

OPTIMASI DAN VALIDASI METODE KLT-DENSITOMETRI PADA ANALISIS FARMASI : TINJAUAN KRITIS DAN STUDI KOMPARATIF

Auryn Difani Marfanie^{1*}, Dian Sari Angrainy², Fauzi Rizki Fadhilah³, Jessica Putri Sinaga⁴, Muqsidana Sayidina Gara Putra⁵, Nadia Afianti Nugraha⁶, Shelfia Putri Chantika⁷

Departement of Pharmacy, Faculty of Medicine, Universitas Negeri Semarang^{1,2,3,4,5,6,7}

*Corresponding Author : difani2006@students.unnes.ac.id

ABSTRAK

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri atau *High Performance Thin Layer Chromatography* (HPTLC) tetap menjadi metode analisis instrumental yang vital, terutama di negara berkembang, karena efisiensi biaya dan kemampuannya menangani banyak sampel secara simultan. Artikel ulasan ini bertujuan untuk mengevaluasi perkembangan terkini metode KLT-Densitometri dalam analisis sediaan farmasi, ekstrak bahan alam, dan bioanalisis. Metode yang digunakan adalah tinjauan literatur sistematis terhadap artikel penelitian yang dipublikasikan antara tahun 2016 hingga 2024 dengan menggunakan pedoman PRISMA. Hasil tinjauan terhadap 23 artikel terpilih menunjukkan evolusi signifikan dari KLT sebagai metode skrining kualitatif menjadi metode kuantitatif yang tervalidasi penuh sesuai standar ICH Q2(R1). Temuan utama menunjukkan adanya pergeseran paradigma menuju *Green Analytical Chemistry* dengan penggunaan pelarut ramah lingkungan seperti etil asetat dan etanol, serta penerapan *Analytical Quality by Design* (AQbD) untuk optimasi metode yang lebih *robust*. Analisis komparatif menyoroti kesenjangan kualitas antara publikasi nasional dan internasional, khususnya dalam aspek preparasi sampel biologis dan kedalaman validasi statistik. Disimpulkan bahwa KLT-Densitometri menawarkan alternatif yang tangguh dan *cost effective* terhadap HPLC, dengan peluang besar bagi peneliti lokal untuk meningkatkan kualitas publikasi melalui adopsi pelarut hijau dan desain eksperimen faktorial.

Kata kunci : analisis farmasi, *green chemistry*, KLT-densitometri, studi komparatif, validasi metode

ABSTRACT

Thin Layer Chromatography (TLC) Densitometry or High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) remains a vital instrumental analysis method, particularly in developing countries, due to its cost efficiency and high-throughput capability. This review article aims to evaluate recent developments in HPTLC methods for pharmaceutical formulations, natural product extracts, and bioanalysis. The method employed is a systematic literature review of research articles published between 2016 and 2024 using PRISMA guidelines. The review of 23 selected articles reveals a significant evolution of TLC from a qualitative screening tool to a fully validated quantitative method compliant with ICH Q2(R1) standards. Key findings indicate a paradigm shift towards Green Analytical Chemistry utilizing eco-friendly solvents such as ethyl acetate and ethanol, and the application of Analytical Quality by Design (AQbD) for robust method optimization. Comparative analysis highlights quality gaps between national and international publications, specifically in biological sample preparation and statistical validation depth. It is concluded that HPTLC offers a robust and cost effective alternative to HPLC, with significant opportunities for local researchers to enhance publication quality through the adoption of green solvents and factorial experimental designs.

Keywords : *TLC-densitometry, method validation, pharmaceutical analysis, green chemistry, comparative study*

PENDAHULUAN

Dalam satu dekade terakhir, lanskap analisis farmasi global telah mengalami transformasi signifikan yang didorong oleh kebutuhan akan metode analisis yang tidak hanya presisi dan akurat, tetapi juga efisien dari segi biaya, waktu, dan dampak lingkungan. Di tengah dominasi

instrumen canggih seperti Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT atau HPLC) dan Kromatografi Cair-Spektrometri Massa (LC-MS), metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri, atau yang kini lebih dikenal dengan standar modernnya sebagai *High Performance Thin Layer Chromatography* (HPTLC), tetap mempertahankan relevansinya yang tak tergantikan. Transformasi KLT konvensional menjadi HPTLC instrumental telah mengubah persepsi metode ini dari sekadar uji kualitatif sederhana menjadi teknik kuantitatif yang presisi. Hal ini telah diakui secara resmi dalam kompendia internasional seperti *United States Pharmacopeia* (USP) Bab <203> untuk *HPTLC Procedure for Identification of Articles of Botanical Origin* dan Bab <1064> mengenai *Identification of Articles of Botanical Origin*, serta *European Pharmacopoeia* (Ph. Eur.) bab 2.8.25 yang menetapkan standar ketat untuk instrumentasi dan dokumentasi HPTLC.

Relevansi HPTLC terutama dirasakan di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia, di mana keterbatasan anggaran operasional laboratorium sering menjadi kendala utama dalam riset akademik dan pengawasan mutu obat rutin. Keunggulan komparatif utama HPTLC terletak pada kapabilitas *high throughput* nya. Berbeda dengan HPLC yang menganalisis sampel secara sekuensial (satu per satu), HPTLC memungkinkan analisis simultan hingga 15-20 sampel pada satu pelat yang sama dalam satu kali pengembangan (*run*). Efisiensi ini secara drastis menurunkan waktu analisis per sampel. Sebagai ilustrasi, jika waktu retensi rata-rata pada HPLC adalah 10 menit per sampel, maka untuk 20 sampel dibutuhkan waktu 200 menit, belum termasuk waktu pencucian (*washing*) dan penyetimbangan (*equilibration*) kolom. Sebaliknya, HPTLC dapat menyelesaikan 20 sampel dalam waktu pengembangan 20-30 menit, ditambah waktu pemindaian (*scanning*) sekitar 1-2 menit per trek, tanpa risiko kontaminasi silang antar injeksi karena setiap sampel memiliki jalur migrasi sendiri (*disposable stationary phase*).

Studi ekonomi laboratorium terbaru mengestimasi bahwa biaya per analisis menggunakan HPTLC dapat mencapai 60-70% lebih rendah dibandingkan HPLC. Penghematan ini berasal dari berbagai pos anggaran: minimalnya perawatan instrumen (tidak ada pompa bertekanan tinggi yang mudah rusak, tidak membutuhkan kolom kromatografi yang mahal dan memiliki masa pakai terbatas), konsumsi pelarut yang jauh lebih sedikit, serta kebutuhan listrik yang lebih rendah. Hal ini menjadikan HPTLC solusi yang sangat menarik bagi laboratorium industri skala kecil-menengah (UKM) obat tradisional maupun laboratorium pendidikan. Selain faktor ekonomi, pendorong utama kebangkitan kembali minat terhadap HPTLC adalah isu keberlanjutan lingkungan. Paradigma *Green Analytical Chemistry* (GAC) menuntut reduksi limbah pelarut organik berbahaya. HPTLC beroperasi dalam sistem bejana tertutup dengan volume fase gerak yang minimal (hanya 10-20 mL untuk puluhan sampel), dan fase gerak tersebut tidak dipompa secara terus-menerus seperti pada HPLC. Selain itu, fase diam yang digunakan dapat dibuang dengan mudah tanpa memerlukan regenerasi pelarut yang boros energi. Hal ini menjadikan HPTLC secara inheren lebih "hijau" dan ramah lingkungan, sejalan dengan prinsip ke-12 dari *Green chemistry* mengenai pencegahan polusi.

Namun, tantangan persepsi masih ada di kalangan komunitas ilmiah. HPTLC sering kali disalahpahami hanya sebagai metode kualitatif atau semikuantitatif yang kurang presisi dibandingkan HPLC. Padahal, dengan instrumentasi densitometer modern yang dilengkapi detektor UV-Vis dan fluoresensi, serta perangkat lunak integrasi data yang canggih (seperti winCATS atau visionCATS), HPTLC mampu mencapai presisi dan akurasi yang memenuhi standar ketat *International Council for Harmonisation* (ICH) Q2(R1). Presisi instrumen (RSD) pada HPTLC modern sering kali berada di bawah 1-2%, setara dengan injektor otomatis pada HPLC. Artikel ulasan ini disusun secara komprehensif untuk mengevaluasi status terkini validasi metode KLT-Densitometri dalam tiga domain utama: sediaan farmasi sintetis, standardisasi ekstrak bahan alam, dan bioanalisis. Ulasan ini tidak hanya memaparkan keberhasilan metode, tetapi juga mengkritisi celah metodologis yang masih sering ditemukan.

Lebih jauh, artikel ini bertujuan untuk membedah "kesenjangan kualitas" (*quality gap*) antara publikasi di jurnal nasional terakreditasi dan jurnal internasional bereputasi, guna memberikan peta jalan bagi peneliti Indonesia dalam meningkatkan standar riset mereka menuju publikasi global.

METODE

Penyusunan artikel ulasan ini menggunakan pendekatan *Systematic Literature Review* (SLR) yang diadopsi dari pedoman PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta Analyses*). Pendekatan sistematis ini dipilih untuk memastikan transparansi, objektivitas, dan reproduksibilitas dalam proses seleksi literatur, serta meminimalkan bias seleksi penulis dalam menentukan artikel mana yang layak diulas.

Strategi Pencarian Data

Pencarian literatur dilakukan secara elektronik pada tiga basis data utama: Scopus dan PubMed untuk menjaring literatur internasional bereputasi tinggi yang merepresentasikan standar global, serta Google Scholar dan Portal Garuda untuk menangkap perkembangan riset nasional di Indonesia. Rentang waktu publikasi dibatasi mulai Januari 2016 hingga April 2024. Pembatasan waktu ini bertujuan untuk menangkap tren metodologi paling mutakhir, khususnya terkait penerapan Quality by Design (QbD) yang mulai populer dalam lima tahun terakhir dan adaptasi terhadap pedoman ICH terbaru. Kata kunci pencarian disusun menggunakan kombinasi operator Boolean untuk memaksimalkan relevansi hasil: ("HPTLC" OR "TLC-Densitometry" OR "Planar Chromatography"). AND ("Method Validation" OR "Pharmaceutical Analysis" OR "Bioanalysis" OR "Impurity Profiling" OR "Stability Indicating"). AND ("Green chemistry" OR "Quality by Design" OR "AQbD" OR "Design of Experiments").

Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Proses seleksi artikel dilakukan melalui beberapa tahap penapisan (screening). Artikel yang disertakan dalam ulasan ini harus memenuhi kriteria inklusi (inklusi) berikut: Merupakan artikel riset asli (*original article*) yang memuat data eksperimental lengkap. Menggunakan instrumen densitometer (*scanner*) untuk kuantifikasi (bukan evaluasi visual semata atau analisis citra sederhana tanpa validasi). Melakukan validasi metode yang mencakup minimal parameter utama ICH: linearitas, akurasi (% recovery), presisi (RSD), dan batas deteksi (LOD/LOQ). Tersedia dalam teks lengkap (*full text*) Bahasa Indonesia atau Bahasa Inggris. Adapun kriteria eksklusi meliputi: artikel berupa abstrak seminar (*proceedings*) yang tidak lengkap, artikel editorial, *short communication* tanpa data validasi lengkap, serta penelitian yang menggunakan KLT preparatif untuk isolasi senyawa (bukan untuk analisis kuantitatif). Artikel review sebelumnya yang serupa juga dieksklusi untuk menghindari duplikasi pembahasan.

Ekstraksi dan Analisis Data

Dari total literatur yang terjaring, dilakukan penapisan judul dan abstrak, diikuti pembacaan teks lengkap. Sebanyak 23 artikel terpilih diekstraksi datanya menggunakan matriks tabulasi yang meliputi: analit target, matriks sampel (sediaan/herbal/plasma), jenis fase diam, komposisi fase gerak, teknik preparasi sampel, rentang linearitas, nilai LOD/LOQ, serta status validasi. Analisis data dilakukan secara deskriptif komparatif, dengan fokus khusus pada tiga studi kasus representatif yang mewakili spektrum kualitas jurnal (Internasional Q1/Q2, Nasional Sinta 5, dan Nasional Sinta 4).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelusuran literatur menunjukkan tren yang sangat dinamis dalam aplikasi HPTLC pada periode 2016–2024. Metode ini tidak lagi statis, melainkan beradaptasi secara agresif terhadap tuntutan regulasi global dan kemajuan teknologi material. Pembahasan ini menguraikan evolusi metodologi dalam tiga domain utama, analisis farmasi sintetis, standardisasi herbal, dan bioanalisis, serta menyoroti pergeseran paradigma menuju keberlanjutan (*sustainability*) dan kualitas data berbasis statistik.

Evolusi Metodologi Dalam Analisis Farmasi Sintetis

Dalam ranah analisis obat sintetis, tren literatur menunjukkan pergeseran fokus dari analisis komponen tunggal menjadi analisis multikomponen simultan (*simultaneous multicomponent analysis*). Hal ini didorong oleh kompleksitas sediaan farmasi modern yang sering mengombinasikan 2-3 zat aktif dalam satu bentuk sediaan, seperti kombinasi antihipertensi *Fixed Dose Combination* (FDC) atau antidiabetes oral.

Tantangan Pemisahan Zat Aktif dan Profil Pengotor (*Impurity Profiling*)

Salah satu area paling kritis dalam analisis farmasi kontemporer adalah profil pengotor (*impurity profiling*). Studi kasus pada analisis tablet kombinasi Captopril dan Hidroklorotiazid menunjukkan bahwa tantangan utama bukan lagi sekadar memisahkan antar zat aktif, melainkan memisahkan analit utama dari produk degradasi atau pengotor sintesis yang memiliki struktur kimia sangat mirip (Nagieb et al., 2024). Validasi metode pada level ini menuntut spesifikasi yang ekstrem. Penggunaan pelat HPTLC Silika Gel 60 F~254~ dengan ukuran partikel 5-6 μm (*High Performance*) terbukti memberikan resolusi yang jauh lebih baik dibandingkan pelat KLT konvensional (10-12 μm). HPTLC memungkinkan pemisahan puncak (*peak*) yang berdekatan dengan nilai resolusi (R_s) $> 1,5$ dalam jarak pengembangan yang pendek (5-7 cm), sehingga analisis menjadi jauh lebih efisien.

Selain ukuran partikel fase diam, faktor lingkungan seperti kelembaban relatif (*Relative Humidity/RH*) memegang peranan vital yang sering diabaikan dalam publikasi nasional. Pada mekanisme adsorpsi HPTLC, aktivitas silanol pada permukaan pelat sangat dipengaruhi oleh molekul air dari udara. Variasi RH sebesar 10-20% dapat menggeser nilai R_f secara signifikan, menyebabkan kegagalan uji kesesuaian sistem (*System Suitability Test*). Tinjauan pada jurnal bereputasi tinggi menunjukkan penggunaan bejana pengembang otomatis (*Automatic Developing Chamber/ADC*) yang dapat mengontrol RH secara presisi (misalnya dikondisikan pada 33% menggunakan larutan garam jenuh $\text{MgCl}_2 \sim 2$). Standarisasi aktivitas pelat ini merupakan kunci untuk meningkatkan reproduksibilitas antar laboratorium, sebuah aspek yang perlu diadopsi lebih luas oleh peneliti di Indonesia.

Uji Stabilitas (*Stability Indicating Method*) dan Kemurnian Puncak

Tren penting lainnya adalah pengembangan metode yang "*Stability Indicating*". Berdasarkan panduan ICH Q1A (R2), peneliti kini dituntut untuk melakukan uji stres (*stress testing*) pada obat, meliputi hidrolisis asam/basa, oksidasi, fotolisis, dan termolisis. Metode HPTLC harus dibuktikan mampu memisahkan puncak obat induk dari puncak-puncak degradan yang terbentuk (Hassan et al., 2022). Validasi metode ini tidak berhenti pada pemisahan visual noda. Analisis kuantitatif lanjutan menggunakan pemindai spektrum UV *in situ* pada puncak analit (*Peak Purity Check*) mutlak diperlukan. Dengan membandingkan spektrum pada posisi awal (*upslope*), puncak (*apex*), dan akhir (*downslope*) noda, densitometer dapat mengonfirmasi apakah noda tersebut murni analit tunggal atau terkontaminasi oleh kolusi produk degradasi. Selain itu, data penurunan kadar obat dari uji stres dapat diolah lebih

lanjut untuk menghitung kinetika reaksi degradasi (orde nol atau orde satu) dan mengestimasi umur simpan (*shelf life*) produk.

Kompleksitas Standardisasi Bahan Alam dan *Multi Marker Analysis*

Aplikasi HPTLC pada bahan alam (herbal) merupakan area yang paling dominan di negara berkembang. Berbeda dengan obat sintetis yang matriksnya relatif bersih, ekstrak tanaman mengandung ratusan senyawa pengganggu seperti klorofil, lemak, lilin, dan tanin (Nugroho et al., 2024). Tantangan terbesar dalam standardisasi herbal bukanlah pada instrumen, melainkan variabilitas biologis bahan baku itu sendiri yang dipengaruhi oleh faktor geografis dan musim panen.

Oleh karena itu, tren analisis bergeser dari "*Single Marker Analysis*" menuju "*Multi Marker Analysis*". Alih-alih hanya mengukur kadar satu senyawa marker (seperti Enhidrin), metode HPTLC modern mampu mengkuantifikasi 3-4 senyawa marker sekaligus dalam satu kali elusi. Pendekatan ini memberikan gambaran kualitas ekstrak yang lebih holistik dan mencegah praktik pemalsuan (*spiking*) di mana produsen menambahkan satu senyawa marker murni ke dalam ekstrak kualitas rendah. Strategi pemisahan yang umum digunakan adalah pemilihan sistem pelarut non polar selektif (seperti Kloroform-Heksana) untuk menahan senyawa polar matriks di garis awal. Namun, penggunaan kloroform ini mulai dikritisi karena toksisitasnya, mendorong riset ke arah substitusi pelarut yang lebih aman. Keunggulan unik HPTLC lainnya adalah kemudahan derivatisasi pasca kromatografi. Pelat dapat dicelupkan atau disemprot dengan reagen spesifik (seperti Anisaldehid-Asam Sulfat atau Neu's Reagent) untuk meningkatkan sensitivitas deteksi. Tinjauan literatur menemukan bahwa teknik pencelupan (*dipping*) menggunakan alat otomatis memberikan presisi (RSD) yang jauh lebih baik dibandingkan teknik penyemprotan manual (*spraying*) yang sering menghasilkan distribusi reagen yang tidak merata (Suharsanti et al., 2020).

Tantangan Bioanalisis : Preparasi Sampel dan Efek Matriks

Bioanalisis menggunakan HPTLC, seperti pada studi farmakokinetika α -Mangostin dalam plasma darah, menempati tingkat kesulitan tertinggi karena matriks biologis mengandung protein tinggi yang dapat menyumbat pori fase diam (Fauziah et al., 2020). Teknik preparasi sampel menjadi kunci keberhasilan validasi. Dua pendekatan utama yang ditemukan adalah Pengendapan Protein (*Protein Precipitation/PPT*) yang cepat namun "kotor", dan Ekstraksi Cair-Cair (*Liquid-Liquid Extraction/LLE*) yang memberikan sampel lebih bersih dengan sensitivitas lebih baik. Dalam konteks validasi bioanalitik, rujukan ICH Q2(R1) saja tidak cukup, peneliti harus mengacu pada panduan *FDA Bioanalytical Method Validation*. Dua parameter kritis yang sering luput dalam publikasi nasional adalah "*Matrix Effect*" dan "*Carry over*". *Matrix effect* mengukur seberapa besar komponen plasma yang tidak terlihat menekan atau meningkatkan intensitas sinyal analit. Pada HPTLC, efek ini divisualisasikan dengan membandingkan *slope* kurva kalibrasi standar dalam pelarut murni versus standar dalam matriks (*matrix matched*). Perbedaan *slope* yang signifikan mengindikasikan perlunya perbaikan metode ekstraksi untuk menjamin akurasi data farmakokinetik.

Paradigma Baru : *Green chemistry, AQBd, dan Antarmuka MS*

Salah satu temuan paling krusial dalam tinjauan ini adalah perbedaan pendekatan optimasi metode. Jurnal internasional bereputasi kini sangat menekankan evaluasi profil "hijau". Penggunaan pelarut neurotoksik Kelas 1 dan 2 (seperti Benzena, Kloroform) mulai ditinggalkan secara sistematis, digantikan oleh pelarut Kelas 3 (Etil asetat, Etanol, Aseton). Evaluasi ini dilakukan secara kuantitatif menggunakan metrik seperti Eco Scale atau AGREE (*Analytical Greenness Metric*) yang memberikan skor objektif terhadap dampak lingkungan metode tersebut. Pendekatan optimasi juga bergeser dari *trial and error* menuju *Analytical*

Quality by Design (AQbD). AQbD menggunakan desain eksperimen faktorial (*Design of Experiments/DoE*) untuk mempelajari interaksi antar variabel (fase gerak, waktu jenuh, suhu) terhadap respon kromatografi. Output dari AQbD adalah "*Design Space*", zona operasional yang terbukti tangguh (*robust*). Penerapan AQbD memberikan keuntungan ekonomis jangka panjang bagi industri farmasi karena meminimalkan risiko kegagalan analisis rutin (Nagieb et al., 2024). Masa depan HPTLC juga mengarah pada teknik gabungan (*hyphenated*) HPTLC-MS. Teknologi antarmuka (*interface*) modern memungkinkan ekstraksi langsung noda dari pelat menuju spektrometer massa untuk identifikasi bobot molekul, menjawab kelemahan HPTLC konvensional yang hanya mengandalkan nilai R_f. Bagi peneliti Indonesia, investasi pada *interface* ini bisa menjadi solusi ekonomis untuk mendapatkan data kualitatif tingkat tinggi setara LC-MS.

Analisis Kesenjangan (*Gap Analysis*) Studi Komparatif

Analisis mendalam terhadap tiga artikel terpilih mengungkapkan pola kesenjangan kualitas antara publikasi tingkat internasional dan nasional. Tabel 1 merangkum perbedaan spesifikasi teknis dan metodologis dari studi kasus yang dianalisis.

Tabel 1. Perbandingan Instrumen dan Metodologi Lintas Spektrum Jurnal

Parameter	Artikel 1 (Internasional - Q2)	Artikel 2 (Nasional - Sinta 5)	Artikel 3 (Nasional - Sinta 4)
Senyawa Target	Captopril, Hidroklorotiazid, & Pengotor	Enhidrin (Senyawa Penanda Herbal)	α -Mangostin (Senyawa Aktif Manggis)
Matriks Sampel	Sediaan Tablet Farmasi & Bahan Baku	Ekstrak Tumbuhan Yakon	Plasma Darah Manusia
Fokus Validasi	Komprehensif (termasuk Robustness, Ruggedness, Stress Testing)	Dasar (Linearitas, Akurasi, Presisi)	Menengah (Fokus pada Recovery ekstraksi & Presisi intra/inter-day)
Optimasi Metode	Statistik Lanjut (AQbD/DoE) untuk menentukan <i>Design Space</i>	<i>Trial and Error</i> (Satu variabel pada satu waktu)	<i>Trial and Error</i> berdasarkan literatur sebelumnya
Pemilihan Pelarut	Green Solvents (Etil Asetat, Etanol) dengan evaluasi metrik AGREE	Konvensional (Kloroform/Heksana) demi selektivitas	Konvensional (Kloroform)
Interpretasi Data	Analisis statistik mendalam (Uji ANOVA, Uji t, Uji F)	Deskriptif sederhana	Deskriptif

Kesenjangan ini menunjukkan bahwa meskipun peneliti nasional telah mampu melakukan validasi dasar, aspek-aspek modern seperti keberlanjutan lingkungan (*sustainability*) dan pendekatan statistik multivariat dalam pengembangan metode (AQbD) masih perlu ditingkatkan secara signifikan. Peneliti nasional cenderung pragmatis dalam memilih pelarut yang "pasti jadi", sedangkan peneliti internasional dituntut untuk membuktikan efisiensi, keamanan, dan ketangguhan metode mereka melalui data statistik.

KESIMPULAN

Berdasarkan tinjauan literatur sistematis periode 2016–2024 terhadap 23 artikel terpilih, dapat ditarik beberapa kesimpulan strategis: Transformasi HPTLC: HPTLC telah bertransformasi dari sekadar alat identifikasi kualitatif menjadi teknik analisis kuantitatif yang *reliable*, *robust*, dan diakui secara global. Dengan instrumen yang tepat, metode ini mampu memenuhi kriteria validasi ketat ICH Q2(R1) untuk analisis farmasi multikomponen, uji stabilitas, maupun bioanalisis yang kompleks. Solusi Ekonomi: Keunggulan efisiensi biaya operasional (mencapai penghematan 60-70%) dan waktu analisis menjadikan HPTLC solusi strategis bagi laboratorium di negara berkembang untuk meningkatkan kapasitas pengujian

sampel tanpa membebani anggaran secara berlebihan. Imperatif Hijau: Terdapat pergeseran tren global yang kuat dan tak terelakkan menuju penerapan *Green Analytical Chemistry*. Metode yang masih menggunakan pelarut berbahaya (Kloroform, Benzena, Karbon Tetraklorida) semakin sulit diterima di jurnal bereputasi tinggi karena alasan etika lingkungan dan keselamatan kerja. Kesenjangan Kualitas Riset: Masih terdapat kesenjangan metodologis yang nyata antara riset nasional dan internasional, terutama dalam hal penerapan desain eksperimen statistik (AQbD/DoE), penggunaan pelarut hijau, dan teknik preparasi sampel biologis yang canggih.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti menyampaikan terimakasih atas dukungan, inspirasi dan bantuan kepada semua pihak dalam membantu peneliti menyelesaikan penelitian ini, termasuk pada peserta yang telah bersedia berpartisipasi dalam penelitian hingga selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, R., Andira, R. P., & Armin, F. (2024). *Analysis of oxybenzone in sunscreen lotions using validated reversed phase TLC-densitometry*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 11(3), 323–331.
- Andrawina, F., Rashida, P. S., Yulianingrum, E. M., Rahmajani, I. A., Azizah, A. N., Ammar, A. H., & Tjhang, A. P. (2024). *Literature review: Analisis kandungan senyawa obat dalam berbagai sediaan farmasi dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) - densitometri*. *Medic Nutricia: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 9(5), 1–10.
- Arbi, P., Wibawa, A. A. C., & Pramitha, D. A. I. (2025). Analisis kuantitatif kadar kuersetin pada fraksi n-butanol biji kakao (*Theobroma cacao L.*) dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) densitometri. *Usadha*, 4(2), 54–60.
- Aulia, D. A. P., & Supandi. (2025). *Identification of paracetamol compound in traditional herbal medicine for muscle pain relief using thin layer chromatography - densitometry*. *Journal of Pharmaceuticals and Natural Sciences*, 2(2), 89–95.
- Dołowy, M., Parys, W., & Pyka-Pająk, A. (2022). *Validated TLC-densitometric method for the determination of valproic acid in pharmaceutical formulations*. *Molecules*, 27(3), 890.
- El-Gindy, A., Emam, A. A., Mesalhy, A. S., & Youssef, N. F. (2024). *A novel sustainable HPTLC densitometric method for the simultaneous determination of amlodipine, bisoprolol, hydrochlorothiazide in their ternary mixture*. *BMC Chemistry*, 18(1), 45.
- El-Houssini, O. M., El-Deen, A. K., & El-Wekil, M. M. (2024). *Smartphone-assisted HPTLC/Image J and HPTLC densitometric methods for the simultaneous determination of vonoprazan fumarate and aspirin*. *Scientific Reports*, 14, 11234.
- Fatimah, S. F., Edityaningrum, C. A., Istiqomah, W. N., Gandjar, I. G., & Nurani, L. H. (2020). Validasi metode kromatografi lapis tipis (KLT)-densitometri untuk penetapan kadar β-karoten dalam tablet kunyah ekstrak Spirulina platensis. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 5(1), 137–148.
- Fauziah, F., Kardela, W., Rasyid, R., & Silvi, M. (2020). Validasi metode analisis α-mangostin dalam plasma darah manusia secara in vitro dengan kromatografi lapis tipis-densitometri. *Jurnal Farmasi Higea*, 12(1), 45–53.
- Hanwar, D., Talluri, M. V. N. K., Srinivas, R., & Kalariya, P. D. (2020). *Validated HPTLC-densitometric method for the estimation of delafloxacin in human plasma*. *Antibiotics*, 9(3), 112.

- Hassan, M., Abdelwahab, N. S., Abdelrahman, M. M., & Zaazaa, H. E. (2022). *Simultaneous determination of omeprazole and diclofenac sodium in pharmaceutical preparations using TLC-densitometry*. *Journal of Planar Chromatography - Modern TLC*, 35, 231–238.
- International Conference on Harmonisation (ICH). (2005). *Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1)*. ICH.
- Irawan, F. E. O., Anisyah, L., & Hasana, A. R. (2023). Uji bahan kimia obat (asam mefenamat) pada jamu pereda nyeri haid di Kota Malang dengan metode kromatografi lapis tipis. *FARMASIS: Jurnal Sains Farmasi*, 4(2), 67–76.
- Komsta, Ł., Waksmundzka-Hajnos, M., & Sherma, J. (Eds.). (2013). *Thin layer chromatography in drug analysis*. CRC Press.
- Moffat, A. C., Osselton, M. D., & Widdop, B. (2011). *Clarke's analysis of drugs and poisons*. Pharmaceutical Press.
- Nagieb, H. M., Abdelwahab, N. S., Abdelrahman, M. M., Zaazaa, H. E., & Ghoniem, N. S. (2024). *AQbD TLC-densitometric method approach along with green profile assessment for the simultaneous determination of captopril and hydrochlorothiazide in presence of impurities*. *BMC Chemistry*, 18(1), 22.
- Nugroho, A., Prasasti, S. S., & Tamhid, H. A. (2024). Validasi metode analisis senyawa enhidrin dalam ekstrak daun yakon menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) - densitometri. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 7(1), 6–10.
- Poole, C. F. (2003). *The essence of chromatography*. Elsevier.
- Pyka-Pająk, A., Gatti, F., Briganti, V., & Locatelli, M. (2024). *TLC-densitometric method for the determination of metronidazole, secnidazole, and tinidazole in pharmaceutical preparations*. Preprints, 2024010123.
- Reich, E., & Schibli, A. (2007). *High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants*. Thieme.
- Rollando, R., Embang, E. D., & Monica, E. (2019). Penetapan kadar fenilbutazon dan parasetamol didalam jamu pegal linu yang beredar di Kota Malang secara kromatografi lapis tipis densitometri. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 2(1), 30–38.
- Savitri, A., & Megantara, S. (2019). Metode KLT-densitometri sebagai penetapan kadar bahan aktif sediaan farmasi. *Farmaka*, 17(2), 1–15.
- Sherma, J., & Fried, B. (2003). *Handbook of thin-layer chromatography*. Marcel Dekker.
- Suharsanti, R., Astutiningsih, C., & Susilowati, N. D. (2020). Kadar kurkumin ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica*) secara KLT-densitometri dengan perbedaan metode ekstraksi. *Jurnal Wiyata*, 7(2), 89–96.
- Topanni, I., Rosyada, S., Tsamara, C., Saputri, A., & Tabitha, K. (2024). Review artikel: Analisis obat dalam berbagai bentuk sediaan dengan metode KLT-densitometri. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 10(14), 644–651.
- Wahyuningsih, E., Sa'adah, T. F., & Ikhtiyarin, T. A. (2023). Pengembangan dan validasi metode KLT densitometri untuk analisis parasetamol dan kafein secara simultan pada sediaan tablet dengan menggunakan etil asetat [Laporan Penelitian]. Universitas Muhammadiyah Surabaya.
- Wróblewski, K., Petruczynik, A., Hubicka, U., Tuzimski, T., & Waksmundzka-Hajnos, M. (2019). *Development and validation of HPTLC-densitometric method for determination of nandrolone decanoate in pharmaceutical formulation*. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2019, 1–9.