

## **BAB I**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **1.1 Pasta Gigi**

##### **1.1.1 Pengertian pasta gigi**

Pasta gigi adalah serbuk atau sediaan lainnya yang digunakan untuk menggosok atau membersihkan gigi. Dengan sifat dan efek membersihkan, pasta gigi juga mampu memberikan manfaat sekunder pada kesehatan mulut (Butler, 2000:217-251), serta fluorida yang terkandung dalam pasta gigi dapat membantu melindungi gigi dari kerusakan gigi dan penyakit gusi (*Cosmetic Destistry Guide*, 2014)

##### **1.1.2 Klasifikasi pasta gigi**

Menurut Maldupa, dkk. (2012:12-22), pasta gigi diklasifikasikan berdasarkan karakteristik bahan aktifnya, yaitu:

- a. Pasta gigi untuk pencegahan dan pengobatan karies gigi

Pasta gigi berfluorida ini memiliki kemampuan untuk menghambat perkembangan karies (mengurangi 19-27% dari karies) dan menyediakan remineralisasi enamel. Demineralisasi enamel tidak terlihat secara klinis atau dengan pemeriksaan radiologi, namun demineralisasi dimulai saat pertukaran mineral

terganggu. Pengobatan kerusakan tersebut dilakukan dengan meningkatkan jumlah konsentrasi fluorida untuk remineralisasi. Hal itu dapat dicapai dengan membersihkan gigi menggunakan pasta gigi berfluorida. Namun penggunaan pasta gigi berfluorida secara rutin pada anak-anak usia dini dapat mengakibatkan perkembangan fluorosis.

b. Pasta gigi untuk pencegahan dan pengobatan penyakit periodontal

Penyebab dari penyakit gingivitis dan periodontitis adalah adanya bakteri dalam plak gigi. Pencegahan penyakit tersebut dapat dengan menghilangkan plak secara teratur sehingga mencegah terjadinya pertumbuhan bakteri. Untuk mencegah pertumbuhan bakteri, pasta gigi tersebut ditambahkan berbagai bahan antiseptik dan antibakteri seperti triclosan dan klorheksidin.

c. Pasta gigi untuk pengobatan gigi sensitif

Pasta gigi ini mengandung bahan analgesik atau bahan yang menutup tubulus dentin. Pada pasta gigi analgesik mengandung garam potassium yang bekerja mempertahankan  $K^+$  tetap tinggi pada tingkat ekstraselular sehingga mencegah kembali terjadinya polarisasi membran sel saraf dan menghambat transmisi impuls. Sedangkan pada pasta gigi yang menutupi tubulus dentin, senyawa fluorida memberikan remineralisasi sehingga meningkatkan ketahanan terhadap asam dentin. Presipitasi senyawa fluorida yang terjadi dapat menutupi tubulus dentin. Bahan yang dapat menutupi tubulus dentin adalah stannous fluor, kalsium sodium fosfosilikat dan strontium klorida.

d. Pasta gigi untuk memutihkan gigi

Tujuan utama dari pasta gigi ini adalah untuk penghapusan plak baik secara mekanis maupun kimia. Dengan penghapusan plak bernoda, gigi akan kembali putih alami. Plak tersebut dapat dihilangkan dengan bahan abrasif atau dengan enzim yang menempel dalam protein.

e. Pasta gigi dengan tujuan khusus

Pasta gigi ini digunakan untuk mengobati kondisi khusus. Misalnya untuk menstimulasi ekskresi saliva dengan kandungan minyak zaitun, betaine dan xylitol.

### 1.1.3 Komposisi pasta gigi

Efek membersihkan yang diinginkan dapat dicapai dengan menambahkan sedikit bahan abrasif yang dikombinasikan dengan surfaktan. Surfaktan berfungsi untuk memberikan efek busa sehingga kotoran-kotoran dari permukaan dapat terbawa di dalamnya. Namun kedua bahan tersebut memiliki rasa yang tidak dapat diterima, maka biasanya dilakukan penambahan bahan pemanis yang dapat menutupi rasa tidak enak sehingga memberikan kenyamanan dalam menggunakannya (Butler, 2000:217-251).

Untuk mendapatkan suspensi solid yang kental maka perlu ditambahkan bahan pembentuk gel dan bahan pengental. Penambahan humektan ke dalam sistem juga perlu ditambahkan untuk mencegah terjadinya kekeringan. Bahan pewarna dan

bahan pengawet juga kadang ditambahkan jika diperlukan untuk memperbaiki dan mempertahankan sediaan (Butler, 2000:217-251).

Pada umumnya bahan yang terdapat dalam pasta gigi kosmetik sederhana, yaitu (Butler, 2000:217-251):

a. Bahan abrasif

Tujuan utama dari bahan abrasif ini adalah untuk membersihkan lapisan kotoran pada gigi. Contoh bahan abrasif:

- 1) *Dicalcium phosphate dihydrate (DCPD)  $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$*  adalah salah satu yang paling banyak digunakan sebagai bahan abrasif karena memberikan stabilitas rasa yang baik. Bahan tersebut berwarna putih sehingga pasta gigi tidak perlu menambahkan bahan pemutih. Kelemahan utamanya adalah bahan ini kompatibel dengan sodium monofluorophosphate sebagai fluorida yang terjadi karena adanya ion kalsium bebas. Bahan ini biasanya diberikan sebanyak 40%-50% untuk memberikan pasta gigi yang relatif padat.
- 2) *Calcium carbonate  $CaCO_3$*  adalah salah satu bahan yang paling umum digunakan dalam pasta gigi. Endapan kalsium karbonat ini berwarna putih, ukuran partikel dan bentuk kristalnya bervariasi tergantung pada kondisi pembuatannya. Endapan kalsium karbonat ini tidak kompatibel dengan sodium fluorida tapi stabil dengan sodium monofluorophosphate

yang kurang reaktif. Bahan ini juga diberikan sebanyak 30%-50% untuk memberikan pasta gigi yang relatif padat.

b. Surfaktan

Surfaktan digunakan dalam pasta gigi untuk membantu dalam penetrasi film pada permukaan pasta gigi dengan cara menurunkan tegangan permukaan. Surfaktan juga menyediakan manfaat sekunder dengan pembentukan busa untuk menghilangkan kotoran. Bahan ini digunakan dalam pasta gigi agar tidak mengiritasi mukosa mulut dalam kondisi penggunaan normal. Awalnya sabun adalah surfaktan yang digunakan tapi karena sifatnya yang sangat basa dan tidak kompatibel dengan beberapa komponen dalam pasta sehingga diganti oleh surfaktan sintetis yang memberikan busa lebih baik dan lebih kompatibel dengan komponen dalam pasta karena rentang pH yang bersifat netral. Surfaktan sintetis juga memiliki kemurnian yang lebih tinggi sehingga dapat menghilangkan beberapa komponen rasa pahit yang mempengaruhi rasa pasta gigi. Secara umum, surfaktan diberikan pada konsentrasi sekitar 1-2% dari berat sediaan. Contoh surfaktan sintetis yang digunakan yaitu: *Sodium lauryl sulphate (SLS)  $ROSO_3Na$* . Gugus R adalah alkil radikal rantai panjang karena SLS disintesis dari alkohol alami. SLS ini telah menjadi surfaktan utama yang digunakan hampir oleh semua merk pasta gigi diseluruh dunia.

c. Humektan

Humektan ini digunakan untuk mencegah pasta gigi menjadi kering dan keras pada tingkat yang tidak dapat diterima. Umumnya hanya ada dua humektan utama yang sering digunakan dalam pasta gigi, yaitu:

- 1) *Glycerin*,  $CH_2OHCHOHCH_2OH$  merupakan humektan yang digunakan dalam jumlah terbesar pada pasta gigi, karena gliserin adalah salah satu humektan terbaik yang menghasilkan kilap dan produk yang *glossy*. Gliserin ini stabil, tidak beracun, sintetis sumber alami dan berfungsi juga sebagai bahan pemanis dalam pasta.
- 2) *Sorbitol*,  $CH_2OH(CHOH)_4CH_2OH$ . Sirup sorbitol (sekitar 70%) juga banyak digunakan di industri dan kadang dianggap lebih unggul tapi tergantung pada formulasinya. Sorbitol juga memberikan rasa manis dan merupakan humektan yang stabil.

d. Bahan pembentuk gel

Bahan ini digunakan untuk menjaga stabilitas dari pasta dan mencegah terjadinya pemisahan komponen fase. Beberapa formulasi memiliki kombinasi bahan pembentuk gel untuk mencapai preferensi yang diinginkan. Contoh bahan peningkat gel: *Sodium Carboxymethyl Cellulose (CMC)* adalah salah satu bahan pembentuk gel yang banyak digunakan dalam pasta gigi. Bahan ini memberikan fleksibilitas dalam hal kelarutan, elastisitas dan peningkatan stabilitas dengan adanya elektrolit.

e. Bahan pemanis

Bahan ini penting untuk penerimaan produk karena produk akhir harus tidak terlalu manis atau terlalu pahit. Contoh bahan pemanis: *Sodium saccharin* adalah bahan pemanis yang banyak digunakan dan umumnya diberikan dengan konsentrasi 0,05% dan 0,5% dari berat sediaan.

f. Bahan perasa

Rasa adalah campuran dari banyak minyak yang sesuai, *peppermint* dan *spearmint* menjadi komponen dasar utama. Bahan ini selalu diperkaya dengan komponen lainnya seperti timol, anethole, mentol (untuk memberikan efek pendinginan yang menyenangkan), eugenol (minyak cengkeh), kayu manis, eucalyptol, adas manis, dan *wintergreen* (untuk memberikan efek obat). Dengan demikian, rasa merupakan bagian yang sangat kompleks dari pasta gigi dan juga salah satu yang paling mahal (hingga 25% dari biaya bahan baku). Selain itu, karena rasa adalah campuran minyak organik yang sedikit larut, interaksi dengan komponen pasta gigi sering tak terduga. Rasa dan stabilitas dapat dipengaruhi sangat baik oleh komponen lain dari pasta gigi, misalnya kadar air bebas atau penyerapan oleh bahan abrasif (mungkin untuk permukaan), dan juga oleh sifat fisik pasta gigi, misalnya pH, viskositas dan lain-lain yang semuanya dapat menyebabkan perubahan dalam persepsi rasa.

## 1.2 Fluorida

### 1.2.1 Pengertian fluorida

Fluor (*fluorine*) golongan halogen VIIA yang merupakan unsur paling reaktif, oksidator paling kuat serta memiliki elektronegativitas paling tinggi. Bereaksi keras dengan zat yang paling mudah teroksidasi pada suhu kamar. Fluor mudah membentuk senyawa dengan hampir semua unsur lainnya, bahkan dengan gas mulia seperti

krypton, xenon dan radon. Saking reaktifnya, kaca, logam bahkan air serta zat lain akan terbakar dan menyala terang saat direaksikan dengan gas fluor. Dalam larutan, fluor biasanya terbentuk sebagai ion fluorida ( $F^-$ ). Fluorida terbentuk dari interaksi antara ion fluorida dengan unsur lain yang bermuatan positif (Merck Index, 2013:1599).

Menurut Strassler, fluor merupakan komponen pasta gigi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam rongga mulut. Fluorida memiliki antikariogenik dan dapat mencegah inisiasi perkembangan karies dengan membentuk kompleks (Nigam, dkk.,2009:1-8).

### **1.2.2 Penggunaan fluorida**

Tujuan dari penggunaan fluor adalah untuk melindungi gigi dari karies. Fluor bekerja dengan cara menghambat metabolisme bakteri plak yang dapat memfermentasi karbohidrat melalui perubahan hidrosil apatit pada enamel menjadi fluor apatit. Reaksi kimia yang terjadi yaitu  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + F \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OHF)$  menghasilkan enamel yang lebih tahan terhadap asam sehingga dapat menghambat proses demineralisasi dan meningkatkan remineralisasi yang merangsang perbaikan dan penghentian lesi karies (Angela, 2005:130-134).

Penggunaan fluor dapat dilakukan dengan fluoridasi air minum, pasta gigi, obat kumur yang mengandung fluor, pemberian tablet fluor dan topikal varnis.



Penyikatan gigi dua kali sehari menggunakan pasta gigi yang mengandung fluor terbukti dapat menurunkan karies. Penyikatan gigi, *flossing* dan profesional propilaksis disadari sebagai komponen dasar dalam menjaga kebersihan mulut. Keterampilan penyikatan gigi harus diajarkan dan ditekankan pada anak di segala umur. Anak di bawah umur 5 tahun tidak dapat menjaga kebersihan mulutnya secara benar dan efektif maka orang tua harus melakukan penyikatan gigi anak setidaknya sampai anak berumur 6 tahun kemudian mengawasi prosedur ini secara terus menerus (Angela, 2005:130-134).

Pasta gigi yang mengandung 1000-2800 ppm menunjukkan hasil yang baik dalam pencegahan karies tinggi pada anak di antara umur 6-16 tahun. Asam plak gigi akan turun dari pH normal samapi mencapai pH 5 dalam waktu 3-5 menit sesudah makan makanan yang mengandung karbohidrat. Menyikat gigi dapat mempercepat proses kenaikan pH 5 menjadi normal (6-7) sehingga dapat mencegah proses pembentukan karies (Angela, 2005:130-134).

Berbagai senyawa fluorida digunakan sendiri atau dikombinasikan dalam formula, termasuk sodium fluorida, sodium monofluorophosphate, amina fluorida dan stannous fluorida yang masing-masing spesifikasi bahannya kompatibel dengan bahan lainnya, terutama dengan bahan abrasif yang menyumbang hampir setengah dari formulasi pasta gigi (Marinho, dkk., 2009:3-4).

Pasta gigi yang mengandung konsentrasi fluorida lebih tinggi memberi perlindungan yang lebih besar terhadap karies tapi meningkatkan resiko fluorosis,

terutama pada penggunaan oleh anak-anak selama periode pembentukan gigi sampai usia sekitar 6 tahun (Marinho, dkk., 2009:3-4).

### **1.3 Efek Fluorida bagi Manusia**

Kadar fluorida yang tinggi memiliki kaitan dengan terjadinya dental fluorosis (suatu keadaan dimana gigi menjadi kekuningan atau kecoklatan dan terdapat bintik-bintik pada enamel gigi) sementara kadar yang rendah yaitu kurang dari 0,1 mg/L memiliki kaitan dengan tingginya kejadian kerusakan gigi (karies), meskipun status nutrisi juga merupakan faktor yang berpengaruh (Fawell, Bailey, Chilton, Dahi, Fewtrell & Magara, 2006). Pada dosis terendah, toksisitas fluorida akut muncul berupa mual, sakit perut dan muntah (Shulman dan Wells, 1997: 150-153). Tingkat risiko minimal untuk penyerapan fluorida harian telah ditentukan menjadi 0,05 mg/kg/hari. Asupan fluorida yang berlebihan selama jangka waktu yang panjang, selain menyebabkan fluorosis yang ditandai dengan bintik-bintik pada gigi juga menyebabkan manifestasi skeletal seperti cacat (lumpuh), osteoporosis dan osteosklerosis. Risiko tambahan dari peningkatan oleh paparan fluorida yang paling signifikan adalah efek pada sel-sel tulang (osteoblas dan osteoklas) yang dapat menyebabkan perkembangan fluorosis tulang (Barbier, Mendoza dan Del Razo, 2010:319-333).

## **1.4 Destruksi**

Destruksi merupakan suatu perlakuan pemecahan senyawa menjadi unsur-unsurnya sehingga dapat dianalisis atau disebut juga dengan perombakan dari bentuk logam organik menjadi bentuk logam anorganik. Pada dasarnya ada dua jenis destruksi, yaitu destruksi basah dan destruksi kering. Perbedaan dari kedua destruksi ini berdasarkan teknik pengerjaan dan lama pemanasan atau pendestruksian (Kristianingrum, S. 2012: 197).

### **1.4.1 Destruksi Basah**

Destruksi basah merupakan perombakan sampel dengan asam-asam kuat baik tunggal maupun campuran, kemudian dioksidasi dengan menggunakan zat oksidator. Pelarut-pelarut yang dapat digunakan untuk destruksi basah antara lain asam nitrat, asam sulfat, asam perklorat, dan asam klorida. Semua pelarut tersebut dapat digunakan baik tunggal maupun campuran. Kesempurnaan destruksi ditandai dengan diperolehnya larutan jernih pada larutan destruksi, yang menunjukkan bahwa semua konstituen yang ada telah larut sempurna atau perombakan senyawa-senyawa organik telah berjalan dengan baik. Senyawa-senyawa garam yang terbentuk setelah destruksi merupakan senyawa garam yang stabil dan disimpan selama beberapa hari (Kristianingrum, S. 2012: 197).

### 1.4.2 Destruksi Kering

Destruksi Kering merupakan perombakan logam organik di dalam sampel menjadi logam-logam anorganik dengan jalan pengabuan sampel dalam *muffle furnace* dan memerlukan suhu pemanasan tertentu. Pada umumnya dalam destruksi kering ini dibutuhkan suhu pemanasan antara 400-800°C, tetapi suhu ini sangat tergantung pada jenis sampel yang akan dianalisis. Untuk menentukan suhu pengabuan dengan sistem ini terlebih dahulu ditinjau jenis logam yang akan dianalisis. Bila oksida-oksida logam yang terbentuk bersifat kurang stabil, maka perlakuan ini tidak memberikan hasil yang baik. Untuk logam Fe, Cu, dan Zn oksidanya yang terbentuk adalah  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , FeO, CuO, dan ZnO. Semua oksida logam ini cukup stabil pada suhu pengabuan yang digunakan. Oksida-oksida ini kemudian dilarutkan ke dalam pelarut asam encer baik tunggal maupun campuran, setelah itu dianalisis menurut metode yang digunakan (Kristianingrum, S. 2012: 197).

### 1.5 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri merupakan metode yang digunakan untuk mengukur kepekaan warna pada sampel yang diuji dengan instrumen spektrofotometer. Spektrofotometer terdiri dari spektrofotometer dan fotometer. Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang.

Fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsikan (Basset, dkk., 1994 dan Khopkar, 1998:220).

Sinar ultraviolet dan sinar tampak merupakan suatu bentuk radiasi elektromagnetik dan dapat dianggap sebagai energi yang merambat dalam bentuk gelombang, karena bersifat sebagai gelombang maka beberapa parameter perlu diketahui misalnya panjang gelombang, frekuensi dan bilangan gelombang (Gandjar dan Rohman, 2007:220-265).

Spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun analisis kuantitatif (Gandjar dan Rohman, 2007:220-265).

Lambert dan Beer telah menurunkan secara empiris hubungan antara intensitas cahaya yang ditransmisikan dengan tebalnya larutan dan hubungan antara intensitas tadi dengan konsentrasi zat (Gandjar dan Rohman, 2007:220-265).

$$A = a b c \dots\dots\dots(1)$$

Dimana:

A = absorpsi

a = absorptivitas

b = tebal kuvet

c = konsentrasi

Hukum Lambert dan Beer tersebut menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan.

Ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam analisis dengan spektrofotometri UV-Vis terutama untuk senyawa yang semula tidak berwarna yang akan dianalisis dengan spektrofotometri visible karena senyawa tersebut harus diubah terlebih dahulu menjadi senyawa yang berwarna. Hal-hal yang diperhatikan tersebut diantaranya (Gandjar dan Rohman, 2007:220-265):

a. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis

Jika senyawa analisis tidak menyerap sinar UV-Vis, maka dapat diubah menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu. Pereaksi yang digunakan harus memiliki reaksi yang selektif dan sensitif, reaksinya cepat, kuantitatif, reproduibel dan hasil reaksi yang didapat stabil dalam jangka waktu yang lama.

b. Waktu operasional

Penentuan waktu operasional biasa ditetapkan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Hasil ini bertujuan untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Semakin lama waktu pengukuran, maka ada kemungkinan senyawa yang berwarna tersebut menjadi rusak atau terurai sehingga intensitas warnanya menurun dan mengakibatkan absorbansinya juga menurun.

c. Pemilihan panjang gelombang

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Untuk memilih panjang

gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu. Ada beberapa alasan mengapa harus menggunakan panjang gelombang maksimal, yaitu pada panjang gelombang maksimum kepekaannya juga maksimum karena perubahan absorbansi untuk setiap perubahan konsentrasi adalah yang paling besar, pada panjang gelombang maksimum bentuk kurva absorbansi cenderung datar dan pada kondisi tersebut hukum Lambert-Beer akan terpenuhi serta jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali, ketika digunakan panjang gelombang maksimal.

d. Pembuatan kurva baku

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi, lalu masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi ( $y$ ) dengan konsentrasi ( $x$ ). Kurva baku sebaiknya sering diperiksa ulang, karena penyimpangan dari garis lurus biasanya dapat disebabkan oleh kekuatan ion yang tinggi, perubahan suhu dan reaksi ikutan yang terjadi.

e. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan

Absorban yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmitans.

### **1.5.1 Prinsip analisis kuantitatif fluorida dengan Spektrofotometer menggunakan pereaksi SPADNS-Asam zirkonil**

Pada metode analisis fluorida yang menggunakan pereaksi SPADNS secara spektrofotometri sinar tampak ini didasarkan pada reaksi antara fluorida dengan zat warna zirkonium. SPADNS tidak bereaksi secara langsung dengan fluorida tetapi terlebih dahulu direaksikan dengan zirkonil klorida ( $ZrOCl_2$ ) untuk membentuk suatu kompleks yang berwarna merah pekat. Fluorida dapat bereaksi dengan reagen tersebut, membentuk kompleks anion yang tidak berwarna yaitu  $ZrF_6^{2-}$ . Dengan adanya peningkatan kadar fluorida, maka warna yang terbentuk akan semakin pudar sehingga akan menyebabkan terjadinya penurunan serapan pada spektrofotometer (Greenberg, 2005:(4)85-86).

Pengurangan serapan pereaksi SPADNS-asam zirkonil klorida ini sebanding dengan konsentrasi fluorida dalam zat uji yang kemudian diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 570 nm (Greenberg, 2005:(4)85-86).

Reaksi yang terjadi antara ion fluorida dengan pereaksi SPADNS-asam zirkonil berlangsung cepat karena sangat dipengaruhi oleh keasaman dari reaksi campuran tersebut pada 10 menit setelah penambahan reagen (Greenberg, 2005:(4)85-86).



## 1.6 Verifikasi Metode Analisis

Validasi menurut *United States Pharmacopeia* (USP) dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurasi, spesifisitas, keterulangan dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. Suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya cukup mampu untuk mengatasi problem analisis (Gandjar dan Rohman, 2007:456-480). Definisi verifikasi dalam standar ISO/IEC 17025:2005 sama dengan definisi verifikasi dalam ISO 9000:2005 pada poin 2.8.4 yaitu konfirmasi melalui penyediaan bukti objektif, bahwa persyaratan yang ditentukan telah dipenuhi. Verifikasi maksudnya adalah memeriksa apakah syarat yang disebutkan (*specified requirements*) itu sudah terpenuhi atau belum.

### 1.6.1 Akurasi

Akurasi adalah ukuran ketepatan metode analisis atau kedekatan perolehan antara nilai sebenarnya dan nilai yang diperoleh dalam sampel (Swartz dan Krull, 2012:61-78). Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali analit yang ditambahkan. Untuk mendokumentasikan akurasi, ICH (*Internasional Conference on Harmonization*) merekomendasikan pengumpulan data dari 9 kali penetapan kadar dengan 3 konsentrasi yang berbeda (misal 3 konsentrasi dengan 3 kali replikasi). Data harus dilaporkan sebagai presentase perolehan kembali (Gandjar & Rohman, 2007:456-480).

Akurasi ditentukan dengan dua cara, yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau metode penambahan baku (*standard addition method*). Dalam metode simulasi, sejumlah analit bahan murni ditambahkan ke dalam campuran bahan pembawa sediaan farmasi (*placebo*) lalu campuran tersebut dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan (kadar yang sebenarnya). Dalam metode penambahan baku, sampel dianalisis lalu sejumlah tertentu analit yang diperiksa ditambahkan ke dalam sampel dicampur dan dianalisis lagi. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya (hasil yang diharapkan). Dalam kedua metode tersebut, persen perolehan kembali dinyatakan sebagai rasio antara hasil yang diperoleh dengan hasil yang sebenarnya (Gandjar dan Rohman, 2007:456-480).

### **1.6.2 Presisi**

Presisi adalah kedekatan atau kesesuaian perolehan antara hasil individu dari analisis berulang pada sampel homogen. Presisi umumnya dilakukan pada tiga tingkatan yang berbeda: keterulangan, presisi antara dan ketertiruan (Swartz dan Krull, 2012:61-75). Keterulangan mengacu pada kemampuan metode untuk menghasilkan hasil yang sama selama selang waktu singkat dibawah kondisi dan analisis yang sama (*intra-assay precision*). Hasil tersebut ditentukan dari minimal 9 penentuan yang mencakup kisaran tertentu dari prosedur. Presisi antara mengacu pada kemampuan metode dimana sampel-sampel diuji dan dibandingkan

menggunakan tenaga analis, peralatan dan hari yang berbeda (*inter-day precision*). Sedangkan ketertiruan mengacu pada hasil kolaboratif antara laboratorium yang berbeda. Dokumentasi untuk mendukung studi ketertiruan harus mencakup simpangan baku, simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (CV) dan kisaran kepercayaan. Koefisien variasi meningkat seiring dengan menurunnya konsentrasi analit (Swartz dan Krull, 2012:61-75 dan Gandjar dan Rohman, 2007:456-480).

Nilai RSD antara 1-2% biasanya dipersyaratkan untuk senyawa-senyawa aktif dalam jumlah banyak, sedangkan untuk senyawa-senyawa dengan kadar sedikit nilai RSD berkisar antara 5-15% (Gandjar dan Rohman, 2007:456-480).

### **1.6.3 Batas deteksi (LOD)**

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. LOD merupakan batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit di atas atau di bawah nilai tertentu. Definisi batas deteksi yang paling umum digunakan dalam analisis kimia adalah bahwa batas deteksi merupakan kadar analit yang memberikan respon sebesar blanko ( $Y_b$ ) ditambah dengan 3 simpangan baku blanko ( $3S_b$ ) (Gandjar dan Rohman, 2007:456-480).

ICH menggunakan dua metode pilihan lain untuk menentukan LOD, yakni metode non instrumental visual yang digunakan pada teknik kromatografi lapis tipis dan pada metode titrimetri, dengan metode perhitungan berdasarkan pada standar deviasi (SD) respon dan kemiringan (*slope*, S) kurva baku pada level yang mendekati LOD sesuai dengan rumus,  $LOD=3,3 (SD/S)$ . Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan pada standar deviasi blanko, pada standar deviasi residual dari garis regresi atau standar deviasi intersep y pada garis regresi (Gandjar dan Rohman, 2007:456-480).

#### **1.6.4 Batas kuantifikasi (LOQ)**

Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. Sebagaimana LOD, LOQ juga dianggap sebagai konsentrasi (dengan akurasi dan presisi juga dilaporkan). Kadang-kadang *signal to noise* 10:1 digunakan untuk menentukan LOQ. Perhitungan dengan rasio *signal to noise* 10:1 merupakan aturan umum, meskipun demikian perlu diingat bahwa LOQ merupakan suatu kompromi antara konsentrasi dengan presisi dan akurasi yang dipersyaratkan. Jadi, jika konsentrasi LOQ menurun maka presisi juga menurun. Jika presisi tinggi dipersyaratkan, maka konsentrasi LOQ yang lebih tinggi harus dilaporkan (Gandjar dan Rohman, 2007:456-480).

ICH mengenalkan metode rasio *signal to noise* ini, meskipun demikian sebagaimana dalam perhitungan LOD, ICH juga menggunakan dua metode pilihan lain untuk menentukan LOQ, yakni metode non instrumental visual dan metode perhitungan. Pada metode perhitungan didasarkan pada standar deviasi respon (SD) dan *slope* (S) kurva baku sesuai dengan rumus  $LOQ=10 (SD/S)$ . Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan standar deviasi blanko pada standar deviasi residual garis regresi linier atau dengan standar deviasi intersep y pada garis regresi (Gandjar dan Rohman, 2007:456-480).

#### **1.6.5 Linearitas dan rentang**

Linieritas adalah ukuran kemampuan metode untuk memberikan hasil yang berbanding lurus dengan konsentrasi analit dalam nilai tertentu. Linearitas umumnya dilaporkan sebagai varians dari kemiringan garis regresi (misalnya *standard error* dari analisis regresi *excel*). Rentang interval antara konsentrasi atas dan bawah analit (*inclusive*) yang telah dibuktikan akan ditentukan dengan presisi, akurasi dan linearitas yang dapat diterima dengan menggunakan metode yang sudah ditentukan. Pedoman menentukan bahwa minimal lima tingkat konsentrasi digunakan untuk menentukan linearitas, bersama dengan minimum yang ditentukan rentang tertentu, tergantung pada jenis metode (Swartz dan Krull, 2012:61-75).

Kebanyakan metode analisis mendasarkan pada suatu proses yang mana metode tersebut menghasilkan peningkatan atau penurunan respon secara linier yang

tergantung pada konsentrasi analit. Regresi merupakan kurva yang menyatakan hubungan antara dua besaran. Hubungan ini dapat berupa garis lurus atau garis lengkung. Dalam hal kedua, biasanta dapat dicari hubungan liniernya dengan cara tertentu, misalnya dengan mencari harga logaritma (Gandjar dan Rohman, 2007:456-480).

Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi  $r$  pada analisis regresi linier  $Y = a + bX$ . Hubungan linnier yang ideal dicapai jika nilai  $b=0$  dan  $r=+1$  atau  $-1$  bergantung pada arah garis. Sedangkan nilai  $a$  menunjukkan kepekaan analisis instrumen yang digunakan. Parameter lain yang harus dihitung yaitu simpangan baku residual ( $S_y$ ) (Gandjar dan Rohman, 2007:456-480).