

Bab VI Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar oktil metoksisinamat dalam sediaan *lotion* tabir surya yang dijual di *online store*. Metode yang digunakan adalah KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi), pemilihan KCKT sebagai metode penetapan kadar oktil metoksisinamat karena metode ini memiliki banyak kelebihan yaitu waktu analisis yang cepat, sensitif dan dapat juga dilakukan pemisahan senyawa yang akan di analisis dari matriks dan pelarut, sehingga akan didapatkan data yang lebih valid.

Langkah pertama dalam pengerjaan pengukuran kadar oktil metoksisinamat dengan metode KCKT adalah optimasi kondisi analisis dari metode KCKT. Untuk mendapatkan hasil yang baik, terlebih dahulu ditentukan kondisi kromatografi yang optimal meliputi panjang gelombang analisis, laju alir dan komposisi fase gerak.

Panjang gelombang analisis ditentukan pada panjang gelombang 309 nm. Hasil yang diperoleh dari penentuan panjang gelombang oktil metoksisinamat menggunakan Spektrofotometri UV dapat dilihat pada Lampiran 1. Kemudian selanjutnya dilakukan dengan mengubah laju alir dan komposisi perbandingan fase gerak. Sistem elusi yang digunakan pada penelitian kali ini adalah isokratik dimana komponen fase geraknya tetap selama terjadinya elusi (Gandjar, 2014). Hasil dari modifikasi laju alir dan komposisi perbandingan fase gerak yang diperoleh dapat dilihat ada tabel VI.1

Tabel VI.1 Hasil Modifikasi Laju Alir

No.	Laju Alir (mL/menit)	Fase Gerak (Metanol:Air)	Waktu Retensi (menit)
1	0,5	90:10	9,127
2	1	90:10	8,975
3	1,5	90:10	6,303

Oktil metoksisinamat larut dalam metanol namun praktis tidak larut dalam air. Kemudian dilakukan optimasi untuk memastikan perbandingan komposisi fase gerak yang ada dengan menambah komposisi air dan mengurangi komposisi metanol. Hasil yang didapatkan pada saat penambahan komposisi air yang diperoleh dapat dilihat ada tabel VI.2.

Tabel VI.2 Hasil Modifikasi Komposisi Fase Gerak

No.	Laju Alir (mL/menit)	Fase Gerak (Asetonitril:Air)	Waktu Retensi (menit)
1	1,5	80:20	24,856
2	1,5	85:15	12,000
3	1,5	90:10	6,303

Berdasarkan pertimbangan waktu retensi yang diperoleh, kondisi analisis KCKT yang digunakan:

- 1) Panjang Gelombang : 309 nm
- 2) Sistem elusi : Isokratik
- 3) Laju alir : 1,5 mL/menit
- 4) Fasa diam : C₁₈
- 5) Fasa gerak : Metanol : Air (90:10)
- 6) Volume injeksi : 20 µl

Setelah didapatkan kondisi yang optimum, dilakukan uji kesesuaian sistem. Sistem KCKT harus diuji terlebih dahulu sebelum digunakan untuk analisis, melalui uji kesesuaian sistem agar mendapatkan keyakinan tentang keefektifan sistem kromatografi karena banyak faktor yang dapat memberikan perbedaan hasil uji seperti kolom, umur kolom, komposisi dan pH fase gerak (Snyder, 2010). Uji kesesuaian sistem dilakukan bertujuan agar memastikan apakah suatu sistem berjalan dengan baik dan benar. Uji kesesuaian sistem dilakukan pada metode terpilih dalam optimasi kondisi optimum dengan replikasi injeksi sebanyak enam kali penyuntikan.

Pengujian dilakukan dengan cara membuat larutan sampel yang mengandung oktil metoksisinamat dengan konsentrasi 4,1 bpj yang kemudian diinjeksikan sebanyak 20 µl ke sistem KCKT. Hasil uji kesesuaian sistem oktil metoksisinamat dapat dilihat pada tabel VI.3

Tabel VI.3 Hasil Uji Kesesuaian Sistem

Pengulangan	RT	Area	TF	K'	N Plates	Rs
1	5,983	131431	1,044	4,528	33032,123	1,880
2	5,966	138293	1,045	4,464	33197,315	1,872
3	5,975	136299	1,043	5,731	33351,493	1,906
4	5,951	136547	1,044	5,795	33295,893	1,903
5	5,951	134517	1,045	5,702	33331,481	1,890
6	5,963	135927	1,044	5,709	33201,037	1,880
Rata-rata	5,965	135502	1,044	5,322	33234,890	1,889
SD	0,013	2334				
Hasil	0,215	1,723	1,044	5,652	33282,959	1,789
SYARAT	<2%	<2%	<1,5	>2	>2000	>1,5
Kesimpulan	MS	MS	MS	MS	MS	MS

Pada uji kesesuaian sistem terdapat beberapa parameter yang harus dipenuhi, diantaranya yaitu lempeng teoritis (N), *tailing factor* (Tf), faktor kapasitas (k') dan simpangan baku relatif (% SBR) luas area. Data yang didapatkan kemudian diolah menggunakan software yang terhubung pada alat KCKT, yaitu *LC Solution Analysis* dan analisis data secara umum akan menggunakan Microsoft Excel. Data yang diperoleh dibandingkan dengan parameter-parameter tersebut.

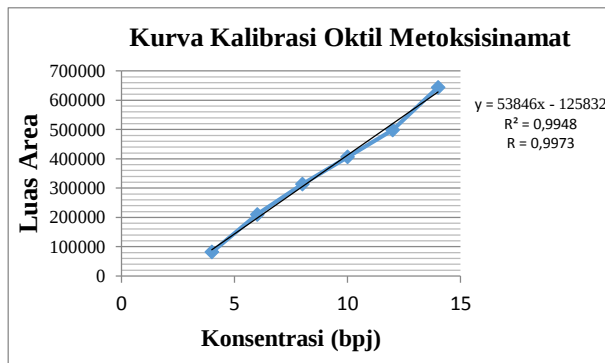
Pada tabel diatas diperoleh nilai simpangan baku relatif (%RSD) luas area oktil metoksisinamat sebesar 1,723%, nilai rata-rata untuk lempeng teoritis 33282,959, resolusi 1,789, *tailing factor* 1,044 dan faktor kapasitas 5,652.

Dari hasil uji kesesuaian sistem diperoleh nilai % RSD yang baik yaitu kurang dari 2%. Hal ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan dapat memberikan hasil yang baik. Jumlah plat teoritis digunakan untuk mengetahui efisiensi kolom yang digunakan. Jumlah plat teoritis untuk oktil metoksisinamat yaitu 33282,959.

Resolusi digunakan untuk mengetahui ukuran pemisahan antar analit-analit. Resolusi dikatakan baik apabila nilai resolusi lebih dari 1,5 >1,5 (*Handbook of HPLC*, 2000). Nilai rata-rata resolusi pada senyawa oktil metoksisinamat yaitu 1,789. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemisahan senyawa dapat berlangsung baik dan kedua puncak tidak saling berdekatan akibat adanya pengotor atau penggunaan pelarut dan fase gerak yang tidak sesuai. Pada data rata-rata nilai *tailing factor* adalah 1,044, hasil tersebut menunjukkan puncak yang simetri karena syarat maksimum dari *tailing factor* adalah <1,5. Data kriteria selanjutnya yaitu faktor kapasitas (k'). Hasil rata-rata faktor kapasitas adalah 5,335, hasil tersebut memenuhi persyaratan yaitu >2.

Kemudian rata-rata pada jumlah plat teoritis (N) adalah 33282,959, nilai N yang direkomendasikan adalah >2000, maka dari hasil yang telah disebutkan nilai N pada uji kesesuaian sistem telah memenuhi persyaratan.

Pada penentuan kurva kalibrasi digunakan seri konsentrasi 4; 6; 8; 10; 12 dan 14 bpj yang dibuat dengan mengencerkan larutan baku oktil metoksisinamat. Variabel yang digunakan pada penelitian kali ini adalah luas area. Dari data pengukuran diperoleh persamaan garis $y = 53846x - 125832$ dengan nilai linieritas sebesar 0,9973. Nilai linearitas yang diperoleh menunjukkan korelasi yang cukup proporsional antara luas area dengan konsentrasi. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x).



Gambar VI.1 Kurva Kalibrasi Oktil Metoksisinamat

Dari persamaan tersebut diperoleh nilai Batas Deteksi (BD) sebesar 0,905 bpj dan Batas Kuantitasi (BK) sebesar 3,018 bpj. Batas Deteksi yang diperoleh sebagai konsentrasi analit terkecil dalam sampel yang masih dapat terdeteksi. Sedangkan Batas Kuantitasi sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat di tentukan

dengan presisi dan akurasi yang diterima pada kondisi serta metode yang digunakan. Berikut adalah hasil pengukurannya

Tabel VI.4 :
Kurva Kalibrasi, Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi

Rentang Konsentrasi	4-14 bpj
R	0,9973
Slope (b)	53846
Intercept (a)	-125832
Batas Deteksi	0,905bpj
Batas Kuantifikasi	3,018bpj
Sy/x	16252,380

Pengujian akurasi dilakukan bertujuan untuk menunjukkan kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan dengan menghitung persen perolehan kembali (% *recovery*) analit yang ditambahkan (Harmita, 2004). Metode yang digunakan dalam pengukuran akurasi yaitu pembuatan sampel simulasi dimana dibuat sampel dengan menambahkan bahan aktif oktil metoksisinamat ke dalam basis *lotion*. Metode sampel simulasi dilakukan dengan membuat 3 konsentrasi yaitu 80%, 100% dan 120%. Untuk konsentrasi 80%, bahan aktif yang ditimbang yaitu sebanyak 4 gram yang kemudian dicampur dengan basis *lotion* sebesar 46 gram. Untuk konsentrasi 100%, bahan aktif yang ditimbang yaitu sebesar 5 gram yang kemudian dicampur dengan basis *lotion* sebesar 45 gram. Untuk konsentrasi 120%, bahan aktif yang ditimbang yaitu sebesar 6 gram yang kemudian dicampur dengan basis *lotion* sebesar 44 gram.

Rentang batas akurasi harus dalam rentang keadaan linear, maka pada penelitian ini konsentrasi yang di injeksikan adalah 5,6 bpj; 7 bpj dan 8,4 bpj. Masing-masing konsentrasi dibuat secara triplo. Hasil pengukuran akurasi yaitu 97,12%, 101,29% dan 91,38%. Hasil nilai akurasi yang diperoleh masuk dalam rentang persyaratan yaitu 80%-120%, hal ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki ketelitian yang baik. Hasil pengujian akurasi dapat dilihat pada tabel VI.6

Tabel VI.6 Hasil Uji Akurasi Oktil Metoksisinamat

Kadar baku teoritis	Area (y)	C (x)	% Recovery	Rata-Rata % Recovery
Simulasi 5,6bpj 80% - 1	240346	6,800	97,150%	97,12%
Simulasi 5,6bpj 80% - 2	240618	6,806	97,222%	
Simulasi 5,6bpj 80% - 3	239684	6,788	96,974%	
Simulasi 7bpj 100% - 4	256430	7,099	101,417%	101,29%
Simulasi 7bpj 100% - 5	253008	7,036	100,509%	
Simulasi 7bpj 100% - 6	258377	7,135	101,933%	
Simulasi 8,4bpj 120% - 1	286709	7,661	91,208%	91,38%
Simulasi 8,4bpj 120% - 2	287760	7,681	91,441%	
Simulasi 8,4bpj 120% - 3	288055	7,686	91,506%	

Berdasarkan hasil yang terdapat pada tabel menunjukkan bahwa pada konsentrasi 80% rata-rata % *recovery* senyawa oktil metoksisinamat sebesar 97,12%. Pada konsentrasi 100% rata-rata % *recovery* senyawa oktil metoksisinamat sebesar 101,29%. Sedangkan pada konsentrasi 120% rata-rata % *recovery* senyawa oktil metoksisinamat sebesar 91,38%. Hasil nilai akurasi yang diperoleh masuk dalam rentang persyaratan yaitu 80%-120%, hal ini menunjukkan bahwa metode yang

digunakan memiliki ketelitian yang baik. Hasil nilai akurasi yang diperoleh masuk dalam rentang persyaratan yaitu 80%-120%, hal ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki ketelitian yang baik.

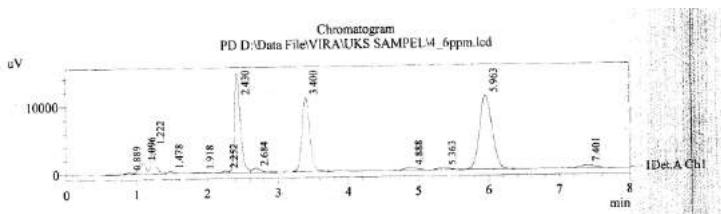
Presisi bertujuan untuk menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita, 2004). Pada pengujian presisi digunakan sampel simulasi dengan konsentrasi oktil metoksisinamat 100%. Pengujian dilakukan sebanyak enam kali penyuntikan. Hasil dari perhitungan presisi yang diperoleh yaitu 0,984%, hasil tersebut dapat dikatakan memenuhi persyaratan karena syarat % RSD adalah kurang dari 2% dan metode yang digunakan dalam penelitian mempunyai presisi atau keterulangan yang baik (Harmita, 2004). Hasil uji presisi oktil metoksisinamat dapat dilihat pada tabel VI.7.

Tabel VI.7 Hasil Uji Presisi Oktil Metoksisinamat

Pengulangan	Area	C (x)
1	231159	6,630
2	236950	6,737
3	238980	6,775
4	240346	6,800
5	240618	6,806
6	239684	6,788
Rata-rata	237956	6,756
SD		0,066
RSD		0,984%

Uji spesifisitas bertujuan untuk mengetahui kemampuan suatu metode yang hanya mengukur zat tertentu secara seksama dengan adanya

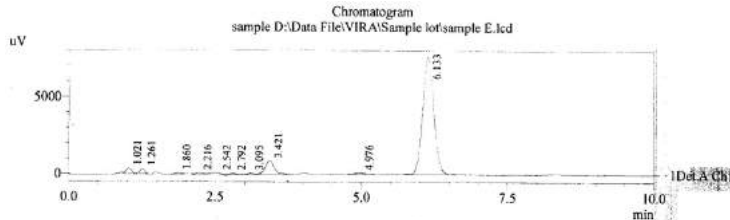
komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel yang berarti diyakinkan bahwa pada proses pengukuran hanya berasal dari analit dan bukan berasal dari senyawa lain yang kebetulan mempunyai sifat fisika/kimia serupa dengan analit yang akan ditetapkan. Uji spesifisitas ditentukan melalui perhitungan daya resolusinya (R_s). Dalam teknik kromatografi, selektivitas dapat dibuktikan dengan pemisahan yang baik antara analit dengan komponen yang lain. Bukti dari persyaratan ini didapatkan resolusi analit dari komponen lain lebih besar dari 1,5 – 2,0. Pengujian dilakukan dengan cara menginjeksikan sampel yang mengandung senyawa oktil metoksisinamat. Nilai resolusi senyawa oktil metoksisinamat dengan senyawa lain yang muncul pada detektor berturut-turut yaitu 3,174 dan 1,880. Kromatogram spesifisitas larutan sampel oktil metoksisinamat dengan kromatogram lain ditunjukkan pada gambar VI.2



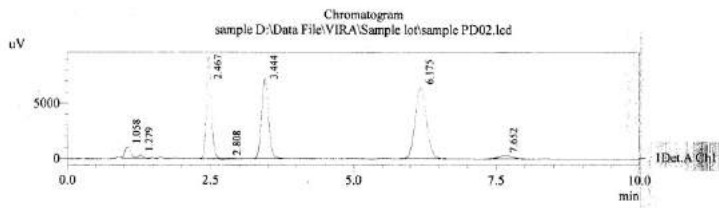
Gambar VI.2 Kromatogram Spesifisitas Larutan Sampel

Dari hasil pengujian, nilai resolusi oktil metoksisinamat lebih besar dari 1,5 – 2,0. Hal ini menunjukkan bahwa nilai resolusi pada uji spesifisitas oktil metoksisinamat memenuhi syarat yang artinya tidak adanya pengaruh dari matriks yang terkandung dalam sampel yang diuji dan memiliki daya pemisahan yang baik serta metode analisis yang digunakan dapat bekerja dengan selektif.

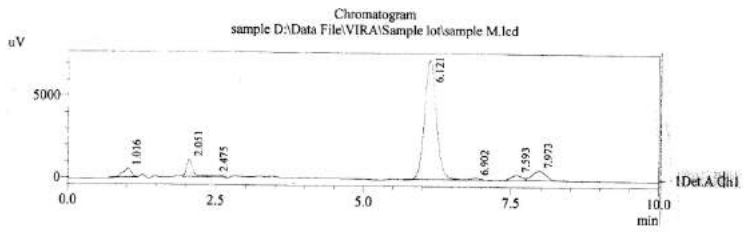
Tahap terakhir pada penelitian ini adalah pengukuran kadar oktil metoksisinamat pada sediaan *lotion* tabir surya. Sampel A merupakan *lotion* tabir surya yang sudah terdaftar di BPOM dan bisa dibeli di *online store* maupun *offline store*. Sampel B merupakan tabir surya yang sudah terdaftar di BPOM tetapi hanya dijual di *online store* saja. Sampel C merupakan *lotion* tabir surya yang belum terdaftar di BPOM tetapi dapat dibeli melalui *online shop*. Sampel dilarutkan menggunakan fase gerak, hal ini bertujuan untuk mengurangi kekentalan sampel dan juga dikarenakan oktil metoksisinamat larut dalam metanol. Dilakukan pengenceran yang bertujuan untuk menghasilkan kromatogram yang lebih baik. Pada pengukuran sampel diperoleh kadar oktil metoksisinamat dalam sampel A adalah 5,297%, pada sampel B adalah 4,101% dan pada sampel C yaitu 5,011%.



Gambar VI.3 Kromatogram Sampel A



Gambar VI.4 Kromatogram Sampel B



Gambar VI.5 Kromatogram Sampel C