

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Lissachatina fulica*

Lissachatina fulica berasal dari Afrika Timur, tetapi karena telah diintroduksi ke berbagai wilayah di seluruh dunia, kini dapat ditemukan di berbagai habitat di Asia, Amerika, dan Oseania. Introduksi bekicot ini di beberapa wilayah dapat menjadi masalahekokologis karena kemampuannya berkembang biak dengan cepat. bekicot *Lissachatina fulica* memiliki ciri-ciri morfologi yang khas. Tubuhnya dilapisi oleh cangkang yang berspiral, dengan warna yang bervariasi dari coklat hingga coklat keabu-abuan. Cangkangnya dapat mencapai panjang hingga 20 cm atau lebih. Tubuh bekicot ini dilengkapi dengan tentakel yang berfungsi sebagai alat perasa dan pendeteksi lingkungansekitar (Fontanilla *et al.*, 2014)

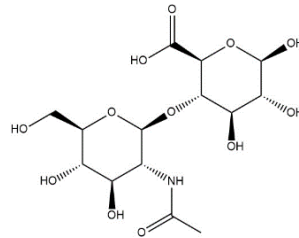


Gambar 1. *Lissachatina fulica*

Sumber : Férussac, 1821

Lissachatina fulica adalah bekicot herbivora, dan pola makannya melibatkan mengonsumsi berbagai jenis tanaman, dedaunan, buah buahan dan material organik lainnya. Bekicot ini biasanya ditemukan di lingkungan lembab seperti hutan, taman, kebun, dan daerah terbuka lainnya (Vijayan *et al.*, 2020)

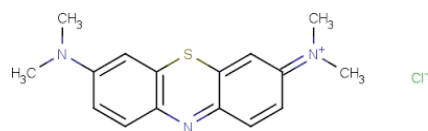
2.2 Hyaluronic Acid



Gambar 2. Struktur Hyaluronic Acid

Hyaluronic Acid (HA) atau asam hialuronat adalah polimer alami yang terbentuk dari pengulangan unit disakarida. Strukturnya terdiri dari asam D-glukoronat dan N-asetilglukosamin yang terhubung melalui ikatan glikosida β -(1–4) dan β -(1–3). Senyawa ini termasuk dalam kategori molekul yang dikenal sebagai mucopolysakarida dalam kelas glycosaminoglycans (GAGs) (Dodd, 2021).

2.3 Metylen blue



Gambar 3. Struktur Metylen blue

Methylene blue memiliki beberapa gugus fungsi kunci yang menentukan sifat kimianya. Gugus amino ($-\text{NH}_2$) pada molekul ini berperan dalam interaksi hidrogen dan elektrostatis dengan biomolekul, mendukung kemampuannya dalam pewarnaan sel dan jaringan. Gugus sulfonat ($-\text{SO}_3^-$) memberikan larut air pada methylene blue dan mempengaruhi muatan negatifnya, memungkinkan interaksi dengan molekul bermuatan positif. Struktur inti cincin benzena stabil dan mendukung warna biru khas methylene blue, serta memfasilitasi ikatan dengan gugus-gugus fungsional lainnya. Kombinasi gugus-gugus ini menjadikan methylene blue efektif sebagai pewarna, indikator, dan agen redoks dalam berbagai aplikasi laboratorium dan medis (Alexander & Donoff, 1980).

2.4 Mekanisme *Hyaluronic Acid* pada Kulit

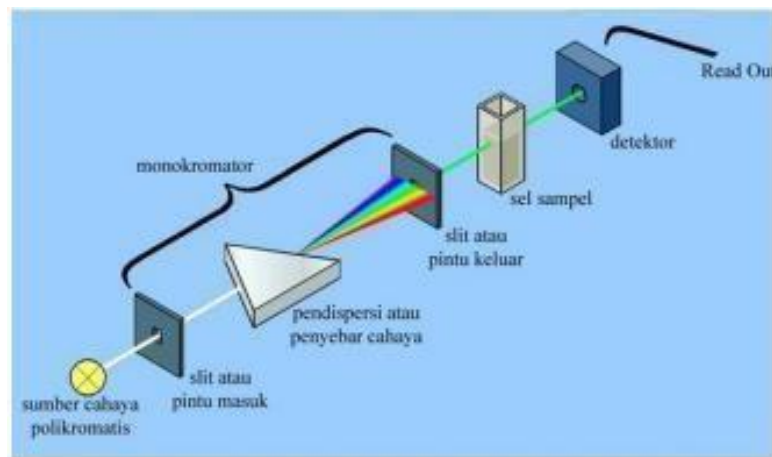
Hyaluronic acid memiliki peran penting dalam mengatur berbagai fungsi biologis, termasuk perbaikan kulit, penyembuhan luka, regenerasi jaringan, antiinflamasi, dan modulasi sistem kekebalan tubuh. Karena potensi regeneratifnya yang luar biasa dan aplikasi biomedis yang beragam, hyaluronic acid menjadi komponen krusial dalam industri kosmetik dan produk nutrikosmetik. Produk-produk berbasis hyaluronic acid, seperti gel, krim, suntikan pengisi intra kulit, pengisi kulit, pengisi wajah, gel lemak autologous, lotion, serum, dan implan, telah menunjukkan hasil yang luar biasa dalam mengatasi masalah seperti kerutan, lipatan antinasobial, penuaan, pengisian volume, serta memberikan efek peremajaan pada wajah. Pencapaian ini dicapai melalui peningkatan jaringan lunak dan meningkatkan hidrasi kulit (Triastuti *et al.*, 2024).

Penggunaan hyaluronic acid tidak hanya menyediakan solusi yang efektif untuk tanda-tanda penuaan, tetapi juga memberikan kelembapan, kekenyalan, dan keindahan kulit yang berkelanjutan. Dengan terus berkembangnya inovasi dalam perawatan kulit, formulasi berbasis hyaluronic acid terus menjadi pilihan yang dicari untuk mencapai hasil optimal dalam upaya memelihara dan meningkatkan kesehatan kulit (Hafizhah, 2023).

2.5 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah teknik pengukuran penyerapan cahaya pada rentang ultraviolet (200-400 nm) dan cahaya tampak (400-800 nm) oleh suatu zat kimia. Ketika zat tersebut menyerap cahaya UV atau cahaya tampak, terjadi perpindahan elektron di mana elektron-elektron dipromosikan dari tingkat energi dasar rendah ke tingkat energi terexcited yang lebih tinggi. Panjang gelombang dari cahaya UV atau cahaya tampak yang diserap bergantung pada energi yang diperlukan untuk perpindahan elektron. Molekul-molekul yang memerlukan energi tinggi untuk perpindahan elektron akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek, sementara molekul yang membutuhkan energi lebih rendah akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih panjang. Molekul-molekul yang

menunjukkan warna (absorpsi cahaya) cenderung memiliki elektron-elektron yang lebih mudah dipromosikan daripada yang menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek. Istilah "absorpsi spektrofotometri UV-Vis" merujuk pada saat molekul menyerap radiasi UV dan cahaya tampak. Spektrofotometri UV-Vis merupakan alat yang penting dalam analisis senyawa kimia karena kemampuannya yang luas dan kemudahan dalam persiapan sampel dibandingkan dengan beberapa metode analisis lainnya (Herliani, 2008).



Gambar 4. Instrumen Spektrofotometri Uv-Vis

Sumber : Analitika

1. Sumber Cahaya: Terdapat dua jenis sumber cahaya yang digunakan dalam spektrofotometri UV-Vis. Pertama adalah lampu deuterium untuk rentang UV (190-350 nm), dan kedua adalah lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten untuk rentang visible (350-900 nm).
2. Monokromator: Berfungsi untuk menghasilkan sinar monokromatis dengan menggunakan prisma atau grating untuk memecah sumber cahaya menjadi komponen-komponen warna yang berbeda.
3. Kuvet: digunakan sebagai wadah sampel untuk memposisikan cairan dalam jalur cahaya spektrofotometer. dalam penelitian ini adalah kuvet plastik seperti polistirena atau polimetil metakrilat (PMMA), yang dapat di gunakan pada rentang visible (cahaya tampak) karena plastik tertentu, memiliki transparansi yang baik pada panjang gelombang cahaya tampak (sekitar 400-700 nm), sehingga memungkinkan pengukuran yang akurat.

4. Detektor: Berperan dalam mendeteksi cahaya pada berbagai panjang gelombang dan mengubahnya menjadi sinyal listrik.
5. Penguat (Amplifier) dan Rangkaian Terkait: Digunakan untuk mengubah sinyal cahaya yang dideteksi oleh detektor menjadi sinyal listrik yang dapat dibaca dan diolah lebih lanjut.
6. Sistem Pembacaan: Digunakan untuk menampilkan dan mengukur besar sinyal listrik yang dihasilkan oleh penguat, yang mencerminkan tingkat penyerapan cahaya oleh sampel dalam spektrofotometer (Humaira, n.d.)

2.6 Validasi Metode

Validasi metode analisis adalah proses evaluasi sistematis terhadap suatu metode analisis yang dilakukan melalui serangkaian percobaan laboratorium. Tujuan dari validasi ini adalah untuk membuktikan bahwa metode tersebut memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan untuk digunakan secara konsisten dan dapat diandalkan dalam menghasilkan hasil yang akurat dan dapat dipercaya. Proses ini mencakup pengujian parameter seperti presisi, ketelitian, linearitas, batasdeteksi, batas kuantifikasi, dan spesifisitas. Validasi metode analisis diperlukan agar dapat memastikan bahwa hasil analisis yang diperoleh dapat diandalkan dan sesuai dengan kebutuhan aplikasi yang spesifik (Harmita, 2004)

1. Selektivitas

Selektivitas suatu metode analisis mencerminkan kemampuannya untuk melakukan pengukuran yang akurat dan tepat hanya pada zat tertentu, bahkan dalam keberadaan komponen lain yang mungkin ada dalam sampel. Evaluasi selektivitas biasanya dilakukan dengan membandingkan hasil analisis sampel yang mengandung bahan tambahan seperti cemaran, hasil degradasi, senyawa sejenis, atau senyawa asing lainnya dengan hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan tambahan tersebut. Proses penentuan selektivitas dimulai dengan mengukur atau membandingkan hasil analisis dari sampel yang mengandung bahan tambahan dengan hasil dari sampel yang tidak mengandung bahan tambahan tersebut. Perbedaan hasil diukur sebagai selisih antara hasil analisis keduanya. Jika cemaran atau hasil degradasi tidak dapat diidentifikasi atau ditemukan, selektivitas

tetap dapat ditunjukkan dengan menganalisis sampel yang mengandung bahan tambahan menggunakan metode yang sedang diuji, dan membandingkan hasilnya dengan metode lain yang sudah teruji seperti kromatografi, analisis kelarutan fase, atau Differential Scanning Calorimetry untuk pengujian kemurnian.

Pada metode analisis yang melibatkan kromatografi, selektivitas sering kali diukur dengan menghitung daya resolusi (R_s). Daya resolusi ini memberikan gambaran tentang kemampuan metode untuk memisahkan dan mengidentifikasi komponen-komponen yang berdekatan dalam sampel. Secara keseluruhan, validasi selektivitas metode merupakan langkah penting dalam memastikan bahwa metode analisis dapat memberikan hasil yang akurat dan dapat diandalkan, terlepas dari kompleksitas sampel yang dianalisis dan adanya komponen lain yang potensial mengganggu.

2. Linieritas

Linearitas dalam konteks metode analisis mengacu pada kemampuan metode untuk memberikan respons yang proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang linearitas menunjukkan kisaran konsentrasi di mana metode dapat memberikan respons yang akurat dan dapat diandalkan. Evaluasi linearitas sering kali melibatkan analisis varians sekitar garis regresi, yang dihitung berdasarkan hubungan matematis antara hasil analisis dan konsentrasi analit dari berbagai sampel dengan konsentrasi yang bervariasi. Pendekatan matematis yang umum digunakan adalah regresi linear dengan metode kuadrat terkecil antara hasil analisis dan konsentrasi analit. Dalam beberapa kasus, data yang diperoleh dapat diolah melalui transformasi matematis sebelum analisis regresi untuk mencapai hubungan linier yang lebih baik.

Dalam prakteknya, sering digunakan satu seri larutan standar dengan konsentrasi yang bervariasi sekitar 50-150% dari konsentrasi analit dalam sampel. Rentang konsentrasi yang digunakan dalam literatur sering mencakup 0-200%. Penting juga untuk menganalisis setidaknya delapan sampel blanko untuk memastikan hasil yang dapat diandalkan. Koefisien korelasi (r) dari regresi linear ($y = a + bx$) sering digunakan untuk mengevaluasi tingkat hubungan linier antara

hasil analisis dan konsentrasi analit. Nilai r yang mendekati +1 atau -1 menunjukkan hubungan yang kuat antara variabel tersebut, dengan arah positif atau negatif. Nilai a mencerminkan kepekaan analisis, khususnya pada instrumen yang digunakan. Parameter lain yang dianalisis termasuk simpangan baku residual (S_y), yang menggambarkan tingkat kesalahan antara data sebenarnya dan data yang diprediksi oleh model regresi. Semua perhitungan matematis ini dapat dilakukan menggunakan kalkulator atau perangkat lunak komputer yang tepat untuk menganalisis data statistik (Harmita, 2004).

3. Presisi

Presisi atau ketelitian dalam konteks analisis menyatakan seberapa konsisten hasil pengukuran individual terhadap nilai rata-rata, yang dievaluasi melalui sebaran hasil individu ketika prosedur diulang pada sampel dari campuran homogen. Presisi dapat diukur dengan simpangan baku atau simpangan baku relatif, yang sering disebut sebagai koefisien variasi (CV). Terdapat dua aspek utama dari presisi yang sering dibahas: keterulangan (repeatability) dan ketertiruan (reproducibility). Keterulangan mencerminkan konsistensi metode saat diulang oleh analis yang sama, dalam kondisi yang sama, dan dalam interval waktu yang singkat. Evaluasi keterulangan melibatkan pengulangan pengukuran pada sampel yang sama untuk menentukan seberapa baik metode dapat memberikan hasil yang serupa. Di sisi lain, ketertiruan mengevaluasi konsistensi metode jika diterapkan dalam kondisi yang berbeda, baik dalam laboratorium yang berbeda, dengan peralatan yang berbeda, atau dengan analis yang berbeda. Hal ini memberikan gambaran tentang seberapa luas dan stabil metode tersebut dalam memberikan hasil yang serupa di berbagai situasi.

Kriteria kesesuaian untuk presisi sering kali ditetapkan dengan memeriksa apakah nilai koefisien variasi (CV) atau simpangan baku relatif (RSD) dari hasil pengukuran tidak melebihi 2%. Namun, batas ini bisa disesuaikan tergantung pada konsentrasi analit yang diuji, jumlah sampel, dan kondisi laboratorium tertentu. Penelitian menunjukkan bahwa CV cenderung meningkat seiring dengan penurunan konsentrasi analit yang dianalisis. Misalnya, pada konsentrasi 1%,

standar deviasi relatif antar laboratorium sekitar 2,5%, sementara pada tingkat satu per seribu (bpj) dapat mencapai 5%. Pada tingkat satu per juta (bpj), RSD bisa mencapai 16%, dan pada part per billion (ppb) mencapai 32%. Untuk metode analisis yang sangat kritis, umumnya diterima bahwa RSD sebaiknya kurang dari 2%. Eksperimen validasi presisi biasanya dilakukan dengan menggunakan minimal enam replika dari sampel yang diambil dari campuran homogen. Idealnya, evaluasi presisi dilakukan pada sampel sebenarnya yang mungkin mengandung matriks kompleks seperti bahan pembawa dalam farmasi (plasebo), untuk memahami dampak matriks terhadap presisi metode. Selain itu, sampel juga harus disiapkan untuk mempertimbangkan pengaruh pengotor dan produk degradasi terhadap hasil akhir dari evaluasi presisi ini (Harmita, 2004).

4. Akurasi

Akurasi dalam konteks analisis menggambarkan sejauh mana hasil analisis mendekati nilai sebenarnya atau kadar yang diharapkan dari suatu analit. Parameter ini sering dievaluasi dengan menggunakan metode perolehan kembali (recovery), yang merupakan persentase dari analit yang ditambahkan yang berhasil dipulihkan kembali dalam sampel yang diuji. Terdapat dua metode utama untuk menentukan akurasi, yaitu metode simulasi (spiked-placebo recovery) dan metode penambahan baku (standard addition method).

Dalam metode simulasi (Spiked-Placebo Recovery) sejumlah analit murni ditambahkan ke dalam sampel plasebo (campuran reagen tanpa analit), yang kemudian dianalisis. Hasil analisis dibandingkan dengan kadar standar yang telah ditambahkan (kadar sebenarnya). Recovery (perolehan kembali) dihitung dengan membandingkan hasil analisis dengan jumlah yang ditambahkan. Biasanya, analit ditambahkan dengan konsentrasi antara 80% hingga 120% dari kadar yang diperkirakan. Metode simulasi cocok digunakan ketika matriks sampel diketahui dan pembuatan sampel plasebo dapat dilakukan dengan baik. Namun, jika sampel plasebo tidak dapat dibuat karena matriksnya tidak diketahui atau sulit untuk dipersiapkan (seperti pada obat-obatan paten), metode ini mungkin tidak dapat digunakan.

Dalam metode penambahan baku (Standard Addition Method) sampel yang telah diuji dianalisis terlebih dahulu. Kemudian, sejumlah analit standar yang diketahui ditambahkan ke dalam sampel yang sama. Campuran dihomogenkan dan kemudian dianalisis kembali. Selisih antara hasil sebelum dan sesudah penambahan standar digunakan untuk menghitung perolehan kembali. Metode ini tidak memerlukan pengukuran blanko tambahan, tetapi tidak dapat digunakan jika penambahan analit mengganggu kondisi pengukuran, seperti mengubah pH atau mempengaruhi kapasitas reagen. Metode penambahan baku berguna ketika tidak mungkin membuat sampel plasebo atau ketika karakteristik sampel matriks mempersulit penggunaan metode simulasi.