

**ANALISIS ASAM GLIKOLAT DAN ASAM LAKTAT DALAM
SABUN CAIR SECARA KROMATOGRAFI GAS**

GALIH PRAKASA

0706197364



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI EKSTENSI

2010

**ANALISIS ASAM GLIKOLAT DAN ASAM LAKTAT DALAM
SABUN CAIR SECARA KROMATOGRAFI GAS**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

Oleh :

GALIH PRAKASA

0706197364



DEPOK

2010

SKRIPSI : ANALISIS ASAM GLIKOLAT DAN ASAM LAKTAT DALAM
SABUN CAIR SECARA KROMATOGRAFI GAS

NAMA : GALIH PRAKASA

NPM : 0706197364

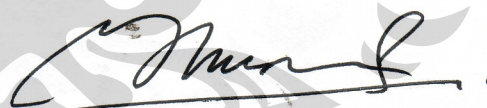
SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JANUARI 2010



DR. HARMITA, APT.


PEMBIMBING I



DR. HERMAN SURYADI, M.S.

PEMBIMBING II

Tanggal lulus ujian Sidang Sarjana : 11 Januari 2010

Penguji I : Dr. Arry Yanuar, M.Si. (..... ))

Penguji I : Prof. Dr. Atiek Soemiati, M.S. (..... ))

Penguji I : Sutriyo, Apt., M.Si. (..... ))

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada sumber segala kebenaran dan ilmu pengetahuan, Allah SWT, karena atas segala rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi ini.

Skripsi yang berjudul Analisis Asam Glikolat Dan Asam Laktat Dalam Sabun Cair Secara Kromatografi Gas ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi, Departemen Farmasi Universitas Indonesia. Penelitian dalam rangka penyusunan skripsi ini dilakukan sepenuhnya di Laboratorium Kimia Kuantitatif, Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini, penulis hendak mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. Harmita, Apt selaku pembimbing I dan Bapak Dr. Herman Suryadi, MS selaku pembimbing II yang telah bersedia memberikan bimbingan dan pengarahan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, M.Si, Apt. selaku Ketua Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia yang telah memberikan kesempatan penulis melakukan penelitian.
3. Bapak Dr. Abdul Mun'im, M.Si. selaku ketua Program Studi Ekstensi Farmasi.
4. Ibu Dra. Juheini Amin, M.Si., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan nasihat dan bimbingan.

5. Bapak Drs. Hayun, M.Si, selaku kepala Laboratorium Kimia Kuantitatif Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah mengizinkan penulis menggunakan ruang dan fasilitas laboratorium selama penelitian.
6. Para karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu terlaksananya penelitian ini, khususnya Pak Rustam, atas segala bantuannya di Laboratorium Kimia Kuantitatif.
7. Bunda, Ayah, Widi dan Putri yang selalu memberikan doa, kasih sayang dan dukungan moril serta materiil. Ardila Fachrisa yang senantiasa memberikan senyuman, perhatian, dan kasih sayangnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman-teman Ekstensi Farmasi 2007, serta teman-teman di Laboratorium Kimia Kuantitatif, Koba, Dj, Fika, Ayu, Fabel, Angel, Tika, Fitri, Kak Defi, Kak Ingga, Kak Fuzi, Kak Dede dan Kak Rima yang telah memberikan bantuan selama penelitian.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangannya, baik dari segi ilmiah maupun penyajiannya. Penulis berharap penelitian ini dapat bermanfaat bagi rekan-rekan Farmasi khususnya dan para pengembang ilmu pengetahuan pada umumnya.

Depok, 2010

Penulis

ABSTRAK

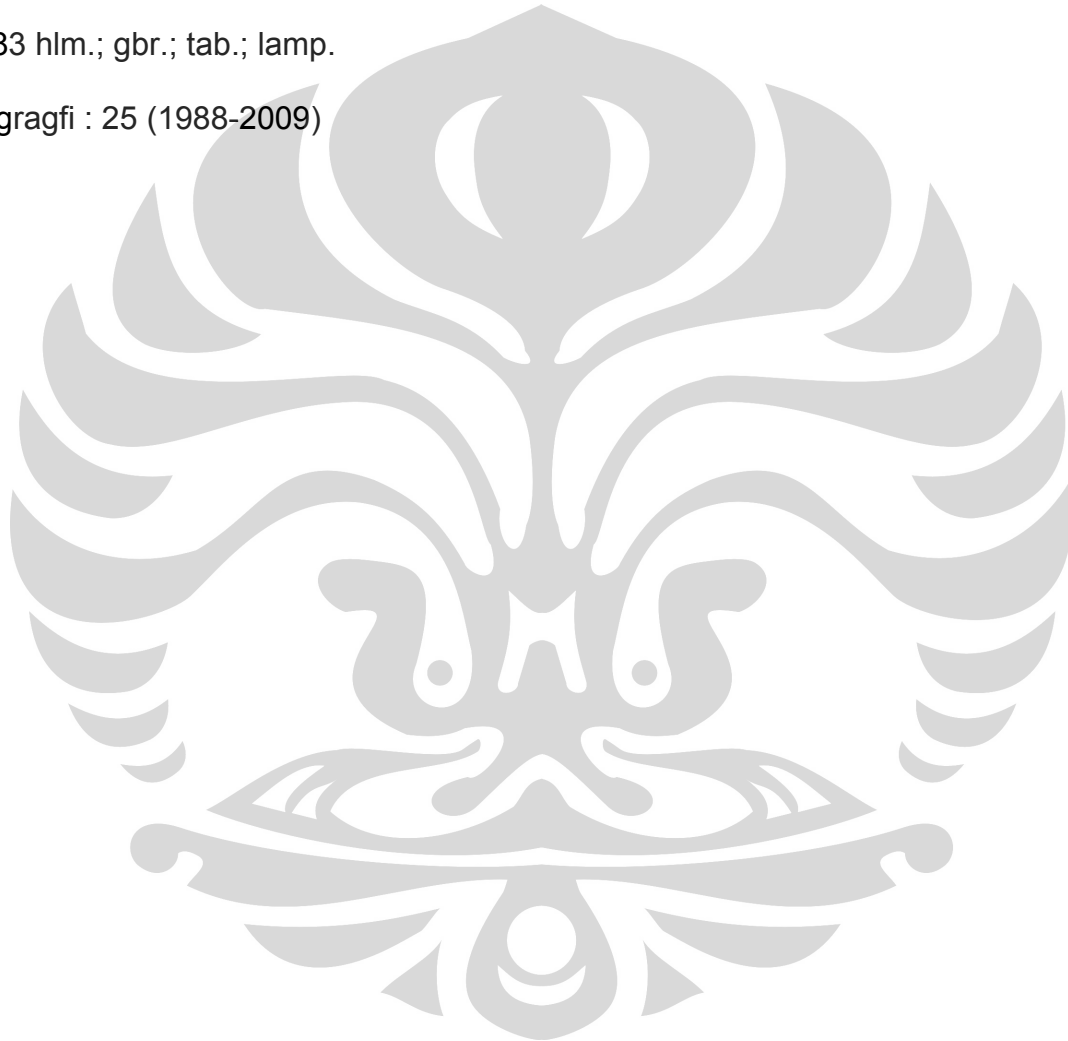
Sabun digunakan sebagai kosmetik pembersih kulit, memiliki keunggulan diantaranya daya pembersih yang kuat terutama dalam air, kurang berbahaya, dan harganya murah. Sabun mengandung zat berkhasiat salah satunya adalah senyawa asam alfa hidroksi (AHA). AHA berfungsi sebagai pelembab, *exfoliant* dan *chemical peeling*. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode analisis asam glikolat dan asam laktat yang valid menggunakan kromatografi gas (KG), dan untuk mengetahui kadar asam glikolat dan asam laktat dalam sabun cair. Sebelum disuntikkan pada KG, derivatisasi metilasi dilakukan terhadap sabun cair menggunakan metanol dan asam sulfat. Kondisi optimal untuk analisis menggunakan detektor ionisasi nyala, kolom kapiler VB-Wax, suhu injektor 200°C, suhu detektor 200°C, suhu kolom terprogram dengan suhu awal kolom 100°C dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit, dan laju alir gas pembawa (He) 0,8 mL/menit. Waktu retensi asam laktat pada menit ke 6,4 dan waktu retensi asam glikolat pada menit ke 7,1. Hasil validasi metode analisis asam laktat memiliki linearitas (r) sebesar 0,9997 dengan batas deteksi (LOD) sebesar 24,09 µg/mL dan batas kuantitasi (LOQ) sebesar 80,29 µg/mL. Hasil uji keterulangan asam laktat memberikan nilai koefisien variasi di bawah 2% dan hasil uji perolehan kembali asam laktat sebesar $99,76 \pm 1,17\%$. Untuk asam glikolat memiliki linearitas (r) sebesar 0,9993 dengan batas deteksi (LOD) sebesar 27,01 µg/mL dan batas kuantitasi (LOQ) sebesar 90,04 µg/mL. Hasil uji keterulangan asam glikolat

memberikan nilai koefisien variasi di bawah 2%. Kadar asam laktat dalam sampel A ($0,09 \pm 0,00\%$); sampel B ($0,39 \pm 0,01\%$); dan sampel C ($2,93 \pm 0,14\%$).

Kata kunci : AHA, laktat, glikolat, kromatografi gas, metilasi, sabun cair.

xiii + 83 hlm.; gbr.; tab.; lamp.

Bibliograf : 25 (1988-2009)



ABSTRACT

Soap is used as a skin cleanser cosmetic has advantages such as strong skin cleansing especially in water, less dangerous and inexpensive. The soap contained potent compounds, one of them is alpha hydroxy acid (AHA). Function of AHA as moisturizer, exfoliant and chemical peeling. The purpose of this study was to get a valid analysis method of glycolic acid and lactic acid using gas chromatography (GC), and to determine the concentration of glycolic acid and lactic acid in liquid soap. Before being injected to GC, derivated methylation to liquid soap by methanol and sulfuric acid. Optimal conditions for the analysis utilize flame ionization detector, capillary column VB-Wax, injector temperature was 200 °C, detector temperature was 200 °C; temperature programmed column with column initial temperature 100 °C increased by 2 °C/min to 150 °C and held for 5 minutes, and flow rate of carrier gas (He) 0,8 mL/min. Retention time of lactic acid at 6,4 minutes and retention time of glycolic acid at 7,1 minutes. The result of lactic acid validation methods has a linearity (r) 0,9997 with limited of detection (LOD) 24,09 µg/mL and limited of quantitation (LOQ) 80,29 µg/mL. Repeatability test results lactic acid has the coefficient of variation values less than 2% and the average of lactic acid recovery value $99,76 \pm 1,17\%$. For glycolic acid has a linearity (r) 0,9998 with a limited of detection (LOD) 27,01 µg/mL and limited of quantitation (LOQ) 90,04 µg/mL. Repeatability test results glycolic acid has the coefficient of variation

values less than 2%. Lactic acid concentrations in the sample A ($0,09 \pm 0,00\%$); sample B ($0,39 \pm 0,01\%$); and sample C ($2,93 \pm 0,14\%$).

Key words: AHA, lactic, glycolic, gas chromatography, methylation, liquid soap

xiii + 83 pages; pictures; tables; appendixes

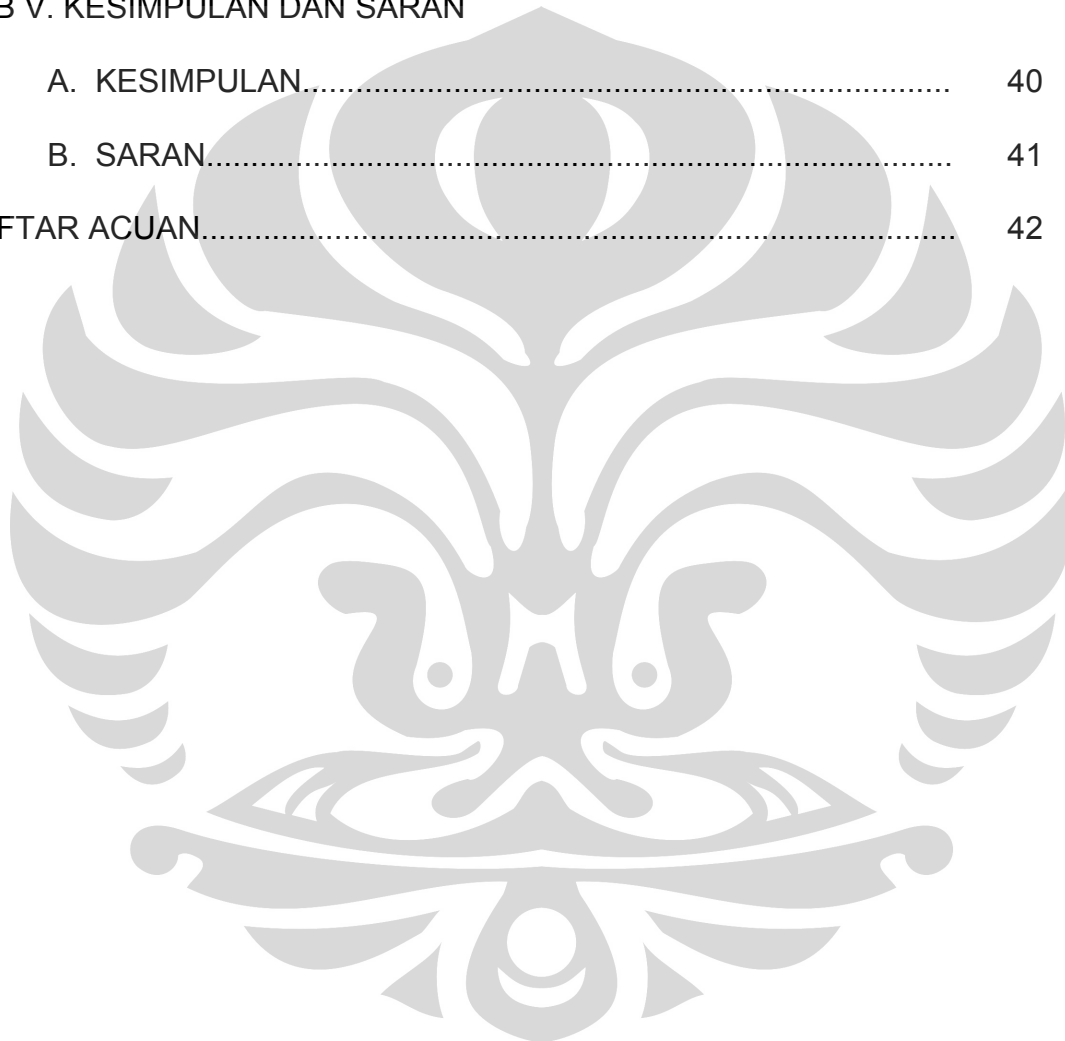
Bibliography: 25 (1988-2009)



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	
A. LATAR BELAKANG.....	1
B. TUJUAN PENELITIAN.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. KULIT.....	4
B. SABUN CAIR.....	5
C. ASAM ALFA HIDROKSI.....	6
D. KROMATOGRAFI GAS.....	10
E. VALIDASI METODE ANALISIS.....	19
BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA	
A. LOKASI.....	25
B. BAHAN.....	25
C. ALAT.....	25

D. CARA KERJA.....	26
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. HASIL.....	31
B. PEMBAHASAN.....	34
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. KESIMPULAN.....	40
B. SARAN.....	41
DAFTAR ACUAN.....	42



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumus bangun asam laktat.....	7
2. Rumus bangun asam glikolat	8
3. Reaksi esterifikasi Fisher	17
4. Reaksi sintesis Williamson	18
5. Kromatogram campuran standar asam laktat (a) dan asam glikolat (b) dalam metanol kondisi 1	45
6. Kromatogram campuran standar asam laktat (a) dan asam glikolat (b) dalam metanol kondisi 2	46
7. Kromatogram campuran standar asam laktat (a) dan asam glikolat (b) dalam metanol kondisi 3	47
8. Kromatogram campuran standar asam laktat (a) dan asam glikolat (b) dalam metanol kondisi 4	48
9. Kromatogram campuran standar asam laktat (a) dan asam glikolat (b) dalam metanol kondisi 5	49
10. Kromatogram campuran standar asam laktat (a) dan asam glikolat (b) dalam metanol kondisi 6	50
11. Kurva hubungan lajur alir dan lempeng teoritis dari larutan standar asam laktat 1000 µg/mL, suhu terprogram suhu awal kolom 100°C dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit	51

12. Kurva hubungan lajur alir dan HETP dari larutan standar asam laktat 1000 µg/mL, suhu terprogram suhu awal kolom 100°C dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit	52
13. Kurva hubungan lajur alir dan lempeng teoritis dari larutan standar asam laktat 1000 µg/mL, suhu tetap suhu kolom 120°C dan dipertahankan selama 15 menit	53
14. Kurva hubungan lajur alir dan HETP dari larutan standar asam laktat 1000 µg/mL, suhu tetap suhu kolom 120°C dan dipertahankan selama 15 menit	54
15. Kurva kalibrasi standar asam glikolat	55
16. Kurva kalibrasi standar asam laktat	56
17. Kromatogram sampel sabun cair A yang mengandung asam laktat (a)	57
18. Kromatogram sampel sabun cair B yang mengandung asam laktat (a)	58
19. Kromatogram sampel sabun cair C yang mengandung asam laktat (a)	59
20. Kromatogram sampel sabun cair yang tidak mengandung asam laktat	60
21. Sampel sabun cair yang mengandung asam laktat: sampel A, sampel B, dan sampel C	61

22. Sampel sabun cair yang tidak mengandung asam laktat dan asam glikolat (Matriks)	62
23. Alat kromatografi gas Shimadzu GC-17 A	63



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi sabun cair secara umum	6
2. Pemilihan Kondisi Optimum Untuk Analisis Asam Glikolat dan Asam Laktat dengan Variasi Metode Elusi dan Laju Alir Gas Pembawa	64
3. Data Kurva Kalibrasi Standar Asam Glikolat	65
4. Data Linearitas Asam Glikolat	66
5. Data Data Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi Asam Glikolat	67
6. Data Uji Keterulangan Asam Glikolat	68
7. Data Kurva Kalibrasi Standar Asam Laktat	69
8. Data Linearitas Asam Laktat	70
9. Data Data Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi Laktat	71
10. Data Uji Keterulangan Asam Laktat	72
11. Data Uji Perolehan Kembali Asam Laktat	73
12. Data Penetapan Kadar Asam Laktat dalam Sabun Cair	74

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Kurva Kalibrasi.....	75
2. Perhitungan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi.....	76
3. Perhitungan Simpangan Baku dan Koefisien Variasi.....	77
4. Perhitungan Uji Perolehan Kembali.....	78
5. Cara Perhitungan Larutan Induk Standar Asam Laktat	79
6. Cara Perhitungan Uji Perolehan Kembali	80
7. Cara Perhitungan Kadar Asam Laktat dalam Sampel	81
8. Sertifikat Analisis Asam Glikolat	82
9. Sertifikat Analisis Asam Laktat	83

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Kulit merupakan organ terluas pada manusia dan memiliki berbagai fungsi yang penting. Fungsi utamanya sebagai pelindung dari berbagai macam gangguan dan rangsangan dari luar (1,2). Adanya pengaruh buruk lingkungan seperti radiasi UV sinar matahari dapat menyebabkan kulit mengerut, kekeringan, dan penuaan dini. Oleh karena itu kulit perlu mendapat perawatan yang tepat agar senantiasa sehat dengan 4 langkah perawatan kulit yang sangat mendasar yaitu makan makanan yang mengandung nutrisi, minum air putih minimal 8 gelas sehari, berolahraga dengan teratur, dan mandi untuk membersihkan badan (3).

Di zaman modern ini ketika individu lebih membutuhkan sesuatu yang instan dan praktis, maka banyak penelitian yang mengembangkan produk yang memenuhi kebutuhan konsumen. Salah satu produk yang dikembangkan adalah sabun perawatan dan kecantikan kulit. Sabun merupakan kosmetik pembersih paling tua yang memiliki daya pembersih kuat terutama dalam air, kurang berbahaya dibandingkan surfaktan lain dan harganya murah (2). Disamping untuk pembersih,

sabun bertujuan untuk mencegah penuaan dini dan membuat kulit tampak lebih putih. Fungsi sabun tersebut dapat menggeser produk kosmetik lain, yang penggunaannya masih memerlukan waktu tidak sebentar dan tidak praktis, seperti produk kecantikan, produk salon, dan memerlukan tenaga ahli untuk pemakaiannya.

Sabun perawatan dan kecantikan kulit mempunyai kandungan zat berkhasiat, salah satunya adalah senyawa asam alfa hidroksi (AHA). AHA adalah asam karboksilat yang mempunyai gugus hidroksil pada posisi alfa. AHA yang paling sering digunakan yaitu asam glikolat dan asam laktat karena memiliki ukuran molekul kecil yang menjadikannya efektif dalam berpenetrasi ke lapisan kulit paling luar (4). Penggunaan AHA bergantung pada pH sediaan dan kadarnya. Kegunaannya sebagai pelembab dan *exfoliant* mempunyai batas kadar maksimal 10 % dan pH sediaan 3,5 atau lebih. Sedangkan untuk *chemical peeling* mempunyai batas kadar 10 % hingga 70 % dan mempunyai pH sediaan kurang dari 3,5 (5).

Metode analisis yang dapat digunakan untuk analisis asam glikolat dan asam laktat (AHA) adalah metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) pasangan ion dengan detektor spektrofotometer UV-VIS, KCKT dengan spektrofotometer FTIR, dan kromatografi gas dengan detektor ionisasi nyala (4, 6, 7). Metode kromatografi gas dilakukan melalui derivatisasi senyawa AHA dengan cara sililasi, yaitu menggunakan pereaksi BSTFA (*bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide*)

dengan detektor ionisasi nyala (FID). Derivatisasi dilakukan karena senyawa AHA tidak menguap pada suhu analisis. Pada penelitian ini dipilih metode KG dengan derivatisasi senyawa AHA cara metilasi menggunakan pereaksi yang lebih murah yaitu menggunakan metanol dan asam sulfat (8, 9, 10). Metode KG paling sering digunakan karena tingkat keberhasilan yang tinggi, sensitivitas yang tinggi pada sistem detektor, efisiensi pemisahan, mampu menganalisis sampel dengan matriks yang kompleks, dan jumlah sampel yang diperlukan untuk analisis relatif sedikit (11).

B. TUJUAN PENELITIAN

1. Memperoleh kondisi analisis optimum asam glikolat dan asam laktat dan validasinya.
2. Menetapkan kadar asam glikolat dan asam laktat dalam sampel sabun cair.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. KULIT

Kulit merupakan lapisan yang menutupi permukaan tubuh dan memiliki fungsi utama sebagai pelindung dari berbagai macam gangguan dan rangsangan luar. Fungsi perlindungan ini terjadi melalui sejumlah mekanisme biologis, seperti pembentukan lapisan tanduk secara terus menerus (keratinisasi dan pelepasan sel-sel yang sudah mati), pembentukan pigmen melanin untuk melindungi kulit dari bahaya sinar ultraviolet matahari, respirasi dan pengaturan suhu tubuh, produksi sebum dan keringat, sebagai peraba dan perasa, serta pertahanan terhadap tekanan dan infeksi dari luar (2).

Luas kulit manusia rata-rata $\pm 2 \text{ m}^2$ (2). Ketebalan kulit bervariasi tergantung dari usia, jenis kelamin dan lokasi. Secara umum, kulit pria lebih tebal daripada wanita, tetapi jaringan subkutan/lemak pada wanita lebih tebal daripada pria. Kulit terbagi atas tiga lapisan yaitu epidermis (kulit ari), dermis (korium, kutis, kulit jangat) dan jaringan subkutan (jaringan lemak bawah kulit). Epidermis yang merupakan lapisan paling luar terbagi menjadi 5 lapisan yaitu (2,12):

1. Lapisan tanduk (*stratum corneum*)
2. Lapisan jernih (*stratum lucidum*)
3. Lapisan berbutir-butir (*stratum granulosum*)

4. Lapisan malphigi (*stratum spinosum*)
5. Lapisan basal (*stratum germinativum*)

Dalam dunia kosmetik, epidermis merupakan bagian kulit yang menarik karena kosmetik biasanya dipakai pada bagian tersebut. Sel-sel epidermis disebut keratinosit. Namun ada beberapa kosmetik yang digunakan sampai ke dermis, yaitu kosmetik medik (2).

B. SABUN CAIR

Sabun adalah produk campuran garam natrium dengan asam stearat, palmitat, dan oleat yang berisi sedikit komponen asam miristat dan laurat. Sabun merupakan kosmetik pembersih paling tua (1).

Kedudukan sabun yang tinggi dan populer adalah berkat sifat-sifat baiknya, antara lain memiliki daya pembersih yang kuat terutama dalam air yang lunak (murni), kurang berbahaya bagi kulit dibandingkan surfaktan lain, harga murah dan bahan-bahannya mudah didapat (2).

Prinsip formulasi campuran minyak dari sabun yaitu (12):

1. Sabun cuci (*laundry soap*)
2. Sabun batangan (*soap chips*)
3. Krim bercukur (*Shaving cream*)
4. Sabun cair (*Liquid soaps*)
5. Sabun lembut (*Soft soap*)
6. Sabun kesehatan (*Medicated soap*)
7. Sabun bercukur (*Shaving soap*)

Tabel 1. Komposisi sabun cair secara umum (13):

Kandungan	Jumlah (%)	Kegunaan
Surfaktan	10-40	Pembersih, pembusa
Emolien	1-30	Pelembab
Modifikasi sifat alir	1-5	Pengendali viskositas
Pengawet	< 1,0	Stabilitas mikroorganismen
Pengharum	0,3-1,5	Estetika
Zat pewarna	< 0,1	Estetika
Zat tambahan lain	0-3	Antibakteri, exfoliation, antiaging, pemutih
Air	Secukupnya	Pelarut, pembawa

C. ASAM ALFA HIDROKSI

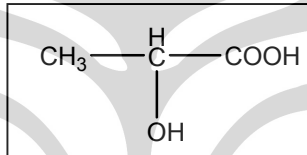
Asam Alfa Hidroksi (AHA) terutama asam laktat dan asam glikolat adalah jenis AHA yang paling sering diteliti karena kedua AHA tersebut memiliki ukuran molekul yang menjadikannya efektif dalam berpenetrasi ke lapisan kulit paling luar. Produk yang mengandung AHA menyebabkan *exfoliation*, yaitu pengelupasan atau penggantian lapisan luar kulit. Tingkat pengelupasan kulit tergantung dari tipe dan konsentrasi AHA, pH dan bahan lain yang terdapat dalam produk (15).

AHA memiliki efek stimulasi pada kulit. Hal ini berhubungan dengan normalisasi dari morfologi/struktur dan ketebalan epidermis, sehingga AHA dapat berguna sebagai anti-aging. Efek AHA pada kulit diantaranya (14):

1. Menurunkan kohesi korneosit pada *stratum compactum* (dasar dari *stratum corneum*)
2. Menurunkan ketebalan epidermis terutama pada epidermis yang ketebalannya abnormal, misal pada *lamellar ichthyosis*.
3. Lebih meratakan distribusi dari melanin.

1. Asam Laktat

a. Monografi (15, 16)



Gambar 1. Rumus bangun asam laktat (16)

Asam laktat mengandung 88,0% b/b sampai 92,0 % b/b $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$

Rumus Molekul : $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$

Bobot Molekul : 90,08

Sinonim : Asam 2-hidroksipropanoat, asam 2-hidroksipropionat, asam susu

Pemerian : Cairan kental, tidak berwarna.

Kelarutan : Larut dalam etanol 95%, eter, dan air ; praktis tidak larut dalam kloroform.

Keasaman : pKa = 4,14 pada 22,5 °C

Titik Lebur : 17 °C

Titik Didih : 122 °C

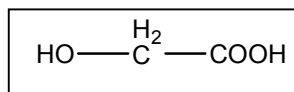
b. Kegunaan (1, 17)

Asam laktat biasa digunakan pada sediaan topikal karena kemampuannya sebagai buffer dan kapasitasnya dalam mengikat air. Asam laktat dapat memperbaiki kerusakan yang diakibatkan hiperplasia dan atau retensi dari *stratum corneum* seperti ketombe, *callus*, dan keratosis. Selain itu, asam laktat juga efektif untuk terapi tambahan pada jerawat ringan.

Apabila pH meningkat maka adsorpsi dari asam laktat akan menurun karena ionisasi asamnya. Asam laktat dapat menurunkan kohesi antara korneosit dan bergabung dengan ikatan antar sel, sehingga menyebabkan peningkatan pergantian sel, terutama pada pH sekitar 3. Asam laktat dapat menstimulasi sintesis dari seramida dan memperbaiki fungsi dari pertahanan kulit. Pada kulit normal, iritasi dan sisik pada kulit dapat terjadi akibat pemakaian asam laktat dalam konsentrasi tinggi dan pada pH rendah.

2. Asam Glikolat

a. Monografi (18)



Gambar 2. Rumus bangun asam glikolat (18)

Rumus Molekul : $C_2H_4O_3$

Bobot Molekul : 76,05

Sinonim : Asam hidroksietanoat

Pemerian : Tidak berbau, kristal agak higroskopis.

Kelarutan : Larut dalam air, metanol, etanol, aseton, asam asetat dan eter.

Keasaman : $pK_a = 3,83$ pada $25^\circ C$

Titik Lebur : $80^\circ C$

b. Kegunaan (19)

Asam glikolat memiliki fungsi sebagai keratolitik dan dapat menstimulasi *stratum germinativum* dan fibroblast. Asam glikolat bekerja dengan menipiskan *stratum corneum*, mendorong terjadinya epidermolisis, menyebarkan melanin lapisan basal. Absorpsi asam glikolat pada kulit manusia bergantung pada pH, konsentrasi dan waktu.

Asam glikolat telah dikenal sebagai terapi tambahan yang penting untuk kulit yang rusak akibat sinar matahari, jerawat, *rosacea*, hiperpigmentasi, keratosis, keriput, *lentigines*, melasma, dan keratosis seborrheic. Selain itu, bisa menurunkan dampak dari sinar uv dalam menginduksi terjadinya tumor kulit. Asam glikolat

sebagai *peeling agent* dengan konsentrasi antara 20 – 70% efektif dalam perawatan segala jenis jerawat, menginduksi perbaikan dengan cepat dan meningkatkan penampilan normal kulit. Efek samping yang dapat terjadi akibat asam glikolat adalah hiperpigmentasi atau iritasi, namun jarang ditemukan.

D. KROMATOGRAFI GAS

1. Teori

Kromatografi adalah metode pemisahan suatu campuran menjadi komponen-komponennya yang didasarkan pada distribusi komponen tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak yang berada pada sistem kesetimbangan yang dinamis (20).

Kromatografi gas adalah jenis kromatografi yang menggunakan gas sebagai fase gerak dan fase diamnya berupa cairan atau padatan. Dalam kromatografi gas, zat terlarut terpisah sebagai uap. Ada dua jenis kromatografi gas, yaitu (20, 21):

a. Kromatografi gas-padat (KGP)

Digunakan fase diam berupa padatan (kadang-kadang polimerik). Pemisahan campuran menjadi komponen-komponennya terjadi karena perbedaan adsorpsi permukaan relatif masing-masing komponen pada fase diam.

b. Kromatografi gas-cair (KGC)

Digunakan fase diam berupa cairan yang diikatkan pada suatu pendukung sehingga solut akan terlarut dalam fase diam sehingga pemisahan terjadi karena perbedaan kelarutan (partisi) relatif sampel antara fase gerak dan fase diam.

Kromatografi gas dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif dilakukan dengan cara membandingkan waktu retensi zat yang dianalisis dengan waktu retensi zat standar. Analisis kuantitatif dilakukan dengan membandingkan tinggi dan luas puncak kromatogram dari zat yang dianalisis dengan tinggi dan puncak kromatogram pembanding (11). Perhitungan luas puncak pada kromatogram gas dapat dengan menggunting dan menimbang puncak, dengan planimetri atau perhitungan luas segitiga yang hampir mendekati dengan mengalikan tinggi puncak dengan lebar pada setengah tinggi puncak (19).

Kromatografi gas digunakan untuk memisahkan campuran yang komponen-komponennya dapat menguap pada suhu percobaan (sampai 400 °C). Teknik ini jauh lebih unggul dibandingkan dengan teknik kromatografi lainnya dalam hal kecepatan, sensitifitas, spesifitas, dan dalam hal tertentu resolusi atau pemisahan yang dihasilkan lebih sempurna, meskipun harga instrumennya relatif lebih mahal (22).

Resolusi atau daya pisah menunjukkan apakah dua komponen dapat terpisah dengan baik. Adanya pisah didefinisikan sebagai jarak antara dua puncak dibagi rata-rata lebar dua puncak yang diukur dari atas puncak. Resolusi merupakan ukuran dari efisiensi kolom. Efisiensi kolom menentukan pelebaran puncak kromatogram dan efisiensi pelarut menentukan posisi puncak kromatogram (22).

Efisiensi kolom dapat diukur dari jumlah "*theoretical plate*" atau HETP (*Height Equivalent of Theoretical Plate*) yaitu panjang kolom yang diperlukan untuk tercapainya keseimbangan komponen cuplikan antara fase diam dan fase gerak. Makin banyak plat teoritis, makin baik daya pisah dari suatu kolom (12).

2. Instrumentasi

Instrumentasi untuk kromatografi gas cukup rumit karena sistem harus tertutup, suhu konstan atau dapat diatur dengan tepat serta diperlukan perlengkapan pendeteksi dan perekam yang terpadu. Bagian dari kromatografi gas adalah sebagai berikut:

a. Silinder dengan gas pembawa (11, 21)

Gas yang biasa digunakan adalah helium, hidrogen, nitrogen, dan argon. Pilihan gas pembawa terutama tergantung pada karakteristik detektor. Persyaratan untuk gas pembawa adalah inert, koefisien difusi sampel pada gas tersebut rendah, murah, murni, dan mudah diperoleh, serta cocok untuk detektor

yang digunakan. Kecepatan linear dari gas pembawa menentukan efisiensi kolom.

b. Kolom (11, 21)

Kolom merupakan tempat terjadinya proses pemisahan karena di dalamnya terdapat fase diam. Kolom merupakan komponen yang paling sentral pada KG, ada dua jenis kolom pada KG yaitu:

1) Kolom kemas

Jenis kolom kemas terbuat dari gelas atau logam yang tahan karat atau dari tembaga dan aluminium. Panjang kolom jenis ini adalah 1-5 meter dengan diameter 1-4 mm. Efisiensi kolom akan meningkat dengan semakin bertambah halusya partikel fase diam ini. Semakin kecil diameter partikel fase diam, maka efisiensinya akan meningkat.

2) Kolom kapiler

Jenis kolom ini berbeda dengan kolom kemas, dalam hal adanya rongga pada bagian dalam kolom yang menyerupai pipa (*tube*). Oleh karena itu kolom kapiler juga disebut "*Open tubular columns*". Fase diam melekat mengelilingi dinding dalam kolom. Ada empat jenis lapisan pada kolom kapiler ini, yaitu: WCOT (*Wall Coated Open Tube*); SCOT (*Support Coated Open Tube*); PLOT (*Porous Coated Open Tube*); dan FSOT

(*Fused Silica Open Tube*). Kelebihan kolom kapiler adalah kemampuan kolom kapiler memberikan harga jumlah plat teori yang sangat besar (>300.000 plat).

c. Detektor (11, 21)

Detektor merupakan perangkat yang diletakkan pada ujung kolom tempat keluar fase gerak (gas pembawa) yang membawa komponen hasil pemisahan. Detektor pada kromatografi adalah suatu sensor elektronik yang berfungsi mengubah sinyal gas pembawa dan komponen-komponen di dalamnya menjadi sinyal elektronik. Sinyal elektronik detektor akan sangat berguna untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif terhadap komponen-komponen yang terpisah di antara fase diam dan fase gerak. Detektor yang sering digunakan dalam kromatografi gas sebagai berikut:

1) Detektor hantar panas (*Thermal Conductivity Detector* = TCD)

Prinsip kerjanya adalah suatu filamen meningkat dengan adanya analit pada gas pembawa yang melaluinya. Hal tersebut akan menyebabkan terjadinya kenaikan resistensi. Masalah utama dalam detektor ini adalah bahwa filamen harus dilindungi dari udara ketika filamen itu panas, jadi tidak boleh dipanaskan tanpa dialiri gas pembawa.

2) Detektor ionisasi nyala (*Flame ionization Detector* = FID)

Prinsip kerjanya adalah komponen yang dibakar pada suatu nyala akan menghasilkan ion, ion-ion ini akan dikumpulkan dan diubah menjadi arus listrik.

3) Detektor penangkap elektron (*Electron Capture Detector* = ECD)

Prinsip kerjanya adalah penangkapan elektron oleh senyawa yang mempunyai afinitas terhadap elektron bebas, yaitu senyawa yang mempunyai unsur-unsur elektronegatif.

4) Detektor nitrogen-fosfor (*Nitrogen Phosphorous Detector* = NPD)

Prinsip kerjanya adalah senyawa-senyawa nitrogen dan fosfor akan menyebabkan peningkatan arus pada nyala yang diperkaya dengan uap garam logam alkali.

5) Detektor fotometri nyala (*Flame Photometric Detector* = FPD)

Prinsip kerjanya adalah ketika senyawa yang mengandung sulfur dan fosfor dibakar dalam nyala hidrogen-oksigen, maka akan terbentuk spesies-spesies yang dapat diukur pada panjang gelombang tertentu.

3. Derivatisasi pada kromatografi gas (21)

Derivatisasi merupakan proses kimiawi untuk mengubah suatu senyawa menjadi senyawa lain yang mempunyai sifat-sifat yang sesuai untuk dilakukan analisis menggunakan kromatografi gas.

Alasan dilakukan derivatisasi:

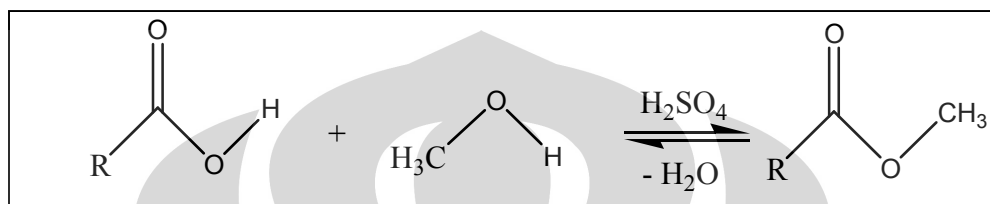
- a. Senyawa-senyawa tersebut tidak memungkinkan dilakukan analisis dengan KG terkait dengan volatilitas dan stabilitasnya.
- b. Untuk meningkatkan batas deteksi dan bentuk kromatogram.
- c. Meningkatkan deteksi, misal untuk kolesterol dan senyawa steroid.
- d. Meningkatkan batas deteksi pada penggunaan ECD.
- e. Meningkatkan volatilitas senyawa yang tidak mudah menguap (*non-volatile*). Senyawa yang tidak menguap karena adanya gaya tarik-menarik inter molekuler antara gugus-gugus polar, karena jika gugus-gugus polar ini ditutup dengan cara derivatisasi akan meningkatkan volatilitas senyawa tersebut secara dramatis.
- f. Meningkatkan stabilitas.

Beberapa cara derivatisasi yang dilakukan pada kromatografi gas adalah esterifikasi, asilasi, alkilasi, sililasi, kondensasi, dan siklisasi.

a. Esterifikasi

Esterifikasi digunakan untuk membuat derivat gugus karboksilat. Perubahan gugus karboksil menjadi esternya akan

meningkatkan volatilitas karena akan menurunkan ikatan hidrogen. Derivatisasi dengan esterifikasi dapat dilakukan dengan cara esterifikasi Fisher dalam katalisator asam kuat, menurut reaksi:



Gambar 3. Reaksi Esterifikasi Fisher (25)

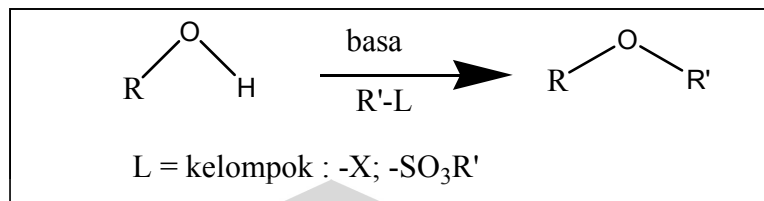
b. Asilasi

Jika sampel yang diuji mengandung fenol, alkohol, atau amin primer atau sekunder maka dapat digunakan derivatisasi dengan asilasi yang merupakan reaksi yang paling umum. Derivatisasi dengan menggunakan asam asetat anhidrat dan katalis (misalkan asam asetat, asam p-toluen sulfonat, piridin, N-metil amidazol) sebelum penyuntikan ke kromatografi gas. Trifluoro asetat (TFA), pentafluoropropionat (PFP), atau heptafluorobutirat (HFB) digunakan untuk meningkatkan sensitifitas analisis.

c. Alkilasi

Alkilasi digunakan untuk menderivatisasi alkohol, fenol, amina (primer dan sekunder), imida, dan sulfhidril. Derivat dapat dibuat dengan sintesis Williamson, yakni alkohol atau fenol ditambah alkil atau benzil halida dengan adanya basa. Jenis agen

penderivat yang saat ini digunakan hanya α -bromo-2,3,4,5,6-pentafluorotoluen.



Gambar 4. Reaksi Sintesis Williamson (25)

d. Sililasi

Derivat silil saat ini digunakan untuk menggantikan ester alkil untuk analisis sampel bersifat polar yang tidak mudah menguap, derivat yang paling sering dibuat adalah trimetilsilil. Urutan reaktivitas pereaksi sililasi berdasarkan kemampuan penyumbang silil adalah sebagai berikut: Trimetilsililimidazol (TMSIM) > N,O-bis-(trimetilsilil)-trifluoroasetamida (BSTFA) > N,O-bis-(trimetilsilil)-asetamid (BSA) > N-metil-N-trimetilsililtrifluoroasetamid (MSTFA). Urutan reaktivitas gugus-gugus penerima silil adalah sebagai berikut: alkohol > fenol > asam karboksilat > amina > amida.

e. Kondensasi

Jika sampel yang dianalisis mengandung gugus aldehid atau keton maka dilakukan derivatisasi yang tujuannya untuk mencegah terjadinya enolisasi karena terjadinya ikatan hidrogen,

meningkatkan resolusi karena adanya pengganggu, dan meningkatkan sensitifitas deteksi.

f. Siklisasi

Penutupan gugus polar melalui siklisasi dilakukan pada senyawa yang mengandung 2 gugus fungsi yang sangat mudah dibuat heterosiklis beratom 5 atau 6.

E. VALIDASI METODE ANALISIS (22)

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya.

Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metoda analisis antara lain :

1. Kecermatan (*accuracy*)

Kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Kecermatan ditentukan dengan dua cara yaitu metode simulasi / absolut (*spiked-placebo recovery*) atau metode penambahan baku / adisi (*standard addition method*).

Pada metode simulasi, persen perolehan kembali dapat ditentukan dengan cara membuat sampel plasebo (eksipien obat,

cairan biologis) kemudian ditambah analit dengan konsentrasi tertentu (biasanya 20 - 80% dari kadar analit yang diperkirakan), kemudian dianalisis dengan metode yang akan divalidasi. Tetapi bila tidak memungkinkan membuat sampel plasebo karena matriksnya tidak diketahui, maka dapat dipakai metode adisi. Metode adisi dilakukan dengan menambahkan sejumlah analit dengan konsentrasi tertentu pada sampel yang diperiksa, lalu dianalisis dengan metode tersebut. Persen perolehan kembali ditentukan dengan menentukan berapa persen analit yang ditambahkan tadi dapat ditemukan.

2. Keseksamaan (*precision*)

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). Keseksamaan dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) atau ketertiruan (*reproducibility*). Keterulangan adalah keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan dalam interval waktu yang pendek. Sedangkan ketertiruan adalah keseksamaan metode jika dikerjakan pada kondisi yang berbeda.

Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi 2% atau kurang. Akan tetapi kriteria ini sangat fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa, jumlah sampel, dan kondisi laboratorium. Percobaan dilakukan terhadap paling sedikit enam replika sampel yang diambil dari campuran sampel dengan matriks yang homogen.

3. Selektivitas (spesifisitas)

Selektivitas atau spesifisitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Selektivitas seringkali dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (*degree of bias*) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cecaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan.

Untuk tujuan uji kemurnian dan pengukuran kadar, selektivitas atau spesifisitas ditunjukkan oleh daya pisah dua senyawa yang berdekatan. Penentuannya dapat diperoleh dengan dua cara, yaitu melakukan optimasi sehingga senyawa yang dituju terpisah secara sempurna dari senyawa-senyawa lain (resolusi senyawa ≥ 2) dan

menggunakan detektor selektif terutama untuk senyawa-senyawa yang terelusi secara bersama-sama.

4. Linearitas dan rentang

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima. Linearitas biasanya dinyatakan dalam istilah variansi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematik data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit. Dalam praktek, digunakan satu seri larutan yang berbeda konsentrasinya antara 50 – 150% kadar analit dalam sampel. Di dalam pustaka, sering ditemukan rentang konsentrasi yang digunakan antara 0 – 200%. Jumlah sampel yang dianalisis sekurang-kurangnya delapan buah sampel blanko. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi r pada analisis regresi linier $y = a + bx$. Hubungan linier yang ideal dicapai jika nilai $b = 0$ dan $r = +1$ atau -1 bergantung pada arah garis. Nilai a menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan.

5. 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. Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi.

a. Batas deteksi (LOD)

$$\frac{x}{k} \quad k = 3$$

b. Batas kuantitasi (LOQ)

$$\frac{x}{k} \quad k = 10$$

Keterangan :

Sb = simpangan baku respon analitik dari blanko

Sl = arah garis linier (kepekaan arah) dari kurva antara respon terhadap konsentrasi = slope (b pada persamaan garis $y = a + bx$)

6. Ketangguhan metode (*ruggedness*)

Ketangguhan metode adalah derajat ketertiruan hasil uji yang diperoleh dari analisis sampel yang sama dalam berbagai kondisi uji

normal, seperti laboratorium, analisis, instrument, bahan pereaksi, suhu, hari yang berbeda, dll. Ketangguhan biasanya dinyatakan sebagai tidak adanya pengaruh perbedaan operasi atau lingkungan kerja pada hasil uji. Ketangguhan metode merupakan ukuran ketertiruan pada kondisi operasi normal antar laboratorium dan antar analis.

7. Kekuatan (*robustness*)

Untuk memvalidasi kekuatan suatu metode perlu dibuat perubahan metodologi yang kecil dan terus-menerus dan mengevaluasi respon analitik serta efek pada presisi dan akurasi.

BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

A. LOKASI

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Analisis Instrumen, Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

B. BAHAN

Standar Asam glikolat (Dupont), Standar Asam laktat (Purac), Sampel produk sabun cair yang mengandung asam laktat (tiga merek berbeda), satu sabun cair yang tidak mengandung asam laktat, Metanol p.a (Merck), H_2SO_4 (p) (Univar), Gas Helium UHP; Gas Hidrogen HP; Gas Nitrogen HP

C. ALAT

Kromatografi gas Shimadzu GC-17A yang dilengkapi dengan Detektor Ionisasi Nyala, kolom kapiler dengan panjang 60 meter, 0,32 mm id, *film thickness* 0,25 μm , dengan fase diam VB-Wax, *Data processor Class GC solution* CBM-102., *Microsyringe* berukuran 10 μL , seperangkat alat refluks, neraca analitik, termometer, kertas saring, dan alat-alat gelas yang umum digunakan dalam analisa kuantitatif.

D. CARA KERJA

1. Penyiapan Bahan Percobaan

a. Pembuatan Larutan Induk Standar Asam Glikolat

Ditimbang secara seksama kurang lebih 182 mg standar asam glikolat, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 100 ml, kemudian ditambahkan 25,0 mL metanol dan 1,0 mL H_2SO_4 (p). Refluks selama 60 menit pada suhu 75°C sampai 80°C di atas penangas air. Didapatkan larutan standar asam glikolat $7000\ \mu\text{g/mL}$.

b. Pembuatan Larutan Induk Standar Asam Laktat

Ditimbang secara seksama kurang lebih 182 mg standar asam laktat, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 100 ml, kemudian ditambahkan 25,0 mL metanol dan 1,0 mL H_2SO_4 (p). Refluks selama 60 menit pada suhu 75°C sampai 80°C di atas penangas air. Didapatkan larutan standar asam laktat $7000\ \mu\text{g/mL}$.

c. Penyiapan Sampel Sabun Cair

Ditimbang secara seksama kurang lebih 500 mg sampel sabun cair, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian ditambahkan 25,0 mL metanol dan 1,0 mL H_2SO_4 (p). Refluks selama 60 menit pada suhu 75°C sampai 80°C di atas penangas air. Setelah dingin, disaring secara kuantitatif dengan kertas saring.

2. Pencarian Kondisi Analisis Optimum Campuran Asam Glikolat dan Asam Laktat

Dibuat larutan standar 7000 $\mu\text{g/mL}$ pada masing-masing larutan baku asam glikolat dan asam laktat. Setiap larutan induk standar asam glikolat dan asam laktat dipipet 15,0 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 50-mL yang sama, kemudian dihomogenkan. Dipipet 5,0 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10-mL. Ditambahkan dan dicukupkan volumenya dengan metanol, terbentuk larutan campuran asam glikolat dan asam laktat 1000 $\mu\text{g/mL}$. Sebanyak 1,0 μl disuntikkan pada kromatografi gas dengan kondisi analisis terpilih.

Seluruh kondisi yang dicobakan dalam 2 metode elusi yakni dengan suhu terprogram dan suhu tetap/isotermal. Elusi dengan suhu terprogram dilakukan dengan suhu awal kolom 100°C dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai mencapai suhu 150°C dan dipertahankan selama 5 menit. Elusi dilakukan dengan variasi laju alir gas pembawa 0,6; 0,8 dan 1,0 mL/menit. Kemudian juga dilakukan elusi dengan suhu tetap/ isothermal dilakukan pada suhu kolom tetap 120°C dengan variasi laju alir gas pembawa 0,6; 0,8 dan 1,0 mL/menit. Untuk semua elusi, suhu injektor dan detektor diatur pada suhu 200°C dan 200°C. Masing-masing kondisi dicatat waktu retensinya dan dihitung jumlah lempeng teoritis. Kondisi yang terpilih adalah kondisi

yang mempunyai harga plat teoritis (N) yang tinggi, HETP yang kecil dan resolusi $\geq 1,5$.

3. Validasi Metode

a. Pembuatan Kurva Kalibrasi dan Uji Linearitas

Dibuat larutan baku 7000 $\mu\text{g/mL}$ pada masing-masing larutan baku asam glikolat dan asam laktat. Setiap larutan induk standar asam glikolat dan asam laktat dipipet 15,0 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 50-mL yang sama, kemudian dihomogenkan terbentuk larutan campuran asam glikolat dan asam laktat 2000 $\mu\text{g/mL}$. Larutan campuran standar asam glikolat dan asam laktat dipipet 0,5 mL, 1,0 mL, 2,0 mL, 3,0 mL, 4,0 mL, dan 5,0 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10-mL. Ditambahkan dan dicukupkan volumenya dengan metanol. Didapatkan konsentrasi asam glikolat dan asam laktat dengan konsentrasi dengan 6 titik pada konsentrasi 100, 200, 400, 600, 800, dan 1000 $\mu\text{g/mL}$. Sebanyak 1,0 μl disuntikkan pada kromatografi gas dengan kondisi analisis terpilih.

b. Menentukan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi.

Batas deteksi dan batas kuantitasi asam glikolat dan asam laktat dihitung dapat dihitung dengan perhitungan statistik melalui

persamaan garis regresi linier dari kurva kalibrasi yang diperoleh masing-masing.

c. Uji Keterulangan

Larutan baku asam glikolat dan asam laktat dibuat dengan konsentrasi 100 µg/mL, 400 µg/mL, dan 1000 µg/mL. Masing-masing konsentrasi larutan baku disuntikan 1,0 µl disuntikkan pada kromatografi gas dengan kondisi analisis terpilih dan diulang sebanyak enam kali pengukuran untuk masing-masing konsentrasi. Parameter keterulangan ditentukan dengan menghitung simpangan baku dan koefisien variasinya. Metode dianggap memiliki keterulangan yang baik jika koefisien variasinya kurang dari atau sama dengan 2 %.

d. Uji Perolehan Kembali (UPK)

Standar asam laktat masing-masing ditimbang secara seksama kurang lebih 50 mg, 62,5 mg, dan 70 mg. Kemudian masing-masing penimbangan standar asam laktat ditambahkan sampel sabun cair yang tidak mengandung asam laktat hingga didapatkan berat 2500 mg. Standar dan sabun cair yang tidak mengandung asam laktat dimasukkan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian ditambahkan 25,0 mL metanol dan 1,0 mL H₂SO₄ (p). Refluks selama 60 menit pada suhu 75 °C sampai 80 °C

di atas penangas air. Setelah dingin, disaring secara kuantitatif dengan kertas saring. Dipipet 1,0 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10-mL. Ditambahkan dan dicukupkan volumenya dengan metanol. Sebanyak 1,0 μ l disuntikkan pada kromatografi gas dengan kondisi analisis terpilih. Luas puncak asam laktat dicatat, kemudian dihitung persentase uji perolehan kembali asam laktat.

4. Analisis

Untuk analisis kualitatif dan kuantitatif, dilakukan metilasi sabun cair seperti cara penyiapan sampel sabun cair. Sebanyak 1,0 μ l disuntikkan pada KG pada kondisi analisis terpilih.

a. Analisis Kualitatif

Puncak yang terdapat pada kromatogram sampel dicatat waktu retensi dan dibandingkan dengan waktu retensi standar.

b. Analisis Kuantitatif

Hasil puncak dicatat dan dihitung kadarnya dengan menggunakan persamaan garis linear dari kurva kalibrasi.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

1. Penyiapan Bahan Percobaan

a. Pembuatan Larutan Induk Standar Asam Glikolat

Didapatkan larutan standar asam glikolat 7023,08 $\mu\text{g/mL}$.

b. Pembuatan Larutan Induk Standar Asam Laktat

Didapatkan larutan standar asam laktat 6934,62 $\mu\text{g/mL}$, mengingat kadar asam laktat seperti tertera pada sertifikat analisis yakni 88,30% maka larutan standar asam laktat 6123,27 $\mu\text{g/mL}$.

2. Pencarian Kondisi Analisis Optimum Asam Glikolat dan Asam Laktat

Kondisi optimal untuk analisis asam glikolat dan asam laktat dalam sabun cair adalah dengan detektor ionisasi nyala, kolom kapiler VB-Wax, suhu injektor 200°C, suhu detektor 200°C, suhu kolom terprogram dengan suhu awal kolom 100°C dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit, dan laju alir gas pembawa (He) 0,8 mL/menit. Kondisi ini dipilih karena mempunyai harga plat teoritis (N) tertinggi dan HETP terkecil. Waktu

retensi asam laktat pada menit ke 6,4 dan waktu retensi asam laktat pada menit ke 7,1. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 6.

3. Validasi Metode Analisis

a. Pembuatan Kurva Kalibrasi dan Uji Linearitas

Persamaan regresi dari kurva kalibrasi asam glikolat adalah $y = -363,7425 + 7,7571 x$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9998. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 3. dan Gambar 15.

Persamaan regresi dari kurva kalibrasi asam laktat adalah $y = -257,0329 + 11,5287 x$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9997. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 7. dan Gambar 16.

b. Menentukan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Berdasarkan perhitungan statistik menggunakan persamaan regresi linier kurva kalibrasi standar asam glikolat, diperoleh batas deteksi (LOD) sebesar 27,01 $\mu\text{g/mL}$ dan batas kuantitasi (LOQ) sebesar 90,04 $\mu\text{g/mL}$. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5.

Berdasarkan perhitungan statistik menggunakan persamaan regresi linier kurva kalibrasi standar asam laktat, diperoleh batas deteksi (LOD) sebesar 24,09 $\mu\text{g/mL}$ dan batas kuantitasi (LOQ) sebesar 80,29 $\mu\text{g/mL}$. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 9.

c. Uji Keterulangan

Uji keterulangan dilakukan pada tiga konsentrasi berbeda (rendah, sedang, dan tinggi). Pada uji keterulangan asam glikolat dengan konsentrasi 129,69; 421,40; dan 1052,50 $\mu\text{g/mL}$. Masing-masing konsentrasi memberikan nilai koefisien variasi (KV) berturut-turut 1,60%; 1,73%; dan 1,88%. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 6.

Pada uji keterulangan asam laktat dengan konsentrasi 122,16; 367,40; dan 918,50 $\mu\text{g/mL}$. Masing-masing konsentrasi memberikan nilai koefisien variasi (KV) berturut-turut 1,44%; 1,79%; dan 1,66%. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 10.

d. Uji Perolehan Kembali

Uji Perolehan Kembali menggunakan metode simulasi. Tiga konsentrasi berbeda dari asam laktat (80%; 100%; dan 120%),

yaitu 200,00; 242,31; dan 298,46 $\mu\text{g/mL}$. Nilai UPK rata-rata dari tiga konsentrasi adalah $99,76 \pm 1,17\%$ dengan nilai koefisien variasi (KV) sebesar 1,18%. Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel 11.

4. Analisis Kualitatif dan Analisis Kuantitatif

Dari ketiga sampel sabun cair yang mengandung asam laktat yang diperiksa, bahwa semua sampel mengandung kadar asam laktat yang bervariasi. Kadar asam laktat dalam sampel A ($0,09 \pm 0,00\%$); sampel B ($0,39 \pm 0,01\%$); dan sampel C ($2,93 \pm 0,14\%$). Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel 12.

B. PEMBAHASAN

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui kadar asam glikolat dan asam laktat yang terdapat pada sabun cair secara kromatografi gas. Metoda KG telah banyak dilakukan melalui derivatisasi senyawa AHA dengan cara sililasi menggunakan pereaksi BSTFA (*bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide*). Pada penelitian ini dipakai metode KG, namun melalui derivatisasi senyawa AHA cara metilasi menggunakan pereaksi yang lebih murah yaitu metanol dan asam sulfat. Penelitian dimulai dengan pencarian metoda metilasi yang valid dan kondisi analisis pada KG untuk mengetahui waktu retensi asam glikolat dan asam laktat. Proses metilasi menggunakan metanol dengan asam sulfat sebagai katalisator,

dimaksudkan untuk membentuk senyawa ester yang dapat menguap pada suhu analisis. Proses pemanasan menggunakan refluks pada suhu 75-80 °C selama 1 jam, dimaksudkan agar proses metilasi lebih cepat sempurna karena adanya kinetika dari molekul-molekul.

Pada penelitian ini dilakukan 2 metode elusi yakni dengan suhu terprogram dan suhu tetap/ isothermal. Elusi dengan suhu terprogram dilakukan dengan suhu awal kolom 100°C dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai mencapai suhu 150°C dan dipertahankan selama 2 menit. Elusi dilakukan dengan variasi laju alir gas pembawa 0,6; 0,8 dan 1,0 mL/menit. Kemudian juga dilakukan elusi dengan suhu tetap/ isothermal dilakukan pada suhu kolom tetap 120°C dengan variasi laju alir gas pembawa 0,6; 0,8 dan 1,0 mL/menit. Untuk semua elusi, suhu injektor dan detektor diatur pada suhu 200°C dan 200°C. Pada percobaan variasi laju alir gas pembawa dapat terlihat bahwa semakin tinggi laju alir gas pembawa maka semakin cepat pula waktu retensi asam laktat dan asam glikolat, semakin kecil nilai N dan semakin besar nilai HETP. Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel 2 dan gambar 11, 12, 13, 14.

Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa semakin tinggi suhu kolom dan laju alir gas pembawa maka komponen sampel tersebut hanya sebentar berada di alam fase diam, karena langsung menguap dan terbawa oleh gas pembawa sehingga pemisahan yang terjadi kurang baik. Dari hasil percobaan dengan menggunakan variasi suhu awal kolom dan laju alir gas pembawa didapatkan bahwa kondisi yang memberikan nilai N

paling besar dan nilai HETP paling kecil adalah metode elusi suhu terprogram dengan suhu awal kolom 100°C dan laju alir gas pembawa 0,8 mL/menit. Waktu retensi asam laktat dan asam glikolat yakni pada menit ke 6,4 dan menit ke 7,1. Jadi dapat disimpulkan bahwa kondisi optimum untuk analisis asam glikolat dan asam laktat adalah dengan suhu terprogram dengan suhu awal kolom 100°C dan laju alir gas pembawa 0,8 mL/menit.

Setelah kondisi optimum untuk analisis diperoleh, selanjutnya dilakukan validasi metode analisis. Validasi perlu dilakukan untuk menjamin metode kromatografi gas dapat digunakan untuk analisis asam glikolat dan asam laktat dalam sabun cair. Parameter validasi yang diukur adalah linearitas, batas deteksi dan batas kuantitasi, presisi dan uji perolehan kembali.

Tahap pertama yang dilakukan untuk validasi metode analisis adalah membuat kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi campuran asam laktat dan asam glikolat terdiri dari enam konsentrasi dengan rentang 100-1000 µg/mL. Asam laktat dan asam glikolat ditimbang sebesar 180,3 mg dan 182,6 mg, lalu dimetilasi dengan menambahkan 25,0 mL metanol dan 1,0 mL asam sulfat pekat, dipanaskan suhu 75-80 °C menggunakan refluks selama 60 menit sehingga diperoleh larutan standar asam laktat dan asam glikolat sebesar 6123,27 dan 7023,08 µg/mL. Larutan standar asam laktat 6123,27 µg/mL dihasilkan setelah perhitungan menggunakan faktor

koreksi, dikarenakan kemurnian standar asam laktat 88,3%. Proses pencampuran dilakukan secara kuantitatif dengan memipet asam laktat dan asam glikolat masing-masing sebesar 15,0 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50-mL, sehingga diperoleh larutan campuran asam laktat dan asam glikolat dengan konsentrasi 1836,98 dan 2106,92 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian dibuat kurva kalibrasi dengan rentang konsentrasi 100-1000 $\mu\text{g/mL}$. Persamaan kurva kalibrasi asam laktat yang diperoleh $y = -57,0329 + 11,5287 x$, sedangkan persamaan kurva kalibrasi asam glikolat yang diperoleh $y = -363,7425 + 7,7571 x$.

Uji linearitas dilakukan untuk mendapatkan batas deteksi dan batas kuantitasi. Nilai koefisien korelasi (r) yang didapatkan dari kurva kalibrasi asam laktat dan asam glikolat masing-masing sebesar 0,9997 dan 0,9998 dengan koefisien fungsi regresi (V_{xo}) adalah 0,017% dan 0,017%. Batas deteksi untuk asam glikolat adalah 27,01 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan batas kuantitasnya adalah 90,04 $\mu\text{g/mL}$. Data selengkapnya mengenai kurva kalibrasi asam glikolat dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 5. Batas deteksi untuk asam laktat adalah 24,09 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan batas kuantitasnya adalah 80,29 $\mu\text{g/mL}$. Data selengkapnya mengenai kurva kalibrasi asam laktat dapat dilihat pada Tabel 7 dan Gambar 6.

Uji presisi dilakukan dengan menguji keterulangan metode analisis. Uji keterulangan asam glikolat dilakukan pada konsentrasi rendah (129,69 $\mu\text{g/mL}$), sedang (421,40 $\mu\text{g/mL}$) dan tinggi (1053,50 $\mu\text{g/mL}$), dengan

jumlah injeksi pada KG sebanyak enam kali dari masing-masing konsentrasi. Hasil dari uji keterulangan telah memenuhi persyaratan yaitu nilai koefisien variasi di bawah 2%. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 6.

Uji keterulangan asam laktat dilakukan pada konsentrasi rendah (122,16 $\mu\text{g/mL}$), sedang (367,40 $\mu\text{g/mL}$) dan tinggi (918,50 $\mu\text{g/mL}$), dengan jumlah injeksi pada KG sebanyak enam kali dari masing-masing konsentrasi. Hasil dari uji keterulangan telah memenuhi persyaratan yaitu nilai koefisien variasi di bawah 2%. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 10.

Uji akurasi dilakukan melalui uji perolehan kembali (UPK). Pada percobaan uji perolehan kembali, digunakan tiga konsentrasi yang berbeda yaitu konsentrasi rendah, sedang dan tinggi. Uji perolehan kembali dilakukan untuk mengetahui keakuratan dan kepresisian metode yang dilakukan. Hasil dianggap baik bila berada dalam rentang 98 – 102% dengan koefisien variasi $\leq 2\%$. Dalam penelitian ini, uji perolehan kembali dilakukan menggunakan metode simulasi, dengan menggunakan sabun cair plasebo yakni sabun cair yang tidak mengandung asam laktat dan asam glikolat. Nilai UPK rata-rata dari tiga konsentrasi adalah $99,76 \pm 1,17\%$ dengan nilai koefisien variasi (KV) sebesar 1,18%. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 11.

Sampel yang digunakan yaitu sabun cair dengan tiga merk berbeda. Sampel sabun cair yang ditemukan di pasaran hanya ada sabun cair yang mengandung asam laktat. Penetapan kadar asam laktat pada sampel sabun cair A, sabun cair B, dan sabun cair C masing-masing sebesar $0,09 \pm 0,00\%$; $0,39 \pm 0,01\%$; dan $2,93 \pm 0,14\%$.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. a. Kondisi optimal untuk analisis asam glikolat dan asam laktat dalam sabun cair menggunakan kromatografi gas Shimadzu GC-17A dengan detektor ionisasi nyala, kolom kapiler VB-Wax, suhu injektor 200°C, suhu detektor 200°C, suhu kolom terprogram dengan suhu awal kolom 100°C dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit, dan laju alir gas pembawa (He) 0,8 mL/menit. Waktu retensi asam laktat dan asam glikolat pada kondisi analisis optimum masing-masing pada menit ke-6,4 dan menit ke-7,1.
- b. Hasil validasi dari metode untuk penetapan kadar asam glikolat dan asam laktat yang digunakan menunjukkan bahwa kriteria validasi yaitu kurva kalibrasi, linearitas, uji presisi dan uji perolehan kembali memenuhi syarat yang ditetapkan.
2. Hasil analisis dari ketiga sampel sabun cair yang mengandung asam laktat yang diperiksa menunjukkan bahwa semua sampel mengandung asam laktat dengan kadar yang bervariasi. Kadar asam laktat dalam sampel A ($0,09 \pm 0,00\%$); sampel B ($0,39 \pm 0,01\%$); dan sampel C ($2,93 \pm 0,14\%$).

B. SARAN

Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan analisis dengan sampel selain sabun cair yang mengandung asam glikolat dan asam laktat. Dan metode ini perlu dilakukan kadar asam alfa hidroksi atau asam beta hidroksi yang lain, seperti asam malat dan asam salisilat.



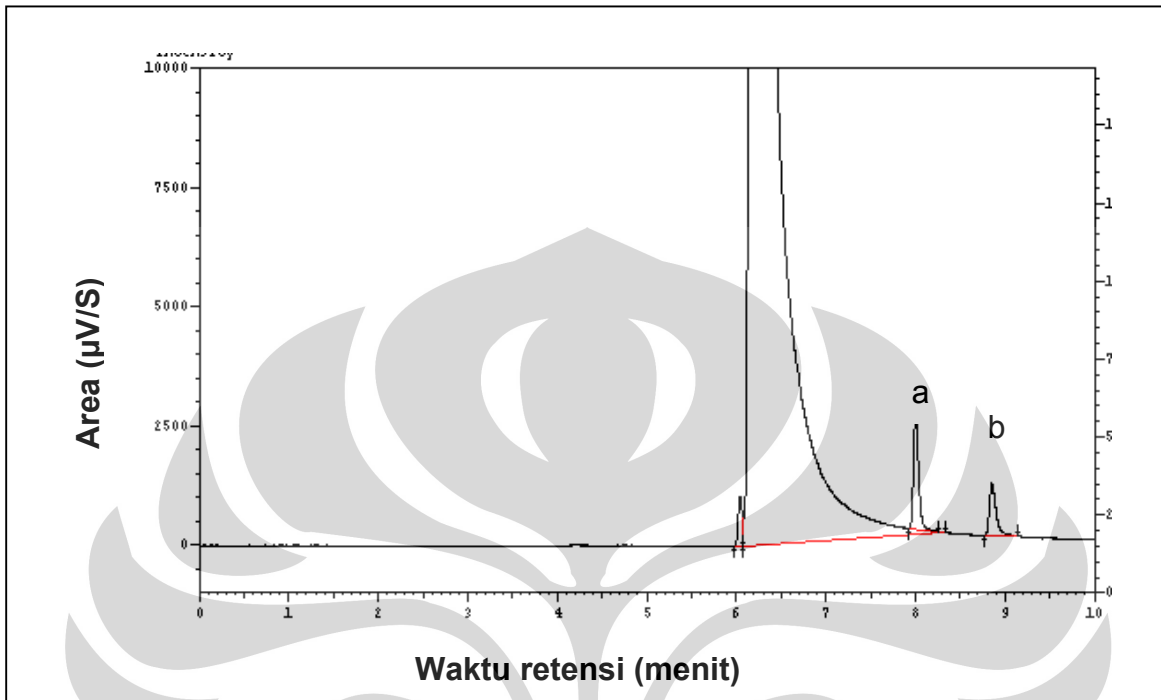
DAFTAR ACUAN

1. Barrel, Andre O., Marc Paye., Howard I., Maibach. 2009. *Handbook of Cosmetic Science and Technology 3th edition*. New York : Informa Healthcare USA, Inc.
2. Tranggono, Retno I., Fatma Latifah. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama. Hal. 11-14.
3. Anonim. *Kulit*. (<http://www.e-dukasi.net/mapok/mpfull.php?id=199&fname=materi.html>. 25 Agustus 2009 pukul 22.26)
4. Kuligowski, J., A. Breivogel, G. Quintas, S. Garrigues, M. de la Guardia. 2008. Determination of Glycolic Acid in Cosmetics by Online Liquid Chromatography-Fourier Transform Infrared Spectrometry. *J. Anal Bioanal Chem.* **392**: 1383-1389.
5. Anonim. 2003. *Keputusan Kepala BPOM RI tentang Petunjuk Teknis Pengawasan Alpha Hydroxy Acid (AHA) dalam Kosmetik*. Jakarta : Badan POM.
6. Huang, Wei-Sheng., Cheng-Chin Ling., Ming-Chuan Huang., Kuo-Ching Wen. 2002. Determination of α -Hydroxyacids in Cosmetics. *Journal of Food and Drug Analysis*, **10** (2) : 95–100.
7. Molever, K. 2002. Simultaneous Determination of Alpha and Beta Hydroxy Acids in Personal Care Products by Capillary Gas Chromatography. *J. Cosmet. Sci.* **53** : 121-126.
8. Watty, V. 2006. Analisis Asam Laurat dan Asam Miristat dalam Virgin Coconut Oil secara Kromatografi Gas. Depok : Skripsi Departemen Farmasi FMIPA UI.
9. Varcania, D.R. 2008. Penetapan Kadar Asam Dokoheksaenoat (DHA) dalam Kuning Telur yang diperkaya Omega 3 secara Kromatografi

Gas. Depok : Skripsi Departemen Farmasi FMIPA UI. Hal.50-52, 64-65.

10. Ulberth, Franz dan Monica Henninger. 2007. *One-step Extraction/ Methylation Method for Determining individual fatty acids (FA) in Processed Food*. (<http://www.springerlink.com/content/x243q5r0ku738423/>). 25 Agustus 2009 pukul 23.00.
11. McNair, H.M. dan E.J. Bonelli. 1988. *Dasar Kromatografi Gas*. Diterjemahkan oleh: Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB. Hal. 1-14.
12. Mitsui, T. 1997. *New Cosmetics Science*. Amsterdam : Elsevier Science. P. 13-15, 446-453.
13. Parasuram K.S. 1995. *Soaps and Detergents*. New Delhi: Hill Publishing Company Limited. P. 1-18.
14. Draelos, Zoe Diana, Lauren A. Thaman. 2006. *Cosmetic Formulation of Skin Care Products*. New York : Taylor & Francis Group.
15. Anonim. *Alpha Hydroxy Acids In Cosmetics*. (<http://www.hs.gov>). 4 Agustus 2009, pukul 20.30.
16. Anonim. 2007. *British Pharmacopoeia 5th edition*. London: Crown Copyright. p. 915.
17. Wade, Ainley, Paul J. Weller. 1994. *Handbook of Pharmaceutical Excipients 2nd edition*. London : The Pharmaceutical Press.
18. Anonim. 2001. *The Merck Index 13th edition*. New Jersey : Merck&Co, Inc.
19. Fabrocini, Gabriella, Maria Pia De Padova, Antonella Tosti. 2006. *Color Atlas of Chemical Peels*. Berlin : Springer Berlin Heidelberg. p. 13-20.

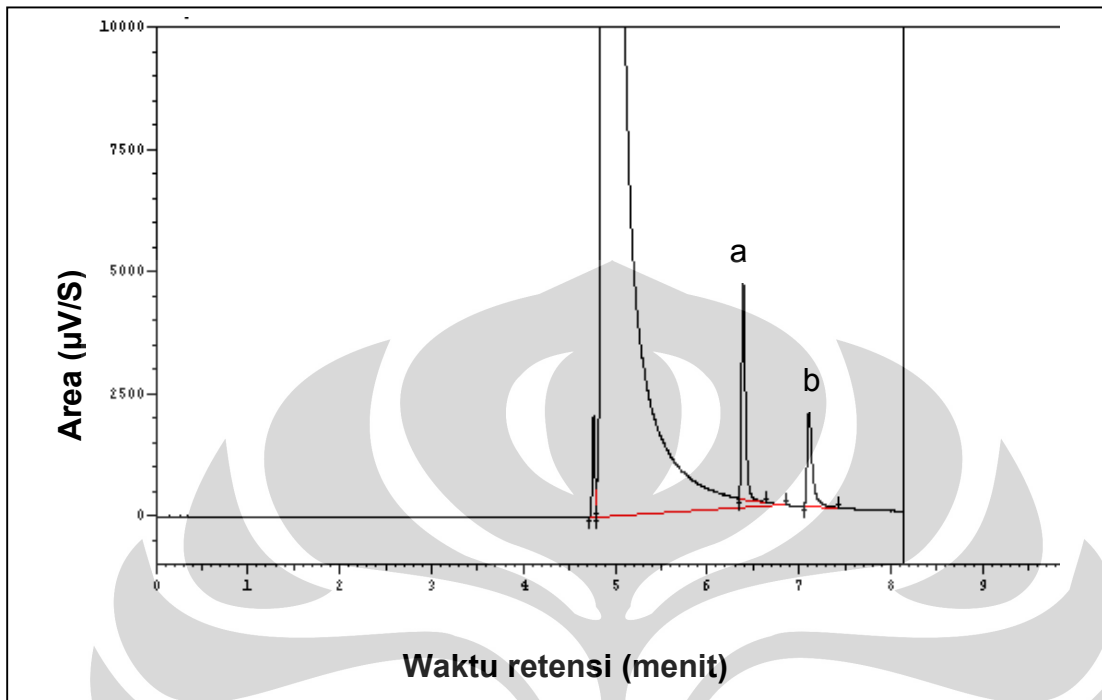
20. Anonim. 1995. *Farmakope Indonesia IV*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
21. Gandjar, Ibnu Ghalib dan Abdul Rohman. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar. Hal. 347-351, 419-454.
22. Harmita. 2006. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok : Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
23. Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian vol.1 no.3*. Depok : Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Hal. 117-135.
24. Salvador, A., A.Chisvert. 2007. *Analysis of Cosmetic Products*. Amsterdam : Elsevier Science. p.131, 326.
25. Mundy, B.P., M.G. Ellerd, F.G. Favaloro Jr. 2005. *Name Reactions and Reagents in Organic Synthesis*. New Jersey : John Willey & Sons, Inc. p. 248, 692.



Gambar 5. Kromatogram campuran standar asam laktat (a) dan asam glikolat (b) dalam metanol kondisi 1

Kondisi 1:

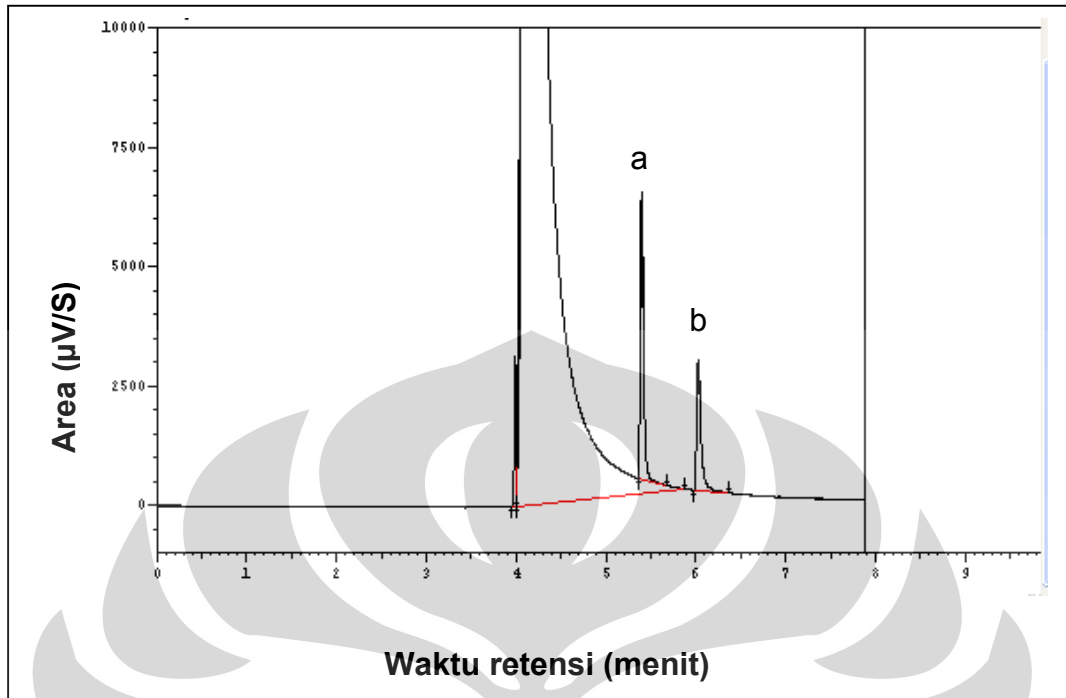
Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 200°C; suhu detektor 200°C; suhu terprogram suhu awal kolom 100°C dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit dengan laju alir gas pembawa (He) 0,6 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 µL.



Gambar 6. Kromatogram campuran standar asam laktat (a) dan asam glikolat (b) dalam metanol kondisi 2

Kondisi 2:

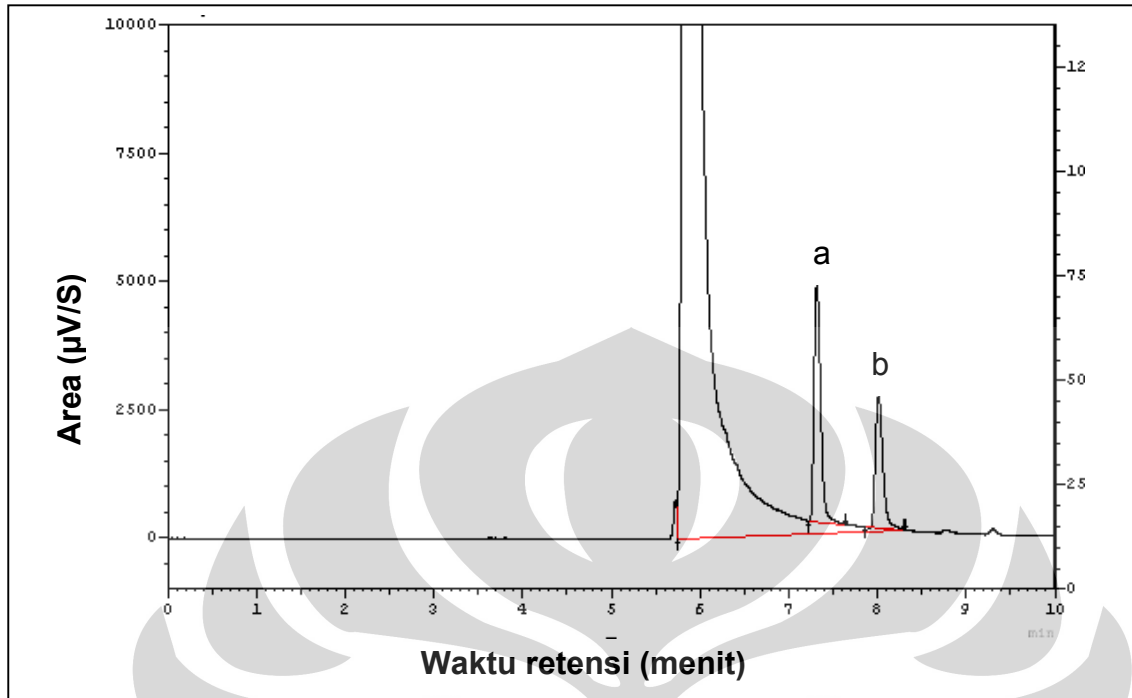
Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 200°C ; suhu detektor 200°C ; suhu kolom 100°C , suhu terprogram dengan kenaikan suhu $2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit dengan laju alir gas pembawa (He) $0,8 \text{ mL}/\text{menit}$; volume penyuntikan $1,0 \mu\text{L}$.



Gambar 7. Kromatogram campuran standar asam laktat (a) dan asam glikolat (b) dalam metanol kondisi 3

Kondisi 3:

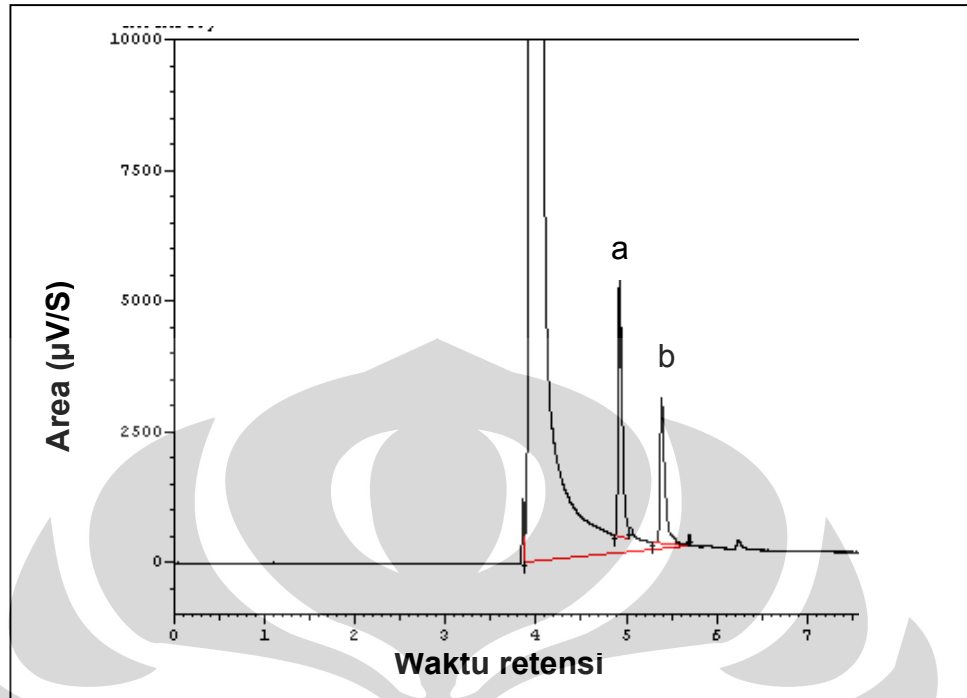
Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 200°C ; suhu detektor 200°C ; suhu kolom 100°C , suhu terprogram dengan kenaikan suhu $2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit dengan laju alir gas pembawa (He) $1,0 \text{ mL}/\text{menit}$; volume penyuntikan $1,0 \mu\text{L}$.



Gambar 8. Kromatogram campuran standar asam laktat (a) dan asam glikolat (b) dalam metanol kondisi 4

Kondisi 4:

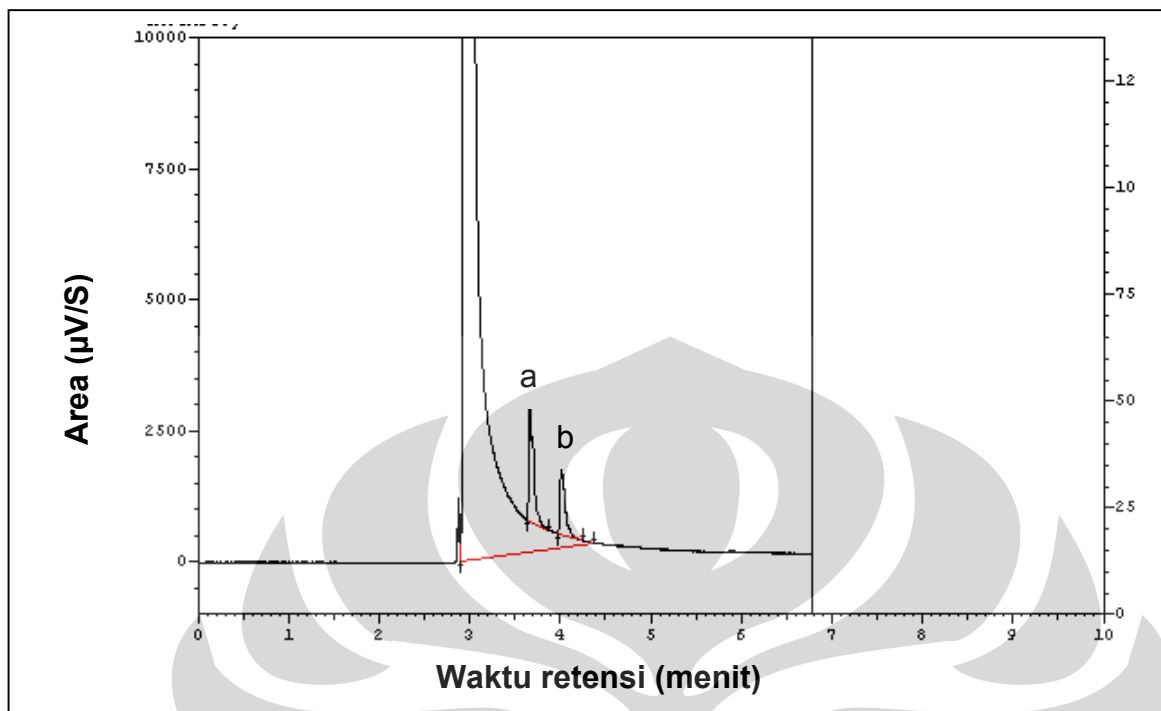
Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 200°C; suhu detektor 200°C; suhu tetap suhu kolom 120°C dan dipertahankan selama 15 menit dengan laju alir gas pembawa (He) 0,6 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 µL.



Gambar 9. Kromatogram campuran standar asam laktat (a) dan asam glikolat (b) dalam metanol kondisi 5

Kondisi 5:

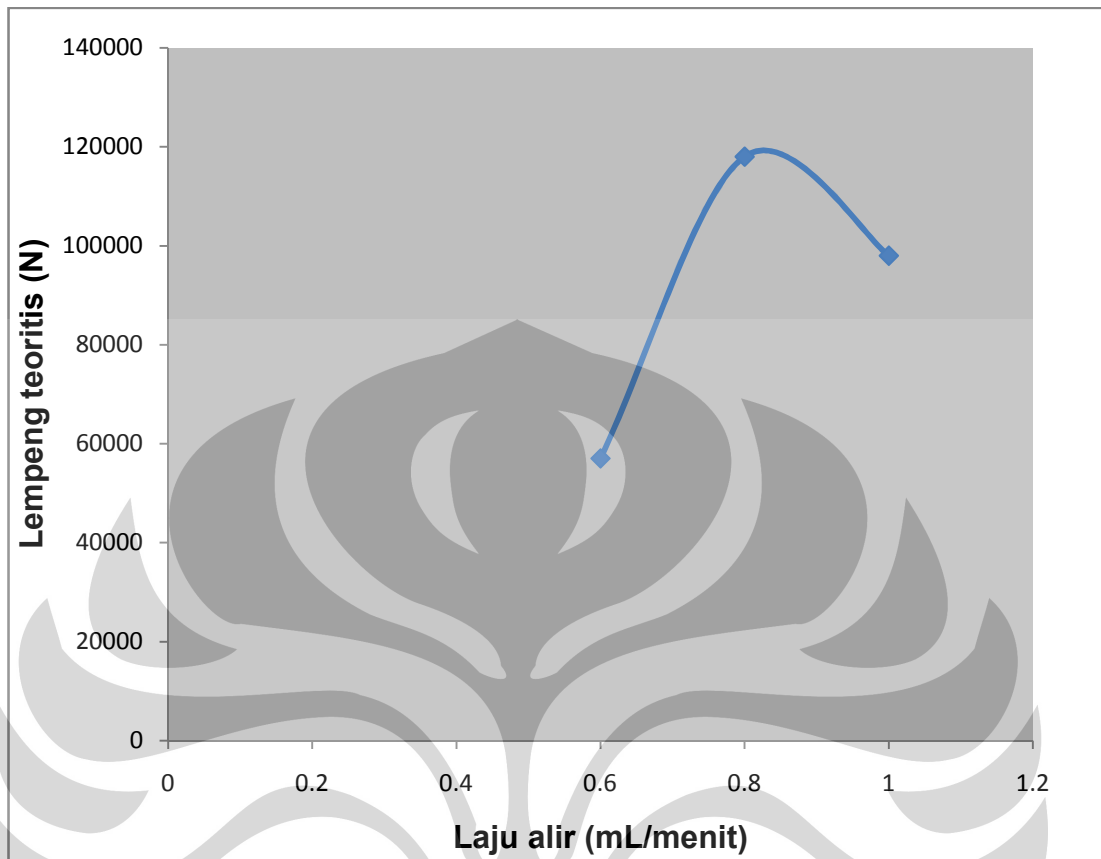
Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 200°C; suhu detektor 200°C; suhu tetap suhu kolom 120°C dan dipertahankan selama 15 menit dengan laju alir gas pembawa (He) 0,8 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 μL .



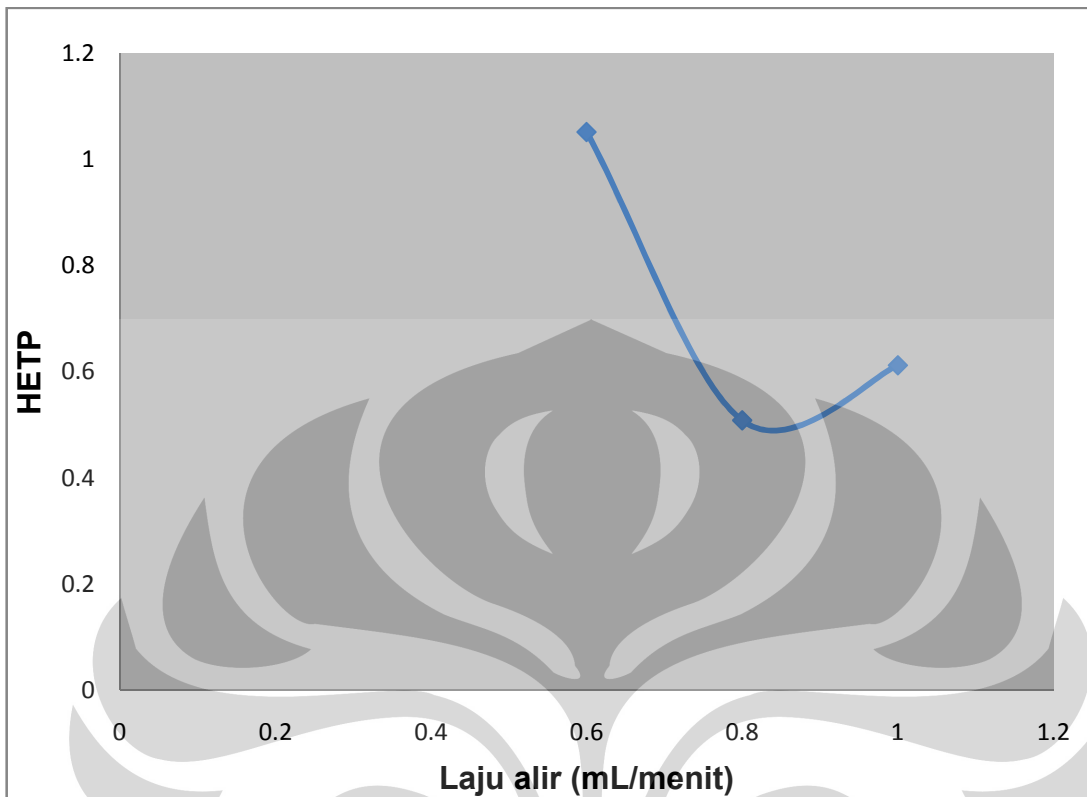
Gambar 10. Kromatogram campuran standar asam laktat (a) dan asam glikolat (b) dalam metanol kondisi 6

Kondisi 6:

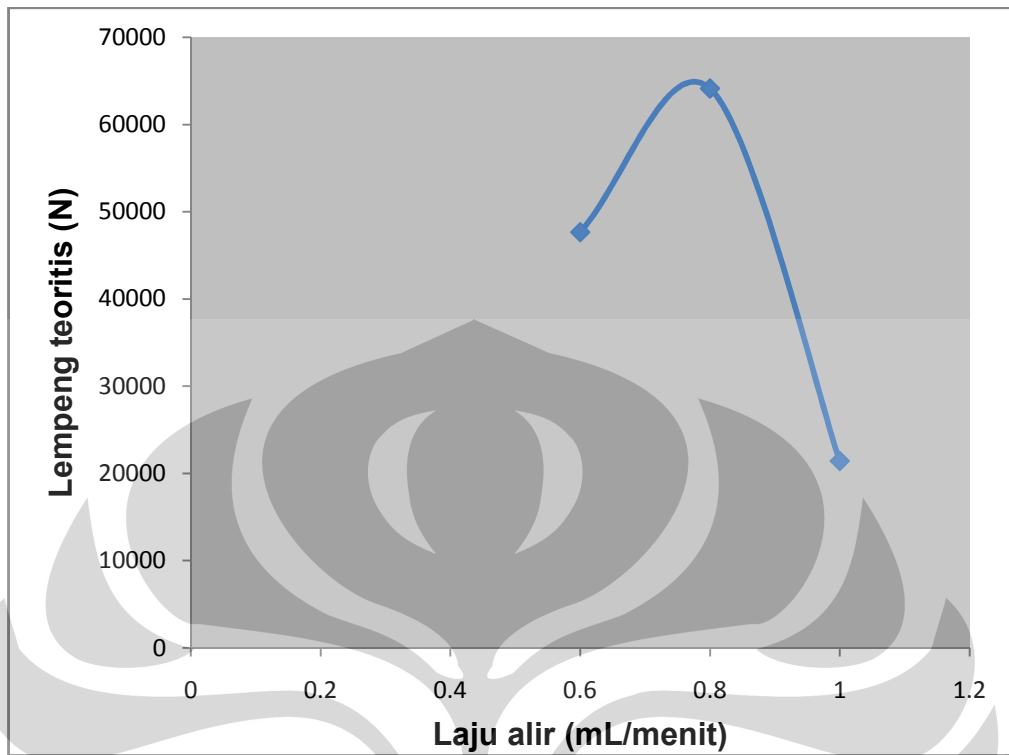
Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 200°C; suhu detektor 200°C; suhu tetap suhu kolom 120°C dan dipertahankan selama 15 menit dengan laju alir gas pembawa (He) 1,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 µL.



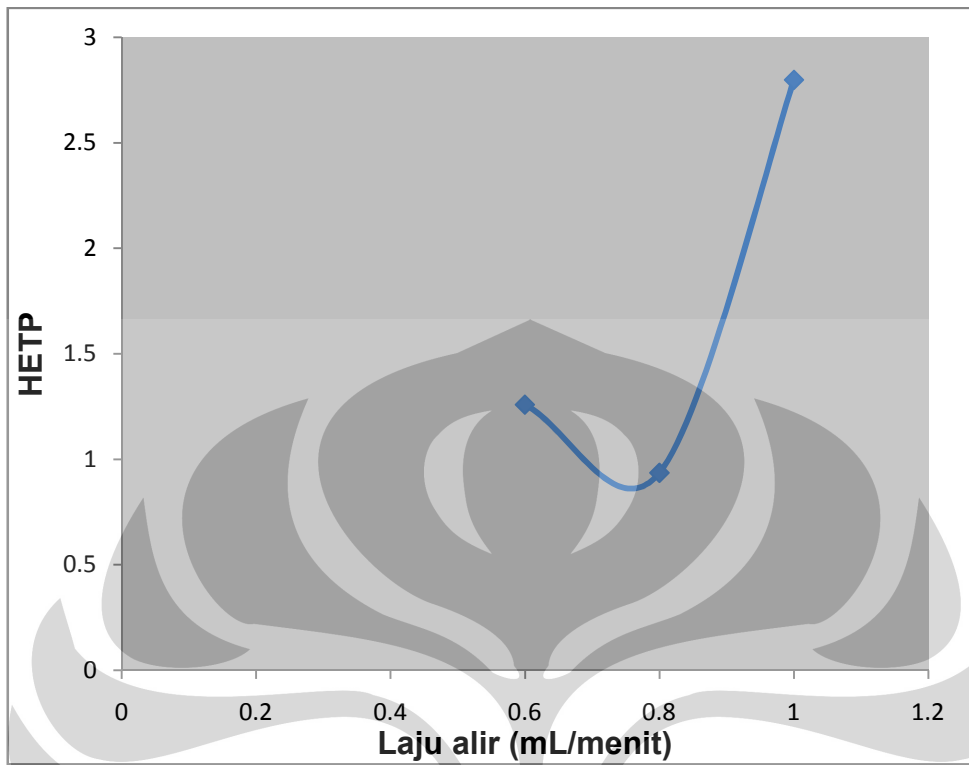
Gambar 11. Kurva hubungan laju alir dan lempeng teoritis dari larutan standar asam laktat 1000 $\mu\text{g/mL}$, suhu terprogram suhu awal kolom 100°C dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit.



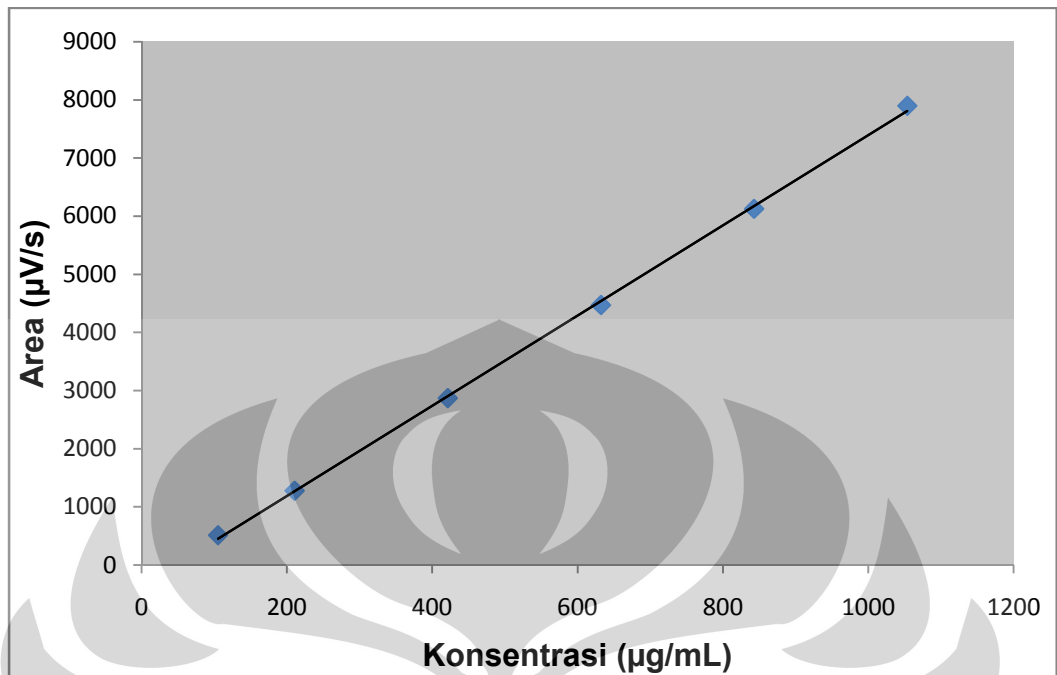
Gambar 12. Kurva hubungan laju alir dan HETP dari larutan standar asam laktat 1000 $\mu\text{g/mL}$, suhu terprogram suhu awal kolom 100°C dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit.



Gambar 13. Kurva hubungan laju alir dan lempeng teoritis dari larutan standar asam laktat 1000 $\mu\text{g/mL}$, suhu tetap suhu kolom 120°C dan dipertahankan selama 15 menit.



Gambar 14. Kurva hubungan laju alir dan HETP dari larutan standar asam laktat 1000 $\mu\text{g/mL}$, suhu tetap suhu kolom 120°C dan dipertahankan selama 15 menit.



Gambar 15. Kurva kalibrasi standar asam glikolat

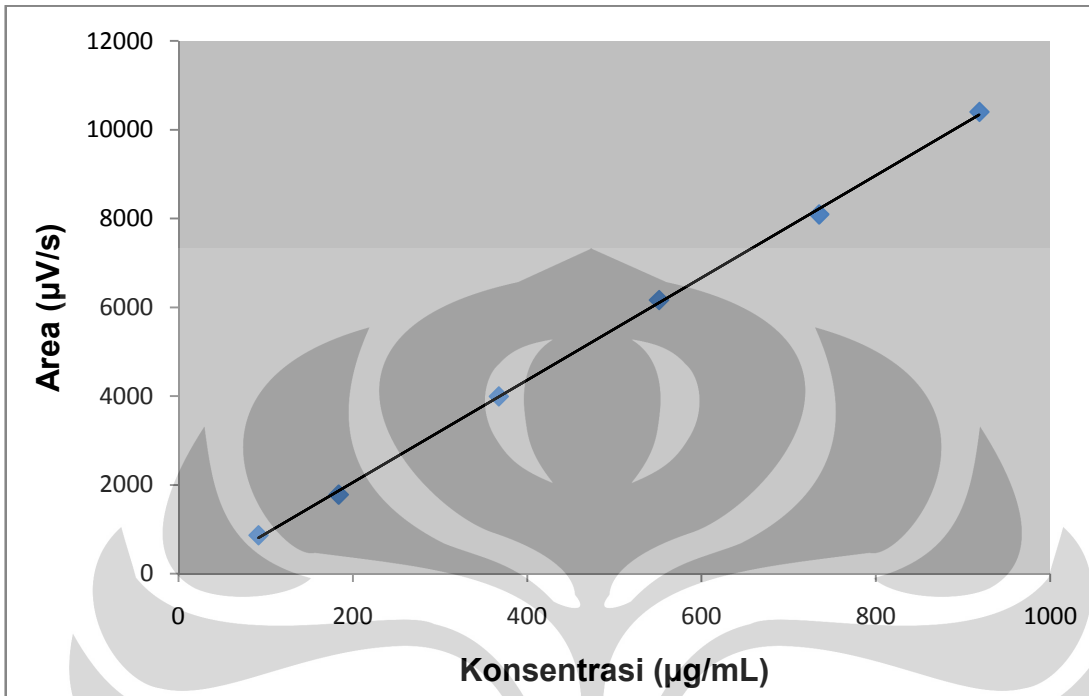
Keterangan:

Persamaan regresi linear kurva kalibrasi standar asam glikolat

$$y = -363,7425 + 7,7571 x \text{ dengan koefisien korelasi } r = 0,9998$$

Kondisi:

Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 200°C; suhu detektor 200°C; suhu terprogram suhu awal kolom 100°C dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit dengan laju alir gas pembawa (He) 0,8 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 µL



Gambar 16. Kurva kalibrasi standar asam laktat

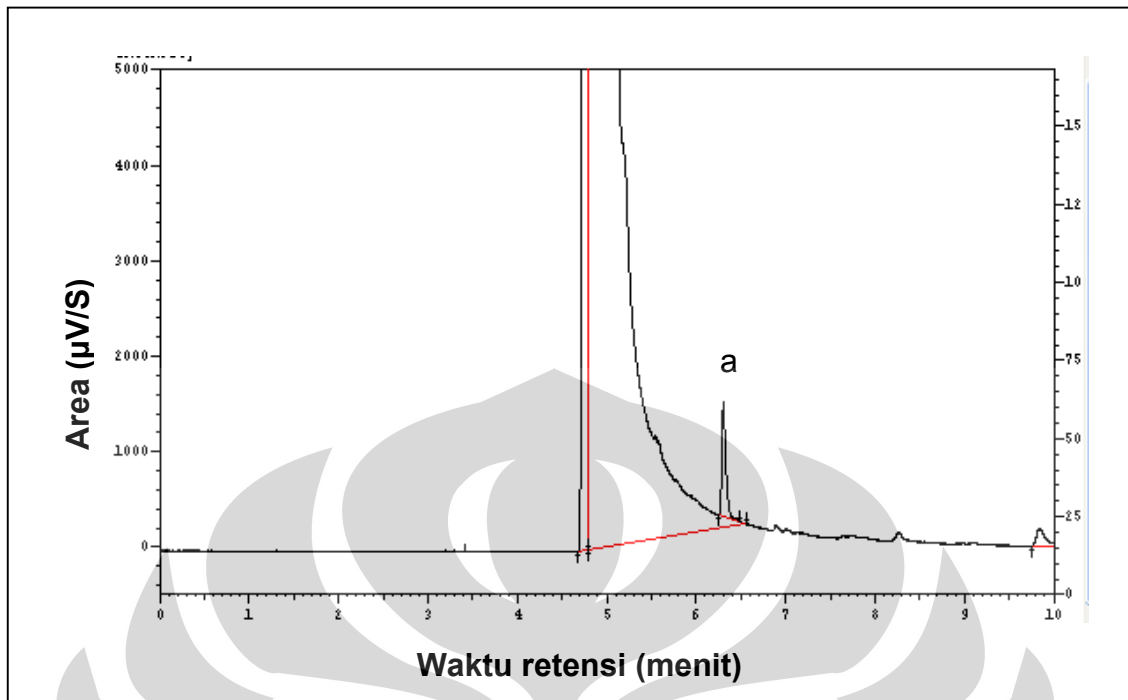
Keterangan:

Persamaan regresi linear kurva kalibrasi standar asam laktat

$$y = -257,0329 + 11,5287 x \text{ dengan koefisien korelasi } r = 0,9997$$

Kondisi:

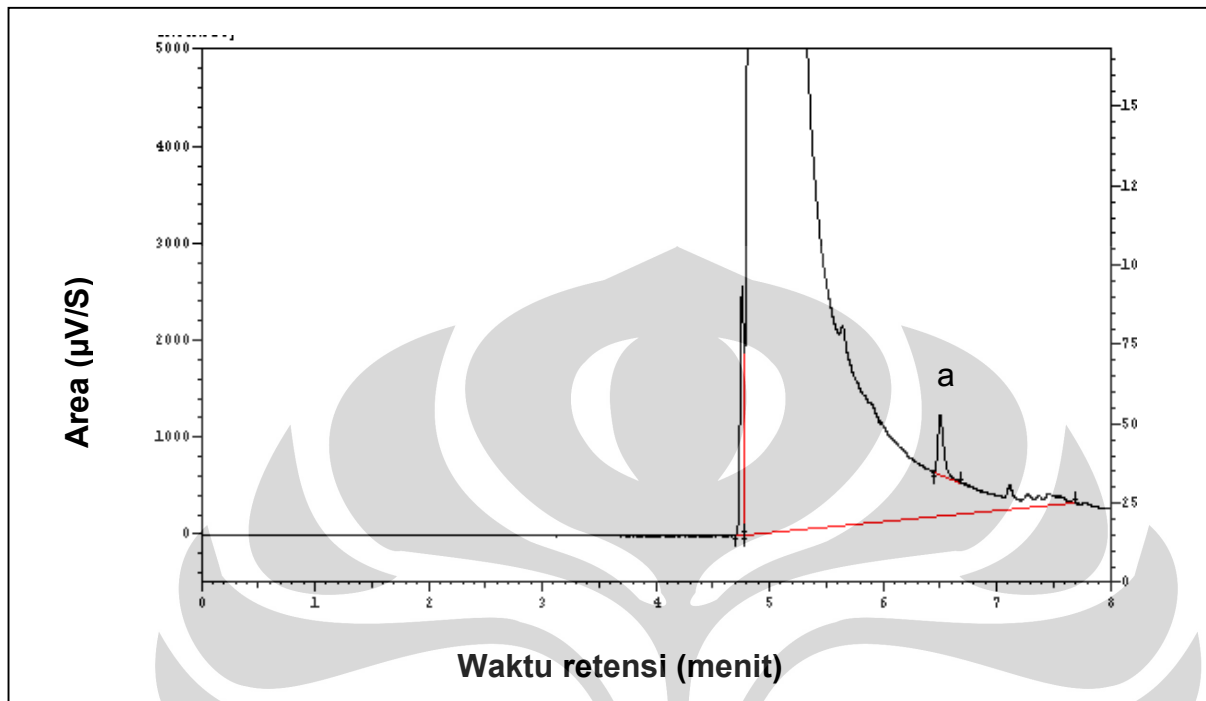
Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 200°C; suhu detektor 200°C; suhu terprogram suhu awal kolom 100°C dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit dengan laju alir gas pembawa (He) 0,8 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 µL



Gambar 17. Kromatogram sampel sabun cair A yang mengandung asam laktat (a)

Kondisi:

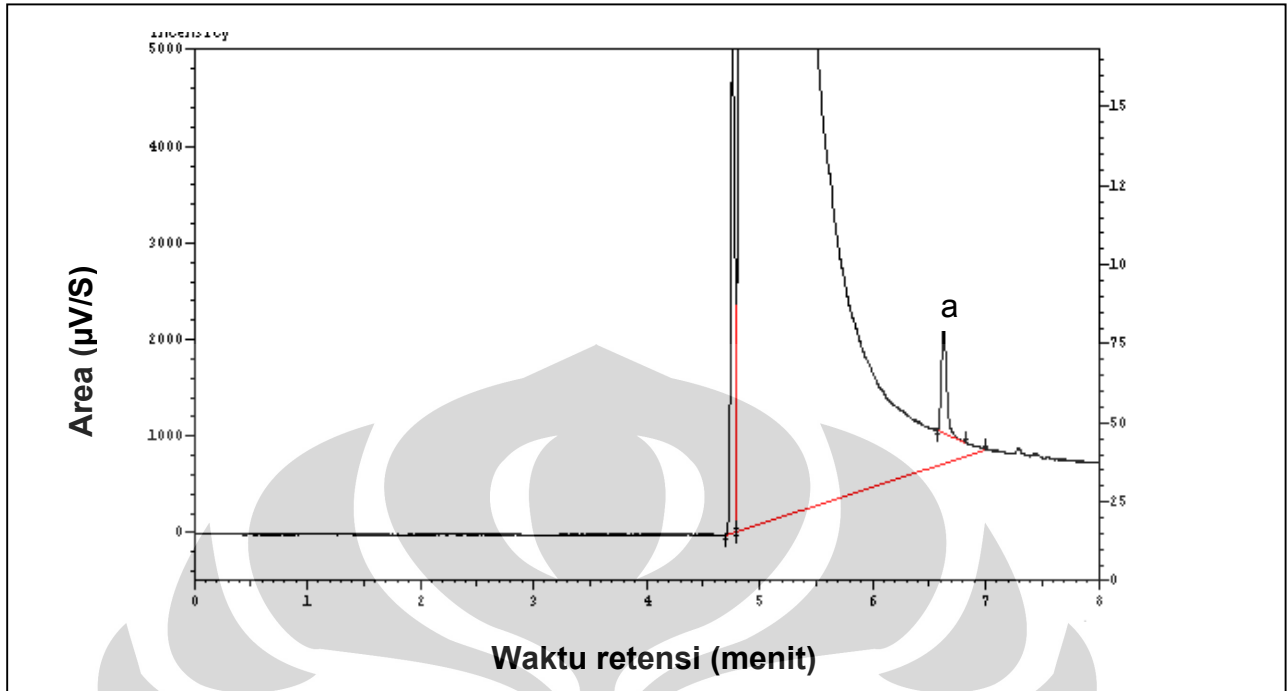
Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 200°C ; suhu detektor 200°C ; suhu kolom 100°C , suhu terprogram dengan kenaikan suhu $2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit dengan laju alir gas pembawa (He) $0,8 \text{ mL}/\text{menit}$; volume penyuntikan $1,0 \mu\text{L}$.



Gambar 18. Kromatogram sampel sabun cair B yang mengandung asam laktat (a)

Kondisi:

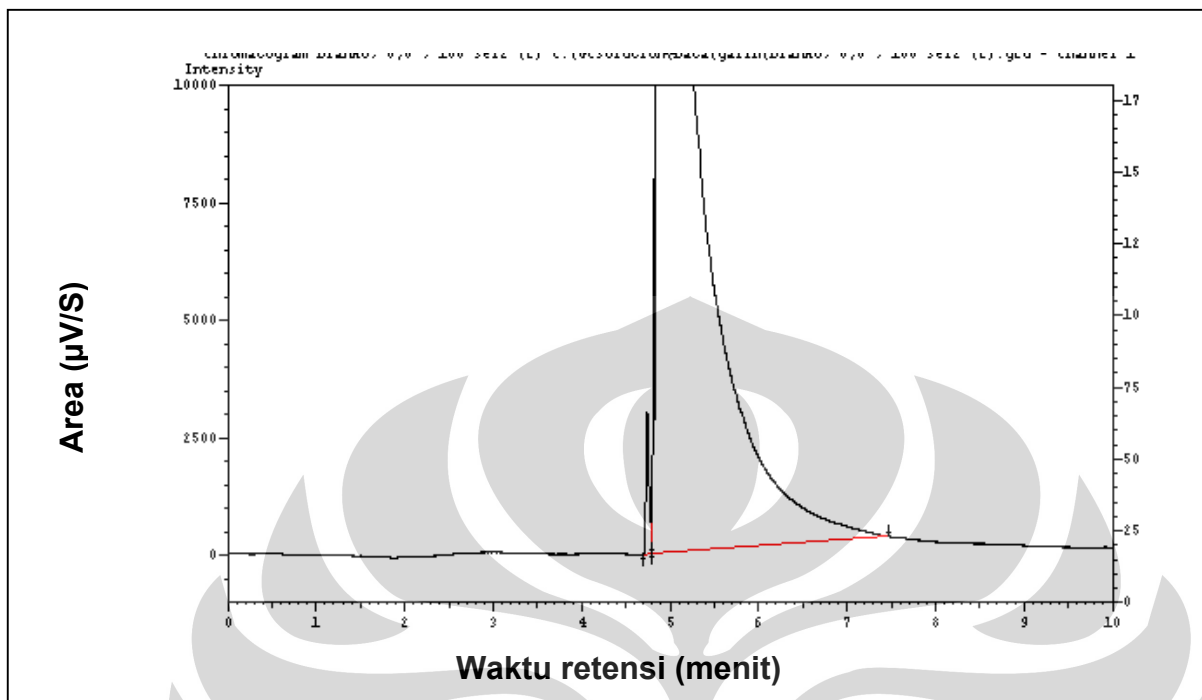
Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 200°C; suhu detektor 200°C; suhu kolom 100°C, suhu terprogram dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit dengan laju alir gas pembawa (He) 0,8 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 µL.



Gambar 19. Kromatogram sampel sabun cair C yang mengandung asam laktat (a)

Kondisi:

Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 200°C ; suhu detektor 200°C ; suhu kolom 100°C , suhu terprogram dengan kenaikan suhu $2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit dengan laju alir gas pembawa (He) $0,8 \text{ mL}/\text{menit}$; volume penyuntikan $1,0 \mu\text{L}$.



Gambar 20. Kromatogram sampel sabun cair yang tidak mengandung asam laktat

Kondisi:

Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 200°C; suhu detektor 200°C; suhu kolom 100°C, suhu terprogram dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit dengan laju alir gas pembawa (He) 0,8 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 μL .



Gambar 21. Sampel sabun cair yang mengandung asam laktat: sampel A, sampel B, dan sampel C

Keterangan:

Kadar asam laktat dalam sampel A ($0,09 \pm 0,00\%$); sampel B ($0,39 \pm 0,01\%$); dan sampel C ($2,93 \pm 0,14\%$).



Gambar 22. Sampel sabun cair yang tidak mengandung asam laktat dan asam glikolat (Matriks)



Gambar 23. Alat kromatografi gas Shimadzu GC-17 A

Keterangan:

A = unit utama

B = sistem kontrol / integrator CBM-102 (Shimadzu)

Tabel 2

Pemilihan Kondisi Optimum Untuk Analisis Asam Glikolat dan Asam Laktat dengan Variasi Metode Elusi dan Laju Alir Gas Pembawa

Metode Elusi	Laju alir (mL/menit)	t_R (menit)	Jumlah lempeng teoritis N	HETP	Resolusi
Suhu terprogram (suhu awal kolom 100°C dengan kenaikan 2°C/menit sampai 150°C dan ditahan 5 menit)	0,6	8,005	57034	1,0520	13,98
		8,858	64980	0,9233	7,515
	0,8	6,401	117996	0,5085	12,13
		7,112	92224	0,6506	8,842
	1	5,397	97995	0,6123	11,952
Suhu tetap (suhu kolom 120°C)	0,6	7,402	47667	1,258	13,98
		8,037	45336	1,3235	7,515
	0,8	4,909	64124	0,9357	12,13
		5,420	63166	0,9499	8,842
	1	3,821	21443	2,7981	11,952
		4,102	24588	2,4402	9,229

Tabel 3

Data Kurva Kalibrasi Standar Asam Glikolat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Area ($\mu\text{V/s}$)
105,35	513
210,70	1277
421,40	2913
632,10	4453
842,80	6014
1053,50	7822

Keterangan:

Persamaan regresi linear kurva kalibrasi asam glikolat
 $y = -363,7425 + 7,7571 x$ dengan koefisien korelasi $r = 0,9998$

Kondisi:

Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 200°C; suhu detektor 200°C; suhu awal kolom 100°C, suhu terprogram dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit dengan laju alir gas pembawa (He) 0,8 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 μL ,

Tabel 4

Data Linearitas Asam Glikolat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) [x]	Δx	Area ($\mu\text{V/s}$) [y]	Δy	$\Delta y/\Delta x$
105,35		513		
210,70	105,35	1119	764,00	7,2520
421,40	210,70	2913	1636,00	7,7646
632,10	210,70	4453	1540,00	7,3090
842,80	210,70	6014	1561,00	7,4086
1053,50	210,70	7561	1547,00	7,3422
x rata2 = 544,3083				

Persamaan garis : $y = -363,7425 + 7,7571 x$
 Koefisien korelasi (r) : 0,9998
 Koefisien fungsi regresi (V_{xo}) : 0,017 %
 Kepekaan analisis ($\Delta y/\Delta x$) :
 $7,2520 \approx 7,7646 \approx 7,3090 \approx 7,4086 \approx 7,3422$ (slope)

Tabel 5

Data Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi Asam Glikolat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) [x]	Area ($\mu\text{V/s}$) [y]	y_i	$(y - y_i)^2$
105,35	513	453,47	3544,35
210,7	1277	1270,67	40,02
421,4	2870	2905,09	1231,32
632,1	4470	4539,51	4831,18
842,8	6125	6173,92	2393,47
1053,5	7896	7808,34	7684,36
			$\Sigma = 19724,70$

Persamaan regresi linear kurva kalibrasi asam glikolat

$y = -360,9809241 + 7,68776950 x$ dengan koefisien korelasi $r = 0,9998$

$S(y/x) = 70,2223$

$b = 7,7570$

Batas deteksi (LOD) = 27,01 $\mu\text{g/mL}$

Batas kuantitasi (LOQ) = 90,04 $\mu\text{g/mL}$

Tabel 6

Data Uji Keterulangan Asam Glikolat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Area (y)	Konsentrasi pengukuran (xi) ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi rata-rata ($\mu\text{g/mL}$)	Simpangan baku (SD)	Koefisien variasi (KV) (%)
129,69	699,00	136,9988	133,4322	2,138	1,60
	652,00	130,9398			
	676,00	134,0338			
	657,00	131,5844			
	670,00	133,2603			
	674,00	133,7759			
421,40	3042,00	439,0486	433,8275	7,548	1,73
	3024,00	436,7281			
	2913,00	422,4185			
	3078,00	443,6896			
	2974,00	430,2823			
	2978,00	430,7980			
1053,50	7060,00	957,0324	954,2822	17,918	1,88
	7250,00	981,5264			
	6819,00	925,9636			
	6990,00	948,0083			
	7046,00	955,2275			
	7067,00	957,9348			

Persamaan garis linear asam glikolat : $y = -363,7425 + 7,7571 x$

Tabel 7

Data Kurva Kalibrasi Standar Asam Laktat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Area ($\mu\text{V/s}$)
91,85	865
183,7	1778
367,4	3992
551,1	6162
734,8	8090
918,5	10397

Keterangan:

Persamaan regresi linear kurva kalibrasi asam laktat
 $y = -257,0329 + 11,5287 x$ dengan koefisien korelasi $r = 0,9997$

Kondisi:

Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 200°C; suhu detektor 200°C; suhu awal kolom 100°C, suhu terprogram dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 150°C dan dipertahankan selama 5 menit dengan laju alir gas pembawa (He) 0,8 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 μL ,

Tabel 8

Data Linearitas Asam Laktat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) [x]	Δx	Area ($\mu\text{V/s}$) [y]	Δy	$\Delta y/\Delta x$
91,85		865		
183,7	91,85	1778	913,00	9,9401
367,4	183,7	3992	2214,00	12,0523
551,1	183,7	6162	2170,00	11,8127
734,8	183,7	8090	1928,00	10,4954
918,5	183,7	10397	2307,00	12,5585
x rata2 = 474,5583				

Persamaan garis : $y = -257,0329 + 11,5287 x$
 Koefisien korelasi (r) : 0,9997
 Koefisien fungsi regresi (Vxo) : 0,017 %
 Kepekaan analisis ($\Delta y/\Delta x$) :
 9,9401 \approx 12,0523 \approx 11,8127 \approx 10,4954 \approx 12,5585 (slope)

Tabel 9

Data Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi Asam Laktat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) [x]	Area ($\mu\text{V/s}$) [Yi]	\hat{Y}	$(Y_i - \hat{Y})^2$
91,85	865	802,32	3984.36
183,7	1778	1860,48	6854.07
367,4	3992	3976,81	179.25
551,1	6162	6093,14	4298.94
734,8	8074	8209,47	7352.06
918,5	10397	10327,73	4214.86
			$\Sigma = 26883.54$

Persamaan regresi linear kurva kalibrasi asam laktat
 $y = - 257,0329 + 11,5287 x$ dengan koefisien korelasi $r = 0,9997$
 $S (y/x) = 81,98101$
 $b = 11,5287$
 Batas deteksi (LOD) = 24,0884 $\mu\text{g/mL}$
 Batas kuantitasi (LOQ) = 80,2948 $\mu\text{g/mL}$

Tabel 10

Data Uji Keterulangan Asam Laktat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Area (y)	Konsentrasi pengukuran (xi) ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi rata-rata ($\mu\text{g/mL}$)	Simpangan baku (SD)	Koefisien variasi (KV) (%)
122,16	1238,00	146,8770	143,3688	2,070	1,44
	1205,00	143,6462			
	1197,00	142,8630			
	1172,00	140,4154			
	1200,00	143,1567			
	1201,00	143,2546			
367,40	3992,00	416,5008	421,6570	7,546	1,79
	4038,00	421,0043			
	3942,00	411,6056			
	4045,00	421,6896			
	4166,00	433,5358			
	4085,00	425,6057			
918,5	10397,00	1043,5669	1057,0775	17,526	1,66
	10510,00	1054,6299			
	10753,00	1078,4203			
	10546,00	1058,1544			
	10715,00	1074,7000			
	10289,00	1032,9935			

Persamaan garis linear asam laktat: $y = -257,0329 + 11,5287 x$

Tabel 11

Data Uji Perolehan Kembali Asam Laktat

W std (mg)	W std + matriks (mg)	x ($\mu\text{g/mL}$)	y ($\mu\text{V/s}$)	xi ($\mu\text{g/mL}$)	UPK (%)	(%)	SD	KV (%)
52,0	2510,5	200,00	2088	203,41	101,70	99,76	1,17	1,18
			2046	199,77	99,88			
			2023	197,77	98,89			
			2574	245,56	101,34			
63,0	2503,2	242,31	2516	240,53	99,27			
			2542	242,79	100,20			
			3145	295,09	98,87			
			3119	292,84	98,12			
77,6	2482,4	298,46	3170	297,26	99,60			

Keterangan:

W = Berat

x = Konsentrasi standar

y = Area

KV = koefisien variasi

Tabel 12

Data Penetapan Kadar Asam Laktat dalam Sabun Cair

Sampel	Berat Sampel (mg)	Area Asam Laktat ($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi Pengukuran ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi Larutan ($\mu\text{g/mL}$)	Kadar Asam Laktat (%)	Asam Laktat (%)	SD	KV (%)	
A	9355,7	3684	341,85	359834,615	0,10	0,09	0,00	0,00	
		3679	341,41		0,09				
		3711	344,19		0,10				
		3756	348,09		0,09				
		3725	345,40		0,09				
B	9825,2	3631	337,25	377892,308	0,09	0,39	0,01	2,56	
		1783	176,95		0,41				
		1111,5	165,94		42750				0,39
		1684	168,37		0,39				
		3877	358,59		0,38				
C	2427,1	3845	355,81	8011,5384	0,38	2,93	0,14	4,78	
		3982	367,69		0,39				
		2557	244,09		3,05				
		208,3	2610		248,69				3,10
		2529	241,66		3,02				
	310,9	3687	342,11	11957,6923	2,86				
		3541	329,44		2,76				
		3597	334,30		2,80				

Lampiran 1

Perhitungan Kurva Kalibrasi

Dari kurva kalibrasi didapatkan persamaan :

$$y = a + bx$$

r = koefisien korelasi

a dan b dihitung dengan rumus :

$$a = \frac{\sum y - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}}{\sum x - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$b = \frac{\sum xy - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}}{\sum x - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

Koefisien korelasi (r) dihitung dengan rumus :

$$r = \frac{\sum xy - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}}{\sqrt{(\sum x - \frac{(\sum x)^2}{n})(\sum y - \frac{(\sum y)^2}{n})}}$$

Lampiran 2

Perhitungan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Rumus :

a. Batas Deteksi (LOD) = $\frac{(\quad)}{(\quad)}$

b. Batas Kuantitasi (LOQ) = $\frac{(\quad)}{(\quad)}$

$Sy/x = \frac{\Sigma(\quad)}{n}$

Keterangan :

b = Arah garis linear dari kurva kalibrasi ; $y = a+bx$

Sy/x = Simpangan baku residual

y = Area terukur

y_i = Area berdasarkan persamaan kurva kalibrasi

Lampiran 3

Perhitungan Simpangan Baku dan Koefisien Variasi

Perhitungan uji keterulangan dilakukan dengan mencari simpangan baku atau standar deviasi (SD) dan koefisien variasi.

Simpangan baku atau standar deviasi :

$$SD = \frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n} /$$

Koefisien variasi (RSD atau KV (%)) :

$$KV (\%) = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

Keterangan :

x = Berat/ μ L (μ g)

\bar{x} = Berat/ μ L rata-rata (μ g)

n = Jumlah data

Lampiran 4

Perhitungan Uji Perolehan Kembali

Uji Perolehan Kembali (UPK) dihitung dengan rumus :

$$UPK = \frac{X_i}{X} \times 100\%$$

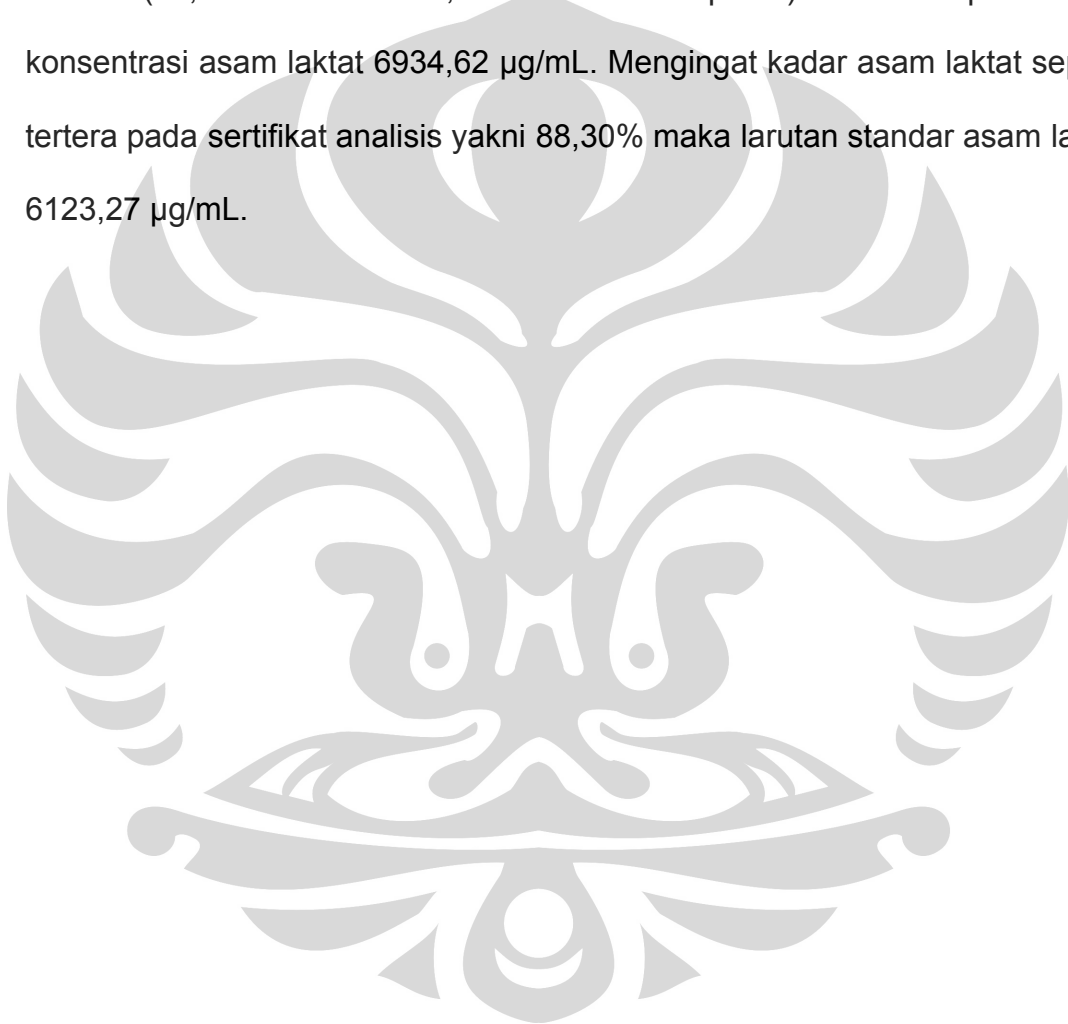
Keterangan :

- xi = Konsentrasi standar berdasarkan hasil perhitungan menggunakan persamaan kurva kalibrasi
- x = Konsentrasi standar berdasarkan banyaknya standar yang ditambahkan.

Lampiran 5

Cara Perhitungan Larutan Induk Standar Asam Laktat

Penimbangan asam laktat sebesar 180,3 mg \longrightarrow 26,0 mL pereaksi metilasi (25,0 mL metanol + 1,0 mL asam sulfat pekat) \longrightarrow diperoleh konsentrasi asam laktat 6934,62 $\mu\text{g/mL}$. Mengingat kadar asam laktat seperti tertera pada sertifikat analisis yakni 88,30% maka larutan standar asam laktat 6123,27 $\mu\text{g/mL}$.



Lampiran 6

Cara Perhitungan Uji Perolehan Kembali

Perhitungan UPK dengan metode simulasi:

$$\text{Persen Perolehan Kembali : \% UPK} = \frac{x}{xi} \times 100\%$$

Keterangan :

x = Konsentrasi standar berdasarkan hasil perhitungan menggunakan persamaan kurva kalibrasi

xi = Konsentrasi standar berdasarkan banyaknya standar yang ditambahkan

Contoh:

$$\text{Persamaan kurva kalibrasi asam laktat } y = -257,0329 + 11,5287 xi$$

y = area asam laktat ($\mu\text{V/s}$)

xi = konsentrasi asam laktat ($\mu\text{g/mL}$)

Pada penimbangan asam laktat sebesar 63,0 mg dan penambahan matriks hingga 2503,2 mg, didapatkan area yang diperoleh 2516 $\mu\text{V/s}$

→ Diplot persamaan regresi linear asam laktat, maka x = 240,53 $\mu\text{g/mL}$.

Konsetrasi asam laktat yang ditambahkan (xi) = 242,31 $\mu\text{g/mL}$.

$$\% \text{ UPK} = \frac{240,53}{242,31} \times 100\%$$

$$= 99,27\%$$

Lampiran 7

Cara Perhitungan Kadar Asam Laktat dalam Sampel

Contoh perhitungan kadar asam laktat dalam sampel:

Persamaan kurva kalibrasi asam laktat $y = -257,0329 + 11,5287 x$

y = area asam laktat ($\mu\text{V/s}$)

x = konsentrasi asam laktat ($\mu\text{g/mL}$)


Area asam laktat dalam sampel $C = 2557 \mu\text{V/s}$ diplot \longrightarrow persamaan regresi linear, maka $x = 244,09 \mu\text{g/mL}$

Konsentrasi larutan = 8011,5384

$$\begin{aligned} \text{Kadar asam laktat dalam sampel } C &= \frac{\text{---}}{\text{---}} \times 100\% \\ &= \frac{\text{---}}{\text{---}} \times 100\% \\ &= 3,05\% \end{aligned}$$

Lampiran 9

Sertifikat Analisis Asam Laktat



Purac (Thailand) Ltd
 3 Moo 2, Asean Industrial Estate
 Tambon Bangchang
 Rayong, 21150
 Thailand
 Phone +66 35 688 800
 Fax +66 35 688 801
 Email gth@purac.com
 www.purac.com

Certificate of Analysis

Cust Order Ref: 284/XIPRC/2008 Order Nr: 516115
 Product: PURAC FCC 88
 L(+)-Lactic Acid FCC Special 88

Lot No: 0811002530
 Manufacturing Date: 05-Nov-2008
 Release Date: 04-Nov-2013

Test	Units	Specification	Result
Colour	APHA	≤50	9
Assay	%	87.5 - 88.5	88.3

Parameters not tested in all lots but validated through in-process or final testing.

Test	Units	Specification
Odour		Agreeable
Stereochemical purity	%	≥95
Sublimed ash LA	%	≤0.1
Density (20°C)	g/ml	1.20 - 1.22
Heavy metals total	ppm	≤10
Iron	ppm	≤10
Arsenic	ppm	≤5
Calcium	ppm	≤20
Chloride	ppm	≤10
Sulfate	ppm	≤20
Sugars/reducing substances		Passes test FCC

This lot complies with: FCC / JSFA / EUSFA (not for assay)
 This document is generated by a validated system and therefore not signed.
 Anwarulhaq Chatterjee
 Lab Manager

Purac (Thailand) Ltd
 is part of the PURAC group
 of companies, manufacturer
 of natural lactic acid,
 lactates and lactol

Printed On: 02-Jan-2009
 Page 1 Of 1