

ANALISIS KARAKTERISTIK KROMATOGRAM SENYAWA AKTIF TABLET EKSTASI DENGAN METODE HPTLC-SPEKTROFOTODENSITOMETRI

I Wayan Martadi Santika, Made Adi Wira Darma,
A.A.Kt. Sri Trisna Dewi W. dan I Nyoman Kadjeng Widjaja

Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana

ABSTRAK

Karakteristik kimia tablet ekstasi merupakan sidik jari kimia yang dapat digunakan untuk merunut hubungan antara satu tablet dengan tablet lainnya. Enam belas buah tablet ekstasi yang dipasangkan menjadi delapan pasang diteliti karakteristik kimianya dengan metode HPTLC dan hubungan antara kromatogram dianalisis dengan fungsi cosinus dan metode clauster. Data karakteristik kimia tablet ekstasi berupa hR_f dan AUC kromatogram dengan pengembangan system A dan B yang berbeda dalam system campuran pelarut berhasil didapat dari penelitian ini. Fungsi cosinus dimanfaatkan untuk menganalisa data yang diperoleh dan dapat digunakan untuk menentukan hubungan apakah dua tablet berasal dari 1 kelompok batch produksi yang sama atau berbeda. Dengan metode clauster diperoleh bahwa tablet-tablet ekstasi yang diteliti dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok besar.

PENDAHULUAN

Latar Belakang Masalah

Penyalahgunaan narkoba golongan psikotropika dapat mengakibatkan sindroma ketergantungan apabila penggunaannya tidak dibawah pengawasan dan petunjuk tenaga kesehatan yang mempunyai keahlian dan kewenangan untuk itu. Penyalahgunaan psikotropika mendorong adanya peredaran gelap, sedangkan peredaran gelap psikotropika menyebabkan meningkatnya penyalahgunaan yang makin luas dan berkesinambungan. Salah satu senyawa psikotropika turunan amfetamin yang sering disalahgunakan adalah metilendioksimetamfetamin (MDMA) yang merupakan bahan dasar dari tablet ekstasi (Badan Narkotika Nasional (BNN), 2008). Upaya Badan Narkotika Nasional (BNN) dalam pencegahan, pemberantasan, dan peredaran gelap narkotika (P4GN) adalah dengan mengungkap dan memutus jaringan perdagangan dan peredaran gelap psikotropika baik secara nasional maupun internasional (BNN, 2008). Salah satu jalan untuk mencapai tujuan tersebut dapat dilakukan melalui analisis karakteristik kimia terhadap psikotropika yang berhasil disita (Esseiva *et al.*, 2006).

Karakteristik kimia tablet ekstasi merupakan sidik jari kimia dari sediaan tersebut dan ber

dasarkan sidik jari kimia ini dapat dirunut hubungan satu tablet dengan tablet yang lain. Hubungan ini berupa adanya persamaan karakteristik kimia antara tablet yang berasal dari satu kelompok batch produksi yang sama dan (atau) dari satu produsen yang sama. Melalui suatu pengembangan hubungan ini maka jalur peredarannya dapat direkonstruksi sehingga bermanfaat bagi penegak hukum dalam mengungkap jaringan peredarannya (Sharma, 2005; United Nations Office on Drugs and Crime, 2001; Zingg, 2005).

Analisis karakteristik kimia tablet ekstasi dapat dilakukan dengan metode High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC)-Spektrofotodensitometri (Kochana, 2003). Analisis didasarkan pada analisis kromatogram tiap tablet yang berupa harga hR_f dan luas area di bawah puncak (AUC) serta bentuk spektrum UV insitu tiap puncak kromatogram. Hubungan antara kromatogram dapat dianalisis dengan fungsi cosinus dan metode clauster.

Tujuan Program

- Untuk mengetahui karakteristik kromatogram senyawa aktif tablet ekstasi.
- Untuk mengetahui hubungan karakteristik komponen kimia antara tablet-tablet ekstasi yang diteliti.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Ekstraksi dan penentuan kromatogram tablet ekstasi dilakukan di laboratorium BNN Pusat Jakarta. Analisis data dilakukan di Laboratorium Toksikologi Forensik Lembaga Forensik Sains dan Kriminologi Universitas Udayana.

Instrumen Pelaksanaan

Peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium analisis, bejana kromatografi vertikal ukuran 20 x 10 cm dan 10 x 10 cm, Nanomat, pipet mikro 2 μ L, Linomat V, TLC Scanner 3 (Camag-Mutenz-Switzerland), timbangan analitik (AND GR-200), oven, alat pengaduk mekanik (Ika Vibrax VXR basic), alat sentrifus (PLC series), dan pH meter (Oakton)

Metode Ekstraksi

Masing-masing tablet ekstasi digerus menjadi serbuk dalam mortir kemudian ditimbang dengan timbangan analitik. Sebanyak masing-masing 100 mg serbuk ekstasi yang telah halus dilarutkan dengan 5 mL dapar Na_2CO_3 pH 10,5 lalu dikocok menggunakan pengaduk mekanik pada 3000 rpm selama 30 menit dan kemudian disentrifugasi pada 3500 rpm selama 10 menit. Supernatan dipisahkan dan kemudian ditambahkan kloroform dalam jumlah yang sama. Campuran dikocok dengan pengaduk mekanik pada 3000 rpm selama 30 menit lalu disentrifugasi pada 3500 rpm selama 10 menit. Lapisan organik dipisahkan dan ditampung dalam tabung Efen-dorf. Lapisan organik diuapkan dan direkonstitusi dengan metanol.

Pembuatan Sistem Fase Gerak

Analisis sampel dalam penelitian menggunakan 2 sistem fase gerak kromatografi, yaitu sistem A dan B. Sistem A terdiri dari campuran pelarut sikloheksan : toluen : dietilamin (75:15:10 v/v). Sistem B terdiri dari campuran pelarut toluen : aseton : etanol : amonia (45:45:7:3 v/v).

Analisis Sampel dengan Metode HPTLC-Spektrofotodensitometri

Empat plat HPTLC Silika Gel 60 F254 (Merck-Darmstadt-Germany) berukuran 10 x 10 cm dicuci dengan metanol. Setelah dicuci plat kemudian diaktifkan dalam oven pada suhu 1200 C selama 30 menit. Masing-masing sebanyak 6 μ l campuran larutan standar referensi sistem A atau B dan 2 μ l larutan sampel ditotolkan pada sebuah plat HPTLC dengan jarak 1 cm dari tepi bawah dan 1 cm dari tepi kiri menggunakan Nanomat. Bejana kromatografi horizontal dijenuhkan dengan fase gerak sistem A atau B. Dua plat HPTLC die-lusi dengan sistem A sedangkan dua plat HPTLC lainnya die-lusi dengan sistem B. Plat die-lusi sam-pai 9 cm dari tepi atas plat kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 600°C selama 10 menit. Kromatogram masing-masing sampel kemudian dideteksi pada panjang gelombang deteksi (hasil percobaan 3.4.3). Tiap puncak kromatogram dirajah pada panjang gelombang 200-400 nm dengan menggunakan Spektrofotodensitometri (TLC Scanner 3 Camag-Mutenz-Switzerland).

Analisis Data

Data yang didapatkan berupa data kromatogram tiap sampel dan spektrum UV tiap puncak kromatogram. Dari data kromatogram didapatkan data harga hR_f dan AUC tiap puncak kromatogram. Dilakukan perhitungan hR_f terkoreksi (hR_{fc}) dari tiap data kromatogram tablet ekstasi untuk mendapatkan harga hR_f yang tepat dari senyawa analit. Perhitungan harga hR_{fc} dilakukan dengan metode poligonal pada program Microsoft Excel 2007. Perhitungan fungsi cosinus dilakukan pada semua puncak yang dibentuk dari kromatogram tanpa membedakan puncak analit dan puncak pengotor. Perhitungan juga dilakukan hanya dengan memasukkan data puncak analit. Perhitungan dilakukan secara statistik dengan program SPSS 17. Untuk mengelompokan data maka dilakukan pengolahan data dengan metode cluster. Perhitungan dilakukan secara statistik dengan program MINITAB 14.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Telah dianalisis 16 tablet ekstasi yang terdiri dari 8 pasang tablet dimana tiap pasangan tablet memiliki karakter fisik yang mirip. Sampel diekstraksi dengan kloroform pada pH 10,5. Pengembangan plat HPTLC dilakukan secara horizontal dengan sistem fase gerak A dan B. Sistem A dipilih karena mampu memberikan pemisahan cukup baik untuk senyawa-senyawa yang umum terdapat dalam tablet ekstasi (16; 5) sedangkan sistem B merupakan sistem standar yang ditawarkan oleh CAMAG dan telah dilengkapi dengan data spektrum library (17; 5). Plat dirajah pada panjang gelombang maksimum 210 nm untuk mendapatkan kromatogram, setiap puncak kromatogram dirajah pada λ 200-400 nm. Harga hRf tiap puncak kromatogram kemudian dikoreksi menjadi harga hRfc dengan metode poligonal. Hubungan antar dua kromatogram dianalisis dengan menggunakan fungsi cosinus. Perhitungan harga koefisien korelasi cosinus (C) antar tablet ekstasi dilakukan dengan memasukkan harga AUC dan hRfc hanya dari puncak kromatogram analit atau seluruh puncak kromatogram.

Untuk mengetahui puncak kromatogram merupakan puncak analit atau pengotor maka dilakukan penentuan identitas analit seperti pada tabel 1. Misalnya pada tablet 1A, pemisahan dengan sistem A menunjukkan puncak kromatogram yang memiliki harga hRfc 25 sedangkan pada sistem B menunjukkan puncak kromatogram yang memiliki harga hRfc 38. Identitas analit ditentukan dengan cara mengelompokkan senyawa-senyawa yang memiliki hRfc yang berada dalam rentang hRfc puncak kromatogram \pm error window (hRfc \pm 8) untuk sistem A atau (hRfc \pm 5) untuk sistem B. Jumlah senyawa yang memiliki kesesuaian ini disebut dengan *hit factor*. Pada sistem A puncak kromatogram ini memiliki harga *hit factor* 110 yang berarti ada 110 senyawa yang mungkin merupakan analit sedangkan pada sistem B memiliki harga *hit factor* 32. Pengirisan harga *hit factor* antara sistem A dengan sistem B mampu memberikan harga *hit factor* yang lebih sempit yaitu menjadi 15. Dan jika spektrum puncak kromatogram insitu ini dibandingkan dengan spektrum UV dari senyawa dalam *library Camag*

dengan suatu batasan korelasi spektrum tertentu ($r > 90$) maka harga *hit factor* menjadi 4, dimana terdapat 4 senyawa yang mungkin merupakan analit yaitu MDA, DOET, DOM, DMA. Identitas analit pada puncak kromatogram ini belum dapat dipastikan karena masih memiliki harga *hit factor* > 1 . Identitas analit pada puncak kromatogram hanya dapat dipastikan jika memiliki harga *hit factor* = 1.

Pada Tabel 1, terlihat bahwa dalam 16 tipe tablet ekstasi yang dianalisis terdapat banyak puncak kromatogram yang identitas analitnya tidak dapat diketahui. Dimana hal ini diakibatkan karena puncak kromatogram tersebut memiliki harga *hit factor* > 1 atau karena tidak memiliki harga *hit factor*. Harga *hit factor* > 1 dapat disebabkan karena analit dalam puncak kromatogram tersebut memiliki harga hRfc dan bentuk spektrum yang sangat mirip dengan beberapa senyawa dalam kedua sistem fase gerak tersebut. Sedangkan puncak kromatogram yang tidak memiliki harga *hit factor* disebabkan karena analit dalam puncak kromatogram tersebut memiliki harga korelasi spektrum yang sangat rendah dengan spektrum UV dari senyawa dalam *library Camag*. Ketidakesesuaian spektrum ini dapat disebabkan karena berubahnya spektrum analit, berubahnya struktur molekul dari analit yang menyebabkan berubahnya kromofor yang menyerap spektrum UV, atau karena pengaruh lain yang belum dapat dipastikan. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memastikan beberapa masalah ini.

Pola kromatogram ekstrak dapat dianggap sebagai sidik jari kimia dari tablet tersebut sehingga hubungan antar tablet masih dapat ditentukan dengan memasukan harga AUC dan hRfc dari seluruh puncak kromatogram. Tablet dikatakan berasal dari 1 kelompok batch produksi yang sama jika memiliki harga koefisien C yang berada dalam rentang harga 84-100 dengan tingkat kesalahan 5% (Kochana *et al.*, 2003; Wirasuta, 2009).

Hubungan kromatogram antar tablet ekstasi pada sistem A atau B diperlihatkan pada lampiran 1 dan 2. Analisis dengan sistem A menunjukkan bahwa beberapa tablet yang memiliki sifat fisik yang sama berasal dari 1 kelompok batch produksi seperti tablet 1A dengan 1B, tablet 2A

Tabel 1. Penentuan puncak kromatogram analit dalam sampel

Tipe Tablet	Harga hRfc Puncak Kromatogram		Hit factor			\sum Irisan Hit factor + $\tau > 90$	Senyawa yang dapat dikonfirmasi
	A	B	A(hRfc ± 8)	B (hRfc ± 5)	\sum Irisan Hit factor		
1A	25	38	110	32	15	4	MDA, DOET, DOM, DMA
	32	71	131	13	12	9	Fentanyl, Prenylamine, Pipradol, Penfluridol, Dextropropoxyphene, Drofenine, Bupivactaine, Selegiline, Dextromoramide
1B	25	36	121	2	2	2	MDA, DOET
	32	71	131	18	3	-	-
2A	3	47	506	31	20	1	Kafein
	32	67	131	18	18	11	Ketamine, Fentanyl, Dextropropoxyphene, Prenylamine, Pipradol, Selegiline, Benactyzine, Drofenine, Lidocaine, Dextromoramide, Pseudoephedrine
2B	3	47	506	33	10	1	Kafein
	33	67	131	18	11	10	Ketamine, Fentanyl, Pipradol, Benactyzine, Fentanyl, Dextromoramide, Dextropropoxyphene, Lidocaine, Drofenine, Selegiline
3A	25	35	110	20	3	1	MDA
3B	25	36	110	16	3	-	-
4A	4	48	522	26	3	1	Kafein
	26	35	117	-	-	-	-
4B	3	48	506	23	3	1	Kafein
	26	36	117	27	5	2	MDA, DOET

lanjutan...

Tipe Tablet	Harga hRfc puncak kromatogram		Hit factor			\sum Irisan Hit factor + $\tau > 90$	Senyawa yang dapat dikonfirmasi
	A	B	A(hRfc ± 8)	B (hRfc ± 5)	\sum Irisan Hit factor		
5A	4	48	522	25	3	1	Kafein
	27	18	112	23	5	1	MDMA
5B	4	48	522	25	3	1	Kafein
	28	17	109	25	5	2	MDMA, Isotearine
6A	3	47	506	13	2	-	-
6B	4	46	522	28	3	2	Kafein, Pentoxifylline
	3	46	506	3	3	3	Kafein, Pentoxifylline, Metixene
7A	21	-	136	-	-	-	-
	33	62	131	25	11	10	Pipradol, Dextromoramide, Ketamine, Lidocaine, Benactyzine, Doxapramine, Fentanyl, Clobutinol, Phenazocine, Dextropropoxyphene
7B	4	46	522	34	3	3	Kafein, Pentoxifylline, Metixene
	21	-	136	-	-	-	-
7B	33	62	131	23	10	9	Pipradol, Ketamine, Dextromoramide, Lidocaine, Benactyzine, Fentanyl, Clobutinol, Phenazocine, Dextropropoxyphene
	21	39	136	26	5	3	MDA, DOET, 2,5-DMA
8B	21	39	136	26	5	3	MDA, DOET, 2,5-DMA

Keterangan :

Tanda (-) = puncak kromatogram tidak dapat dikonfirmasi

dengan 2B, tablet 5A dengan 5B, tablet 6A dengan 6B dan tablet 7A dengan 7B sedangkan tablet 3A dengan 3B, tablet 4A dengan 4B serta tablet 8A dan 8B meskipun memiliki sifat fisik yang mirip ternyata tidak berasal dari 1 kelompok batch produksi yang sama karena memiliki harga koefisien C di bawah 84. Analisis dengan sistem B

juga menunjukkan bahwa tablet 3A dengan 3B dan tablet 4A dengan 4B memiliki sifat fisik yang mirip namun berasal dari kelompok batch produksi yang berbeda. Hal ini bisa disebabkan karena campuran bahan tablet yang berbeda dicetak dengan mesin cetak tablet yang sama sehingga menghasilkan tablet dengan karakteristik fisik

yang serupa namun memiliki karakter kimia yang berbeda (Zingg, 2005). Jadi suatu tablet dengan karakteristik fisik yang sama belum tentu berasal dari 1 batch produksi yang sama.

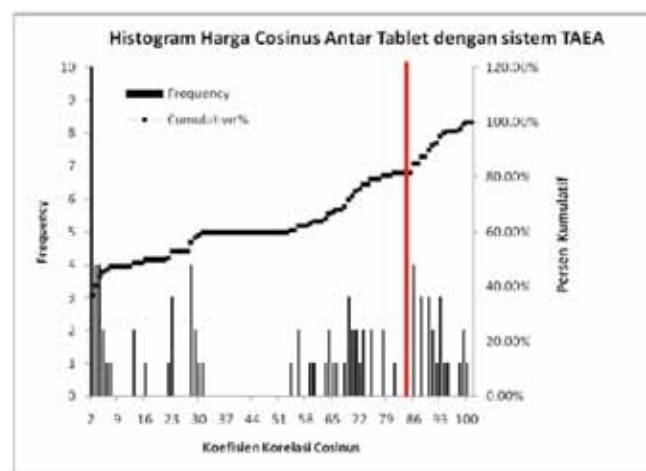
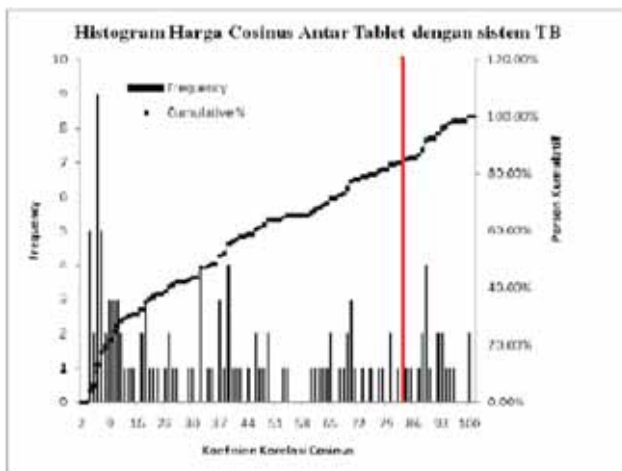
Namun sebagian besar tablet yang memiliki karakteristik fisik yang berbeda menunjukkan harga koefisien C yang berbeda. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 1. Garis batas berwarna merah pada histogram menunjukkan garis batas suatu tablet dapat dikatakan berasal dari 1 kelompok batch produksi yang sama. Titik potong antara garis batas ini dengan garis persen kumulatif menunjukkan berapa persen hubungan antar tablet yang memiliki nilai di bawah 84. Berdasarkan ini dapat diketahui bahwa rata-rata 80% dari hubungan antar tablet bukan berasal dari 1 kelompok batch produksi yang sama.

Tablet 8A dengan 8B menunjukkan adanya suatu anomali. Pada sistem A kedua tablet ini memiliki harga koefisien C sebesar 81,6 sedangkan pada sistem B memiliki harga koefisien C sebesar 98,7. Hal ini berarti pada sistem A kedua tablet ini bukan berasal dari 1 kelompok batch produksi yang sama sedangkan pada sistem B kedua tablet ini berasal dari 1 kelompok batch produksi yang sama. Pengembangan 1 tablet yang sama dengan 2 sistem fase gerak yang berbeda akan menghasilkan 2 kromatogram yang berbeda karena adanya perbedaan distribusi harga hRfc antara senyawa-senyawa penyusun tablet dalam 2 sistem fase gerak yang berbeda. Perbedaan ini akan menyebabkan perbedaan pemunculan puncak-puncak senyawa dalam kromatogram.

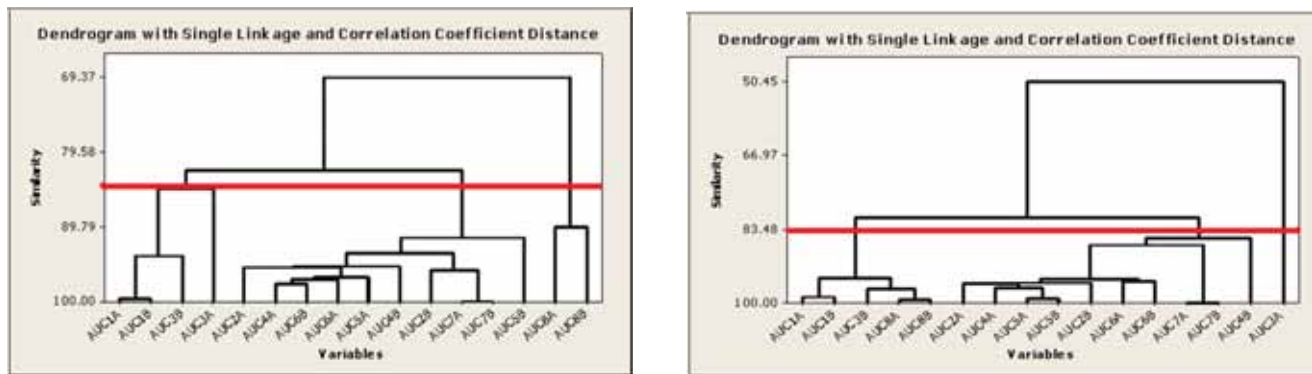
Hal ini dapat menyebabkan terjadinya pergeseran harga koefisien C yang cukup signifikan. Sistem fase gerak yang digunakan ternyata masih dapat memberikan pengaruh terhadap harga koefisien korelasi *cosinus*.

Hubungan antar tablet dapat dikelompokkan dan digambarkan secara representatif dengan menggunakan metode *cluster* dimana output dari metode ini berupa diagram dendrogram yang menggambarkan hubungan kekerabatan antar sampel. Dendrogram untuk tablet ekstasi dapat dilihat pada Gambar 2. Garis batas berwarna merah pada dendrogram menunjukkan garis batas suatu tablet dapat dikatakan berasal dari 1 kelompok batch produksi yang sama. Dari garis batas ini dapat dilihat bahwa pemisahan baik dengan sistem A dan B sama-sama menghasilkan dendrogram yang memiliki 3 kelompok berbeda. Tiga kelompok yang berbeda ini menggambarkan bahwa 16 tablet ekstasi yang di analisis berasal dari 3 kelompok batch produksi yang berbeda.

Pemisahan dengan sistem A dan B memang mampu menggambarkan bagaimana hubungan antar tablet yang membentuk 3 kelompok batch produksi yang berbeda, namun belum mampu menggambarkan secara pasti tablet-tablet yang masuk ke dalam 3 kelompok besar ini. Pada sistem A, kelompok 1 terdiri dari tablet 1A, 1B, 3A, dan 3B; kelompok 2 terdiri dari tablet 2A, 2B, 4A, 4B, 5A, 5B, 6A, 6B, 7A dan 7B; kelompok 3 terdiri dari tablet 8A dan 8B sedangkan pada sistem B, kelompok 1 terdiri dari tablet 1A, 1B, 3B, 8A dan 8B; kelompok 2 terdiri dari



Gambar 1. Histogram harga koefisien korelasi *cosinus* antar tablet ekstasi dengan memasukan seluruh puncak kromatogram.



Gambar 2. Dendrogram dengan Pengembangan Sistem A (kiri) dan Sistem B (kanan).

anggota yang sama dengan sistem A; kelompok 3 hanya terdiri dari tablet 3A. Dari sini dapat dilihat ternyata penggunaan 2 sistem fase gerak yang berbeda mempengaruhi pengelompokan antar tablet.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

- Telah didapatkan data karakteristik kimia tablet ekstasi berupa data hRfc dan AUC kromatogram dengan pengembangan sistem A dan B.
- Pemanfaatan fungsi cosinus untuk analisis karakteristik kimia tablet ekstasi dapat digunakan menentukan hubungan apakah dua tablet berasal dari 1 kelompok batch produksi yang sama atau berbeda sedangkan pemanfaatan metode cluster telah mampu mengelompokkan tablet-tablet ekstasi yang diteliti menjadi 3 kelompok besar.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memastikan penyebab rendahnya harga korelasi spektrum analit dengan spektrum pustaka.

Specht, Y., and Ottinger, E. 2006. Forensic Drug Intelligence: An Important Tool in Law Enforcement. Forensic Science International.

- Kochana, J., Wilamowski, J., Parczewski, A., Surma, M. 2003. Synthesis of standards of most important markers of Leuckartp p-methoxymethamphetamine (PMMA) Examination of the influence of experimental conditions and a drug diluent on SPE/TLC profiling. Poland: Forensic Science International 2003; 134: 207-213.
- Sharma, S.P., Purkait, B.C., and Lahiri, S.C. 2005. Qualitative and Quantitative Analysis of Seized Street Drug Samples and Identification of Source. Forensic Science International 152 (2005) 235–240.
- United Nations Office on Drugs and Crime. 2001. Drug Characterization/ Impurity Profiling: Background and Concepts. New York: United Nations.
- Wirasuta I M.A.G. 2009. Seminar Pelatihan Petugas Laboratorium Pemeriksa Narkoba, BNN, 28-30 Oktober 2009.
- Zingg, Cristian. 2005. The Analysis of Ecstasy Tablets In A Forensic Drug Intelligence Perspective. Zurich: ADAG COPY AG.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Narkotika Nasional (BNN). 2008. Hasil Penelitian BNN dan Pusat Kesehatan UI, Jakarta: Republik Indonesia.
- Esseiva, P., Ioset, S., Anglada, F., Gaste, L., Ribaux, O., Margot, P., Gallusser, A.,