

# **BAB I**

## **TINJAUAN PUSTAKA**

### **1.1. Kosmetik**

Kosmetik sudah menjadi keperluan sehari-hari bagi sebagian besar manusia baik laki-laki maupun perempuan, mulai dari bayi hingga lanjut usia bahkan hingga saat meninggalkan dunia ini. Berbagai macam produk kosmetik beredar di pasaran ditujukan untuk keperluan yang berbeda-beda (Tranggono dan Fatma, 2007).

#### **1.1.1. Sejarah kosmetik**

Kosmetik sudah dikenal manusia berabad-abad yang lalu terutama pada abad ke-19 kosmetik menjadi bahan perhatian, baik tujuannya sebagai kecantikan dan kesehatan. Sampai akhirnya pada abad ke-20 kosmetik mengalami perkembangan, baik ilmu yang mempelajarinya dan industrinya (Tranggono dan Fatma, 2007).

#### **1.1.2. Definisi kosmetik**

Kata kosmetik berasal dari bahasa Yunani, yaitu "*kosmesis*" yang mengartikan bahwa memperindah atau "*kosmeo*" untuk mengatur (Tranggono dan Fatma, 2007). Menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia tahun 2011, kosmetik adalah setiap bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia (epidermis, rambut, kuku, bibir, dan organ genital bagian luar), atau gigi dan membran mukosa mulut, terutama untuk membersihkan, mewangikan, dan mengubah penampilan, dan/atau memperbaiki

bau badan atau melindungi atau memelihara tubuh pada kondisi baik. Sedangkan menurut *Food, Drug dan Cosmetic* (FDC) Amerika mendefinisikan kosmetik sebagai (Shai, dkk, 2009):

- 1) Bahan–bahan yang digunakan dengan cara digosok, ditaburi atau di semprot pada tubuh manusia atau bagian–bagian tubuh manusia yang berfungsi untuk mencuci, mempercantik, menambah daya tarik atau mengubah penampilan
- 2) Bahan–bahan yang digunakan adalah berbagai macam tidak termasuk sabun.

#### 1.1.3. **Klasifikasi kosmetik**

Klasifikasi kosmetik menurut Shai, Maibach dan Baran (2009) berdasarkan fungsinya, kosmetika diklasifikasikan menjadi:

- 1) Memperbaiki penampilan dan kecantikan

Tujuannya adalah memperbaiki penampilan dengan menekankan pada bagian muka atau tubuh yang terlihat lebih baik supaya penglihatan orang terfokus pada bagian tersebut. Pada saat yang bersamaan dibuat untuk menyamarkan bagian yang kurang menarik dan memperbaiki lesi kulit, jika dibutuhkan. Yang termasuk kategori ini adalah *makeup*, pewarna rambut dan cat kuku dan sebagainya.

- 2) Perawatan kulit

Kosmetik digunakan untuk mencapai dan mempertahankan kehalusan dan kelenturan kulit. Bahan yang termasuk di sini adalah pelembab dan pencuci muka.

### 3) Pelindung kulit

Tujuannya adalah melindungi kulit dari matahari, angin, dingin dan lain-lain. Sediaan *sunscreen* termasuk dalam kategori ini. Pelembab juga memiliki efek pelindung kulit. Sabun yang mengandung bahan-bahan antimikroba juga termasuk dalam kategori ini karena mengandung bahan antibakteri yang melindungi kulit dari bakteri.

## 1.2. Krim

### 1.2.1. Definisi krim

Menurut Farmakope Indonesia krim adalah bentuk sediaan setengah padat mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Istilah ini secara tradisional telah digunakan untuk sediaan setengah padat yang mempunyai konsistensi relatif cair diformulasi sebagai emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air. Sekarang ini batasan tersebut lebih diarahkan untuk produk yang terdiri dari emulsi minyak dalam air atau dispersi mikrokrystal asam-asam lemak atau alkohol berantai panjang dalam air, yang dapat dicuci dengan air dan lebih ditujukan untuk penggunaan kosmetik dan estetika (Ditjen POM, 1995).

Krim adalah sediaan setengah padat berupa emulsi kental mengandung tidak kurang dari 60% air, dimaksudkan untuk pemakaian luar yang terdiri dari dua tipe krim, yaitu: krim tipe air minyak (A/M) dan krim minyak air (M/A), yang dimana untuk membuatnya digunakan zat pengemulsi yang umumnya berupa surfaktan-surfaktan anionik, kationik dan nonionik (Anief, 2010).

Menurut Syamsuni (2006) mengatakan bahwa krim (*cremore*) adalah bentuk sediaan setengah padat berupa emulsi yang mengandung satu atau lebih bahan obat yang terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai dan mengandung air tidak kurang dari 60%. Krim ada dua tipe, yaitu krim tipe minyak dalam air (M/A) dan tipe air dalam minyak (A/M), dimana krim yang dapat dicuci dengan air (M/A) ditujukan untuk penggunaan kosmetik dan estetika, selain itu juga krim dapat digunakan untuk pemberian obat melalui vagina.

### **1.2.2. Standar krim pemutih kulit**

Standar krim pemutih kulit berdasarkan SNI (Standar Nasional Indonesia) Nomor 16-4954-1998 tentang krim pemutih kulit. Dimana pembuatan standar ini berdasarkan PerMenKes No.96/MenKes/Per/V/1997 tentang wadah pembungkus, penandaan dan periklanan, SNI 19-0429-1989 petunjuk pengambilan contoh cairan dan semi padat, PerMenKes No.376/MenKes/Per/VIII/1990 tentang bahan, zat warna, zat pengawet dan sediaan tabir surya pada kosmetik, Ditjen POM No: HK.00.06.4.02894 tentang persyaratan cemaran mikroba pada kosmetik, SNI 16-0212-1995/Revisi 1987 Farmakope Indonesia Edisi IV, dan SNI 16-0218-1997 Kodeks Kosmetik Indonesia, Edisi II Volume I dan II (SNI, 1998).

Definisi krim pemutih kulit adalah sediaan kosmetik yang berbentuk krim merupakan campuran bahan kimia dan atau bahan lainnya yang digunakan untuk memucatkan noda hitam/coklat pada kulit (SNI, 1998).

Tabel I.1 Persyaratan krim pemutih kulit (SNI, 1998)

| Uraian                            | Satuan      | Persyaratan  |
|-----------------------------------|-------------|--|
| <b>Deskripsi</b>                  | -           | <b>Homogen dan bebas partikel asing</b>              |
| <b>pH</b>                         | -           | <b>3,5-8,0</b>                                       |
| <b>Zat Aktif</b>                  | <b>%</b>    | <b>Sesuai PerMenKes No. 376/MenKes/Per/VIII/1990</b> |
| <b>Zat Pengawet</b>               | <b>%</b>    | <b>Sesuai PerMenKes No. 376/MenKes/Per/VIII/1990</b> |
| <b>Zat Warna</b>                  | <b>%</b>    | <b>Sesuai PerMenKes No. 376/MenKes/Per/VIII/1990</b> |
| <b>Raksa dan Senyawanya</b>       | -           | <b>Negatif</b>                                       |
| <b>Hidrokuinon Monobenzileter</b> | -           | <b>Negatif</b>                                       |
| <b>Cemaran Mikroba</b>            |             |  |
| <b>Angka lempeng total</b>        | Koloni/gram | Maksimum 10 <sup>5</sup>                             |
| <i>Staphylococcus aureus</i>      | Koloni/gram | Negatif  |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>     | Koloni/gram | Negatif  |
| <i>Candida albicans</i>           | Koloni/gram | Negatif  |

### 1.2.3. Kegunaan krim pemutih kulit

Pemutih digunakan untuk kulit hitam yang tidak merata seperti bintik-bintik hitam, bintik - bintik akibat matahari (*sun spot*), luka parut yang terjadi akibat kondisi hormonal dan lain-lain (Shai, dkk, 2009).

### 1.2.4. Bahan pemutih topikal

Sebagian besar mekanisme kerja bahan pemutih kulit adalah dengan menghambat pada satu atau beberapa tahapan sintesis melanin melalui jalur inhibisi enzim tironase dan bahkan beberapa bahan ada yang bersifat toksik terhadap melanin. Efek samping yang dapat disebabkan dari penggunaan pemutih kulit antara lain adalah iritasi, alergi, jerawat, dan penyumbatan. Beberapa bahan pemutih dengan efektifitas yang berbeda-beda yang sering digunakan berdasarkan penggolongan produk pemutih kulit adalah sebagai berikut (Suhartini, dkk, 2013):

#### a. Kosmetik

Produk mempengaruhi fisiologi kulit dan dapat dibeli secara bebas, contohnya adalah sabun (Suhartini, dkk, 2013).

## b. Kosmetisikal

Produk mempengaruhi fisiologi kulit namun masih boleh dibeli secara bebas-terbatas tanpa harus memakai resep dokter. Contohnya adalah produk yang mengandung glabridin, arbutin, asam kojik, kedelai (*soy*), asam glikolat dan hidrokuinon dibawah 2% (Suhartini, dkk, 2013).

### 1) Glabridin (*Ekstrak Licorice*)

Didapat dari akar *Glycyrrhiza glabra L.* (kayu manis) yang mengandung 10-40% glabridin, sebagai bahan aktifnya. Glabridin dapat menghambat aktivitas tirosinase tanpa efek sitotoksik, sehingga sediaan yang mengandung glabridin dapat digunakan sebagai kosmetik tanpa membutuhkan resep dokter (Shai, dkk, 2009).

### 2) Arbutin

Arbutin merupakan *beta D-glucopyranoside* dari hidrokuinon yang berasal dari tanaman bearberry (*Uva ursi folium*) dan juga didapatkan dari daun cranberry dan blueberry. Mekanisme aksi diperkirakan pada penghambatan tirosinase (*5,6 hydroxyindole 2 carboxylic acid*) polimerase, serta penghambatan maturasi melanosom (Bandem, 2013).

### 3) Asam kojik (*5-hydroxymethyl-4 pyrone*)

Merupakan inhibitor tirosinase yang berasal dari hasil metabolisme jamur (ragi) *Aspergillus*, *Acetobacter* dan *Penicilium*. Pada industri makanan, asam kojik dipakai untuk mencegah perubahan warna makanan menjadi kecoklatan dan untuk mempercepat pematangan buah strawberi. Asam

kojik atau asam kojik ini berefek mencegah pembentukan melanin pada kulit (Shai, dkk, 2009).

#### 4) Kedelai (*soy*)

Dikenal dua fraksi protein yang berefek mengurangi pigmentasi yaitu *soybean trypsin inhibitor* dan *Bowman-Birk inhibitor*. Kedua protein ini terbukti secara *in vitro* dan *in vivo* mengurangi pigmentasi dan mampu mencegah pigmentasi yang disebabkan oleh paparan UV. Mekanismenya melalui penghambatan pecahnya *protease-activated receptor 2* (PAR-2) yang diekspresikan di keratinosit, sehingga diperkirakan berefek menghambat transfer melanosom dari melanosit ke keratinosit (Bandem, 2013).

#### 5) Asam glikolat

Asam glikolat merupakan asam hidroksi alfa yang berasal dari gula tebu, yang mempunyai efek pencerahan. Manifestasi klinis GA sangat tergantung pada konsentrasi. Pada konsentrasi rendah, GA mampu melepaskan ikatan antar keratinosit sehingga deskuamasi keratinosit yang berpigmen menjadi lebih cepat, sedang dalam konsentrasi tinggi menyebabkan efek epidermolisis sehingga dapat digunakan dalam pengelupasan kimiawi guna menghilangkan lapisan epidermis sampai lapisan dermis bagian atas (Bandem, 2013).

### c. Kosmetomedik

Produk yang mempengaruhi fisiologi kulit dan hanya boleh dibeli dengan resep dokter, contohnya adalah hidrokuinon diatas 2% dan asam retinoat (Suhartini, dkk, 2013):

#### 1) Hidrokuinon

Mekanisme kerja hidrokuinon adalah dengan menghambat aktivitas tirosinase sehingga mengganggu konversi tirosin menjadi melanin. Besarnya aktivitas penghambatan tirosinase sampai 90%, padahal melanin berfungsi sebagai pelindung kulit dari sinar ultraviolet. Di samping itu hidrokuinon ini juga menghambat sintesa DNA dan RNA serta mempercepat degradasi melanosom. Hidrokuinon termasuk golongan obat keras yang hanya dapat digunakan dengan resep dokter. Beberapa efek samping yang sering terjadi adalah iritasi kulit dan dermatitis kontak. Terkadang dijumpai efek samping berupa okronosis, yaitu munculnya noda hitam dan benjolan kekuningan pada kulit yang bersifat permanen akibat terhambatnya melanin kulit jika terpapar sinar matahari langsung (Bandem, 2013:49).

#### 2) Asam retinoat

Efek asam retinoat terbukti pada terapi penuaan kulit (*antiaging*) dan lesi *acne* (jerawat). Penggunaan bahan aktif ini secara tunggal maupun kombinasi dengan bahan lain dapat memberikan efek pemutihan kulit yang hitam, ruam kulit terhiperpigmentasi (Shai, dkk, 2009).

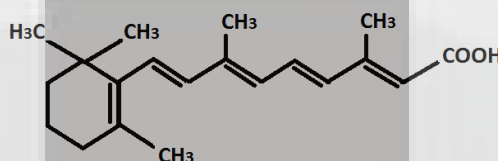


### 1.3. Asam Retinoat

Asam retinoat adalah bentuk asam dan bentuk aktif dari vitamin A (retinol) yang dibentuk dari *all-trans retinol* (retinoid dalam bentuk alkohol). Disebut juga tretinoin (*all-trans-retinoic acid*) (BPOM, 2011:6). Sifat fisika dan kimia Asam Retinoat adalah sebagai berikut:

Table I.2 Sifat fisiko kimia asam retinoat (Ditjen POM, 1995)

| Subjek        | Keterangan  |
|---------------|---|
| Rumus Molekul | $C_{20}H_{28}O_2$   |
| Deskripsi     | Serbuk hablur, kuning sampai jingga                                 |
| Berat Molekul | 300,44.   |
| Kelarutan     | Tidak larut dalam air; sukar larut dalam etanol dan dalam kloroform |
| Titik Leleh   | 348,8-357,8°F   |
| Stabilitas    | Tidak tahan cahaya dan oksigen                                      |



Gambar I.1 Struktur kimia asam retinoat

#### 1.3.1. Mekanisme kerja

Mekanisme kerja asam retinoat sebagai bahan pemutih belum jelas, namun telah dilakukan suatu penelitian pada binatang didapatkan bahwa asam retinoat mampu menghambat tirosinase. Asam retinoat bekerja melalui tiga mekanisme, yaitu pengaktifan reseptor asam retinoat (RAR), pembentukan dan peningkatan jumlah protein NGAL (*Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin*), dan berperan sebagai iritan ultraviolet (Bandem, 2013; dan BPOM, 2011):

1) Pengaktifan reseptor asam retinoat (RAR)

Adanya interaksi antara RAR dan sel kulit mampu merangsang proses perbanyakan dan perkembangan sel kulit terluar (epidermis) sehingga asam retinoat secara topikal mampu memperbaiki perubahan struktur atau penuaan kulit akibat sinar

2) Pembentukan dan peningkatan jumlah protein NGAL

Asam retinoat dapat meningkatkan pembentukan dan peningkatan jumlah protein NGAL (*Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin*) yang mengakibatkan matinya sel kelenjar sebacea (sel penghasil sebum/minyak), yang kemudian akan mengurangi produksi sebum sehingga mampu mengurangi timbulnya jerawat.

3) Berperan sebagai iritan

Asam retinoat juga bekerja sebagai iritan pada epitel folikel (lapisan pada lubang tumbuhnya rambut) yang memicu peradangan dan mencegah bergabungnya sel tanduk menjadi massa yang padat sehingga tidak menyumbat folikel dan tidak menghasilkan komedo. Selain itu, asam retinoat juga meningkatkan produksi sel tanduk sehingga mampu melemahkan dan mendesak komedi untuk keluar.

### 1.3.2. Efek samping

Pada kulit normal, asam retinoat yang dioleskan akan menimbulkan peradangan pada kulit dengan gejala sensasi rasa agak panas, menyengat, kemerahan, eritema sampai pengerasan kulit, dapat menyebabkan menurunnya keratinisasi dan produksi sebum sehingga kulit semakin kering dan tipis. Selain

itu terbukti bahwa penggunaan asam retinoat dapat meningkatkan potensi karsinogen (menyebabkan kanker) akibat radiasi sinar UV-B dan UV-A pada mencit albino dan berpigmen. Dan telah dilaporkan penggunaan krim asam retinoat sebelum masa kehamilan dan dalam masa kehamilan menyebabkan cacat pada janin yang dikandung (teratogenik). Dengan melihat efek samping dari penggunaan asam retinoat tersebut, Badan POM telah mengeluarkan peraturan yang menyatakan bahwa asam retinoat merupakan salah satu bahan dari 1243 bahan yang dilarang ditambahkan ke dalam kosmetik. Penggunaan asam retinoat hanya dapat digunakan di bawah pengawasan dokter (BPOM, 2011).

#### **1.3.3. Dosis**

Dosis sediaan topikal (krim, salep, dan gel) asam retinoat yang berada dipasaran dalam konsentrasi 0,025%, 0,05% dan 0,1% (Shai, dkk, 2009).

#### **1.3.4. Analisis asam retinoat**

Berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (Badan POM RI) Nomor HK.03.1.23.08.11.07331 Tahun 2011 Tentang Metode Analisis Kosmetika pasal 5, dikatakan bahwa identifikasi asam retinoat dalam kosmetik secara kromatografi lapis tipis dan kromatografi cair kinerja tinggi. Batas deteksi lebih kurang 0,002 mg/mL. Larutan uji dan larutan baku harus dalam konsentrasi yang berdekatan untuk digunakan dalam perhitungan. Jika diperlukan, dibuat larutan baku yang lebih pekat atau larutan uji yang lebih encer. Perbedaan luas puncak larutan uji dan larutan baku tidak lebih dari 10% (BPOM, 2011).

#### 1.4. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi ini tergolong mudah, mudah dilakukan dan proses pemisahannya hanya membutuhkan setengah jam. Media pemisahan dari TLC (*thin layer chromatography*) ini adalah lapisan dengan ketebalan sekitar 0,1 sampai 0,3 mm zat padat adsorben pada lempeng kaca, plastik, atau alumunium. Zat padat yang umum digunakan adalah silika gel, alumina dan selulosa. Pelarut bergerak naik di sepanjang lapisan tipis zat padat di atas lempengan, dan bersamaan dengan pergerakan pelarut tersebut, zat terlarut sampel dibawa dengan laju yang tergantung pada kelarutan zat terlarut tersebut dalam fasa gerak dan interaksinya dengan zat padat (Day dan Underwood, 2001).

Analisis asam retinoat menggunakan KLT dengan pengembang campuran n-heksan dan asam asetat glasial 0,33 % dalam etanol mutlak (9:1) v/v, dan sistem B: campuran n-heksan dan aseton (6:4) v/v memberikan hasil standar analisis sebagai berikut (BPOM, 201):

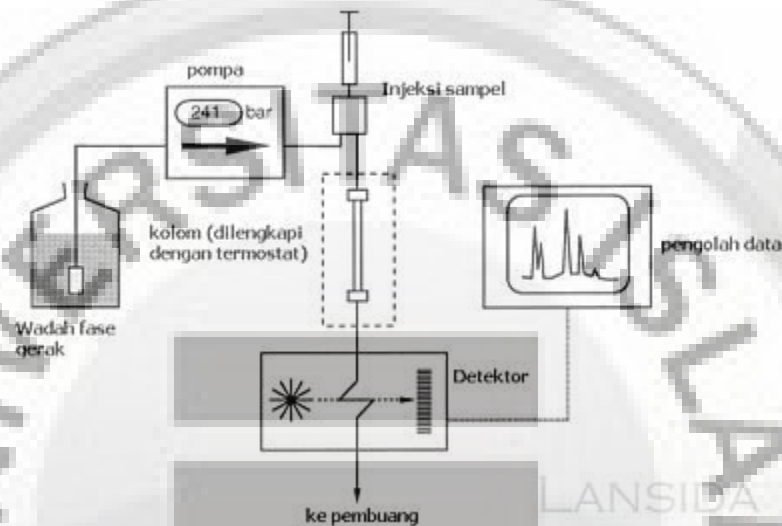
Tabel I.3 Hasil standar analisis KLT menurut BPOM

| Sistem Pengembang | Perkiraan Nilai Rf | Batas Deteksi ( $\mu\text{g}$ ) |
|-------------------|--------------------|---------------------------------|
| Sistem A          | 0,1-0,3            | 0,125                           |
| Sistem B          | 0,5                |                                 |

#### 1.5. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) atau dalam bahasa Inggrisnya dikenal dengan sebutan HPLC (*high performance liquid chromatography*) merupakan salah satu teknik pemisahan suatu campuran secara modern. KCKT

diterapkan untuk keperluan analisis kualitatif dan kuantitatif. Keuntungan menganalisis menggunakan KCKT antara lain adalah kemampuannya untuk menganalisis senyawa yang tidak menguap, senyawa yang labil (terurai) pada pemanasan, dan senyawa organik maupun anorganik (Hendayana, 2006:68).



Gambar I.2 Diagram alir KCKT (Lansida, 2011)

### 1.5.1. Prinsip kerja kromatografi cair kinerja tinggi

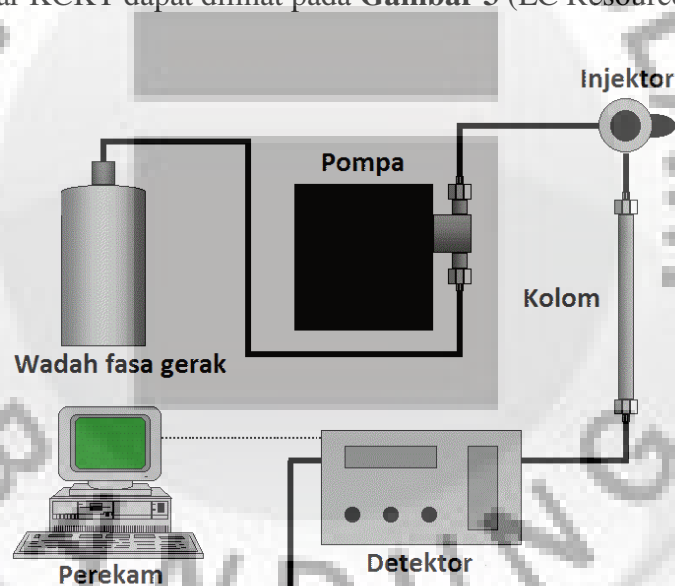
Prinsip kerja KCKT adalah pemisahan zat terlarut (solut) oleh perbedaan kecepatan elusi zat solut-solut yang melewati suatu kolom kromatografi. Proses pemisahan terjadi dengan bantuan pompa fasa gerak cair dialirkan melalui kolom ke detektor (Hendayana, 2006).

Cuplikan atau sampel dimasukkan ke dalam aliran fasa gerak dengan cara penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan komponen-komponen campuran karena adanya perbedaan kekuatan interaksi antara solut-solut terhadap fase diam. Solut-solut yang kurang kuat interaksinya dengan fasa diam akan keluar dari kolom lebih dulu. Sebaliknya, solut-solut yang kuat berinteraksi akan keluar dari

kolom lebih lama. Setiap komponen campuran yang keluar kolom akan dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram. Jumlah puncak (*peak*) menyatakan jumlah komponen sedangkan luas puncak (*area under curve/AUC*) menyatakan konsentrasi komponen dalam campuran (Hendayana, 2006).

### 1.5.2. Instrumen KCKT

Instrumen KCKT terdiri atas 6 bagian dasar, yaitu fasa gerak, pompa, tempat injeksi sampel, kolom (fase diam), detektor, dan perekam. Ilustrasi instrumen dasar KCKT dapat dilihat pada **Gambar 3** (LC Resources Inc, 2000):



Gambar 1.3 Instrumen dasar KCKT

#### a. Fasa gerak dan wadah fasa gerak

Wadah fasa gerak harus bersih dan lembam (*inert*). Wadah pelarut kosong ataupun labu dapat digunakan sebagai wadah fasa gerak dan biasanya dapat menampung fasa gerak antara 1 sampai 2 liter pelarut (Rohman, 2007:380).

Fasa gerak dalam KCKT adalah berupa zat cair yang berfungsi membawa komponen-komponen campuran menuju detektor. Zat cair yang akan digunakan

sebagai fasa gerak KCKT harus memenuhi beberapa persyaratan berikut (Hendayana, 2006):

- 1) Zat cair harus bertindak sebagai pelarut yang baik untuk cuplikan yang akan dianalisis
  - 2) Zat cair harus murni untuk menghindarkan masuknya kotoran yang dapat mengganggu interpretasi kromatogram
  - 3) Zat cair harus jernih untuk menghindarkan penyumbatan pada kolom.
  - 4) Zat cair harus mudah diperoleh, murah, tidak mudah terbakar, dan tidak beracun
  - 5) Zat cair tidak kental, umumnya kekentalan tidak melebihi 0,5 cP
  - 6) Zat cair harus sesuai dengan detektor. Contoh, untuk detektor UV, pelarut tidak boleh menyerap cahaya pada panjang gelombang yang dipakai
- Fasa gerak sebelum digunakan harus dilakukan *degassing* (penghilang gas), sebab adanya gas akan berkumpul dengan komponen lain terutama di pompa dan detektor sehingga akan mengacaukan analisis (Rohman, 2007).

#### **b. Pompa**

Pompa dalam KCKT dapat dianalogikan dengan jantung pada manusia yang berfungsi untuk mengalirkan fasa gerak cair melalui kolom yang berisi serbuk halus. Bahan yang umum dipakai untuk pompa adalah gelas, baja tahan karat, teflon, dan batu nilam. Pompa yang dapat digunakan sebaiknya *inert* terhadap fasa gerak, mampu memberikan tekanan sampai 5000 psi, dan mampu mengalirkan fasa gerak dengan kecepatan alir 3 mL/menit (Hendayana, 2006; dan Rohman, 2007).

### c. Tempat injeksi sampel (injektor)

Sampel–sampel cair dan larutan disuntikkan secara langsung ke dalam fasa gerak yang mengalir di bawah tekanan menuju kolom menggunakan alat penyuntik yang terbuat dari tembaga tahan karat dan katup Teflon yang dilengkapi dengan keluk sampel (*sample loop*) (Rohman, 2007).

### d. Kolom

Kolom KCKT biasanya terbuat dari stainless steel walaupun ada juga yang terbuat dari gelas berdingding tebal. Kolom utama berisi fasa diam, tempat terjadinya pemisahan campuran menjadi komponen–komponennya. Kolom utama yang paling banyak dipakai berukuran 25 cm dengan diameter dalam 4,6 mm dan dipacking dengan partikel 5  $\mu\text{m}$  (Hendayana, 2006).

Selain kolom utama dikenal pula kolom pengaman (*guard columns*) yang diletakkan sebelum sistem pemasukan sampel. Kolom pengaman atau prakolom ini berfungsi untuk menghilangkan partikel kotoran dan menghindarkan kerusakan kolom utama dari erosi. Kolom ini berukuran pendek, 5 cm dengan diameter 4,6 mm dan biasanya dipacking dengan partikel silika berukuran lebih besar dari ukuran partikel kolom utama (Hendayana, 2006).

### e. Detektor

Detektor berfungsi untuk mendeteksi solut–solut yang keluar dari kolom. Detektor yang baik memiliki respon cukup sensitif, stabilitas dan keterulangan tinggi, kisar respon linier yang luas, waktu respon pendek sehingga tidak bergantung kecepatan alir, memberi respon untuk semua tipe senyawa, reliabilitas



tinggi, dan mudah digunakan. Detektor yang paling banyak digunakan adalah detektor UV pada panjang gelombang 254 nm (Hendayana, 2006).

#### **f. Perekam**

Alat pengumpul data seperti komputer, integrator, perekam dihubungkan dengan detektor. Alat ini akan mengukur sinyal elektronik yang dihasilkan oleh detektor lalu mengalurkannya sebagai suatu kromatogram yang selanjutnya dapat dievaluasi oleh seorang analis (Rohman, 2007).

#### **1.6. Ekstraksi Fase Padat**

Ekstraksi fase padat (*solid phase extraction*, SPE) merupakan teknik yang relatif baru akan tetapi SPE cepat berkembang sebagai alat yang utama untuk pra-perlakuan sampel atau untuk *clean-up* sampel-sampel yang kotor, misalnya sampel-sampel yang mempunyai kandungan matriks yang tinggi seperti garam-garam, protein, polimer, resin, dll (Rohman, 2007).

SPE merupakan proses pemisahan yang efisien untuk memperoleh persen perolehan kembali (*% recovery*) yang tinggi (>99%), karena hanya dibutuhkan satu tahap saja untuk memperolehnya. Sementara itu kerugian SPE adalah banyaknya jenis *cartridge* (berisi penjerap tertentu) yang beredar di pasaran sehingga reproduibilitas hasil bervariasi jika menggunakan *cartridge* yang berbeda dan juga adanya adsorpsi yang bolak-balik pada *cartridge* SPE (Rohman, 2007).

### 1.6.1. Prosedur ekstraksi fase padat

Untuk melakukan penyiapan sampel menggunakan SPE ini terdapat 2 strategi. Strategi pertama adalah dengan memilih pelarut yang mampu menahan secara total analit yang dituju pada penjerap yang digunakan, sementara senyawa-senyawa yang mengganggu akan terelusi. Analit yang dituju yang tertahan pada penjerap ini selanjutnya dielusi dengan sejumlah kecil pelarut organik yang akan mengambil analit yang tertahan ini. Strategi ini bermanfaat jika analit yang dituju berkadar rendah. Strategi lain adalah dengan mengusahakan supaya analit yang tertuju keluar (terelusi), sementara senyawa pengganggu tertahan pada penjerap (Rohman, 2007). Terdapat 4 tahap dalam prosedur SPE, dapat dilihat pada

**Gambar 4** (Analytical, 2012):

#### a. Pengkondisian

Kolom (*cartridge*) dialiri dengan pelarut sampel untuk membasahi permukaan penjerap dan untuk menciptakan nilai pH yang sama, sehingga perubahan-perubahan kimia yang tidak diharapkan ketika sampel dimasukkan dapat dihindari.

#### b. Retensi (tertahannya) sampel

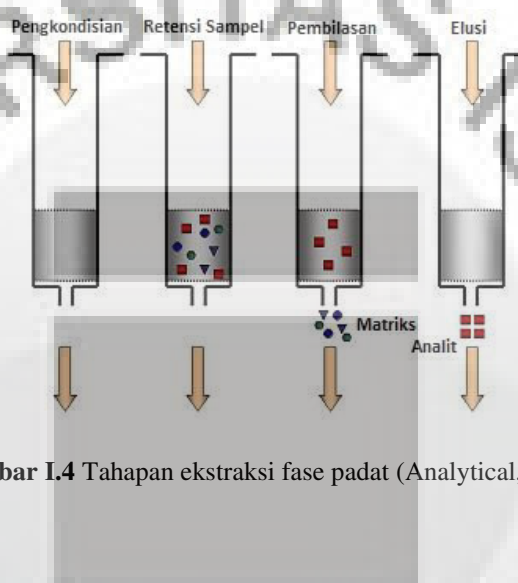
Larutan sampel dilewatkan ke *cartridge* baik untuk menahan analit yang diharapkan sementara komponen lain terelusi atau untuk menahan komponen yang tidak diharapkan sementara analit yang dikehendaki terelusi.

### c. Pembilasan

Tahap ini penting untuk menghilangkan seluruh komponen yang tidak tertahan oleh penjerap selama tahap retensi.

### d. Elusi

Tahap ini merupakan tahap akhir untuk mengambil analit yang dikehendaki jika analit tersebut tertahan pada penjerap (Rohman, 2007).



Gambar I.4 Tahapan ekstraksi fase padat (Analytical, 2012)

## 1.7. Uji Kesesuaian Sistem

Uji kesesuaian sistem dilakukan untuk mengevaluasi komponen-komponen sistem analisis untuk menunjukkan bahwa kinerja sistem memenuhi standar yang dipersyaratkan oleh metode tersebut. Parameter-parameternya diantaranya adalah keberulangan penyuntikan, jumlah plat teoritis (efisiensi), faktor kapasitas, retensi relatif, resolusi, dan faktor tailing atau faktor ikutan (Sabir, et al., 2013).

Keberulangan sistem ditetapkan dengan penyuntikan berulang larutan analit yang dinyatakan dalam simpangan baku relatif (SBR), dimana suatu uji ini dapat dinyatakan memenuhi persyaratan apabila nilai simpangan baku relatif yang

didapatkan  $\leq 2\%$  (Sabir, et al., 2013). Jumlah plat teoritis (efisiensi) dilakukan untuk mengukur ketajaman puncak sebagai efisiensi kolom, dimana semakin tinggi nilai platnya maka kolom akan semakin efisien. Faktor kapasitas merupakan ukuran berapa lama molekul sampel tertahan dalam kolom selama pemisahan terjadi. Retensi relatif merupakan gambaran posisi relatif dari dua puncak yang berdekatan. Resolusi puncak merupakan ukuran pemisahan antara dua puncak dan merupakan efisiensi dari kolom yang dinyatakan sebagai rasio dari jarak antara dua puncak (Iterson, 2005). Resolusi yang baik jika  $> 1,5$  (Sabir, et al., 2013). Resolusi puncak dapat ditentukan dengan (Iterson, 2005):

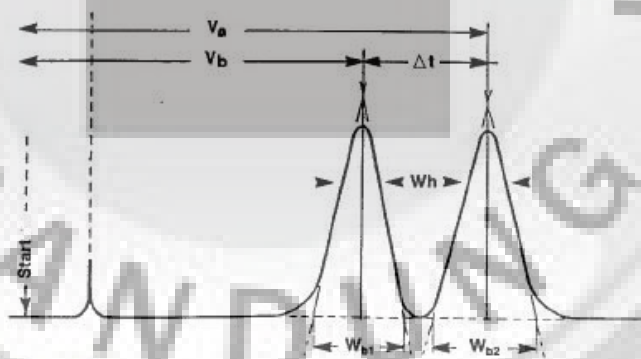
$$R = [2(t_2 - t_1)] / (w_2 + w_1) \quad (1)$$

**Keterangan:**

R = resolusi puncak

t = tinggi puncak

w = lebar puncak



Gambar I.5 Puncak resolusi (Iterson, 2005)

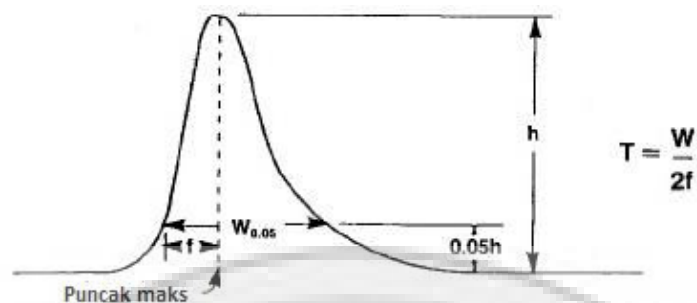
Faktor *tailing* atau faktor ikutan ( $T_f$ ) merupakan ukuran asimetri suatu puncak kromatogram yang dapat dihitung dengan persamaan (Iterson, 2005):

$$T_f = W_{0,05} / 2f \quad (2)$$

**Keterangan:**

$W_{0,05}$  = lebar kromatogram pada 5 % tinggi

f = jarak maksimum kromatogram sampai tepi kromatogram



Gambar I.6 Puncak asimetri (Iterson, 2005)

## 1.8. Uji Kinerja Analitik

### 1.8.1. Linieritas

Linieritas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proposional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Linieritas biasanya dinyatakan dalam istilah variasi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematik data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit (Harmita, 2004).

### 1.8.2. Batas deteksi dan batas kuantitasi

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004).

Pada analisis instrumen batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon blanko beberapa kali lalu dihitung simpangan baku respon blanko dan formula di bawah ini dapat digunakan untuk perhitungan batas deteksi atau *limit*

of detection (LOD) dan batas kuantitasi atau *limit of quantification* (LOQ) (Harmita, 2004:130);

$$BD = \frac{3 \times Sb}{Sl} \quad (3)$$

$$BK = \frac{10 \times Sb}{Sl} \quad (4)$$

**Keterangan :**

**BD** = batas deteksi (*limit of detection/LOD*)

**BK** = *batas kuantitasi (limit of quantification/LOQ)*

**Sb** = simpangan baku

**Sl** = slope (kemiringan) = b

Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai b pada persamaan garis linier  $y = a + bx$ , sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual ( $Sy/x$ ) (Harmita, 2004).

### 1.8.3. Akurasi

Kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan (*% recovery*) analit yang ditambahkan. Kecermatan hasil analisis sangat tergantung kepada sebaran galat sistematis di dalam keseluruhan tahapan analisis. Oleh karena itu untuk mencapai kecermatan yang tinggi hanya dapat dilakukan dengan cara mengurangi galat sistematis tersebut seperti menggunakan peralatan yang telah dikalibrasi, menggunakan pereaksi dan pelarut yang baik, pengontrolan suhu, dan pelaksanaannya yang cermat, taat sesuai prosedur (Harmita, 2004).

#### 1.8.4. Presisi

Keseksamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi) (Harmita, 2004).

