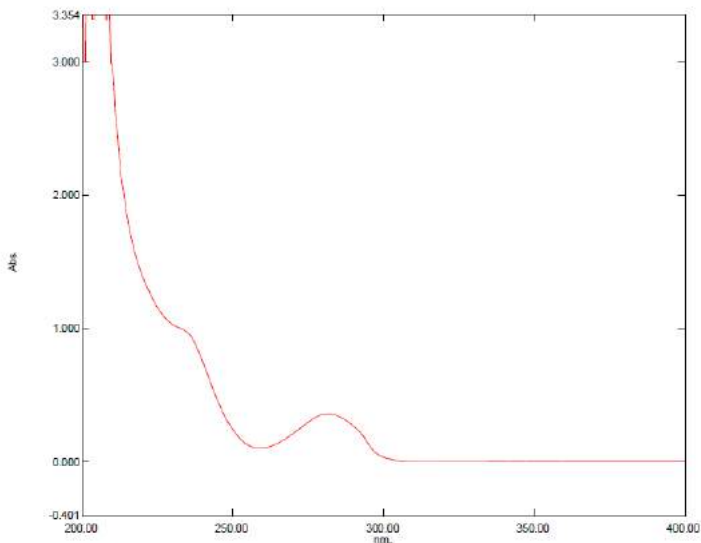


Bab VI Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar triklosan pada beberapa sediaan *hand soap* yang beredar di pasaran kota Bandung. Dalam penelitian ini sampel yang digunakan terdiri dari 3 merk sediaan *hand soap* yang diberi kode *hand soap* N, *hand soap* W dan *hand soap* S. Kadar triklosan pada sediaan *hand soap* ditentukan dengan metode KCKT.

VI.1 Panjang Gelombang Maksimum



Gambar VI.1 Spektrum panjang gelombang triklosan

Komponen zat triklosan dideteksi pada panjang gelombang yang memberikan serapan optimum. Penentuan panjang gelombang maksimum triklosan ini dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri ultraviolet *double beam*. Standar triklosan dipindai

dengan panjang gelombang 200-400 nm. Panjang gelombang ditentukan dari larutan baku triklosan dengan konsentrasi 20 ppm, larutan baku triklosan dalam pelarut metanol. Hasil yang didapatkan yaitu triklosan memiliki panjang gelombang maksimum 282 nm.

VI.2 Optimasi Kondisi Analisis (OKA)

Setelah penentuan panjang gelombang maksimum, maka dilakukan optimasi kondisi analisis. Penentuan optimasi kondisi analisis ini dilakukan terlebih dahulu sebelum dilakukan analisis yang lebih lanjut dengan tujuan dapat mengetahui kondisi analisis optimum dalam pemilihan komposisi fase gerak, laju alir dan λ yang digunakan, khususnya pada kondisi optimum triklosan. Elusi isokratik dilakukan dengan cara komposisi fase gerak yang digunakan tetap sama selama proses elusi. Selain bertujuan untuk mengetahui kondisi analisis optimum standar, juga dapat mengetahui waktu retensinya. Penentuan optimasi kondisi analisis dilakukan dengan cara menginjeksikan standar triklosan. Hasil optimasi kondisi analisis pada sistem KCKT berupa kromatogram. Penentuan komposisi fase gerak untuk memberikan hasil optimum dengan cara dilakukan percobaan optimasi terhadap komposisi fase gerak yang ditunjukkan pada tabel VI.1

Tabel VI.1 Percobaan optimasi komposisi fase gerak

Fase Gerak	Percobaan		
	1	2	3
Metanol	30	40	80
Asam Fosfat 0,1%	70	60	20

Pada percobaan ke-3 merupakan komposisi yang memberikan kondisi yang optimum untuk analisis triklosan. Hasil optimasi kondisi analisis triklosan yang digunakan adalah sebagai berikut :

- | | |
|----------------------|---|
| 1) KCKT | : Shimadzu Prominance
LC-20AT |
| 2) Kolom | : Kolom C 18 diameter 4,6
Panjang 250 mm |
| 3) Elusi | : Isokratik |
| 4) Volume Injeksi | : 20 μ l |
| 5) Fase Gerak | : Metanol : Asam fosfat 0,1%
(80 : 20) |
| 6) Laju Alir | : 1 mL/menit |
| 7) Detektor | : UV |
| 8) Panjang Gelombang | : 282 nm |
| 9) Waktu Retensi | : $\pm$ 8,9 menit |
| 10) Waktu Pembacaan | : 10 menit |

VI.3 Uji Kesesuaian Sistem (UKS)

Uji kesesuaian sistem dilakukan untuk memastikan kesesuaian dan keefektifan sistem yang digunakan agar diperoleh kondisi operasional dan kromatogram yang baik. Dimana USP merekomendasikan untuk melakukan UKS sebanyak enam kali dengan syarat kelulusan RSD dari luas area seluruh hasil pengujian tidak lebih dari 2%. Senyawa yang disuntikkan ke dalam KCKT adalah larutan triklosan 30 ppm. Pada uji kesesuaian sistem terdapat beberapa parameter yang harus dipenuhi, diantaranya nilai lempeng teoritis (N), *tailing factor* (T_f), faktor kapasitas (k), dan nilai simpangan baku relatif (% SBR) luas area dari beberapa kali penyuntikan. Standar triklosan disuntikkan pada sistem

KCKT dan data yang diperoleh dari hasil penyuntikkan tersebut diolah menggunakan *software* yang terhubung dengan sistem KCKT. Kemudian data yang didapatkan dibandingkan dengan parameter-parameter tersebut. Hasil uji kesesuaian sistem triklosan ditunjukkan pada tabel VI.3

Tabel VI.2 Hasil uji kesesuaian sistem (UKS)

Pengulangan	RT	Area	TF	K'	N Plates	Rs
1	8.923	802379	1.034	1.863	6178.070	16.720
2	8.940	803760	1.034	1.734	6151.431	16.658
3	8.924	810280	1.027	1.733	6151.122	16.596
4	8.929	802067	1.036	1.745	6171.799	16.641
5	8.959	809832	1.028	1.748	6174.897	16.602
6	8.963	804693	1.027	1.742	6220.128	16.603
Rata-rata	8.939	805501.8333	1.031	2	6174.575	16.637
SD	0.017637082	3655.6691				
Syarat	<% 2	<% 2	< 1.5	2-8	>2500	>1.5
Hasil	0.197290154	0.453837465	1.031	2	6174.575	16.637
Kesimpulan	MS	MS	MS	MS	MS	MS

Pada tabel diatas didapatkan hasil bahwa nilai waktu retensi 0.197290154%, RSD luas area dari triklosan adalah 0.453837465%; rata-rata lempeng teoritis 6174.575; rata-rata resolusi 16.637; *tailing factor* sebesar 1,031 dan rata-rata faktor kapasitas 2. Dari hasil uji kesesuaian sistem menunjukkan bahwa semua parameter telah memenuhi syarat untuk nilai RSD dari luas area adalah $\leq 2\%$, lempeng teoritis >2500 , nilai *tailing factor* $\leq 1,5$, nilai resolusi $>1,5$ dan faktor kapasitas 2-8 (Harmita, 2015). Hasil pengujian didapat nilai %RSD yang baik yaitu kurang dari 2%. Hal ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan memberikan hasil sebaran yang berdekatan satu sama lain. Jumlah plates teoritis (N) dapat digunakan untuk mengetahui

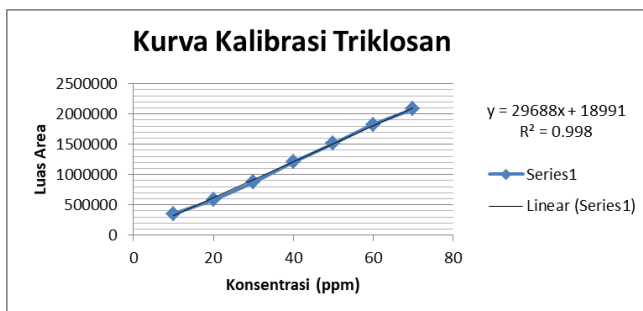
kualitas kinerja kolom. Harga N ditentukan oleh konstruksi kolom, sifat sampel, laju alir, suhu, cara memasukkan sampel dan lain-lain. Cara untuk memperbaiki atau meningkatkan nilai lempeng teoritis adalah dengan memperkecil ukuran partikel zat yang akan diuji atau dengan menggunakan kolom yang lebih panjang ukurannya. Resolusi adalah ukuran apakah suatu senyawa terpisah secara baik atau tidak dengan senyawa lain atau digunakan sebagai ukuran pemisahan antar kurva yang berdekatan. Jika nilai resolusi tidak baik maka terdapat kurva yang berdekatan yang disebabkan oleh pengotor dari pelarut atau penggunaan fase gerak yang tidak sesuai menyebabkan pemisahan yang kurang maksimal. *Tailing factor* diuji untuk menggambarkan kesimetrisan bentuk kurva kromatogram. Nilai *tailing factor* yang bagus adalah 1 (satu), dimana antar sisi kanan dan sisi kiri memiliki sisi yang sama yang menunjukkan bahwa kromatogram tersebut bersifat setangkup atau simetris. Harga *tailing factor* lebih dari 2 menunjukkan bahwa kromatogram mengalami pengekoran (*tailing*). Semakin besar harga *tailing factor* maka kolom yang dipakai semakin kurang efisien. Faktor kapasitas adalah yang menunjukkan seberapa kuat komponen – komponen dalam sampel yang dibawa oleh fase gerak berinteraksi dengan kolom (fase diam) (Harmita, 2015).

VI.4 Pembuatan Kurva Kalibrasi

Kurva triklosan diperoleh dengan menginjektikan triklosan dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60 dan 70 ppm. Dari hasil pengukuran diperoleh data luas area yang selanjutnya dibuat kurva kalibrasi.

Tabel VI. 3 Data luas area dari kromatogram standar triklosan pada berbagai konsentrasi

No	Konsentrasi (ppm)	Luas area triklosan
1	10	355957
2	20	582987
3	30	872985
4	40	1210526
5	50	1510957
6	60	1827763
7	70	2084292



Gambar VI.2 Kurva kalibrasi triklosan

Berdasarkan kurva diatas maka dapat diperoleh persamaan regresi linear triklosan $y=29688x+18991$ dengan R^2 0,998.

VI.5 Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut telah memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Dalam penelitian kali ini parameter – parameter yang harus dipenuhi dalam validasi metode analisis terdiri dari linearitas, akurasi, batas deteksi, batas kuantitasi dan presisi.

VI.5.1 Linearitas

Nilai linearitas diperoleh dengan cara membuat kurva kalibrasi. Linieritas merupakan kemampuan metode analisis memberikan respon yang secara langsung proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Tujuan dari uji linieritas yaitu untuk mengetahui seberapa baik konsentrasi yang dibuat dengan cara menghubungkan konsentrasi zat (x) dengan respon yang diberikan (y) dengan menggunakan persamaan regresi linier $y = bx + a$. Hubungan linear yang ideal dicapai jika nilai r mendekati +1 atau -1 bergantung pada arah garis. Dari hasil kurva kalibrasi triklosan diperoleh nilai koefisien korelasi 0,998. Hal ini menunjukkan bahwa uji linearitas untuk validasi metode penetapan kadar triklosan menghasilkan nilai korelasi yang linear antara luas area dan konsentrasi standar, sehingga uji linearitas menunjukkan bahwa terdapat hubungan kuat antara konsentrasi dengan luas area yang diukur, yaitu semakin tinggi tingkatan konsentrasi maka semakin besar pula luas area yang terbentuk, begitu pula sebaliknya.

VI.5.2 Batas Deteksi (LoD) dan Batas Kuantitasi (LoQ)

Batas deteksi (LoD) merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Sedangkan batas kuantitasi (LoQ) merupakan kuantitasi terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria akurat dan seksama. Kedua uji ini menunjukkan bahwa analit dapat dideteksi dan dikuantifikasi dengan melewati batas minimal bila dibandingkan dengan blanko. 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 (Harmita,2004). Hasil perhitungan batas deteksi triklosan sebesar 3,1408 ppm dan batas kuantitasi sebesar 10,0469 ppm.

Tabel VI. 4 Hasil penentuan linieritas, LoD dan LoQ

Parameter	Hasil	Syarat
Persamaan Regresi Linier	$y = 29688x + 18991$	
Kemiringan Garis Regresi/ Slope (b)	29688	
Perpotongan Garis Dengan Sumbu y (a)	18991	
x Rata-Rata	40	
Sy/x (Simpangan Baku Residu)	31081,31572	
(Sy/x)/b	1,04693195	
V_{x0} / Koefisien Variansi Regresi (%)	2,61	< 5%
r (Koefisien Korelasi)	0,998	Mendekati 1
LoD / Batas Deteksi ($\mu\text{g/mL}$)	3,1408	
LoQ / Batas Kuantitasi ($\mu\text{g/mL}$)	10,0469	

VI.5.3 Presisi

Presisi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual yang diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel yang diambil dari campuran yang homogen pada kondisi analisis yang sama. Uji presisi dilakukan secara simultan pada sampel dengan konsentrasi 100% yang diukur sebanyak 6 kali pengulangan. Pengujian presisi dilakukan secara berulang oleh analis yang sama pada kondisi dan interval waktu yang sama. Konsentrasi sampel simulasi yang digunakan sebesar 30 ppm. Kriteria uji presisi ditentukan berdasarkan rata-rata luas area yang didapatkan dari hasil pengulangan serta nilai % simpangan baku relatif (% SBR), dimana uji presisi dinyatakan baik apabila nilai %SBR yaitu < 2%. Hasil uji presisi triklosan dapat dilihat pada tabel VI.5

Tabel VI.5 Hasil uji presisi

Konsentrasi (ppm)	Luas Area	Kons (X)
30	800309	26,3176
	817285	26,8895
	821545	27,0329
	816236	26,8541
	824986	27,1488
	825929	27,1806
Rata-rata (x)		26,9039
SD		0,3161
RSD (%)		1,1749

Berdasarkan hasil pada tabel diatas, hasil presisi yang diperoleh telah memenuhi syarat persen simpangan baku relatif (%RSD) dengan nilai tidak lebih dari dari 2%, dimana %RSD dari pengukuran presisi sebesar 1,1749%. Hal ini menunjukkan bahwa ketersebaran hasil individu triklosan yang dilakukan secara berulang dari campuran yang homogen memiliki presisi yang baik dan telah memenuhi syarat (Harmita, 2015).

VI.5.4 Akurasi

Uji akurasi dilakukan untuk mengetahui derajat kedekatan hasil penetapan yang diperoleh dengan kadar analit hasil sebenarnya yang diperoleh dari pengukuran dengan menggunakan rumus % perolehan kembali (% *recovery*). Metode yang digunakan pada pengukuran akurasi ini dengan menggunakan metode sampel simulasi (*spiked placebo recovery*), dibuat sampel dengan cara menambahkan sejumlah zat aktif yaitu triklosan ke dalam bahan tambahan (plasebo). Pengujian akurasi dibuat dengan tiga varian konsentrasi zat aktif yang ditambahkan ke dalam bahan tambahan berkisar dari 80%, 100%, dan 120% dari jumlah triklosan yang telah ditentukan, sehingga didapatkan varian konsentrasi 24; 30; dan 36 ppm. Pada 3 varian konsentrasi

tersebut, dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan/replikasi. Hasil uji akurasi diperoleh data untuk triklosan dengan nilai persen perolehan kembali sebesar 99,96-101,37%. Hasil uji akurasi dapat dilihat pada tabel VI.6

Tabel VI.6 Hasil uji akurasi

Rentang Spesifik (%)	Replikasi	Luas Area	Konsentrasi (ppm)		% Recovery	Rata-rata
			Teoritis	Pengukuran		
80	1	722181	24	23,686	98.69	100,22 ±1,39
	2	735589	24	24,138	100.57	
	3	741526	24	24,338	101.41	
100	1	916852	30	30,243	100.81	101,37 ±0,94
	2	931511	30	30,737	102.46	
	3	917215	30	30,255	100.85	
120	1	1091458	36	36,125	100.35	99,96 ±0,58
	2	1090226	36	36,083	100.23	
	3	1080206	36	35,746	99.29	

VI.6 Penetapan Kadar Sampel

Pada penelitian ini sampel yang digunakan terdiri dari beberapa sediaan *hand soap*. Sampel tersebut dilakukan 3 kali pengulangan pada KCKT dimana sampel diberi nama *hand soap* N, W dan S. Berdasarkan hasil penelitian, maka diperoleh tiap 1 gram *hand soap* yang dilarutkan dalam 10 mL metanol dan disonikasi selama 10 menit sambil sesekali digoyang kemudian disaring menggunakan penyaring membran ukuran 0,45 µm dan diinjeksikan pada alat KCKT mengandung kadar triklosan pada sampel *hand soap* N sebesar 0,04%; sampel *hand soap* W sebesar 0,03% dan sampel *hand soap* S sebesar 0,08%. Dimana aktivitas antimikroba triklosan didapatkan pada konsentrasi tidak lebih dari 0,3%. Pada konsentrasi tersebut bersifat sebagai antiseptik. Hal ini menunjukkan bahwa kadar triklosan yang terdapat pada masing-masing

sediaan *hand soap* memenuhi batas persyaratan berdasarkan Kepala BPOM Republik Indonesia nomor HK.03.1.23.08.11.07517 tahun 2011 yaitu dengan kadar maksimum 0,3%.

Tabel VI. 7 Hasil perhitungan penetapan kadar sampel

Sampel	AUC	C sampel (bpj)	C sampel (mg)	% Kadar Triklosan
<i>Hand Soap N-1</i>	1100013	36.41	0.36	0.04
<i>Hand Soap N-2</i>	1079303	35.72	0.36	0.04
<i>Hand Soap N-3</i>	1105309	36.59	0.37	0.04
<i>Hand Soap W-1</i>	885897	29.20	0.29	0.03
<i>Hand Soap W-2</i>	888409	29.29	0.29	0.03
<i>Hand Soap W-3</i>	896703	29.56	0.30	0.03
<i>Hand Soap S-1</i>	2430453	81.23	0.81	0.08
<i>Hand Soap S-2</i>	2434583	81.37	0.81	0.08
<i>Hand Soap S-3</i>	2437481	81.46	0.81	0.08