dengan nilai C_{95} rata-rata (C_{95}) 90,22 serta nilai SD dan KV masing-masing sebesar 6,31 dan 7,00. Bisa dikatakan perlakuan ketiga memberikan keterulangan data yang baik (*repeatable*) dapat dilihat dari nilai KV dan SD paling kecil diantara ketiga perlakuan lainnya sehingga akan digunakan untuk prosedur berikutnya.

B. Reduksi Puncak Non Analit pada Plat Al-TLC Setelah Pengeringan dengan Variasi Waktu dan Suhu

Puncak non analit yang muncul akibat variasi waktu dan suhu pengeringan dihitung dengan persamaan cosinus dan diperoleh nilai C_{95} masing-masing perlakuan. Kemudian dihitung nilai SD dan KV maka akan diperoleh hasil pada tabel 3.2 dan 3.3.

Dari tabel, pengeringan fase gerak dengan suhu 60°C selama 10 menit memberikan nilai C_{95} rata-rata (C_{95}) terbesar yaitu 90,67 untuk TB dan 96,47 untuk TAEA, serta nilai SD dan KV terkecil yaitu masing-masing sebesar 2,08 dan 2,30 untuk TB; 2,38 dan 2,47 untuk TAEA. Berdasarkan data tersebut, maka untuk prosedur selanjutnya, pengeringan plat setelah elusi dengan fase gerak TB dan TAEA akan dilakukan pada suhu 60°C selama 10 menit.

Tabel 3.1 Nilai C_{95} Masing-Masing Perlakuan Pencucian Plat Al-TLC

Pengulangan	C_{95}		
	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
1	0	84,99	86
2	7	54	95
3	3	0	97
4	68	90	93
5	48	0	82,1
C_{95}	38,6	46,44	90,22
SD	30,87	44,02	6,31
KV	79,96	94,79	7,00

Keterangan : Perlakuan 1= Plat dielusi biasa dengan metanol; Perlakuan 2= Plat dielusi biasa dengan metanol sampai tepi atas plat, kemudian dibiarkan selama 30 menit; Perlakuan 3 =Tepi atas plat disangga dengan kertas *tissue*, plat dielusi dengan metanol sampai tepi atas plat, kemudian dibiarkan selama 30 menit.

Tabel 3.2 Nilai C_{95} Masing-Masing Perlakuan Pengeringan Fase Gerak TB

PLAT	C_{95}				
	60°C 5 menit	60°C 10 menit	60°C 20 menit	70°C 5 menit	70°C 10 menit
1	70	89	77,1	93,273	45
2	50	93	78	77	81
3	90	90	49	9	72
C_{95}	70,00	90,67	68,03	59,76	66,00
SD	20,00	2,08	16,49	44,70	18,73
KV	28,57	2,30	24,24	74,81	28,39

Tabel 3.3 Nilai C_{95} Masing-Masing Perlakuan Pengeringan Fase Gerak TAEA

PLAT	C_{95}				
	60°C 5 menit	60°C 10 menit	60°C 20 menit	70°C 5 menit	70°C 10 menit
1	80	98,6	94,6	98	93
2	65	96,92	50	54	95,1
3	81	93,9	90	92,5	27
C_{95}	75,33	96,47	78,20	81,50	71,70
SD	8,96	2,38	24,53	23,97	38,73
KV	11,90	2,47	31,37	29,42	54,01

3.2 Distribusi Nilai Korelasi Cosinus (C) Sampel dari Pabrik yang Sama

A. Distribusi Nilai Korelasi Cosinus (C) Sampel dari Pabrik yang Sama pada Satu Plat

Sampel yang sama dengan lima kali pengulangan ditotolkan pada satu plat, kemudian dielusi menggunakan fase gerak TB dan TAEA. Semua puncak yang muncul dimasukkan kedalam persamaan *cosinus* dan terlihat bahwa distribusi nilai korelasi cosinus (C) sampel yang sama pada satu plat, baik menggunakan fase gerak TB ataupun TAEA sama-sama mendekati nilai 100. Nilai C_{95} masing-masing sampel dapat dilihat pada tabel 3.4.

Dari tabel 3.4 diatas, korelasi antar sampel pada satu plat sama-sama memberikan nilai C_{95} mendekati 100 yaitu dengan rentang 90 sd. 94 untuk TB dan 84,3 sd. 93,8 untuk TAEA. Hal ini disebabkan karena sampel yang berasal dari satu pabrik dengan *batch* yang sama memiliki komposisi dan jenis zat yang sama.

B. Distribusi Nilai Korelasi Cosinus (C) Sampel dari Pabrik yang Sama pada Plat yang Berbeda

Pada 5 plat yang berbeda dielusi 5 ekstrak sampel dari pabrik yang sama menggunakan fase gerak TB dan TAEA. Sampel dari masing-masing plat tersebut dikorelasikan dengan memasukkan semua puncak yang muncul ke dalam perhitungan, sehingga diperoleh distribusi nilai korelasi cosinus (C).

Dari tabel 3.5 dapat dilihat bahwa dengan menggunakan plat yang berbeda, nilai korelasi cosinus (C) dan nilai C_{95} menjauhi nilai 100 pada kedua fase gerak walaupun sampel yang digunakan sama, yaitu dengan rentang 25 sd. 57 untuk TB dan 2 sd. 15 untuk TAEA. Hal ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan plat Al-TLC yang digunakan akan memberikan variasi pola puncak non analit yang mempengaruhi puncak yang diberikan oleh analit sehingga nilai korelasi cosinus semakin menjauhi nilai 100.

Tabel 3.4 Nilai Korelasi Cosinus (C) Sampel Sama Pada Satu Plat Menggunakan Fase Gerak TB dan TAEA

Sampel	C_{95}					
	1	2	3	4	5	6
TB	90	90	92,43	90	94	92
TAEA	90	87	88	84,3	89	93,8

Tabel 3.5 Nilai Korelasi Cosinus (C) Sampel Sama Pada Satu Plat Menggunakan Fase Gerak TB dan TAEA

Sampel	C_{95}					
	1	2	3	4	5	6
TB	44	30	54	42	25	57
TAEA	8	10	15	2	6	7

C. Perbaikan Distribusi Nilai Korelasi Cosinus (C) Sampel dari Pabrik yang Sama pada Plat yang Berbeda dengan Meminimalkan Pengaruh Non Analit

Meminimalkan puncak non analit dilakukan dengan menurunkan kepekaan detektor sehingga beberapa puncak non analit tidak terdeteksi. Misalnya suatu sampel dinaikkan tinggi minimum puncaknya dari 10 AU (*default*) menjadi 40 AU, berarti puncak-puncak kromatogram yang dibaca oleh alat hanyalah puncak dengan tinggi 40 AU keatas, puncak dengan tinggi dibawah itu tidak akan terbaca.

Dalam penelitian ini, tinggi minimum puncak kromatogram

dinaikkan berturut-turut sebesar 20 AU, 30 AU, dan 40 AU.

Dari tabel 3.6 terlihat bahwa nilai C_{95} masih menjauhi nilai 100 setelah tinggi minimum puncak dinaikkan dari 10 AU menjadi 20 AU dan 30 AU pada fase gerak TB dan TAEA. Pada saat tinggi minimum puncak dinaikkan menjadi 40 AU puncak non analit akan tereduksi, sehingga nilai C_{95} yang diberikan akan mendekati nilai 100 yaitu pada rentang 96 s.d 98,7 untuk fase gerak TB, sedangkan dengan fase gerak TAEA pada rentang 78 s.d 83. Sehingga pada prosedur berikutnya akan digunakan data hRfc dan AUC sampel dengan tinggi minimum puncak yang telah dinaikkan menjadi 40 AU.

Tabel 3.6 Nilai C_{95} Masing-Masing Sampel Pada Plat Yang Berbeda Dengan Variasi Tinggi Minimum Puncak

Sampel	C_{95}					
	TB			TAEA		
	20 AU	30 AU	40 AU	20 AU	30 AU	40 AU
1	58	60	96	58	71	83
2	4	53	97	48	57	80
3	44	65,14	97	60,7	65	81
4	49	52	98	56	59	82
5	8	41	96,5	34	60	83
6	51	54	98,7	40	81	78

3.3 Distribusi Nilai Korelasi Cosinus (C) Sampel dari Pabrik Berbeda dan Pengelompokannya dengan Analisis Cluster

Perhitungan distribusi nilai korelasi cosinus (C) dan pengelompokannya menggunakan analisis *cluster* dilakukan dengan memanfaatkan data hRfc dan AUC kromatogram sampel tablet parasetamol dari 6 pabrik berbeda pada 5 plat Al-TLC.

A. Distribusi Nilai Korelasi Cosinus (C) dan Pengelompokan Sampel dari 6 Pabrik Berbeda dengan Memasukkan Semua Puncak ke Dalam Perhitungan

Semua data hRfc dan AUC sampel dimasukkan dalam persamaan cosinus, nilai korelasi cosinus (C) sampel ditampilkan dalam bentuk histogram (gambar 3.1 (a) dan 3.1 (b)).

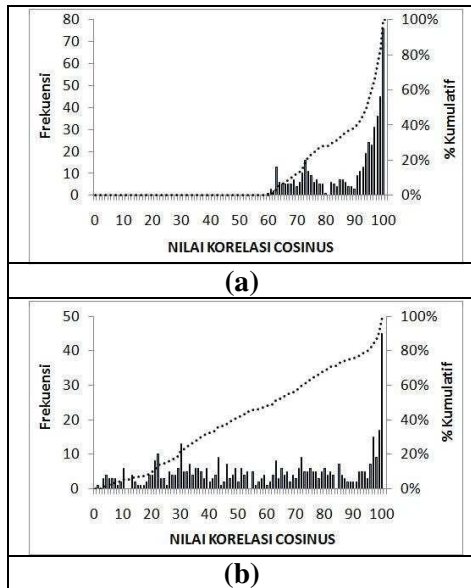
Dari histogram dapat dilihat bahwa distribusi nilai korelasi cosinus (C) sampel

menjauhi nilai 100 baik pada fase gerak TB dan TAEA. Nilai C_{95} sampel mengalami pergeseran menjadi 63 untuk TB dan 9 untuk TAEA, sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan diantara 6 sampel dari pabrik yang berbeda dengan kandungan utama yang sama yaitu parasetamol. Untuk mengetahui hubungan kemiripan diantara keenam sampel dan pengelompokannya maka dilakukan analisis *cluster*.

Data hRfc dan AUC dari 5 seri sampel ditabulasikan kemudian dihitung pengelompokannya menggunakan program MINITAB 14. Nilai C_{95} tertinggi yang didapatkan dari perhitungan cosinus sampel dari *batch* yang sama dijadikan acuan batas kemiripan (*similarity level*) untuk mengelompokkan dua atau lebih jenis tablet parasetamol, yaitu pada penelitian ini 98,7 untuk TB dan 83 untuk TAEA (Murryastika, 2010; Veryanti, 2010). Pengelompokan antar sampel dari 6 pabrik yang berbeda

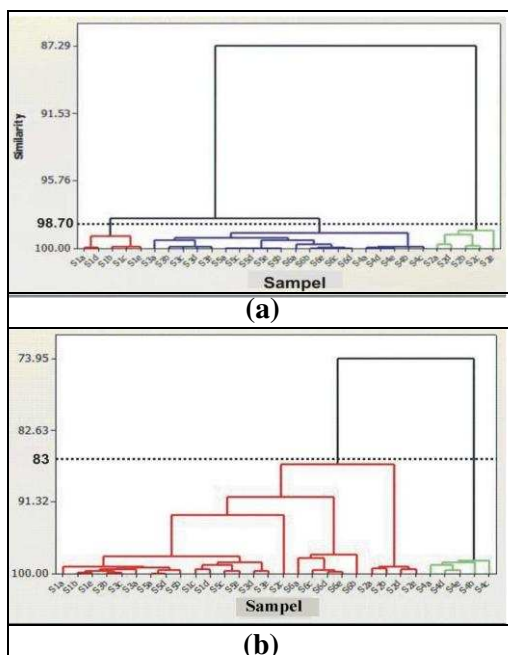
ditampilkan dalam bentuk dendogram (gambar 3.2 (a) dan 3.2 (b)).

Dari data dendogram dapat dilihat bahwa terbentuk 3 kelompok (TB) dan 2 kelompok (TAEA) berdasarkan ukuran kemiripan antar sampel.



Gambar 3.1 Histogram nilai korelasi cosinus (C) sampel dari pabrik yang berbeda memasukkan semua puncak dengan fase gerak TB dan TAEA

Keterangan : (a) = Elusi dengan fase gerak TB; (b) = Elusi dengan fase gerak TAEA; — = % kumulatif; — = Frekuensi pemunculan



Gambar 3.2 Dendogram pengelompokan sampel dari 6 pabrik berbeda memasukkan semua puncak dengan fase gerak TB dan TAEA

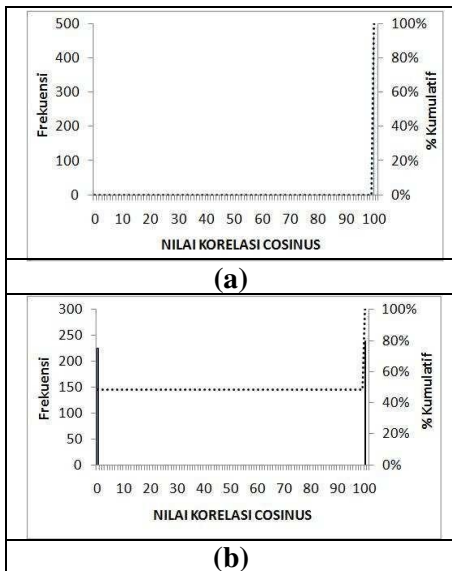
B. Distribusi Nilai Korelasi Cosinus (C) dan Pengelompokan Sampel dari 6 Pabrik Berbeda dengan Memasukkan Puncak Analit Utama ke Dalam Perhitungan

Pada hasil sebelumnya terlihat bahwa terjadi perbedaan nilai C_{95} dan pengelompokan dengan analisis *cluster* menggunakan fase gerak TB dan TAEA. Seharusnya pada kedua fase gerak ini memberikan nilai C_{95} dan jumlah kelompok yang sama, karena sampel yang digunakan pada perhitungan adalah sama. Hal ini terjadi karena adanya variasi antar puncak yang ditimbulkan oleh analit (puncak utama atau parasetamol dan puncak bahan tambahannya) sehingga perlu dilakukan perhitungan nilai corelasi cosinus serta pengelompokan dari puncak utama (parasetamol) masing-masing sampel.

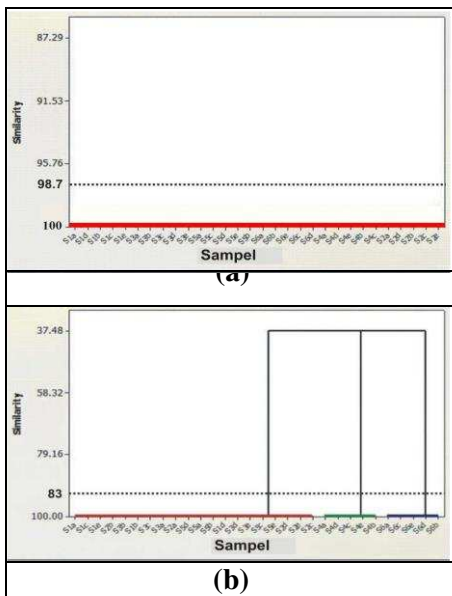
Puncak parasetamol dari 6 pabrik berbeda pada hR_{fc} dan AUC tertentu dimasukkan dalam persamaan cosinus, kemudian nilai distribusi cosinus (C) sampel ditampilkan dalam bentuk histogram (gambar 3.3 (a) dan 3.3 (b)). Dari histogram tersebut terlihat bahwa dengan menggunakan fase gerak TB distribusi nilai korelasi cosinus (C) berada pada nilai 100 karena puncak yang dimasukkan adalah sama yaitu puncak parasetamol, sedangkan untuk TAEA terjadi perbedaan yaitu nilai C tersebar pada nilai 0 dan 100. Perbedaan ini disebabkan karena adanya 2 sampel (sampel 4 dan 6) memberikan harga hR_{fc} berbeda yaitu masing-masing 8 dan 15, dimana empat sampel lainnya (sampel 1, 2, 3, dan 5) memberikan harga hR_{fc} 25.

Nilai hR_{fc} dan AUC puncak parasetamol dari 6 pabrik yang berbeda ditabulasikan, kemudian dihitung pengelompokannya menggunakan program MINITAB 14. Hubungan kedekatan antar sampel dari 6 pabrik yang berbeda ditampilkan dalam bentuk dendogram (gambar 3.4 (a) dan 3.4 (b)).

Dari dendogram yang diperoleh terlihat bahwa dengan menggunakan fase gerak TB terbentuk 1 kelompok sedangkan TAEA memberikan 3 kelompok walaupun data puncak yang dimasukkan adalah sama yaitu parasetamol. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan nilai hR_{fc} pada elusi dengan fase gerak TAEA.



Gambar 3.3 Histogram nilai korelasi cosinus (C) sampel dari pabrik yang berbeda memasukkan puncak analit utama dengan fase gerak TB dan TAEA
 Keterangan : (a) = Elusi dengan fase gerak TB;
 (b) = Elusi dengan fase gerak TAEA;
 ——— = % kumulatif; ——— = Frekuensi pemunculan



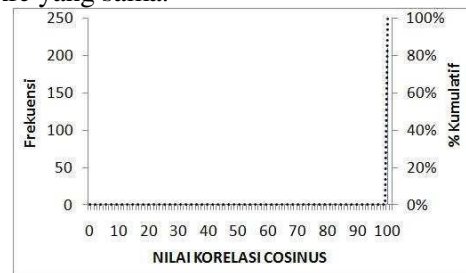
Gambar 3.4 Dendrogram pengelompokan sampel dari 6 pabrik berbeda memasukkan analit utama dengan fase gerak TB dan TAEA

C. Distribusi Nilai Korelasi Cosinus (C) dan Pengelompokan Sampel menggunakan Fase Gerak TAEA Memanfaatkan Data Sampel Parasetamol dengan Nilai hRfc 25

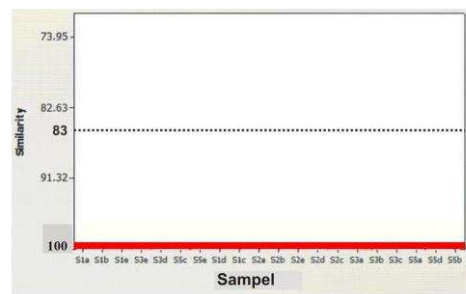
Data hRfc dan AUC yang dimasukkan dalam perhitungan ini adalah yang berasal dari sampel yang memberikan harga hRfc

parasetamol sebesar 25 pada fase gerak TAEA (sampel 1, 2, 3, dan 5).

Berdasarkan data hRfc dan AUC sampel yang diberikan oleh puncak parasetamol, dihitung nilai korelasi cosinus (C) dan pengelompokannya dengan analisis *cluster*. Histogram dan dendrogram dari perhitungan tersebut ditampilkan pada gambar 3.5 dan 3.6. Dari data histogram dan dendrogram yang diperoleh terlihat bahwa distribusi nilai korelasi cosinus sampel berada pada titik 100 dan pada dendrogram memperlihatkan bahwa keempat sampel membentuk 1 kelompok. Hal ini menyatakan bahwa puncak yang dimasukkan kedalam perhitungan adalah puncak parasetamol pada hRfc yang sama.



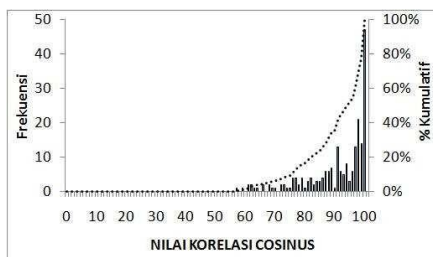
Gambar 3.5 Histogram nilai korelasi cosinus (C) memasukkan puncak analit utama 4 sampel dengan fase gerak TAEA
 Keterangan : ——— = % kumulatif;
 ——— = Frekuensi pemunculan



Gambar 3.6 Dendrogram pengelompokan sampel memasukkan puncak analit utama 4 sampel dengan fase gerak TAEA

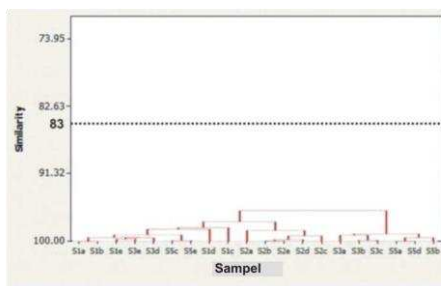
Data hRfc dan AUC sampel yang diberikan oleh semua puncak analit dihitung nilai korelasi cosinus (C) dan pengelompokannya. Histogram dan dendrogram dari perhitungan tersebut ditampilkan pada gambar 3.7 dan 3.8. Dari histogram yang diperoleh terlihat bahwa 4 sampel yang dimasukkan dalam perhitungan memberikan nilai C_{95} sebesar 68, tidak jauh berbeda dengan fase gerak TB yang memberikan nilai C_{95} sebesar 63. Sedangkan dari data dendrogram dapat dilihat bahwa 4 sampel yang dimasukkan

dalam perhitungan akan membentuk satu kelompok sedangkan fase gerak TB (subbab 4.3.1 B) dengan analisis *cluster* akan membagi 6 seri sampel menjadi tiga kelompok. Hal ini disebabkan karena nilai C_{95} yang digunakan sebagai batas kemiripan (*similarity level*) untuk fase gerak TB adalah 98,7, lebih besar dari TAEA (83) sehingga akan lebih mampu membedakan satu sampel dengan sampel lainnya.



Gambar 3.7 Histogram nilai korelasi cosinus (C) memasukkan semua puncak dari 4 sampel dengan fase gerak TAEA

Keterangan : — = % kumulatif;
 — = Frekuensi pemunculan



Gambar 3.8 Dendrogram pengelompokan sampel memasukkan semua puncak analit dari 4 sampel dengan fase gerak TAEA

IV. KESIMPULAN

Bahan tambahan memberikan pengaruh terhadap pola puncak kromatogram tablet parasetamol tunggal dari pabrik yang berbeda, dimana:

- Terjadi pergeseran nilai C_{95} bila dibandingkan dengan tablet dari pabrik yang sama yaitu sebesar 96 s.d 98,7 menjadi 63 untuk TB dan 78 s.d 83 menjadi 68 untuk TAEA.
- Terbentuk 3 kelompok untuk TB dan 1 kelompok untuk TAEA dalam pengelompokan dengan analisis cluster.

V. UCAPAN TERIMA KASIH

- Bapak Drs. INK Widjaja, M.Si., Apt. selaku pembimbing I dan Ibu Ni Putu Linda Laksmiani, S.Farm., Apt. selaku pembimbing II yang telah membantu

dengan segenap tenaga, pikiran, motivasi, dorongan, perhatian, nasehat, saran, dan waktu dari awal penyusunan skripsi ini.

- Bapak Dr.rer.nat I Made Agus Gelgel Wirasuta, Apt., M.Si. selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana yang telah memberikan banyak ide selama penyusunan skripsi ini.
- Seluruh Bapak dan Ibu dosen beserta staf pegawai di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana yang telah memberikan dukungan, semangat dan fasilitasnya.

VI. DAFTAR PUSTAKA

- Aristana, I. W. 2009. *Pengembangan TLC/HPTLC-Spektrofotodensitometri Untuk Analisis Drug Profiling Dengan Menggunakan Molexflu Sebagai Model (Skripsi)*. Jimbaran: Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.
- Astuti, N. M. W. 2009. *Pengembangan TLC/HPTLC-Spektrofotodensitometri Untuk Analisis Drug Profiling Dengan Menggunakan Decolsin Sebagai Model (Skripsi)*. Jimbaran: Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.
- Auterhoff, H. dan A. Kovar. 2002. *Identifikasi Obat*. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Badan Narkotika Provinsi (BNP) Bali. 2009. *Data Kasus Narkotika Tahun 2004 sampai dengan 2008*. Denpasar: Pelaksana Harian Badan Narkotika Provinsi Bali.
- Banker, G. S., and N. R. Anderson. 1986. *The Teory and Practice of Industrial Pharmacy*. Philadelphia : Lea and Febiger.
- Camag. 1999. *Welcome to the CAMAG Wincats Tutorial: Wincats Planar Chromatography*. Switzerland : Camag.
- Dayrit, M., and M. C. Dumlaog. 2004. *Impurity Profiling of Methamphetamine Hydrochloride Drugs Seized in the Philippines*. Philippines : Forensic Science International 144 (2004) 29-36

- Deinstrop, E. H. 2007. *Applied Thin Layer Chromatography*, 2nd Edition. Weinheim : Wiley VCH Verlag.
- Dufey, V., L. Dujourdy, F. Besacier, and H. Chaudron. 2006. *A Quick and Automated Method for Profiling Heroin Samples for Tactical Intelligence Puposos*. Forensic Science International (2006) 1-10.
- Esseiva, P., L. Dujourdy, F. Anglada, F. Taroni, and P. Margot. 2003. *A Methodology for Illicit Heroin Seizures Comparison in A Drug Intelligence Perspective Using Large Databases*. Forensic Science International 132 (2003) 139–152.
- Esseiva, P., S. Ioset, F. Anglada, L. Gaste, O. Ribaux, P. Margot, A. Gallusser, A. Biedermann, Y. Specht, and E. Ottinger. 2006. *Forensic Drug Intelligence: An Important Tool in Law Enforcement*. Forensic Science International.
- Flanagan, R. J., A. Taylor., I. D. Watson, and R. Whelpton. 2007. *Fundamentals of Analytical Toxicology*. New Delhi : John Wiley and Sons, Ltd.
- Gandjar, I. G. dan A. Rohman. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Gimeno, P., F. Besacier, H. Chaudron-Thozet, J. Girard, and A. Lamotte. 2002. *A Contribution to The Chemical Profiling of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) Tablets*. Forensic Science International 127 (2002) 1-44.
- Hair, J.F., E.A., Ronald L.T., and William, C.B. 1995. *Multivariate Data Analysis with Reading 4th Edition*. Prentice Hall International Ed. Newjersey.
- Harmita. 2004. *Petunjuk Cara Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian Vol. I; No.3: 117 – 135.
- Johnson, R.A and Dean, W.W. 1998. *Applied Multivariate Statistical Analysis*. Pretince Hall inc.Newjersey
- Kochana, J., J. Wilamowski, and A. Parczewski. 2003. *Profiling of Impurities in P-Methoxymethamphetamine (PMMA) by Means Of SPE/TLC Method Examination of The Influence of Experimental Conditions According to 2⁴ Factorial*. Forensic Science International 134 (2003) 214–218.
- Misra, H., B. K. Mehta, and D. C. Jain. 2008. *Optimization of Exctraction Conditions and HPTLC-UV Method for Determination of Different Extracts of Cinchona Species Bark*. ACG Publications Rec. Nat. Prod.2:4 (2008) 107-115.
- Moffat, C. A., M. D. Osselton, and B. Widdop. 2005. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*. London: Pharmaceutical Press.
- Mulja, M. dan Sukarman. 1995. *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Murryastika, I. G. 2010. *Pengembangan HPTLC-Densitometri dengan Elusi Secara Horizontal Untuk Analisis Drug Profiling (Skripsi)*. Jimbaran: Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.
- Sherma, J. and B. Fried. 1996. *Handbook of Thin-Layer Chromatography*. 3rd Edition. NewYork: Marcel Dekker, Inc.
- Soine, W.H. 1986. *Clandestine Drug Synthesis*. Med.Res.Rev., 6 (1):41-74.
- Spangenberg, B., A. Seigel, J. Kempf, and W. Weinmann. 2005. *Forensic Drug Analysis by Means of Diode-Array HPTLC using RF and UV Library Search*. Journal of Planar Chromatography, 18:336-343.
- United Nations Office on Drugs and Crime. 2001. *Drug Characterization/ Impurity Profiling: Background and Concepts*. New York: United Nations.
- Veryanti, P. R. 2010. *Studi Pola Kekerabatan Kromatogram Spektrofotodensitometri dengan Analisis Cluster untuk Drug Profiling (Skripsi)*. Jimbaran: Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.
- Voigt, R.1995.*Buku Pelajaran Tehknologi Farmasi*. Yogyakarta:Gadjah Mada University Press.
- Wall, P. E. 2000. *Densitometry and Image Analysis*. United Kingdom: Academic Press.
- Wijayanti, N. P. A. D. 2009. *Studi Reprodusibilitas Pola Puncak Kromatogram Shabu-Shabu dengan Teknik Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (HPTLC)-Spektrofotodensitometri untuk Drugs Profiling (Skripsi)*. Jimbaran: Jurusan

Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.

Zeeuw, D. R. A., Jan P. F., Fritz D., Gunther M., Harald S., and Jaap W. 1992. *DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) and TIAFT (The International Association of Forensic Toxicologist), Thin-Layer Chromatographic Rf Values of Toxicologically Relevant Substances on Standardized Systems, Second, Revised and Enlarged Edition, Report XVII of the DFG Commission for Clinical-Toxicological Analysis and Special Issue of the TIAFT Bulletin.* Weinheim : VCH Verlagsgesellschaft.