



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**ANALISIS ASAM STEARAT DAN UREA DALAM LULUR**

**SKRIPSI**

**EKO PRASETYO**  
**0606070674**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**DEPARTEMEN FARMASI**  
**DEPOK**  
**JULI 2010**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**ANALISIS ASAM STEARAT DAN UREA DALAM LULUR**

**SKRIPSI**

**DIAJUKAN SEBAGAI SALAH SATU SYARAT UNTUK  
MEMPEROLEH GELAR SARJANA FARMASI**

**EKO PRASETYO  
0606070674**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN FARMASI  
DEPOK  
JULI 2010**

ii

**HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS**

**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar**

**Nama : Eko Prasetyo**

**NPM : 0606070674**

**Tanda Tangan : .....**

**Tanggal : 5 Juli 2010**



## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :  
Nama : Eko Prasetyo  
NPM : 0606070674  
Program Studi : Farmasi  
Judul Skripsi : Analisis Asam Stearat dan Urea dalam Lulur

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing 1	: Dr. Harmita, Apt.	(.....)
Pembimbing 2	: Dr. Herman Suryadi, MS.	(.....)
Penguji	: Dra. Maryati K, MS.	(.....)
Penguji	: Dr. Iskandarsyah, MS.	(.....)
Penguji	: Drs. Hayun, MS	(.....)

Ditetapkan di : Depok .....

Tanggal : 5 Juli 2010 .....



## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. atas rahmat-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian yang berjudul “Analisis Asam Stearat dan Urea dalam Lulur” dan menyelesaikan penulisan skripsi ini. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Program Sarjana Farmasi, Departemen Farmasi, Universitas Indonesia.

Penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan, arahan, bantuan, serta dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu, pada kesempatan ini penulis hendak menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS. sebagai Ketua Program Sarjana Reguler dan Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
2. Bapak Dr. Harmita, Apt. sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, ilmu, serta saran baik dalam pelaksanaan penelitian maupun dalam penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Herman Suryadi, MS. sebagai pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan serta dukungan dalam pelaksanaan penelitian maupun dalam penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Katrin B, MS. selaku pembimbing akademik yang telah banyak memberikan bimbingan dan nasehat selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. Seluruh staf pengajar, karyawan dan laboran Departemen Farmasi FMIPA UI, terutama Bapak H. Rustam Pa'un, yang telah banyak membantu penulis selama masa pendidikan dan penelitian.
6. Keluarga tercinta yang telah memberikan bantuan moril dan materiil sehingga pelaksanaan penelitian dan penyelesaian skripsi dapat berjalan lancar.

7. Diah Puspitasari yang telah berbagi cerita untuk tetap semangat dalam penelitian.
8. Akma, ayu, yose, farida, kucel dan erni yang telah menjadi teman baik penulis selama kuliah.
9. Indra, hifdzi, rindo dan teman-teman menginap di farmasi yang telah menemani saya penelitian setiap waktu
10. Rekan – rekan farmasi angkatan 2006 yang selama empat tahun telah mewarnai hari – hari penulis.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah memberikan bantuan hingga terselesaikannya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan dan jauh dari sempurna. Namun penulis tetap berharap agar skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Depok, 5 juli 2010

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Eko Prasetyo

NPM : 0606070674

Program Studi : S1 Farmasi

Departemen : Farmasi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Jenis Karya : Skripsi

demikian demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Analisis Asam Stearat dan Urea dalam Lulur

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia bebas menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 5 Juli 2010

Yang menyatakan

(Eko Prasetyo)

vii



## ABSTRAK

Nama : Eko Prasetyo  
Program Studi : Farmasi  
Judul : Analisis Asam Stearat dan Urea dalam Lulur

Asam stearat banyak digunakan sebagai agen pengemulsi ketika ditambahkan suatu basa seperti KOH atau trietanolamin yang membuat sebagian asam stearat berubah menjadi bentuk garamnya. Oleh karena itu diperlukan suatu prosedur untuk menetapkan kadar asam stearat total dalam sediaan lulur secara kromatografi gas (KG). Dalam suatu sediaan lulur, terdapat produk yang ditambahkan urea sebagai humektan untuk membuat kulit lebih halus. Penelitian sebelumnya untuk penetapan kadar urea dalam sediaan kosmetik dilakukan dengan menggunakan metode KCKT yang lebih rumit sehingga dibutuhkan metode yang lebih mudah dan tervalidasi dengan menggunakan spektrofotometri. Kondisi KG yang digunakan untuk analisis asam stearat adalah suhu terprogram dengan suhu awal kolom 170°C, kenaikan suhu 2°C/menit sampai 190°C (ditahan 2 menit), menggunakan helium sebagai gas pembawa dengan laju alir 1,0 mL/menit. Metode ini linier dengan koefisien korelasi 0,9992, dalam rentang konsentrasi 202,4 – 1214,4ppm. Batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) asam stearat adalah 50,273 ppm dan 167,578 ppm dan memiliki koefisien variasi (KV) 1,83 – 1,99%. Penerapan metode ini pada dua sampel lulur menunjukkan bahwa semua sampel mengandung kadar asam stearat dengan kadar yang bervariasi. Kadar asam stearat pada sampel A ( $0,51 \pm 0,006\%$ ) ; pada sampel B ( $1,48 \pm 0,0117\%$ ). Analisis urea menggunakan spektrofotometri juga telah divalidasi untuk menetapkan kadar urea dalam lulur. Metode ini linier dengan koefisien korelasi 0,9997, dalam rentang konsentrasi 20 – 120ppm. Batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) urea adalah 3,08 ppm dan 5,729 ppm dan memiliki koefisien variasi (KV) 1,14 – 1,96%. Pada penetapan kadar urea dalam lulur, hanya sampel A saja yang memiliki kandungan urea yaitu sebesar ( $0,59 \pm 0,0026\%$ ).

Kata kunci : asam sterat, agen pengemulsi, humektan, kromatografi gas, spektrofotometri , urea.

XIII + 66 halaman : 11 gambar; 12 tabel.; 5 lampiran.

Daftar Acuan : 36 (1961 – 2010)

## ABSTRACT

Name : Eko Prasetyo  
Program Study : Pharmacy  
Title : Analysis of Stearic Acid and Urea in Body Scrubs

Stearic acid is widely used as an emulsifier when added to a base such as KOH or triethanolamine that makes some of stearic acid changes to the form of its salts. Therefore we need a procedure to determine the total stearic acid content in body scrubs by gas chromatography (GC). In a body scrubs, there are products of urea as humectants added to make the skin smoother. A previous study for the determination of urea in cosmetic preparations using HPLC method is more complicated that it needed an easier and validated method by using spectrophotometry. GC conditions for stearic acid analysis used were temperature programmed with an initial temperature of 170 ° C column, the temperature rise of 2 ° C / min to 190 ° C (hold 2 min), using helium as the carrier gas flow rate of 1.0 ml / min. This method is linear with correlation coefficient of 0.9992, within the concentration range of 202.4 to 1214.4 ppm. The limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) stearic acid is 50.273 ppm and 167.578 ppm and has a coefficient of variation (CV) from 1.83 to 1.99%. Application of this method on two samples show that all samples contain levels of stearic acid with varying levels. Stearic acid concentration on sample A ( $0,51 \pm 0,006$ )% and ( $1,48 \pm 0,0117$ )% in the sample B. Urea using a spectrophotometric analysis has also been validated to determine its content in the body scrubs. This method is linear with correlation coefficient of 0.9997, within the concentration range of 20 – 120 ppm. The limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) of urea is 3.08 ppm and 5.729 ppm and has a coefficient of variation (CV) from 1.14 to 1.96%. In the determination of urea in body scrubs, only sample A contains urea detected at ( $0,59 \pm 0,0026$ )%.

Keywords : emulsifier, humectant, gas chromatography, spectrophotometri., trearic acid, urea.

XIII + 66 pages : 11 figures; 12 tables ; 5 appendices

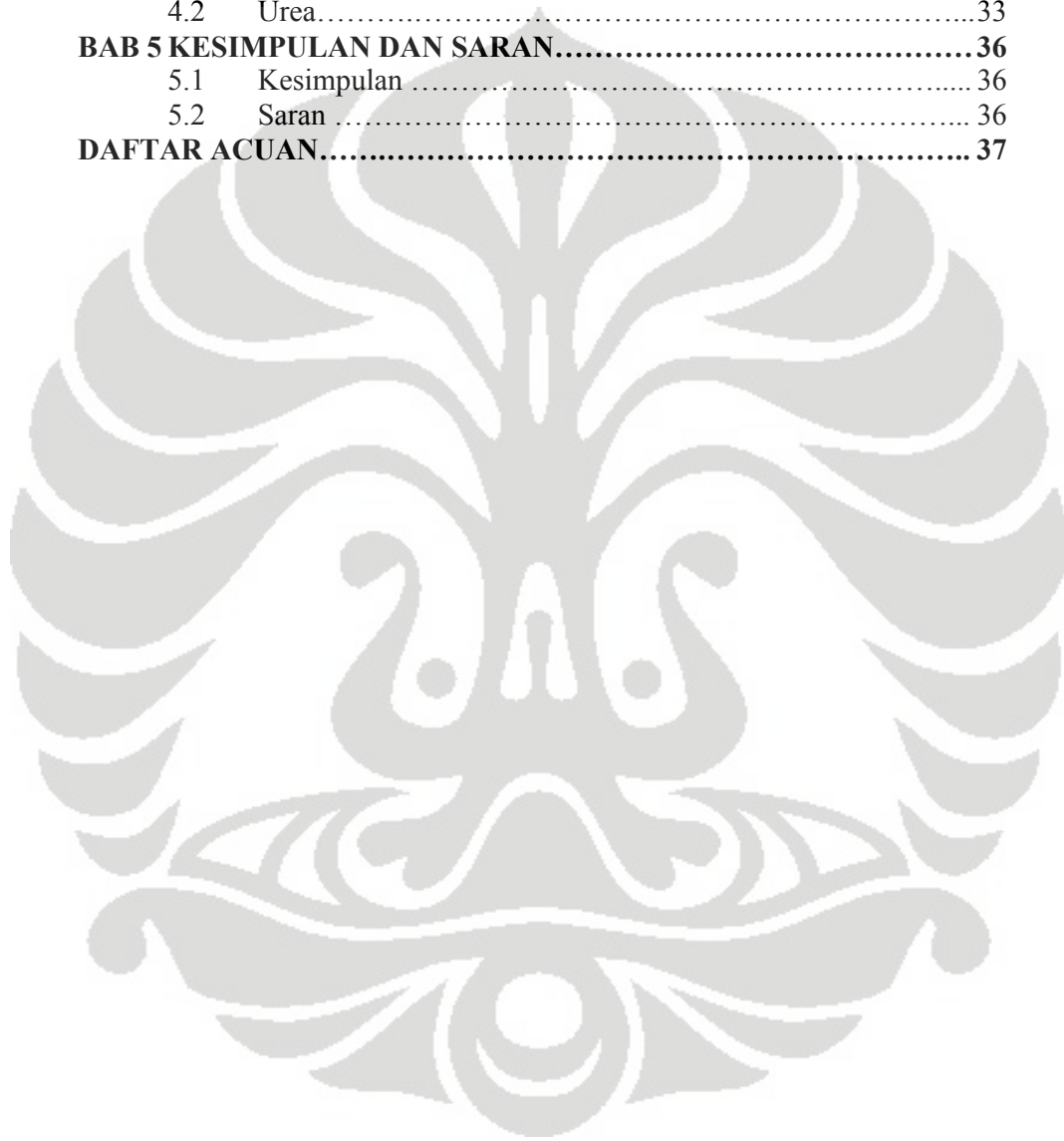
Bibliography : 36 (1961 – 2010)

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>LEMBAR ORISINALITAS</b> .....	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>iv</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH</b> .....	<b>vi</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTACT</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	2
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>3</b>
2.1 Lulur .....	3
2.2 Krim.....	3
2.3 Vanishing Cream.....	4
2.4 Asam Stearat .....	4
2.4.1 Sifat fisikokimia.....	5
2.4.2 Kegunaan.....	5
2.4.3 Metode Analisis.....	6
2.4.4 Perubahan Garam Stearat .....	6
2.5 Urea.....	6
2.5.1 Sifat Fisikokimia.....	7
2.5.2 Kegunaan.....	7
2.5.3 Metode Analisis.....	8
2.6 Kromatografi Gas.....	10
2.7 Spektrofotometri.....	12
2.7.1 Teori Dasar.....	12
2.7.2 Instrumentasi.....	13
2.7.3 Spektroskopi Sinar Tampak.....	14
2.8 Validasi Metode Analisis.....	15
2.8.1 Kecermatan.....	15
2.8.2 Keseksamaan.....	16
2.8.3 Selektivitas.....	16
2.8.4 Linearitas dan Rentang.....	16
2.8.5 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi.....	17
2.8.6 Ketangguhan Metode.....	18
2.8.7 Kekuatan.....	18
<b>BAB 3 METODE PENELITIAN</b> .....	<b>19</b>



3.1	Alat .....	19
3.2	Bahan .....	19
3.3	Cara Kerja .....	20
3.3.1	Asam Stearat .....	20
3.3.2	Urea .....	23
<b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>26</b>
4.1	Asam Stearat.....	28
4.2	Urea.....	33
<b>BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>		<b>36</b>
5.1	Kesimpulan .....	36
5.2	Saran .....	36
<b>DAFTAR ACUAN.....</b>		<b>37</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.1	Struktur kimia asam stearat.....	4
2.2	Struktur kimia urea.....	6
4.1	Alat kromatografi gas GC-17A.....	41
4.2	Sampel lulur yang dianalisa.....	41
4.3	Kromatogram standar asam stearat 90 µg/ml.....	42
4.4	Kurva kalibrasi asam stearat.....	43
4.5	kromatogram upk asam stearat pada kadar 100%.....	44
4.6	kromatogram sampel lulur A.....	45
4.7	kromatogram sampel lulur B.....	46
4.8	gambar alat spektrofotometri UV-VIS.....	47
4.9	gambar spektrum serapan urea pada konsentrasi 60 ppm.....	47
4.10	kurva kalibrasi urea.....	48
4.11	Hasil reaksi urea pada uji presisi.....	48

## DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
4.1	Optimasi waktu esterifikasi.....	49
4.2	Pemilihan kondisi analisis optimum penetapan kadar asam stearat dengan variasi suhu awal kolom dan laju alir gas pembawa.....	50
4.3	Data kurva kalibrasi dan linearitas asam stearat .....	51
4.4	Data batas deteksi dan batas kuantitasi.....	52
4.5	Data uji presisi asam stearat.....	53
4.6	Data uji perolehan kembali asam stearat.....	54
4.7	Penetapan kadar asam stearat dalam lulur.....	55
4.8	Data kurva kalibrasi urea.....	56
4.9	Data batas deteksi dan batas kuantitasi.....	57
4.10	Data presisi urea.....	58
4.11	Data uji perolehan kembali urea.....	59
4.12	Penetapan kadar urea dalam lulur.....	60



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
4.1	Komposisi Vanishing cream.....	61
4.2	Cara memperoleh persamaan regresi linier.....	62
4.3	Cara perhitungan uji presisi.....	63
4.3	Cara perhitungan uji perolehan kembali.....	64
4.4	Cara perhitungan batas deteksi, batas kuantitasi dan linearitas.....	65
4.5	Cara perhitungan kadar zat dalam sampel.....	66

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kulit merupakan organ yang paling luas dari tubuh yang mempunyai fungsi untuk melindungi tubuh dari pengaruh lingkungan (Barel *et al.* 2009). Selain itu kulit juga mempunyai fungsi penting lainnya yaitu merupakan bagian tubuh yang memperlihatkan penampilan kita sehari-hari sehingga banyak orang berpendapat bahwa kulit yang sehat adalah dasar dari kecantikan (Nordenberg, Tamar. 2010). Hal tersebut membuat banyak orang menjaga agar kulitnya tetap sehat. Banyak cara yang dapat digunakan untuk merawat kulit agar tetap sehat, salah satunya adalah dengan menggunakan produk kosmetik yang biasa disebut dengan *skin care cosmetic*. Produk kosmetik yang bertujuan untuk merawat kulit digunakan untuk mendapatkan dan mempertahankan kulit yang halus lembut dan fleksibel (Shai *et al.*, 2009). Salah satu produk kosmetik yang banyak digunakan untuk perawatan kulit adalah lulur atau sering disebut dengan istilah *body scrubs*.

Lulur atau *body scrubs* merupakan sediaan yang dimaksudkan untuk membersihkan dan meremajakan kulit dengan cara mengangkat sel kulit mati (Manohar, 2008). Dengan tujuan tersebut, maka lulur yang beredar dipasaran tersedia dalam bentuk krim karena mudah menyebar pada kulit dan kemudian dengan cepat hilang di dalamnya. Pada formula tradisional untuk krim, fase minyak yang digunakan terdiri dari asam stearat berkualitas tinggi. Asam stearat digunakan dalam krim sebagai emulsifier untuk mendapatkan konsistensi tertentu pada krim dan memberikan efek berkilau pada kulit (Rieger, 2000). Ketika asam stearat digunakan sebagai agen pengemulsi, basa seperti trietanolamin (TEA) atau KOH dalam jumlah yang cukup ditambahkan untuk bereaksi dengan sekitar 8-20% asam stearat dan sebagian asam setarat yang tidak bereaksi akan meningkatkan konsistensi dari krim. Sifat yang dimiliki oleh krim yang mempunyai asam stearat sebagai basisnya adalah lembut dan berkilau karena pembentukan kristal asam stearat (Lachman *et al.*, 1970). Pada penelitian-penelitian sebelumnya, asam stearat dapat dianalisis dengan metode kromatografi

gas (KG) atau kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Kedua metode analisis ini menggunakan proses derivatisasi asam stearat dalam bentuk metil esternya. Asam stearat dalam sediaan krim sebagian diubah menjadi bentuk garamnya sehingga mengakibatkan dalam sediaan krim terdapat garam stearat dan asam stearat. Oleh karena itu perlu dilakukan percobaan untuk memperoleh prosedur penetapan kadar total asam stearat dalam krim tersebut.

Produk lulur yang beredar dipasaran banyak ditambahkan humektan untuk membantu melembabkan kulit. Humektan berfungsi menarik air dari transepidermis ketika digunakan di kulit dan akan meningkatkan hidrasi dari stratum korneum. Urea merupakan salah satu humektan yang biasa digunakan dalam sediaan kosmetik. Urea pada sediaan kosmetik dan terapi kulit digunakan sebagai humectant dengan konsentrasi 10% tetapi pada konsentrasi yang lebih besar (20-30%) dapat menjadi agen keratolitik dengan mengganggu ikatan hidrogen atau protein epidermal (Lynde, 2001). Pada penelitian sebelumnya, urea dalam kosmetik dianalisis menggunakan KCKT (Salvador & Chisvert, 2007). Analisis urea menggunakan KCKT dapat dilakukan dengan derivatisasi post kolom ataupun menggunakan kromatografi fase normal (Kawase *et al*, 1982; Dallet *et al*, 2000). Metode KCKT ini pelaksanaannya lebih rumit dibandingkan dengan spektrofotometri visibel. Oleh karena itu dilakukan percobaan penetapan kadar urea secara spektrofotometri visibel untuk mendapatkan prosedur penetapan kadar urea yang lebih mudah dan terjangkau serta tervalidasi.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

- 1.2.1 Memperoleh kondisi analisis optimum untuk penetapan kadar asam stearat dan urea dalam lulur.
- 1.2.2 Memperoleh metode analisis yang valid untuk penetapan kadar asam stearat dan urea dalam lulur dari kondisi analisis optimum yang diperoleh.
- 1.2.3 Memperoleh kadar asam stearat dan urea dalam lulur dengan menggunakan metode analisis yang telah divalidasi.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Lulur**

Lulur atau yang dikenal sebagai sebagai *body scrubs* adalah suatu formula yang mengandung granul kecil dalam basis pembersih yang dipakai dengan cara mengoleskannya pada kulit untuk menghilangkan sel kulit mati (cosmetic diary, 2010). Lulur juga diartikan sebagai produk perawatan personal yang sedikit kasar yang digunakan untuk menghilangkan sel kulit mati dan membersihkan kulit.

Pada umumnya *body scrubs* mempunyai tiga bahan penting, yaitu *exfoliant*, minyak dan pewangi. *Exfoliant* adalah bahan yang kasar seperti garam, gula, atau ampas kopi yang mengangkat sel kulit mati pada permukaan dan digantikan oleh sel yang lembut dan lebih muda dibawahnya. Minyak berfungsi untuk membuat campuran dapat bersatu sehingga dapat digunakan pada kulit. Pewangi memberikan keharuman setelah menggunakan lulur dan idealnya didapat dari asam lemak esensial yang berkualitas tinggi (Brown, 2010).

#### **2.2 Krim**

Seperi losion, krim adalah kosmetik perawatan kulit yang umum dipakai sejak dahulu. Sejalan dengan perkembangan teknik emulsifikasi dan perubahan dalam perawatan kecantikan, terdapat berbagai macam krim yang dibuat melalui perkembangan tersebut. Selain perkembangan teknik emulsifikasi, variasi krim yang saat ini banyak ditemukan juga merupakan hasil dari perkembangan ilmu kimia permukaan, teknik produksi kosmetik tingkat tinggi, dan perkembangan baru dari perawatan kulit dan kecantikan (Mitsui, 1997).

Krim adalah tipe emulsi dari campuran dua fase yang tidak bercampur, misal minyak dan air, dan dibuat menjadi suatu dispersi yang stabil dengan membuat fase pendispersi dan fase terdispersi menjadi satu dengan bantuan medium pendispersi. Fungsi utama krim adalah untuk mengatur keseimbangan kelembaban, dan menjaga kulit tetap fleksibel melalui suplai air, humektan dan



minyak. Selain itu, fungsi lain krim adalah untuk menstimulasi sirkulasi pada kulit, membersihkan kulit, dan membersihkan sisa-sisa *make-up* (Mitsui, 1997).

Krim sangat mudah digunakan pada kulit dan rentang variasi formulasi yang lebar memungkinkan, Krim dapat dibuat untuk memberikan efek mengkilap, berminyak, lembap, dan mudah tersebar merata, mudah berpenetrasi pada kulit, dan mudah dicuci oleh air. Krim sendiri memiliki komposisi antara air, minyak, dan berbagai humektan sesuai tujuan penggunaan (kosmetik atau pembawa obat), berbagai jenis kulit, kondisi kulit, musim, usia, dan lingkungan (Lachman *et al.*, 1970).

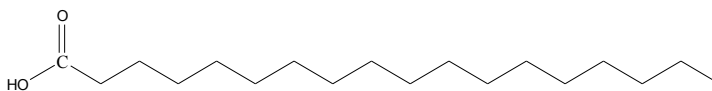
### 2.3 Vanishing Cream

Dinamakan demikian karena krim ini akan tampak lenyap ketika dioleskan pada kulit. Vanishing krim adalah emulsi air dan asam stearat (sebuah alkohol derajat tinggi, asam stearat monogliserida, dll). Untuk memberikan efek lembab, biasanya ditambahkan alkohol polihidrat (gliserin, propilenglikol, PEG, dll). Vanishing krim merupakan emulsi tipe O/W dengan fase minyak antara 10-20% yang didispersikan dalam fase air dan merupakan salah satu tipe krim yang banyak digunakan dalam beberapa tahun belakangan ini (Mitsui, 1997).

Komposisi *vanishing cream* (Rieger, 2000):

Asam stearat	15%
KOH	0,7%
Gliserin	8,0%
Pengharum	q.s.
Pengawet	q.s.
Air	ad 100%

### 2.4 Asam Stearat



Gambar 2.1 Struktur kimia asam stearat

### 2.4.1 Sifat fisikokimia

Pemerian	: hablur padat, warna putih atau kekuningan pucat keras, mengkilap atau serbuk; warna putih atau putih kekuningan. Bau dan rasa lemah mirip lemak
Rumus molekul	: $C_{18}H_{36}O_2$
Kelarutan	: Mudah larut dalam kloroform dan eter, larut dalam etanol (95%), praktis tidak larut dalam air
Berat molekul	: 284,47
Titik leleh	: 54°C (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1980)

### 2.4.2 Kegunaan

Asam stearat merupakan salah satu turunan asam karboksilat dengan rantai panjang. Asam stearat juga merupakan senyawa asam lemak jenuh karena tidak terdapat ikatan rangkap di dalam rantainya.

Asam stearat digunakan secara luas pada formulasi farmasetik baik oral maupun topikal. Asam stearat digunakan dalam formulasi oral sebagai lubrikan tablet dan kapsul, walaupun dapat pula digunakan sebagai pengikat. Dalam formulasi topikal, asam stearat digunakan sebagai agen pengemulsi dan pelarut. Ketika dinetralisasi sebagian dengan basa atau trietanolamin, asam stearat digunakan dalam penyiapan krim. Asam stearat yang dinetralisasi sebagian membentuk basis krim ketika dicampur dengan 5-15 kali beratnya dari air, penampilan dari krim ditentukan dari proporsi basa yang digunakan. Asam stearat juga digunakan secara luas dalam produk makanan dan kosmetik. Konsentrasi asam stearat yang biasa digunakan dalam sediaan krim dan salep berkisar antara 1-20% (Wade & Welter, 1986)

Asam stearat juga digunakan sebagai *emollient* pada formulasi topikal dan kosmetik. Asam stearat digunakan karena memiliki keuntungan melalui efeknya terhadap pelindung kulit dan permeabilitas dengan cara mengubah sifat dari lemak intraseluler atau stratum korneum. *Emollient* bekerja menghaluskan kulit dengan

Universitas Indonesia

cara mengisi ruang antara serpihan kulit dengan droplet minyak. Ketika dikombinasikan dengan agen pengemulsi, *emollient* dapat membantu menahan minyak dan air pada stratum korneum (Lynde, 2001).

### 2.4.3 Metode analisis untuk asam stearat dan garamnya

2.4.3.1 Analisis kalsium stearat menggunakan kromatografi gas dengan detektor FID dengan kolom optima-1 (1.5 mm x 0.25 mm id). Laju alir gas nitrogen 35 ml/min dan suhu terprogram 70°C selama 2 menit lalu di program sampai 130°C dengan kecepatan 30°C/menit. Kalsium stearat diubah terlebih dahulu menjadi asam stearat menggunakan HCl 2M dalam 2-propanol (Ranji *et al*, 2008).



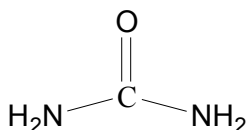
2.4.3.2 Analisis asam lemak bebas menggunakan GC-MS dengan kolom DB-1, panjang 30 meter, suhu kolom 80°C-120°C, laju kenaikan suhu 10°C/menit, suhu injektor 270°C, suhu detektor 280°C, gas pembawa helium, laju alir 40 mL/menit (Prabowo & Muchalal. 2004).

2.4.3.3 Analisis asam stearat menggunakan *High Resolution Gas Chromatography* (HRGC) dengan kolom HP-Carbowax 50 cm dengan diameter dalam 0,2 mm, suhu terprogram dari 150°C sampai 200°C, detektor ionisasi nyala (FID) dengan suhu 300°C dan fase gerak gas Nitrogen dengan laju alir 15 ml/menit (Mulya, 1996).

### 2.4.4 Cara mengubah garam stearat menjadi asam stearat

Mengubah kalium stearat menjadi asam stearat dengan menggunakan campuran H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat – air (2:1) (Oveishi *et al.*, 2006).

## 2.5 Urea



Gambar 2.2 Struktur kimia Urea

### 2.5.1 Sifat fisikokimia

Nama IUPAC	: diaminometanon
Pemerian	: tidak berwarna, sedikit higroskopis, serbuk kristal putih
Rumus Molekul	: $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$
Berat molekul	: 60.06
Kelarutan	: 1:1,5 dalam air dan 1:11 dalam etanol; praktis tidak larut dalam kloroform dan eter
Titik didih	: 132 – 135°C (Brightwell <i>et al</i> , 1986)

### 2.5.2 Kegunaan

Urea secara alami terbentuk dari degradasi protein dalam tubuh manusia. Zat ini dapat ditemukan dalam seluruh organ, jaringan dan cairan tubuh. Konsentrasi urea dalam serum darah berkisar sampai 0,03%, dalam keringat dapat mencapai 0,4% dan dalam urin mencapai 2%. Urea merupakan bagian dari emulsi hidolipid pada permukaan kulit, yang mempunyai fungsi penting (Acces my library, 2010).

Penggunaan urea secara topikal untuk tujuan terapeutik telah dimulai sejak tahun 1932 dalam sediaan krim untuk pengobatan ekzema. Pada tahun 1968 melalui suatu percobaan, urea dilaporkan memiliki efek melembabkan kulit pada bagian stratum korneum. Sejak saat itu, penelitian tentang efek urea pada permukaan kulit semakin banyak dilakukan. Hasil dari penelitian tersebut mendorong peningkatan penggunaan urea sebagai dermatoterapi dan perawatan kulit. Urea memiliki sifat toksisitas sistemik yang rendah dan dapat ditoleransi oleh kulit yang sehat (Acces my library, 2010).

Urea digunakan dalam dunia kosmetik sebagai pelembab kulit. Selain itu urea juga dapat dimanfaatkan sebagai *humectant* yang berguna mengurangi iritasi kulit karena induksi natrium lauril sulfat. Urea digunakan dalam produk dermatologis untuk meningkatkan rehidrasi pada kulit. Urea pada kadar 10%



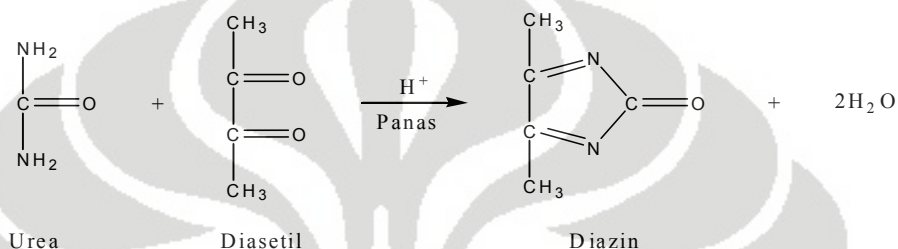
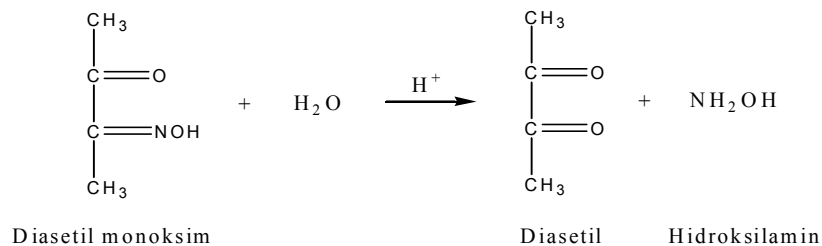
digunakan sebagai *humectants* dengan cara menarik air dari dermis ke epidermis (United States Department of Labor, 2004; Clarke, 2004).

Urea adalah agen penghidrasi yang digunakan untuk mengobati psoriasis, ichthyosis, dan kondisi kulit hiperkeratolitik lainnya. Digunakan sebagai pembawa air dalam minyak (M/A), urea sendiri atau dikombinasikan dengan ammonium laktat menghidrasi stratum korneum dan memperbaiki fungsi pelindung kulit. Urea juga mempunyai sifat keratolitik, biasanya ketika dikombinasikan dengan asam salisilat untuk keratolisis (Toitou, 2007).

### 2.5.3 Metode analisis untuk urea

2.5.3.1 Menggunakan KCKT dengan derivatisasi *post-column*. Sistem deteksi *post-column* terdiri dari tiga reagen, yaitu natrium hipoklorit, natrium nitrit dan iod. Urea yang berasal dari kolom analisis akan diubah menjadi senyawa N-kloramin oleh hipoklorit dan kelebihan hipoklorit akan dihilangkan dengan adanya nitrit. Senyawa N-kloramin yang terbentuk akan bereaksi dengan iod dan akan membentuk triiodida yang dapat diamati pada panjang gelombang 370 nm. Fase gerak yang digunakan adalah air terdesionisasi dengan laju alir 1,0 ml/menit (Kawase *et al.*, 1982).

2.5.3.2 Menggunakan kolorimetri dengan mereaksikan urea dengan senyawa diasetil monoksim sehingga terbentuk suatu senyawa yang berwarna. Metode ini didasarkan pada reaksi Fearon, diasetil berkondensasi dengan urea membentuk kompleks berwarna (*chromogen diazine*). Senyawa diasetil tidak stabil, oleh karena itu biasanya kompleks berwarna tersebut dihasilkan dari sistem reaksi diasetil monoksim dengan asam. Kompleks berwarna tersebut kemudian diukur pada panjang gelombang 525 nm (Burtis & Ashwood 1999; Beale & Croft 1961).



2.5.3.3 Berdasarkan penguraian urea menjadi  $\text{N}_2$  karena suhu dengan menggunakan logam oksida dan  $\text{CO}_2$  di atmosfer (Francis *et al*, 2002).

2.5.3.4 Menggunakan spektrofotometri yang meliputi penambahan bromat yang diketahui kadarnya dalam medium asam dan diikuti dengan penentuan residu brom dan klor yang bereaksi dengan metil orange. Pengukuran diukur pada panjang gelombang 505 nm. Metil orange sangat rentan teroksidasi menjadi produk yang tidak berwarna dalam medium asam. Brom dan klor yang terbentuk dari reaksi  $\text{KBrO}_3$  dalam suasana asam akan bereaksi dengan metil orange dan reaksi ini akan membuat larutan tidak berwarna.



Metode penentuan kadar urea berdasarkan efek inhibisinya dari  $\text{KBrO}_3$  dan  $\text{HCl}$  untuk membentuk klor dan brom (Bojic *et al*, 2008).

## 2.6 Kromatografi Gas

Kromatografi adalah teknik pemisahan suatu campuran menjadi komponen-komponennya yang didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen campuran tersebut diantar dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Terjadinya pemisahan komponen-komponen dalam campuran tersebut disebabkan karena adanya perbedaan afinitas komponen-komponen tersebut terhadap fase diam dan fase gerak yang berada dalam kesetimbangan yang dinamis. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)

Kromatografi gas adalah suatu metode analisis senyawa yang bersifat atsiri dengan melewati gas yang bertindak sebagai fase gerak melalui fase diam yang berupa padatan atau cairan. Bila fase diamnya adalah padatan maka disebut kromatografi gas-padat dan bila fase diamnya adalah cairan maka disebut kromatografi gas-cair. Kromatografi gas dapat digunakan untuk analisa senyawa yang sukar menguap setelah dilakukan reaksi derivatisasi dengan cara mengubah atau memodifikasi struktur molekulnya (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995; McNair & Bondli,1997).

Pada kromatografi gas-padat (KGP), pemisahan yang terjadi didasarkan pada sifat penjerapan komponen-komponen pada fase diam padat. Fase diam padat yang biasanya digunakan adalah berupa zat penjerap yang aktif seperti alumina, silica gel, atau karbon. Kromatografi gas-padat memiliki aplikasi yang terbatas karena retensi yang semi permanen dari olekul-molekul polar dan puncak elusi yang sangat berekor merupakan konsekuensi dari proses penjerapan yang bersifat nonlinier. Oleh karena itu teknik ini jarang digunakan kecuali untuk pemisahan senyawa-senyawa gas tertentu yang berbobot molekul rendah (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995; McNair & Bondli,1997).

Pada kromatografi gas-cair (KGC), pemisahan terjadi berdasarkan pada partisi komponen-komponen sampel yang masuk ke dan keluar dari lapisan zat cair. Banyaknya macam fase cair yang dapat digunakan sampai suhu 400°C

mengakibatkan kromatografi gas-cair merupakan bentuk kromatografi yang paling serba guna dan selektif. Kromatografi gas-cair dapat digunakan untuk menganalisis gas, zat padat dan zat cair. Fase cair yang digunakan berupa lapisan tipis zat cair pada zat padat yang inert. Satu-satunya pembatas pada pemilihan cairan yang digunakan ialah bahwa zat cair itu harus stabil dan tidak atsiri pada kondisi kromatografi. Besarnya factor kapasitas dan waktu tahanannya zat dalam suatu kolom kromatografi gas-cair tergantung dari zat terlarut spesifik, fase cair spesifik, jumlah fase cair, suhu dan laju aliran gas (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995; McNair & Bondli, 1997).

Kromatografi gas dapat digunakan untuk analisa kualitatif dan kuantitatif. Untuk analisa kualitatif dilakukan dengan cara membandingkan waktu retensi dari komponen yang kita analisa dengan waktu retensi zat baku pada kondisi analisa yang sama. Untuk analisa kuantitatif dilakukan dengan cara perhitungan relative dari tinggi atau luas puncak kromatogram komponen yang dianalisa terhadap zat baku pembanding yang di analisa terhadap total luas puncak jika tidak digunakan metode baku luar ataupun baku dalam. (McNair & Bondli, 1997)

Pemisahan yang terjadi pada analisis dengan kromatografi gas dipengaruhi oleh efisiensi kolom dan efisiensi pelarut. Efisiensi kolom menentukan pelebaran puncak kromatogram. Efisiensi kolom dapat diukur dengan menghitung jumlah lempeng teoritis. *High equivalent theoretical plate* (HETP) adalah panjang kolom yang diperlukan untuk mencapai kesetimbangan komponen cuplikan diantara fase gerak yang bergerak dan fase cair yang diam. Makin banyak jumlah lempeng teoritis, makin kecil HETP, maka efisiensi kolom meningkat dan pemisahan yang terjadi akan semakin baik. Efisiensi pelarut diukur dengan menghitung retensi relatif ( $\alpha$ ). Retensi relatif adalah ratio waktu retensi yang disesuaikan dengan ratio koefisien partisi. Kelebihan pemisahan suatu campuran dengan kromatografi gas adalah bahwa senyawa yang mempunyai titik didih yang sama dapat dipisahkan secara mudah dengan memilih fase diam yang sesuai. (Brightwell, 1986; Jennings *et al*, 1987)



Pemisahan yang sebenarnya dari dua puncak yang berurutan diukur dengan resolusi atau daya pisah. Resolusi merupakan suatu ukuran keefisienan kolom dan pelarut yang dapat menerangkan sempitnya puncak dan juga pemisahan antara dua maksimum puncak. Resolusi didefinisikan sebagai jarak antara dua puncak di bagi dengan jumlah lebar masing-masing puncak dengan diukur dari alas puncak. Bila nilai resolusi adalah 1 maka kesempurnaan pemisahan dua puncak adalah sebesar 98% dan bila resolusi bernilai 1,5 maka kesempurnaan pemisahan dua puncak adalah 99,7%. (Brightwell, 1986; Jennings *et al*, 1987)

## **2.7 Spektrofotometri UV-VIS** (Christian, 1986; Hendayana *et al*, 1994).

### **2.7.1 Teori dasar**

Secara mendasar, metode spektroskopi didasarkan pada interaksi antara cahaya dengan materi. Spektrofotometri serapan merupakan pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Penyerapan sinar tampak atau ultraviolet oleh suatu molekul dapat menyebabkan terjadinya eksitasi molekul tersebut dari tingkat energi dasar (*ground stated*) ke tingkat energi yang lebih tinggi (*excited stated*). Pengabsorbsian sinar ultraviolet atau sinar tampak oleh suatu molekul umumnya menghasilkan eksitasi elektron *bonding*, akibatnya panjang gelombang maksimum dapat dikorelasikan dengan jenis ikatan yang ada di dalam molekul yang sedang diselidiki.

Semua senyawa organik mampu mengabsorpsi cahaya, sebab semua senyawa organik mengandung elektron valensi yang dapat dieksitasi ke tingkat energi yang lebih tinggi. Pengabsorbsian sinar ultraviolet dan sinar tampak yang panjang gelombangnya lebih besar, terbatas pada sejumlah gugus fungsional (disebut kromofor) yang mengandung elektron valensi dengan energi eksitasi rendah.

Radiasi elektromagnetik (REM) adalah suatu bentuk energi cahaya yang disebarkan sebagai gelombang transversal dan bergetar secara tegak lurus dengan arah penyebaran. REM mempunyai sejumlah tertentu energi. Satuan energi dari

**Universitas Indonesia**

radiasi ini disebut foton, yang sering dihubungkan dengan panjang gelombang atau frekuensi. Besarnya energi foton berbanding lurus dengan frekuensi dari REM yang bersangkutan. Hubungan antara energi dengan panjang gelombang dilukiskan sebagai:

$$E = h\nu = hc/\lambda$$

dengan,

$E$  = energi cahaya (erg)

$h$  = konstanta Planck ( $6,6 \times 10^{-27}$  erg/detik)

$\nu$  = frekuensi (Hertz)

$c$  = kecepatan cahaya ( $3 \times 10^{10}$  cm/detik)

$\lambda$  = panjang gelombang (nm)

Daya dari suatu berkas radiasi akan berkurang sehubungan dengan jarak yang ditempuhnya melalui medium penyerap. Daya tersebut juga akan berkurang sehubungan dengan kadar molekul atau ion yang terserap dalam medium tersebut. Penurunan daya radiasi monokromatis yang melalui medium penyerap yang homogen dinyatakan secara kuantitatif oleh Hukum Beer.

$$A = \log 1/T = abc = \epsilon bc$$

dengan ,

$A$  = serapan

$T$  = transmitans

$a$  = daya serap (L/g.cm)

$b$  = panjang sel (cm)

$c$  = kadar (g/L, mol/L)

$\epsilon$  = daya serap molar (L/mol.cm)

Penyimpangan dari Hukum Beer dapat disebabkan oleh variabel kimia atau instrumen. Kegagalan Hukum Beer dapat disebabkan oleh perubahan kadar molekul terlarut sebagai akibat asosiasi molekul terlarut atau asosiasi antara molekul terlarut dan molekul pelarut, atau disosiasi atau ionisasi. Penyimpangan lain dapat disebabkan oleh pengaruh instrumen seperti radiasi polikromatis, pengaruh lebar celah, atau cahaya yang menyimpang. Supaya Hukum Beer dapat

dipakai dengan baik, maka konsentrasi harus rendah, zat yang diukur harus stabil, cahaya yang dipakai harus monokromatis, dan larutan yang diukur harus jernih.

### **2.7.2 Instrumentasi**

Instrumen dasar dari spektrofotometer UV-Vis terdiri dari sumber radiasi, monokromator, tempat cuplikan, detektor, dan rekorder.

#### **2.7.2.1 Sumber radiasi**

Sumber radiasi yang paling umum digunakan pada daerah cahaya tampak adalah lampu tungsten, sedangkan untuk daerah ultraviolet digunakan lampu deuterium.

#### **2.7.2.2 Monokromator**

Suatu monokromator terdiri dari lensa atau cermin untuk memusatkan radiasi pada celah pintu masuk dan keluar untuk membatasi radiasi yang tidak dikehendaki dan membantu mengendalikan kemurnian spektrum dari radiasi yang dipancarkan, dan suatu medium dispersi untuk memisahkan panjang gelombang radiasi yang polikromatis dari sumber radiasi. Ada dua jenis dasar elemen dispersi, yaitu prisma dan grating.

#### **2.7.2.3 Tempat cuplikan**

Tempat cuplikan tentunya harus transparan pada daerah panjang gelombang pengukuran. Tempat cuplikan yang dipakai pada spektrofotometer cahaya tampak dan ultraviolet biasanya berupa kuvet dengan ketebalan 1 cm.

#### **2.7.2.4 Detektor**

Detektor bervariasi sesuai dengan daerah panjang gelombang pengukuran. Sebuah tabung foto atau sel foto yang terdiri dari sebuah anoda dan katoda *photoemissive* umumnya digunakan pada daerah cahaya tampak dan ultraviolet.

#### **2.7.2.5 Rekorder**

Pada kebanyakan peralatan spektrofotometri yang telah menggunakan teknologi maju, peran pengolahan data dilakukan oleh suatu alat pengolah data (*data processor*) atau komputer.

### 2.7.3 Spektroskopi sinar tampak

Metode-metode yang tergolong spektroskopi didasarkan pada interaksi antara zat kimia dengan energi, biasanya energi cahaya. Metode spektroskopi sinar tampak didasarkan pada penyerapan sinar tampak oleh suatu larutan berwarna. Oleh karena itu metode ini dikenal juga sebagai metode kolorimetri. Hanya larutan senyawa berwarna yang dapat ditentukan dengan metode ini. Senyawa tidak berwarna dapat dibuat berwarna dengan mereaksikannya dengan pereaksi yang menghasilkan senyawa berwarna (Hendayana *et al*, 1994).

Ruang lingkup spektroskopi serapan dapat diperluas secara signifikan dengan penggunaan reaksi warna, seringkali disertai dengan peningkatan secara bersamaan pada sensitivitas dan atau selektivitas. Reaksi warna digunakan untuk memodifikasi spektrum dari suatu molekul pengabsorpsi sehingga dapat dideteksi pada daerah sinar tampak, terpisah dengan komponen-komponen lain yang mungkin mengganggu pengukuran pada daerah ultraviolet. Lebih dari itu, modifikasi secara kimia dapat digunakan untuk mengubah suatu molekul yang tidak mengabsorpsi menjadi suatu derivat stabil yang dapat mengabsorpsi sinar tampak (Brightwell, 1986).

## 2.8 Validasi Metode Analisis (Harmita, 2006)

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

### 2.8.1 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 (*spiked-placebo recovery*) atau metode penambahan baku (*standard addition method*). Dalam metode simulasi, sejumlah analit bahan murni ditambahkan ke dalam campuran bahan pembawa sediaan farmasi (placebo) lalu campuran tersebut dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan (kadar yang sebenarnya). Dalam metode penambahan baku, sampel dianalisis lalu sejumlah tertentu analit yang diperiksa ditambahkan ke dalam sampel dicampur dan dianalisis lagi. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya (hasil yang diharapkan). Dalam kedua metode tersebut, persen perolehan kembali dinyatakan sebagai rasio antara hasil yang diperoleh dengan hasil yang sebenarnya. Persen perolehan kembali dapat ditentukan dengan cara membuat sampel placebo (eksipien obat, cairan biologis) kemudian ditambah analit dengan konsentrasi tertentu (biasanya 80% sampai 120% dari kadar analit yang diperkirakan), kemudian dianalisis dengan metode yang akan divalidasi.

### **2.8.2 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). Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi 2% atau kurang. Percobaan keseksamaan dilakukan terhadap paling sedikit enam replika sampel yang diambil dari campuran sampel dengan matriks yang homogen.

### **2.8.3 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 cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan.

#### 2.8.4 Linearitas dan rentang

Linearitas adalah kemampuan metoda 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.

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. Sedangkan nilai  $a$  menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan. Parameter lain yang harus dihitung yaitu simpangan baku residual ( $S_y$ ), sehingga nantinya akan diperoleh standar deviasi fungsi regresi ( $S_{X_0}$ ) dan koefisien variasi fungsi regresi ( $V_{X_0}$ ).

Syarat-syarat dari kelinearan garis yaitu :

1. Koefisien korelasi ( $r$ )  $\geq 0,9990$
2. Jumlah kuadrat sisa masing-masing titik temu ( $r_i$ ) mendekati nol (0), ( $r_i$ )<sup>2</sup> sekecil mungkin  $\approx 0$ .  $r_i$  diperoleh dari :  $r_i = y_i - (bx_i + a)$
3. Koefisien fungsi regresi ( $V_{X_0}$ )  $\leq 2,0\%$  untuk sediaan farmasi dan  $\geq 5,0\%$  untuk sediaan biologi.
4. Kepekaan analisis ( $\Delta y/\Delta x$ )

$$\Delta y/\Delta x = \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1} \approx \frac{y_3 - y_2}{x_3 - x_2} \approx \frac{y_n - y_{n-1}}{x_n - x_{n-1}}$$

#### 2.8.5 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. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai  $b$  pada persamaan garis linier  $y = a + bx$ , sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual ( $Sy/x$ ).

#### **2.8.6 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, instrumen, bahan pereaksi, suhu, hari yang berbeda, dan lain-lain. Ketangguhan biasanya dinyatakan sebagai tidak adanya pengaruh perbedaan operasi atau lingkungan kerja pada hasil uji. Ketangguhan metode merupakan ukuran ketertiruan pada kondisi operasi normal antara lab dan antar analisis.

#### **2.8.7 Kekuatan (*robustness*)**

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

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 3.1.2 Kromatografi gas Shimadzu model GC 17A yang dilengkapi detektor ionisasi nyala (FID), Kolom kapiler DB-wax dengan panjang 50 meter, diameter dalam 0,25 mm
- 3.1.3 Pemroses data Class GC Solution
- 3.1.4 Integrator CBM 102
- 3.1.5 Microsyringe 5  $\mu$ l (Hamilton Co.Nevada)
- 3.1.6 Spektrofotometri UV-VIS (Jasco V-530)
- 3.1.7 Sentrifugator (Kubota)
- 3.1.8 Peralatan refluks
- 3.1.9 Alat-alat gelas

#### **3.2 Bahan**

- 3.2.1 Standard Asam Stearat (Cognis)
- 3.2.2 Standard Urea (Merck)
- 3.2.3 n-Heksan p.a (Merck)
- 3.2.4 Metanol p.a (Merck)
- 3.2.5 HCl p.a (Merck)
- 3.2.6 Tiosemikarbazid (Merck)
- 3.2.7 FeCl<sub>3</sub> (Merck)
- 3.2.8 Asam Sulfat (Merck)
- 3.2.9 Asam Fostat (Merck)
- 3.2.10 Diasetil monoksim (Merck)
- 3.2.11 aquadest
- 3.2.12 Dua buah sampel lulur
  - 3.2.12.1 Sampel A adalah sampel yang didapat dari pembimbing
  - 3.2.12.2 Sampel B adalah lulur merk SAKE yang di beli di daerah blok M



### **3.3 Cara Kerja**

#### **3.3.1 Asam Stearat**

##### **3.3.1.1 Optimasi lama estrifikasi**

Ditimbang sebanyak kurang lebih 20 mg standar asam stearat, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan dilarutkan dengan heksan sampai batas. Diperoleh larutan asam stearat dengan konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan diatas, diambil 10 ml dan diesterifikasi dengan metanol menggunakan katalis HCl 3N kemudian refluks dengan variasi waktu esterifikasi, yaitu 15,30 dan 60 menit. Sebanyak 1 $\mu$ L dari lapisan heksan di suntikkan ke dalam alat kromatografi gas kemudian dibandingkan luas puncak yang diperoleh. Waktu esterifikasi optimum yakni yang memberikan luas puncak asam stearat terbesar.

##### **3.3.1.2 Pencarian kondisi analisis**

Sebanyak 1,0  $\mu$ L larutan standar asam stearat termetilasi dengan konsentrasi 100 ppm disuntikkan pada kromatografi gas. Parameter yang diubah adalah suhu awal kolom dan laju alir gas pembawa.

Elusi dengan suhu terprogram dilakukan dengan variasi suhu awal kolom yaitu 150°C, 160°C atau 170°C. Dielusi dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai mencapai suhu 190°C dan dipertahankan selama 2 menit. Elusi dilakukan dengan variasi laju alir gas pembawa 1,0; 1,5; dan 2 mL/menit. Jika telah diperoleh kondisinya, maka kondisi tersebut digunakan untuk analisis. Untuk semua elusi, suhu injektor dan detektor diatur pada suhu 250°C. Masing-masing kondisi dicatat waktu retensinya dan dihitung jumlah lempeng teoritisnya (N). Kondisi yang terpilih adalah kondisi yang mempunyai harga plat teoritis (N) tinggi dan HETP kecil.

##### **3.3.1.3 Validasi Metode Analisis**

###### **3.3.1.3.1 Pembuatan kurva kalibrasi dan uji linearitas**

Larutan asam stearat termetilasi dengan konsentrasi 200, 400, 600, 800, 1000, dan 1200 ppm disuntik sebanyak 1,0  $\mu$ L ke dalam ruang suntik kemudian

dilakukan elusi dengan kondisi analisis terpilih. Luas puncak asam stearat termetilasi diperoleh dan dicatat kemudian dibuat persamaan garis yang terjadi dari hubungan konsentrasi dengan luas puncak.

#### **3.3.1.3.2 Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantisasi (LOQ)**

Batas deteksi dan batas kuantisasi ditentukan dengan metode perhitungan statistik, melalui persamaan regresi linier berdasarkan kurva kalibrasi standar yang telah dibuat sebelumnya.

#### **3.3.1.3.3 Uji Presisi**

Digunakan larutan standar 200, 600, dan 1200 ppm. Sebanyak 1,0  $\mu\text{L}$  larutan dari masing-masing konsentrasi tersebut disuntikkan pada kromatografi gas dan dianalisis dengan menggunakan kondisi analisis optimum terpilih dan diulang sebanyak enam kali pengukuran dan kemudian dihitung nilai simpangan baku relatif atau koefisien variasinya (KV). Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi (KV) 2% atau kurang.

#### **3.3.1.3.4 Uji Perolehan Kembali (UPK)**

Uji perolehan kembali dilakukan dengan membuat basis krim yang telah diketahui kadar sebenarnya. Formulasi dari krim yang dibuat sebagai berikut : asam stearat 5%, setil alcohol 3 %, isopropyl miristat 3%, propilen glikol 15%, gliseril monostearat 2%, KOH 0,7%, aquadest ad 100%. Formulasi krim tersebut dipakai untuk UPK kadar 100%. Untuk kadar UPK 80% dan 100% digunakan asam stearat sebanyak 4% dan 6% dengan komposisi bahan lain yang sama.

Gliserin dan Trietanolamin dilarutkan dalam aquadest yang telah dipanaskan hingga suhu 70°C. Campuran lalu diaduk hingga larut sempurna dan homogen. Asam stearat, Setil alkohol, dan Isopropil miristat dicampur dalam tabung sentrifuge lalu dipanaskan pada suhu 70°C hingga mencair. Setelah semua larut, fase air dan minyak dicampurkan di dalam tabung sentrifuge dan divortex hingga homogen. Campuran ini selanjutnya disebut dengan basis krim.

Sebanyak 1 gram krim ditimbang dan diekstraksi dengan cara menambahkan 2 ml HCl 6N dan 2 ml heksan ke dalam krim dan kemudian dipanaskan pada suhu 70°C dan biarkan krim mencair. Vortex selama 5 menit dan sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Bagian heksan disari dengan 7 ml heksan sebanyak tiga kali dan dikumpulkan pada labu ukur 25,0 ml dan dicukupkan volumenya dengan heksan hingga batas. Pipet 3 ml larutan tersebut lalu masukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan dicukupkan volumenya dengan heksan hingga batas. Sebanyak 10 ml larutan heksan tersebut dicampurkan dengan 10 ml HCl 3N (dalam metanol) kemudian refluks selama waktu esterifikasi terpilih. Bagian heksan disuntik ke ruang suntik sebanyak 1,0  $\mu$ L dengan kondisi analisis terpilih. Luas puncak asam stearat termetilasi dicatat kemudian dihitung persentase uji perolehan kembali asam stearat.

#### **3.3.1.4 Uji Kualitatif dan Kuantitatif Sampel Lulur**

Sampel lulur ditimbang kurang lebih 1g, kemudian dilakukan ekstraksi pada sampel tersebut seperti pada uji UPK. Hasil ekstraksi tersebut dikumpulkan pada labu ukur 25,0 ml dan dicukupkan volumenya dengan heksan hingga batas. Sebanyak 10 ml larutan heksan tersebut dicampurkan dengan 10 ml HCl 3N (dalam metanol) kemudian refluks selama waktu esterifikasi terpilih. Bagian heksan disuntik ke ruang suntik sebanyak 1,0  $\mu$ L dengan kondisi analisis terpilih. Luas puncak asam stearat termetilasi dicatat kemudian dihitung persen kadar asam stearat dalam lulur.

##### **3.3.1.4.1 Analisis kualitatif**

Sebanyak 1,0  $\mu$ L larutan sampel dilakukan elusi dengan menggunakan kondisi analisis terpilih. Waktu retensi sampel dicatat dan dibandingkan terhadap waktu retensi standar

##### **3.3.1.4.2 Analisis kuantitatif**

Sebanyak 1,0  $\mu$ L larutan sampel dilakukan elusi dengan menggunakan kondisi analisis terpilih. Luas puncak dicatat dan dihitung kadarnya berdasarkan persamaan kurva kalibrasi yang telah diperoleh.

### **3.3.2 Urea**

#### **3.3.2.1 Penyiapan larutan**

##### **3.3.2.1.1 Pembuatan larutan asam**

Larutkan 1 gram  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  dalam 30 ml aquadest tambahkan 20 ml asam fosfat

##### **3.3.2.1.2 Pembuatan larutan asam campuran**

Larutkan 100 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dalam 400 ml aquadest tambahkan 0,3 ml larutan asam diatas

##### **3.3.2.1.3 Pembuatan larutan warna A**

Larutkan 2 gram diasetil monoksim dalam aquadest hingga 100 ml menggunakan labu ukur.

##### **3.3.2.1.4 Pembuatan larutan warna B**

Larutkan 0,5 gram tiosemikarbazid dalam aquadest hingga 100 ml dengan menggunakan labu ukur.

##### **3.3.2.1.5 Pembuatan larutan warna campuran**

Campurkan 35 ml larutan warna A dengan 35 ml larutan warna B dan tambahkan aquadest hingga 500 ml.

##### **3.3.2.1.6 Pembuatan larutan uji**

Sebanyak 0,2 ml larutan urea dengan konsentrasi tertentu dicampurkan dengan 6 ml reagen warna yang disiapkan ketika akan melakukan analisis yaitu dengan mencampurkan aquadest, larutan asam campuran dan larutan warna campuran dengan rasio 1:1:1. Larutan tersebut dicampur di dalam tabung reaksi dan dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit. Dinginkan selama 5 menit dan ukur serapan pada panjang gelombang 525 nm.

#### **3.3.2.2 Validasi Metode Analisis**



#### **3.3.2.2.1 Pembuatan kurva kalibrasi dan uji linearitas**

Sebanyak 10 mg standard urea ditimbang dengan seksama dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml kemudian dilarutkan dengan air dan dicukupkan volumenya hingga batas. Diperoleh larutan induk urea dengan konsentrasi 200 ppm. Dari larutan induk tersebut selanjutnya dilakukan serangkaian pengenceran hingga diperoleh 6 larutan urea dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100, dan 120 ppm.

Urea dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100, dan 120 ppm diberikan perlakuan yang sama seperti pada larutan uji kemudian di ukur serapannya dan kemudian dibuat kurva kalibrasinya sehingga akan didapatkan persamaan regresi linier antara absorbansi dengan konsentrasi urea dan dapat dihitung linieritasnya

#### **3.3.2.2.2 Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantisasi (LOQ)**

Batas deteksi dan batas kuantisasi ditentukan dengan metode perhitungan statistik, melalui persamaan regresi linier berdasarkan kurva kalibrasi standar yang telah dibuat sebelumnya.

#### **3.3.2.2.3 Uji Presisi**

Digunakan tiga konsentrasi larutan standar yaitu 20, 60 dan 120 ppm. Larutan urea dianalisis sebanyak enam kali pengukuran dan kemudian dihitung nilai simpangan baku relatif atau koefisien variasinya (KV). Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi (KV) 2% atau kurang.

#### **3.3.2.2.4 Uji Perolehan Kembali**

Uji perolehan kembali dilakukan dengan membuat basis krim yang ditambahkan analit. Basis krim dibuat dengan komposisi sebagai berikut : asam stearat 5%, Setil alkohol 3%, Isopropil miristat 3%, Gliserin 8 %, Gliseril monostearat 2%, Trietanolamin 0,7 %, aquadest ad 100%.

Gliserin dan Trietanolamin dilarutkan dalam aquadest yang telah dipanaskan hingga suhu 70°C. Campuran lalu diaduk hingga larut sempurna dan homogen. Asam stearat, Setil alkohol, dan Isopropil miristat dicampur dalam tabung sentrifuge lalu dipanaskan pada suhu 70°C hingga mencair. Setelah semua larut, fase air dan minyak dicampurkan di dalam tabung sentrifuge dan divortex hingga homogen. Campuran ini selanjutnya disebut dengan basis krim.

Dibuat larutan urea dengan konsentrasi 10000 ppm. Sebanyak 0,5; 0,6 dan 0,7 ml ditambahkan ke dalam 1 gram placebo krim dan diekstraksi dengan cara menambahkan 2 ml kloroform dan 2 ml aquadest ke dalam krim dan kemudian divortex selama 5 menit hingga mencair dan sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Bagian air disari dengan 10 ml air sebanyak tiga kali dan dikumpulkan pada labu ukur 100,0 ml. larutan tersebut kemudian di uji dengan cara pembuatan larutan uji urea kemudian dicatat serapannya dan dihitung konsentrasi dan uji perolehan kembalinya.

### 3.3.2.3 Penetapan Kadar Urea dalam Sampel

Sampel lulur ditimbang kurang lebih 500 mg, kemudian ekstraksi pada sampel tersebut seperti pada uji UPK. Hasil penyarian tersebut digunakan untuk analisis urea dan absorbansinya diukur pada panjang gelombang terpilih kemudian dihitung kadarnya menggunakan persamaan regresi linier yang didapatkan pada pembuatan kurva kalibrasi.

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui kadar asam stearat dan urea yang terkandung dalam lulur. Asam stearat dalam lulur digunakan sebagai basis dan digunakan untuk mengatur konsistensi dan efek berkilau dari suatu sediaan krim. Asam stearat dalam sediaan krim dapat digunakan sebagai emulsifier jika ditambahkan suatu basa seperti trietanolamin (TEA) atau KOH sehingga sebagian dari asam stearat berubah menjadi garam stearat. Oleh karena itu dilakukan percobaan untuk memperoleh prosedur penetapan kadar total asam stearat dalam lulur. Hal ini disebabkan oleh produk kosmetik yang tidak wajib mencantumkan komposisi bahan yang terkandung di dalamnya. Adapun urea ditambahkan ke dalam sediaan lulur untuk membantu melembabkan kulit dengan cara menarik air dari transepidermis ketika digunakan dan akan meningkatkan hidrasi dari stratum korneum. Pada penelitian sebelumnya, urea dalam kosmetik dianalisis menggunakan KCKT. Analisis urea menggunakan KCKT dapat dilakukan dengan derivatisasi post kolom ataupun menggunakan kromatografi fase normal. Metode KCKT ini pelaksanaannya lebih rumit dibandingkan dengan spektrofotometri visibel. Oleh karena itu dilakukan percobaan penetapan kadar urea secara spektrofotometri visibel untuk mendapatkan prosedur penetapan kadar urea yang lebih mudah dan terjangkau serta tervalidasi.

Pada analisis asam stearat digunakan Kromatografi gas Shimadzu GC-17A yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala (FID), kolom kapiler VB-Wax 60 m x 0,32 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ , gas pembawa helium. Pemilihan metode dengan kromatografi gas adalah berdasarkan kegunaan kromatografi gas yang baik untuk pemisahan dan identifikasi semua jenis senyawa-senyawa organik terutama yang mudah menguap. Asam stearat mempunyai titik didih yang tinggi sehingga tidak dapat dianalisis oleh kromatografi gas. Hal ini disebabkan oleh adanya ikatan hidrogen yang membuat titik didih asam stearat menjadi tinggi. Untuk menurunkan titik didih asam stearat maka perlu dilakukan derivatisasi untuk menghilangkan gugus hidroksida sehingga tidak terdapat ikatan hidrogen. Salah

satu cara mendrivatisasi asam stearat adalah dengan cara esterifikasi dengan alkohol rantai pendek sehingga gugus hidroksida yang terdapat dalam asam stearat dapat disubstitusi dengan gugus alkil pada alkohol tersebut. Hal ini menyebabkan titik didih asam stearat turun sehingga dapat dianalisis menggunakan kromaografi gas.

Detektor ionisasi nyala (*Flame Ionization Detector* = FID) dipilih sebagai detektor karena dapat mendeteksi hampir semua senyawa organik. Di samping itu, FID memiliki respons yang sangat peka dan teliti. Pemilihan penggunaan kolom kapiler adalah untuk mendapatkan efisiensi pemisahan kolom yang baik. Kolom kapiler memiliki diameter dalam pada rentang 0,10– 0,53 mm. Semakin sempit diameter kolom, maka efisiensi pemisahan kolom semakin besar atau puncak kromatogram yang dihasilkan semakin tajam. Pemilihan gas pembawa disesuaikan dengan jenis detektor yang digunakan. Untuk detektor FID, gas pembawa yang dapat digunakan adalah helium, nitrogen, dan hidrogen (Gandjar & Rohman, 2007)

Pengukuran kadar urea dilakukan secara kolorimetri berdasarkan metode Fearon dengan diasetilmonoksim (DAM) sebagai pereaksi. Metode tersebut dipilih karena spesifik, presisi dan akurasi yang baik serta sensitifitasnya tinggi. Selain itu, metode Fearon lebih sederhana dalam pelaksanaannya dibandingkan metode enzimatik (Beale & Croft 1961; Burtis &, Ashwood 1999; Butler, dkk. 1981). Metode Fearon berdasarkan pada reaksi urea dengan diasetilmonoksim (DAM) membentuk kompleks berwarna yang diukur serapannya pada panjang gelombang optimum 525 nm. Pada reaksi tersebut diasetilmonoksim terhidrolisis menjadi diasetil dan hidrosilamin. Kemudian diasetil akan bereaksi dengan urea membentuk kompleks diazin yang memberikan warna merah muda. Warna yang terbentuk kurang stabil, sehingga perlu ditambahkan larutan katalisator yang bersifat asam untuk meningkatkan stabilitas dan intensitas warna yang terbentuk. Reaksi tersebut juga akan berjalan lebih cepat bila terjadi peningkatan suhu, suhu optimum yang menghasilkan intensitas warna paling baik adalah 99-100,5°C (Beale & Croft 1961; Burtis & Ashwood 1999).



## **4.1 Asam stearat**

### **4.1.1 Optimasi waktu esterifikasi**

Dilakukan optimasi dengan variasi lama waktu esterifikasi. Dari hasil analisis, terlihat bahwa waktu esterifikasi optimum adalah pada menit 30 dengan luas area 22107  $\mu\text{V/s}$ . Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4.1

Optimasi kondisi analisis dilakukan untuk meyakinkan bahwa semua asam stearat yang ada telah terderivatisasi seluruhnya. Dari hasil esterifikasi dapat dilihat bahwa waktu esterifikasi 30 menit memberikan luas area yang hampir sama dengan waktu esterifikasi 60 menit sehingga menandakan bahwa pada waktu esterifikasi 30 menit asam stearat telah terderivatisasi secara sempurna.

### **4.1.2 Pencarian kondisi analisis optimum**

Kondisi analisis optimum untuk penetapan kadar asam stearat dalam lulur adalah elusi pada suhu awal kolom 170°C. Laju alir gas yang digunakan untuk menghasilkan kondisi analisis optimum adalah 1,0 ml/menit. Suhu injektor dan detektor diatur pada suhu 230°C dan 250°C.. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.2, Gambar 4.2.

Kondisi analisis yang diadaptasi dari jurnal dioptimasi kembali karena kolom yang digunakan berbeda. Perbedaan kolom akan mengakibatkan kondisi analisis berubah. Oleh karena itu dilakukan pencarian kondisi analisis optimum untuk mendapatkan kondisi analisis yang memiliki ketepatan dan ketelitian yang baik untuk identifikasi dan penetapan kadar asam stearat dalam lulur yang sesuai dengan kolom yang digunakan (Gandjar & Rohman, 2007).

Parameter yang divariasikan pada proses optimasi ini adalah suhu kolom dan laju alir gas. Variasi suhu kolom yaitu 150°C, 160°C, dan 170°C. Pertimbangan variasi suhu kolom tersebut disesuaikan dengan fase diam yang digunakan. Fase diam yang digunakan pada penelitian ini adalah VB- Wax yang memiliki suhu minimum 10°–30°C dan suhu maksimum 225°C. Jika suhu kolom

di bawah suhu minimum maka fase diam yang digunakan akan menjadi padat sedangkan jika suhu terlalu tinggi maka fase diam akan terurai secara perlahan-lahan. Selain itu, pertimbangan suhu kolom juga dilihat dari titik didih senyawa yang akan dianalisis. Jika suhu kolom di bawah titik didih senyawa yang akan dianalisis, maka senyawa tersebut tidak akan terelusi (Gandjar & Rohman, 2007).

Variasi laju alir gas pembawa, yaitu 1,0 ml/menit, 1,5 ml/menit, dan 2,0 ml/menit. Pertimbangan variasi laju alir gas pembawa adalah diameter kolom yang digunakan. Penelitian ini menggunakan kolom kapiler yang memiliki diameter kecil sehingga laju alir yang digunakan memiliki rentang antara 0,2– 2 ml/menit. Untuk semua elusi, suhu injektor dan detektor diatur pada suhu 230°C dan 250°C. Pertimbangan penetapan suhu injektor adalah suhu injektor harus diatur lebih tinggi daripada suhu kolom maksimum. Jadi seluruh sampel akan menguap segera setelah sampel disuntikkan sedangkan pertimbangan suhu detektor adalah biasanya suhu detektor 15°–30°C lebih tinggi dari titik didih senyawa yang dianalisis. Selain itu, suhu detektor disesuaikan dengan detektor yang digunakan. Untuk detektor ionisasi nyala, suhu detektor harus di atas 100°C. Hal ini bertujuan untuk mencegah terjadinya kondensasi uap air sehingga mengakibatkan pengkaratan pada detektor ionisasi nyala atau penghilangan (penurunan) sensitivitasnya (Gandjar & Rohman, 2007).

Pada percobaan variasi suhu kolom dapat terlihat bahwa semakin tinggi suhu kolom maka waktu retensi asam stearat akan semakin cepat. Hal itu dapat dibuktikan dengan semakin cepat asam stearat keluar pada kromatogram. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan pada tekanan tetap, laju alir gas meningkat dengan meningkatnya suhu. Semakin tinggi suhu kolom maka komponen sampel akan lebih cepat menguap dan terbawa oleh gas pembawa sehingga waktu kontak sampel dengan fase diam menjadi lebih singkat. Dengan demikian pemisahan yang terjadi menjadi kurang baik.

Parameter yang digunakan untuk memilih kondisi analisis optimum adalah jumlah pelat teoritis ( $N$ ), tinggi setara pelat teoritis (*High Equivalent Theoretical / HETP*), dan waktu retensi ( $t_R$ ). Parameter tersebut merupakan parameter untuk

efisiensi kolom dimana bila suatu metode memiliki nilai efisiensi kolom yang tinggi maka pemisahan yang terjadi juga akan baik. Suatu metode memiliki efisiensi kolom yang baik bila nilai N tinggi, HETP kecil, dan waktu retensi yang singkat.

Dari hasil percobaan dengan menggunakan variasi suhu kolom dan laju alir gas pembawa didapatkan bahwa kondisi yang memberikan nilai N paling tinggi, nilai HETP paling rendah, waktu retensi yang relatif singkat, dan adalah metode elusi dengan suhu awal kolom 170°C dan laju alir gas pembawa 1,0 ml/menit. Suhu detektor dan injektor diatur pada suhu 230°C dan 250°C. Waktu retensi asam stearat termetilasi pada kondisi analisis ini adalah pada menit ke 7,5.

#### **4.1.3 Pembuatan kurva kalibrasi dan uji linearitas**

Pembuatan kurva kalibrasi bertujuan untuk kepentingan analisis secara kuantitatif, yaitu untuk menghitung kadar zat yang terkandung dalam sampel. Kurva kalibrasi dibuat dengan menghubungkan area yang dihasilkan oleh sedikitnya lima konsentrasi analit berbeda. Rentang konsentrasi yang dibuat dipertimbangkan dengan matang agar hasil pengukuran area sampel dapat berada pada rentang konsentrasi tersebut sehingga hasil pengukuran yang diperoleh lebih akurat.

Persamaan kurva kalibrasi merupakan hubungan antara sumbu x dan y. Deretan konsentrasi yang dibuat dinyatakan sebagai nilai sumbu x, sedangkan area asam stearat yang diperoleh dari hasil pengukuran dinyatakan sebagai sumbu y. Enam konsentrasi yang digunakan untuk membuat kurva kalibrasi adalah 202,4; 404,8; 607,2; 809,6; 1012; dan 1214,4 µg/ml. Persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi asam stearat adalah  $y = 20,506x - 1917,3533$  dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9992. Harga koefisien korelasi (r) yang semakin mendekati nilai 1 menyatakan hubungan yang semakin linier antara konsentrasi dengan area kromatogram yang dihasilkan sehingga kadar zat yang dianalisis dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier yang telah diperoleh (Gandjar & Rohman, 2007). Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.4; Gambar 4.3 dan lampiran 4.2

#### 4.1.4 Pengujian batas deteksi dan batas kuantitasi

Penentuan batas deteksi dan kuantitasi dalam suatu metode sangat penting karena batas deteksi dan kuantitasi merupakan parameter sensitivitas suatu metode. Semakin kecil nilai batas deteksi dan kuantitasi berarti metode yang digunakan semakin sensitif (Gandjar & Rohman, 2007). Berdasarkan perhitungan statistik menggunakan persamaan garis regresi linier  $y = 20,506x - 1917,3533$ , diperoleh batas deteksi (LOD) sebesar 50,273  $\mu\text{g/ml}$  dan batas kuantitasi (LOQ) sebesar 167,578  $\mu\text{g/ml}$ . Konsentrasi tersebut berada di bawah konsentrasi terkecil pembuatan kurva kalibrasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa metode yang digunakan cukup sensitif untuk menganalisis asam stearat dalam lulur yang memiliki matriks cukup kompleks. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.5 dan lampiran 4.5.

#### 4.1.5 Uji keterulangan (Presisi)

Tujuan dilakukan uji keterulangan adalah untuk mengetahui apakah metode yang digunakan dapat menentukan kadar zat yang dianalisis dengan tepat. Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan nilai koefisien variasi (KV) 2% atau kurang (Gandjar & Rohman, 2007).

Larutan standar asam stearat termetilasi dengan konsentrasi berbeda (rendah, sedang, tinggi) yaitu 202,4; 607,2; 1214,4  $\mu\text{g/ml}$  digunakan untuk uji presisi. Masing-masing konsentrasi memberikan nilai koefisien variasi (KV) berturut-turut 1,83%; 1,91%; dan 1,99%.

Pada penelitian ini, hasil uji presisi memperlihatkan bahwa semua nilai koefisien variasi di bawah 2%. Hal tersebut menandakan bahwa hasil pengukuran yang satu dengan yang lain memiliki selisih yang sangat kecil sehingga metode ini memenuhi kriteria seksama. Data dapat dilihat pada Tabel 4.6 dan lampiran 4.3

#### 4.1.6 Uji Perolehan kembali (akurasi)



Pada penelitian ini dilakukan uji perolehan kembali dengan metode simulasi. Pada metode ini, dibuat placebo sampel yang mengandung sejumlah standar asam stearat yang telah diketahui kadarnya, lalu dianalisis dengan kondisi analisis terpilih.

Persen perolehan kembali ditentukan dengan membandingkan hasil dari perhitungan dan hasil yang sebenarnya. Persentase uji perolehan kembali asam stearat pada krim yang mengandung asam stearat 4% sebesar  $(100,53 \pm 1,25)\%$ ; untuk krim yang mengandung asam stearat 5% sebesar  $(98,67 \pm 0,47)\%$ ; dan untuk krim yang mengandung asam stearat 6% sebesar  $(99,34 \pm 2,06)\%$ . Dengan demikian maka hasil UPK asam stearat memenuhi kriteria cermat karena memiliki nilai persentase perolehan kembali pada rentang 98-102%. Metode yang cermat berarti bahwa nilai rata-rata hasil pengukuran sangat dekat dengan nilai sebenarnya. Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4.7, gambar 4.4 dan lampiran 4.4

#### **4.1.7 Penetapan kadar asam stearat dalam lulur**

Pada penetapan kadar asam stearat dalam lulur, dilakukan cara ekstraksi yang sama dengan uji perolehan kembali. Sampel yang telah ditimbang dilarutkan dalam HCl 6N dan ditambahkan heksan kemudian dipanaskan pada suhu 70 °C. Tujuan dari penambahan HCl adalah untuk mengubah garam stearat yang terdapat dalam sediaan lulur menjadi bentuk asamnya, lalu dipanaskan agar sediaan krim mencair sehingga mudah terpisah menjadi dua fase. Fase minyak akan berada di dalam heksan dan fase larut air akan larut dalam air. Untuk memastikan bahwa asam stearat dapat diekstraksi dalam heksan, maka sampel tersebut dikocok dengan vortex dan disentrifugasi hingga terpisah menjadi dua fase. Hasil ekstraksi tersebut kemudian diderivatisasi dengan HCl 3N (dalam metanol) untuk menghilangkan gugus hidroksida dari asam stearat dengan cara dipanaskan menggunakan refluks selama 30 menit. Hasil dari derivatisasi tersebut kemudian diambil bagian heksan dan disuntikkan ke dalam ruang suntik sebanyak 1 $\mu$ l dan dihitung kadarnya dalam lulur. Dari hasil analisis didapat kadar asam stearat dalam sampel A adalah  $(0,51 \pm 1,17) \%$  dan pada sampel B adalah  $(1,48 \pm$

0,79)%. Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4.8, gambar 4.5 dan 4.6 dan lampiran 4.6

## **4.2 Urea**

### **4.2.1 Pembuatan kurva kalibrasi**

Persamaan kurva kalibrasi merupakan hubungan antara sumbu x dan y. Deretan konsentrasi yang dibuat dinyatakan sebagai nilai sumbu x, sedangkan area urea yang diperoleh dari hasil pengukuran dinyatakan sebagai sumbu y. Enam konsentrasi yang digunakan untuk membuat kurva kalibrasi adalah 20; 40, 60, 80, 100, dan 120 µg/ml. Persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi urea adalah  $y = 0.004274671x + 0.066594667$  dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9997. Harga koefisien korelasi (r) yang semakin mendekati nilai 1 menyatakan hubungan yang semakin linier antara konsentrasi dengan area kromatogram yang dihasilkan sehingga kadar zat yang dianalisis dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier yang telah diperoleh (Gandjar & Rohman, 2007). Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.9 dan Gambar 4.9

### **4.2.2 Pengujian batas deteksi dan batas kuantitasi**

Penentuan batas deteksi dan kuantitasi dalam suatu metode sangat penting karena batas deteksi dan kuantitasi merupakan parameter sensitivitas suatu metode. Semakin kecil nilai batas deteksi dan kuantitasi berarti metode yang digunakan semakin sensitif (Gandjar & Rohman, 2007). Berdasarkan perhitungan statistik menggunakan persamaan garis regresi linier  $y = 20,506x - 1917,3533$ , diperoleh batas deteksi (LOD) sebesar 3,08 µg/ml dan batas kuantitasi (LOQ) sebesar 5,729 µg/ml. Konsentrasi tersebut berada di bawah konsentrasi terkecil pembuatan kurva kalibrasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa metode yang digunakan cukup sensitif untuk menganalisis asam stearat dalam lula yang memiliki matriks cukup kompleks. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.10

### **4.2.3 Uji keterulangan (Presisi)**

Tujuan dilakukan uji keterulangan adalah untuk mengetahui apakah metode yang digunakan dapat menentukan kadar zat yang dianalisis dengan tepat. Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan nilai koefisien variasi (KV) 2% atau kurang (Gandjar & Rohman, 2007).

Larutan standar urea dengan konsentrasi berbeda (rendah, sedang, tinggi) yaitu 20, 60, dan 120  $\mu\text{g/ml}$  digunakan untuk uji presisi. Masing-masing konsentrasi memberikan nilai koefisien variasi (KV) berturut-turut 1,77%; 1,96%; dan 1,15%.

Pada penelitian ini, hasil uji presisi memperlihatkan bahwa semua nilai koefisien variasi di bawah 2%. Hal tersebut menandakan bahwa hasil pengukuran yang satu dengan yang lain memiliki selisih yang sangat kecil sehingga metode ini memenuhi kriteria seksama. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.11

#### **4.2.4 Uji Perolehan kembali (akurasi)**

Pada penelitian ini dilakukan uji perolehan kembali dengan metode simulasi. Pada metode ini, dibuat placebo sampel yang mengandung sejumlah standar asam stearat yang telah diketahui kadarnya, lalu dianalisis dengan kondisi analisis terpilih.

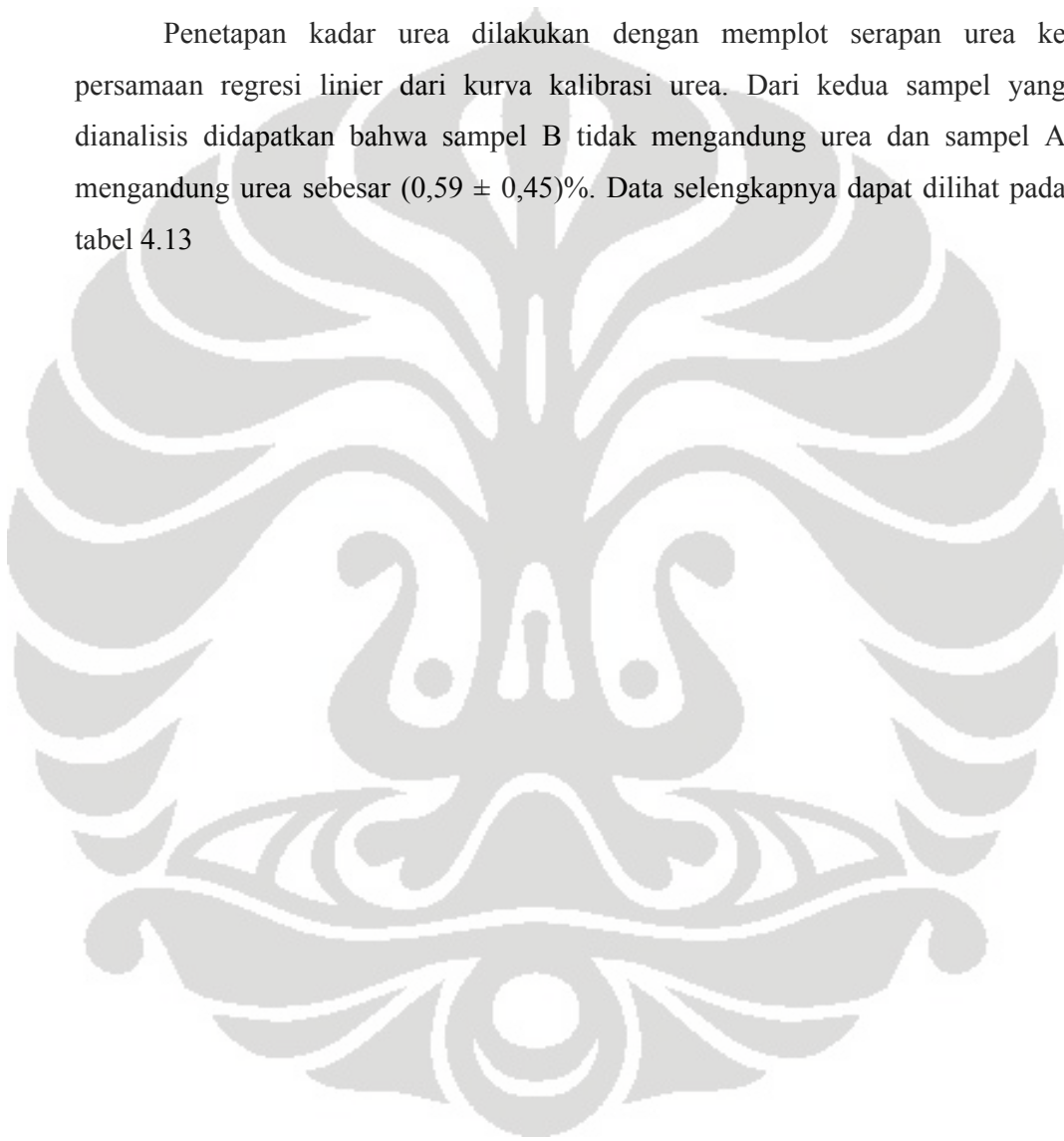
Persentase uji perolehan kembali urea pada krim yang mengandung urea 0,5% sebesar  $(100,38 \pm 1,26)\%$ ; untuk krim yang mengandung urea 0,6% sebesar  $(99,06 \pm 1,16)\%$ ; dan untuk krim yang mengandung urea 0,7 % sebesar  $(99,33 \pm 1,95)\%$ . Dengan demikian maka hasil UPK urea memenuhi kriteria cermat karena memiliki nilai persentase perolehan kembali pada rentang 98-102%. Metode yang cermat berarti bahwa nilai rata-rata hasil pengukuran sangat dekat dengan nilai sebenarnya. Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4.12

#### **4.2.5 Penetapan kadar urea dalam lulur**

Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar urea dalam sampel lulur. Tahapan kerja yang dilakukan adalah mengekstraksi urea dari krim dan membuat larutan uji urea. Ekstraksi krim dilakukan dengan cara menambahkan kloroform

untuk melarutkan krim dan ditambahkan aquadest untuk menarik urea. Penyarian dilakukan sebanyak tiga kali dan dicukupkan volumenya ke dalam labu ukur 100,0 ml. Setelah itu, dibuat larutan uji untuk diukur menggunakan spektrofotometri dengan mereaksikan antara larutan sampel dan larutan pereaksi diasetil monoksim.

Penetapan kadar urea dilakukan dengan memplot serapan urea ke persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi urea. Dari kedua sampel yang dianalisis didapatkan bahwa sampel B tidak mengandung urea dan sampel A mengandung urea sebesar  $(0,59 \pm 0,45)\%$ . Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4.13





## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

- 5.1.1 Kondisi analisis optimum untuk analisis asam stearat dalam lulur dengan menggunakan kromatografi gas dengan detektor ionisasi nyala yang dilengkapi dengan kolom kapiler VB-Wax adalah elusi dengan suhu awal 170°C, laju alir gas pembawa 1,0 ml suhu injektor dan detektor 230°C dan 250°C. waktu retensi asam stearat pada kondisi optimum adalah 7,5 menit.
- 5.1.2 Metode analisis untuk asam stearat dan urea dalam lulur memenuhi kriteria validasi yang ditetapkan.
- 5.1.3 Hasil analisis dari kedua sampel menunjukkan bahwa kedua sampel mengandung asam stearat sebanyak  $(0,51 \pm 0,006)\%$  untuk sampel A dan  $(1,48 \pm 0,0117)\%$  untuk sampel B. Pada pengukuran kadar urea, hanya sampel A saja yang mengandung urea yaitu sebesar  $(0,59 \pm 0,0026)\%$ .

#### **5.2 Saran**

- 5.2.2 Agar mendapatkan nilai batas deteksi yang lebih sensitif perlu dicari metode dengan sensitivitas yang lebih besar, misalnya dengan menggunakan detektor yang berbeda, misalnya dengan MS.
- 5.2.3 Sebaiknya digunakan baku dalam agar hasil yang didapatkan lebih sensitif.

## DAFTAR ACUAN

- Acces My Library, (2010). *Uses of Urea in Cosmetology*  
<http://www.accessmylibrary.com/article-1G1-9035893/uses-urea-cosmetology.html>
- Barel, André O; Marc Paye; Howard I Maibach (ed). (2009). *Handbook of Cosmetic Science and Technology, Third Edition*. Informa Healthcare USA Inc. New York
- Beale , R N & D Croft. (1961). A Sensitive Method for the Colorimetric Determination of Urea. *Journal Clinical Pathology*. 14(4): 418–424.
- BOJIC, Jorgovanka; Blaga RADOVANOVIC; dan Jasmina DIMITRIJEVIC. (2008). Spectrophotometric Determination of Urea in Dermatologic. *The Japan Society for Analytical Chemistry*. 24(5): 769-774
- Brightwell, Emma *et al* (ed). (1986). *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*. The Pharmaceutical Press, London
- Brown, Anita. (2010). *Body Scrubs*. <http://spas.about.com/od/skincare/a/aboutbodyscrubs.htm>
- Burtis, CA & ER Ashwood.( 1999). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Edisi 3. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Christian, G. D. (1986). *Analytical Chemistry, Fourth Edition*. John Wiley and Sons Inc., New York.
- Clarke, Christine. (2004). How to Choose a Suitable Emollient. *The Pharmaceutical Journal*. 273: 352-353
- Cosmetic Diary. (2010). *Homemade Body, Facial Scrubs and Mask - Make Own Body Scrubs at Home*. <http://www.cosmeticsdiary.com/homemade-body-scrubs.htm>

- Dallet, Ph; L Labat; E Kummer; J P Dubost. (2000). Determination of Urea, Allantoin and Lysine Pyroglutamate in Cosmetic Samples by Hydrophilic Interaction Chromatography. *Journal of Chromatography B*. 742 (2000): 447-152
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1980). *Kodeks Kosmetik Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia*, edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Francis, Paul S.; Simon W. Lewis; dan Kieran F. Lim. (2002). Analytical Methodology for the Determination of Urea: Current Practice and Future Trends. *Trends in Analytical Chemistry*. 21(5): 389-400
- Gandjar, I.G & Rohman, A.(2007): *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Harmita. (2006). *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Departemen Farmasi FMIPA UI, Depok.
- Hendayana, S., et. al. (1994). *Kimia Analitik Instrumen, Edisi Kesatu*. IKIP Semarang Press, Semarang.
- Jennings, Walter; Mittlefehld, Eric dan Philip Stremple. 1987. *Analytical Gas Chromatography*. Academic Press, California.
- Kawase, Jiro; Hideko Ueno; Atsuo Nakae dan Kazuro Tsuji. (1982). High-Performance Liquid Chromatography of Urea and Related Compound With Post-Coloumn Derivatization. *Journal of Chromatography*. 252 (1982): 209-216
- Lachman, Leon; Herbert A Lieberman; Joseph L Kanig. (1970). *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*. Lea & Febiger. London

- Lynde, C W. (2001). Moisturizers: What They Are and How They Work. *Skin Therapy Letter*. 13 (6) : 3-5
- Manohar, Uttara. (2008). *Body Scrubs*. <http://www.buzzle.com/articles/body-scrub.html>
- McNair, H M; Bondli, E J. (1997). *Basic Gas Chromatography*. John Willey & Sons in, Kanada
- Mitsui, T (ed). (1997). *New Cosmetics Science*. Elsevier Science B V. Amsterdam
- Mulya, Muhammad. (1996). Analisis Campuran Asam Palmitat, Stearat, Oleat dan Linoleat dalam Minyak Kelapa Sawit dengan Metode High Resolution Gas Chromatography. *Acta Pharmaceutika Indonesia*. 21(3):
- Nordenberg, Tamar. (2010). *Beauty Starts with Healthy Skin*. <http://health.discovery.com/centers/healthbeauty/beautybasics/healthyskin.html>.
- Oveishi, M R *et al.* (2006). Quantative Determination of Fatty Acids in Infant Formula by Gas Chromatography Without Derivatization. *Acta Medica Iranica*. 44(4): 225-229
- Prabowo, Deni; M. Muchalal. (2004). Analisis Kandungan Asam Lemak pada Minyak Kedelai dengan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa. *Indonesian Journal of Chemistry*. 4(1): 62-64
- Ranji, Ali; Ravandi, Mahboobeh Ghorbani; dan Farajzadeh, Mir Ali. (2008). Determination of Cadium Stearat in Polyolefin Samples by Gas Chromatographic Techniques After Performing Dispersive Liquid-Liquid Microextraction. *The Japan Society for Analytical Chemistry*
- Rieger, Martin M (ed.). (2000). *Harry's Cosmeticology*. Cehmical Publishing Co Inc. New York.



Salvador, Amparo; Albert Chisvert (ed). (2007). *Analysis of Cosmetic Products*. Elsevier B V. Amsterdam

Shai, Avi; Howard I Maibach; Robert Baran. (2009). *Handbook of Cosmetic Skin Care, Second Edition*. Informa UK Ltd. London

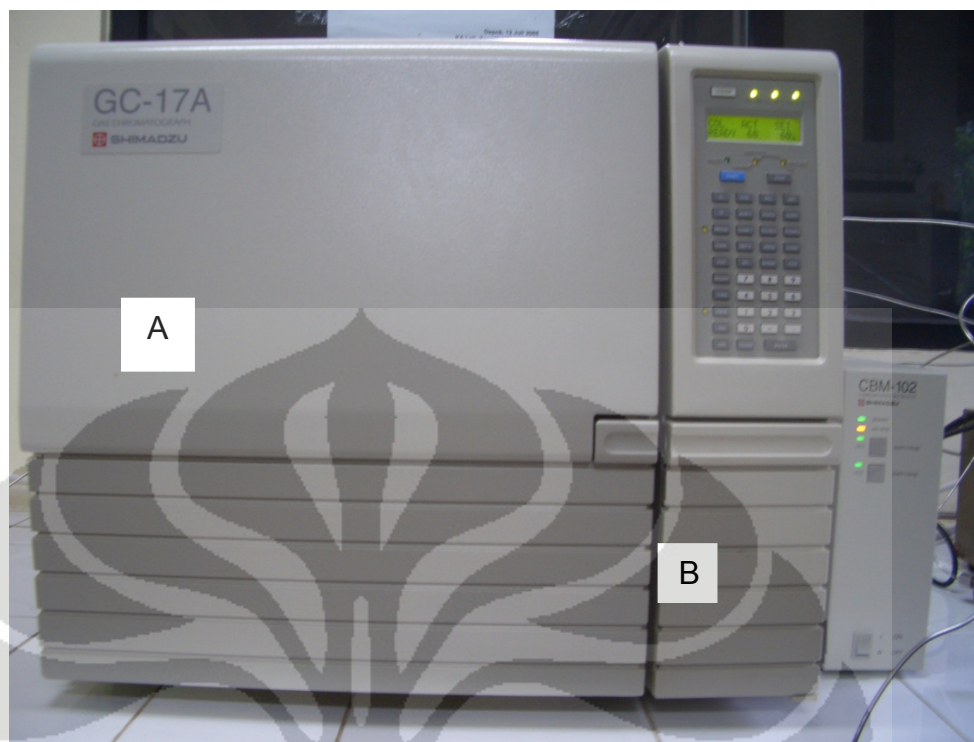
The United States Pharmacopeial Convention. *The USP XXII, vol I*. The United States Pharmacopeial Convention. USA.

Toitou, Elka & Brian W Barry. (2007). *Enhancement in Drug Delivery*. CRC press. USA

United States Department of Labor. (2004). *Safety and Health Topics: Urea*. [http://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH\\_274930.html](http://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_274930.html), 24 january 2010, pk 12.05

Wade, Ainley & Weller, Paul J (ed).(1986). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. The Pharmaceutical Press, London.





Gambar 4.1. Alat kromatografi gas Shimadzu GC-17A

Keterangan:

A = unit utama

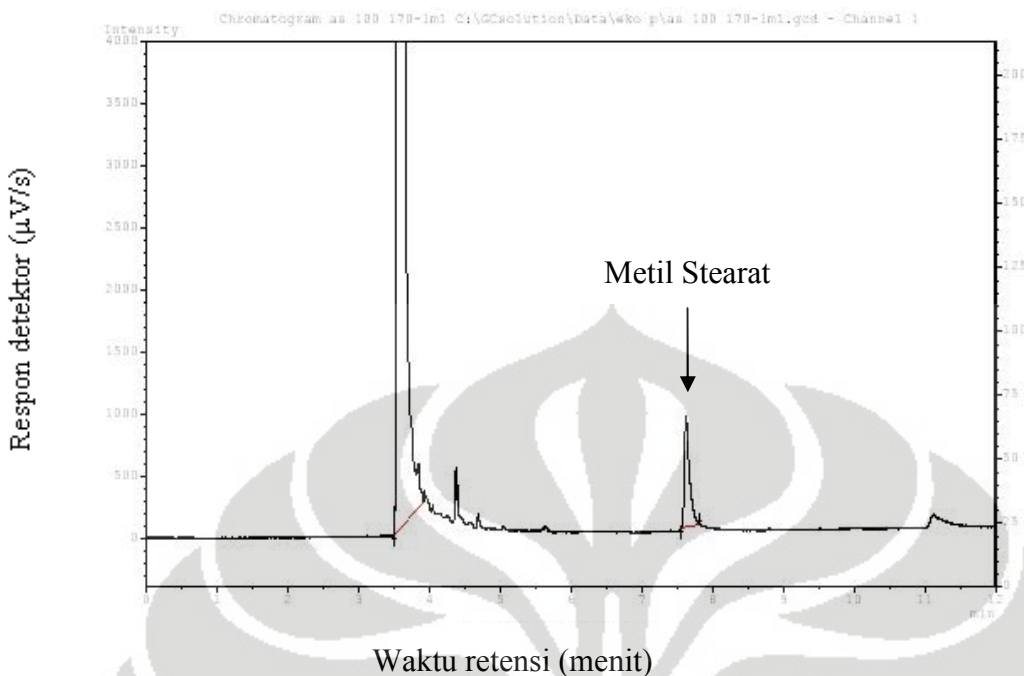
B = sistem kontrol / integrator CBM-102 (Shimadzu)



Sampel A

Sampel B

Gambar 4.2 Sampel lulur yang dianalisa

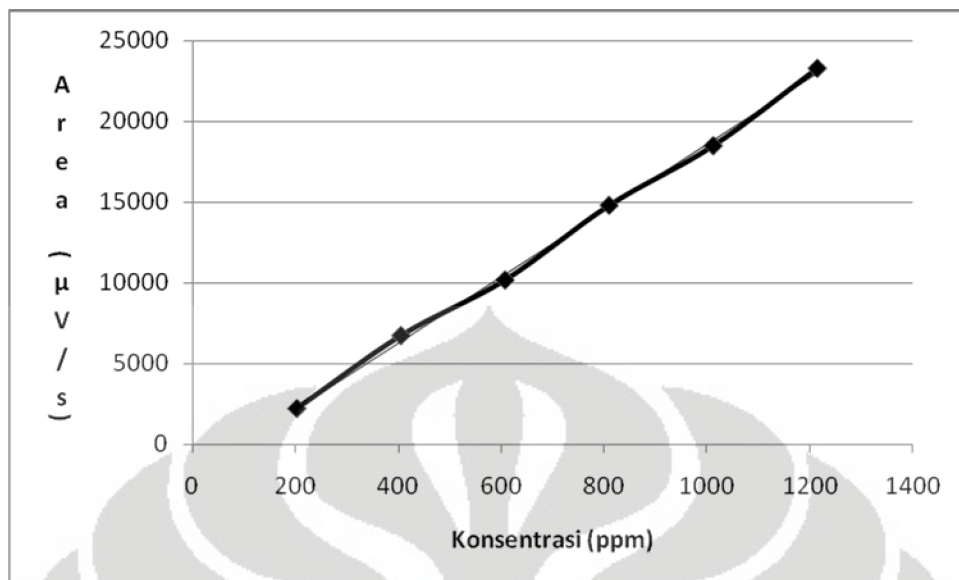


Gambar 4.3. Kromatogram standar asam stearat termetilasi 90 µg/ml (waktu retensi asam stearat termetilasi 7,5 menit)

Kondisi:

Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:10 suhu kolom 170°C, suhu terprogram dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 190°C dengan laju alir gas pembawa (He) 2,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 µL.





Gambar 4.4. Kurva kalibrasi asam stearat termetilasi

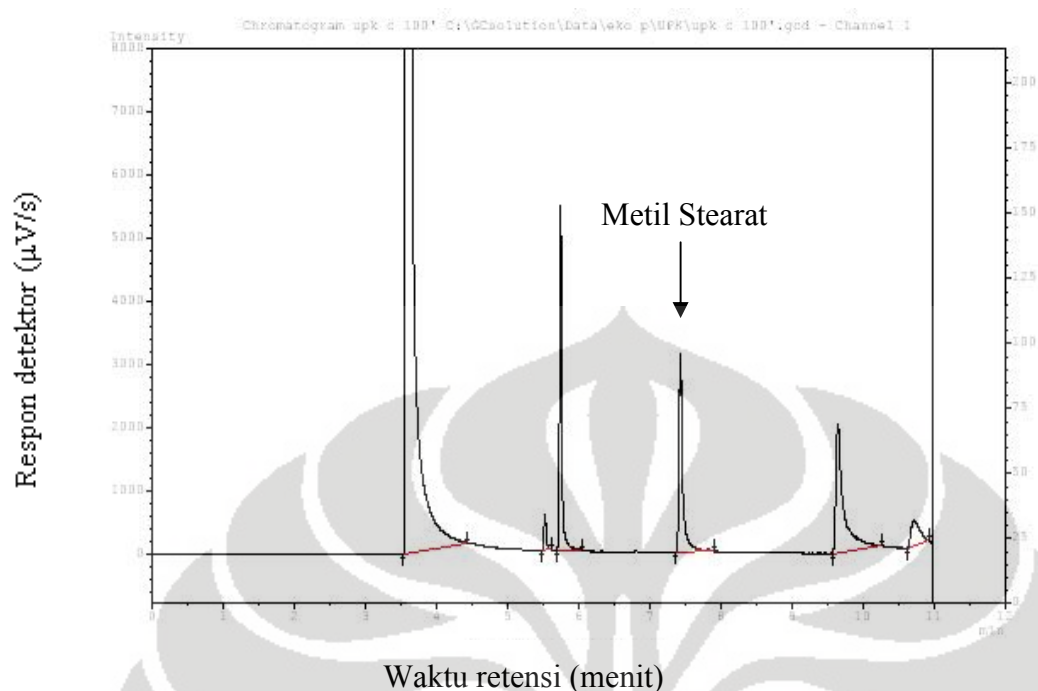
Keterangan:

Persamaan regresi linier kurva kalibrasi asam stearat termetilasi:

$$y = 20,506x - 1917,3533 \text{ dengan koefisien korelasi } r = 0,9992$$

Kondisi:

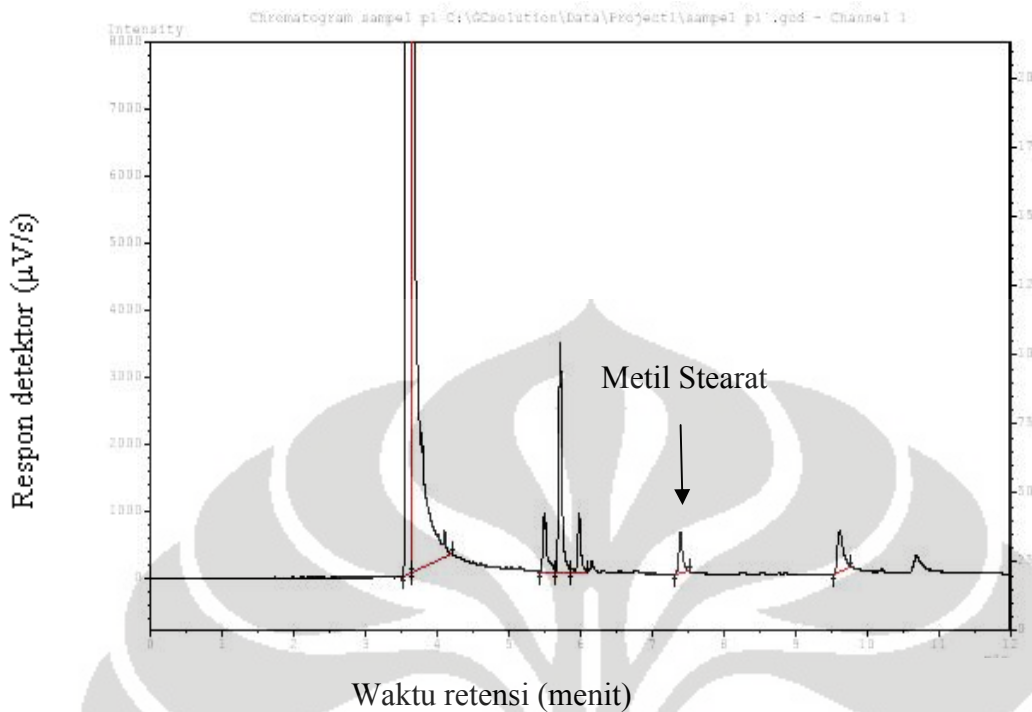
Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:10 suhu kolom 170°C, suhu terprogram dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 190°C dengan laju alir gas pembawa (He) 2,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 µL.



Gambar 4.5. Kromatogram upk asam stearat termetilasi pada kadar 100%

Kondisi:

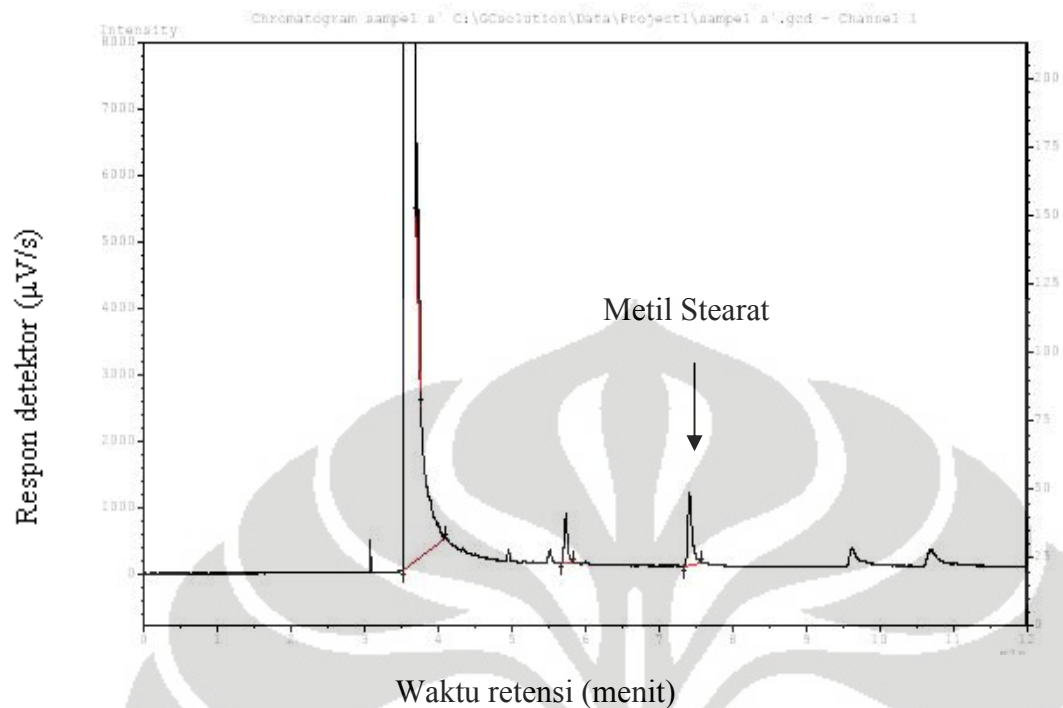
Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor  $230^{\circ}\text{C}$ ; suhu detektor  $250^{\circ}\text{C}$ ; split ratio 1:10 suhu kolom  $170^{\circ}\text{C}$ , suhu terprogram dengan kenaikan suhu  $2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$  sampai  $190^{\circ}\text{C}$  dengan laju alir gas pembawa (He)  $2,0 \text{ mL}/\text{menit}$ ; volume penyuntikan  $1,0 \mu\text{L}$ .



Gambar 4.6 Kromatogram sampel lurus A

Kondisi:

Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor  $230^{\circ}\text{C}$ ; suhu detektor  $250^{\circ}\text{C}$ ; split ratio 1:10 suhu kolom  $170^{\circ}\text{C}$ , suhu terprogram dengan kenaikan suhu  $2^{\circ}\text{C}/\text{menit}$  sampai  $190^{\circ}\text{C}$  dengan laju alir gas pembawa (He)  $2,0\text{ mL}/\text{menit}$ ; volume penyuntikan  $1,0\ \mu\text{L}$ .



Gambar 4.7 kromatogram sampel lurur B

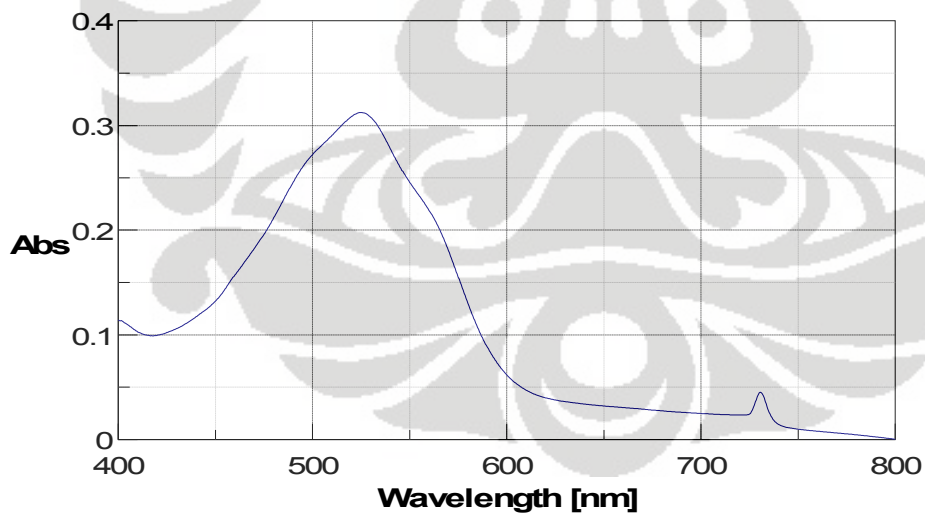
Kondisi:

Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:10 suhu kolom 170°C, suhu terprogram dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 190°C dengan laju alir gas pembawa (He) 2,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 µL.





Gambar 4.8 Spektrofotometri UV-Vis

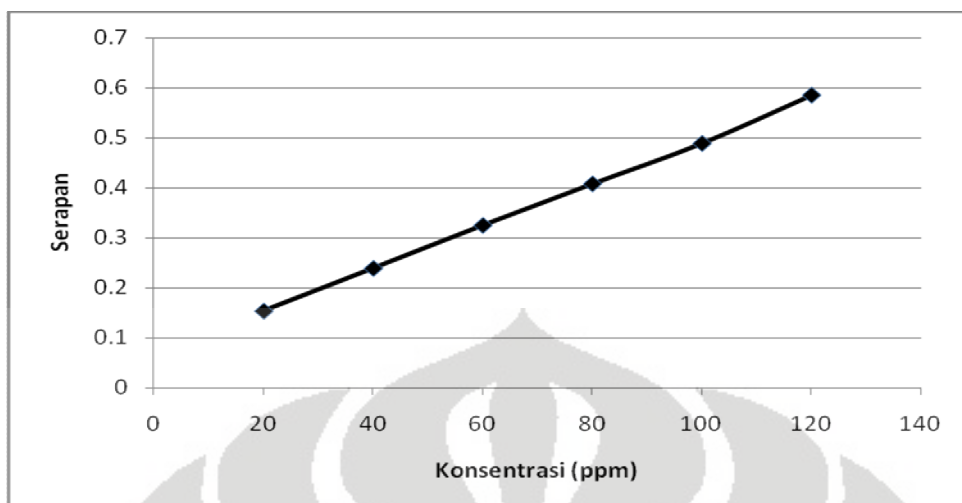


Gambar 4.9 Spektrum serapan urea konsentrasi 60 ppm

Keterangan :

Panjang gelombang maksimum : 525 nm

Serapan : 0,32287

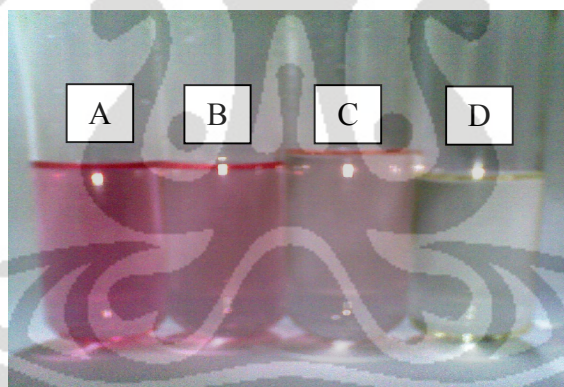


Gambar 4.9 Kurva kalibrasi urea

Keterangan:

Persamaan regresi linier kurva kalibrasi urea:

$y = 0,004274671x + 0,066594667$  dengan koefisien korelasi  $r = 0,9997$



Gambar 4.11 Hasil reaksi urea pada uji presisi

Keterangan

A = konsentrasi 120 ppm

B = konsentrasi 60 ppm

C = konsentrasi 20 ppm

D = larutan blanko (larutan pereaksi tanpa urea)



**Tabel 4.1**  
**Optimasi Waktu esterifikasi**

Waktu esterifikasi	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Waktu retensi (menit)	Area ( $\mu\text{V/s}$ )
15	1180	5,917	9223,5
30	1180	5,900	22107
60	1180	5,888	22120,5

**Kondisi:**

Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:10 suhu kolom 170°C, suhu terprogram dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 190°C dengan laju alir gas pembawa (He) 1,5 mL/menit; volume penyuntikan 1,0  $\mu\text{L}$ .



Tabel 4.2

Pemilihan kondisi analisis optimum penetapan kadar asam stearat dengan variasi suhu awal kolom dan laju alir gas pembawa

Suhu awal (°C)	Laju alir (ml/menit)	Waktu retensi (Menit)	Faktor ikutan (Tf)	Jumlah lempeng Teoritis (N)	HETP (cm)
170	<b>1,0</b>	<b>7,633</b>	<b>2,043</b>	<b>67954</b>	<b>0,882950231</b>
	1,5	5,940	1,434	45480	1,321003963
	2,0	5,008	0,000	30396	1,97394394
160	1,0	11,562	2,309	48078	1,248101845
	1,5	7,369	1,695	47148	1,27264243
	2,0	6,235	2,118	32690	1,835423677
150	1,0	7,989	3,563	17490	3,4305417138
	1,5	9,393	2,772	19572	3,065603924
	2,0	2,309	2,309	49073	1,248101845

Keterangan :

Kondisi optimum analisis menggunakan laju alir 1,0 ml/menit dengan suhu awal kolom 170°C yang mempunyai nilai lempeng teoritis yang besar dan nilai HETP yang kecil.

Tabel 4.3

Data kurva kalibrasi dan linearitas asam stearat termetilasi

Konsentrasi (ppm)	Area ( $\mu\text{V/s}$ )	$\Delta y$	$\Delta x$	$\Delta y/\Delta x$
202.4	2206.6	4519.5	202.4	22.32955
404.8	6726.1	3440.6	202.4	16.99901
607.2	10166.7	4626.3	202.4	22.85721
809.6	14793	3693.9	202.4	18.25049
1012	18486.9	4792.1	202.4	23.67638
1214.4	23279	-23279	-1214.4	19.16914

**Keterangan:**

Persamaan regresi linier kurva kalibrasi asam stearat termetilasi:

$$y = 20,506x - 1917,3533 \text{ dengan koefisien korelasi } r = 0,9992$$

**Kondisi:**

Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:10 suhu kolom 170°C, suhu terprogram dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 190°C dengan laju alir gas pembawa (He) 1,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0  $\mu\text{L}$ .

Tabel 4.4

## Data batas deteksi dan batas kuantitasi asam stearat termetilasi

Konsentrasi (ppm)	Area ( $\mu\text{V/s}$ )	$Y_i$	$(y-y_i)^2$
202,4	2206,6	2233,238095	709,5881169
404,8	6726,1	6383,829524	117149,0789
607,2	101667	10534,42095	135218,6988
809,6	14793	14685,01238	11661,32588
1012	18486,9	18835,60381	121594,3467
1214,4	23279	22986,19524	85734,62866
			$\Sigma = 472067,667$

Persamaan regresi linier asam stearat termetilasi:  $y = 20.506874647x - 1,917.353333333$

$$r = 0,9992$$

$$S (y/x) = 343,5459032$$

$$b = 20,506$$

Batas deteksi (LOD) = 50,27 ppm

Batas kuantitasi (LOQ) = 167,578 ppm

**Tabel 4.5****Data uji presisi asam stearat termetilasi**

Konsentrasi (ppm)	Area ( $\mu\text{V/s}$ )	xi	Rata-rata	SD	KV (%)
202.4	2206.6	201.1512195	204.347154	3.73938813	1.83
	2414.9	211.3121951			
	2231.1	202.3463415			
	2222.8	201.9414634			
	2262.8	203.8926829			
	2294.5	205.4390244			
607.2	10167	589.4634146	569.597561	10.8772616	1.91
	9719.9	567.6536585			
	9634.3	563.4780488			
	9513.5	557.5853659			
	9713	567.3170732			
	9810.8	572.0878049			
1214.4	23279	1229.073171	1194.63577	23.8795531	1.99
	22037.2	1168.497561			
	22222.5	1177.536585			
	22621.8	1197.014634			
	22265.5	1179.634146			
	23012.2	1216.058537			

**Kondisi:**

Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:10 suhu kolom 170°C, suhu terprogram dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 190°C dengan laju alir gas pembawa (He) 1,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0  $\mu\text{L}$ .



Tabel 4.6

Data uji perolehan kembali asam stearat termetilasi

Kadar	Berat asam stearat (mg)	Konsentrasi akhir (ppm)	Area ( $\mu\text{V/s}$ )	Xi	%UPK
80%	43.1	517.2	8589	512.487805	99.09
			8807.1	523.126829	101.15
			8831.5	524.317073	101.38
100%	55.2	662.4	11553	657.073171	99.19
			11462.9	652.678049	98.53
			11430.4	651.092683	98.29
120%	68.7	824.4	14667	808.97561	98.13
			15272.8	838.526829	101.713
			14679.1	809.565854	98.20

**Kondisi:**

Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:10 suhu kolom 170°C, suhu terprogram dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 190°C dengan laju alir gas pembawa (He) 1,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0  $\mu\text{L}$ .

Tabel 4.7

## Data penetapan kadar asam stearat dalam lulur

Sampel	Berat yg ditimbang (mg)	Area ( $\mu\text{V/s}$ )	Konsentrasi hitung (ppm)	Berat hitung ( $\mu\text{g}$ )	% kadar
A	1032.2	2245.5	210.61	5265.25	0.51
		2400.6	207.22	5180.5	0.50
		2428.9	211.99	5299.75	0.51
B	1059.3	11055.4	632.8	15820	1.49
		10903	625.36	15634	1.47
		10861.4.3	623.33	15583	1.47

**Kondisi:**

Kolom kapiler VB-Wax dengan panjang kolom 60 m; suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:10 suhu kolom 170°C, suhu terprogram dengan kenaikan suhu 2°C/menit sampai 190°C dengan laju alir gas pembawa (He) 1,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0  $\mu\text{L}$ .

Tabel 4.8

## Data kurva kalibrasi urea

Konsentrasi (ppm)	Serapan	$\Delta y$	$\Delta x$	$\Delta y/\Delta x$
20	0.15271	0.08544	20	0.004272
40	0.23815	0.08604	20	0.004302
60	0.32419	0.08298	20	0.004149
80	0.40717	0.08096	20	0.004048
100	0.48813	0.09645	20	0.0048225
120	0.58458	-0.58458	-120	0.0048715

**Keterangan:**

Persamaan regresi linier kurva kalibrasi urea:

$$y = 20,506x - 1917,3533 \text{ dengan koefisien korelasi } r = 0,9992$$

**Tabel 4.9****Data batas deteksi dan batas kuantitasi urea**

Konsentrasi (ppm)	Serapan	$y_i$	$(y-y_i)^2$
20	0.15271	0.152088087	$3.86776 \times 10^{-07}$
40	0.23815	0.237581507	$3.23184 \times 10^{-07}$
60	0.32419	0.323074927	$1.24339 \times 10^{-06}$
80	0.40717	0.408568347	$1.95537 \times 10^{-06}$
100	0.48813	0.494061767	$3.51859 \times 10^{-05}$
120	0.58458	0.579555187	$2.52487 \times 10^{-05}$
			$6.43433 \times 10^{-05}$

Persamaan regresi linier urea:  $y = 0.004274671x + 0.066594667$

$$r = 0,9997$$

$$S(y/x) = 0,004010715$$

$$b = 0,004274671$$

Batas deteksi (LOD) = 3,008 ppm

Batas kuantitasi (LOQ) = 5,729 ppm



**Tabel 4.10**  
**Data presisi urea**

Konsentrasi (ppm)	Serapan	Konsentrasi terukur (ppm)	Rata-rata	SD	KV (%)
20	0.15271	20.14548792	20.38956129	0.361679686	1.77
	0.15415	20.48235595			
	0.15196	19.97003582			
	0.15598	20.91045907			
	0.15498	20.67652294			
	0.15274	20.15250601			
60	0.32419	60.26085586	62.46297466	1.223347451	1.96
	0.33718	63.29968622			
	0.33516	62.82713523			
	0.33313	62.35224489			
	0.33925	63.78393402			
	0.33271	62.25399171			
120	0.58458	121.1754853	122.6223803	1.409522757	1.15
	0.60185	125.2155623			
	0.59218	122.9533999			
	0.58782	121.9334384			
	0.5905	122.5603872			
	0.58766	121.8960086			

Tabel 4.11

Data uji perolehan kembali urea

Kadar	Konsentrasi awal (ppm)	Konsentrasi akhir (ppm)	Serapan	Konsentrasi hitung (ppm)	% kadar
80%	10700	53.5	0.2966	53.80655798	100.57
			0.29309	52.98544215	99.04
			0.29884	54.33057491	101.55
100%	10700	64.2	0.33708	63.27629261	98.56
			0.34209	64.44831263	100.39
			0.33618	63.06575009	98.23
120%	10700	74.9	0.38042	73.41508458	98.02
			0.39184	76.08663521	101.58
			0.38165	73.70282602	98.40

Tabel 4.12

## Data penetapan kadar urea

Sampel	Berat yg ditimbang (mg)	Serapan (A)	Konsentrasi hitung (ppm)	Berat hitung ( $\mu\text{g}$ )	% kadar
A	526.4	0.33525	62.84	3142	0.5968
		0.33711	63.28	3164	0.6010
		0.33751	63.37	3168.5	0.6019
B	529.65	0.00023	-	-	-
		0.00916	-	-	-
		0.00701	-	-	-

# LAMPIDIRAN

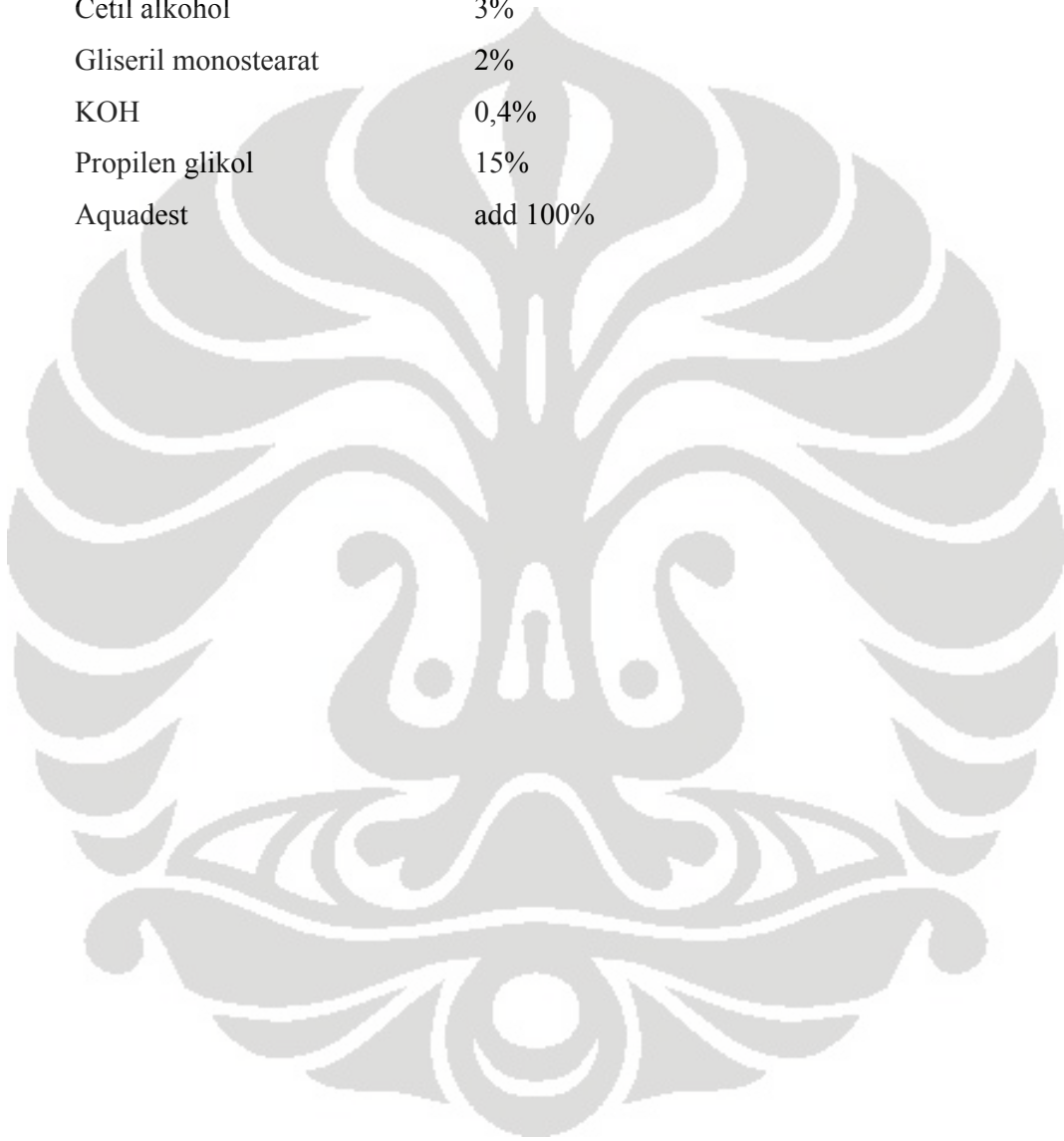




## Lampiran 4.1

**Komposisi *Vanishing Cream***

Asam stearat	5%
Isopropil miristat	3%
Cetil alkohol	3%
Gliseril monostearat	2%
KOH	0,4%
Propilen glikol	15%
Aquadest	add 100%



## Lampiran 4.2

## Cara memperoleh persamaan regresi linier

Persamaan garis  $y = a + bx$ Untuk memperoleh nilai  $a$  dan  $b$  digunakan metode kuadrat terkecil (*least square*)

$$a = \frac{(\sum yi)(\sum xi^2) - (\sum xi)(\sum yi)}{N(\sum xi^2) - (\sum xi)^2}$$

$$b = \frac{N(\sum xi.yi) - (\sum xi)(\sum yi)}{N(\sum xi^2) - (\sum xi)^2}$$

Linearitas ditentukan berdasarkan nilai koefisien korelasi ( $r$ )

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

Lampiran 4.3  
Cara perhitungan uji presisi

Rata - rata :  $\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$

Simpangan baku :  $SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$

Koefisien variasi :  $KV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$

Contoh:

Hasil pengukuran standar asam stearat untuk data presisi konsentrasi rendah:

Konsentrasi rata-rata ( $\bar{x}$ ) = 204.347154 ppm

$$SD = \sqrt{\frac{(201.1512 - 202,4)^2 + \dots + (205.4390 - 202,4)^2}{6 - 1}} = 3,739$$

$$KV = \frac{3,739}{204,439} \times 100\% = 1.8299$$

## Lampiran 4.4

## Cara perhitungan uji perolehan kembali

Perhitungan UPK dengan metode simulasi:

$$\text{Persen perolehan kembali: } \% \text{UPK} = \frac{C_a}{C} \times 100\%$$

$C_a$  = konsentrasi asam stearat dari hasil perhitungan kurva kalibrasi

$C$  = konsentrasi asam stearat yang sebenarnya

Contoh:

Persamaan kurva kalibrasi asam stearat:  $y = 20.506874647x - 1,917.353333333$

$y$  = luas puncak asam stearat ( $\mu\text{V/s}$ )

$x$  = konsentrasi asam stearat (ppm)

Luas puncak asam =  $8589 \mu\text{V/s}$  → diplot persamaan regresi linier asam stearat,

maka  $x = 512.487805$  ppm

$$\text{Konsentrasi akhir larutan asam stearat} = \frac{\text{Berat asam stearat} \times 3}{25 \times 10}$$

$$= \frac{43,1 \times 3}{25 \times 10} = 517,2 \text{ ppm}$$

$$\% \text{UPK} = \frac{512,487805}{517,2} \times 100\% = 99,08\%$$

## Lampiran 4.5

Cara perhitungan batas deteksi dan batas kuantitasi

$$\text{Simpangan baku residual : } S(y/x) = \sqrt{\frac{\sum (y - y_i)^2}{n - 2}}$$

$$\text{Batas deteksi (LOD)} = \frac{3 S(y/x)}{b}$$

$$\text{Batas kuantitasi (LOQ)} = \frac{10 S(y/x)}{b}$$

$$\text{Standar deviasi dari fungsi : } S_{x_0} = \frac{S(y/x)}{b}$$

$$\text{Koefisien variasi dari fungsi : } V_{x_0} = \frac{S_{x_0}}{x}$$

Contoh:

Persamaan kurva kalibrasi asam stearat:  $y = 20.506874647x - 1917.353333333$

$$S(y/x) = \sqrt{\frac{(2206,56 - 2233,238)^2 + \dots + (23279 - 22986,1952)^2}{6 - 2}} = 343,5359$$

$$\text{Batas deteksi (LOD)} = \frac{3 \times 343,5359}{20,506874647} = 50,273 \text{ ppm}$$

$$\text{Batas kuantitasi (LOQ)} = \frac{10 \times 343,5359}{20,506874647} = 167,578 \text{ ppm}$$

$$S_{x_0} = \frac{343,5359}{20,506874647} = 16,752$$

$$V_{x_0} = \frac{16,752}{12609,71667} = 0,00132$$



## Lampiran 4.6

## Cara perhitungan kadar zat dalam sampel

Contoh perhitungan kadar asam stearat dalam sampel:

Persamaan kurva kalibrasi asam stearat:  $y = 20.506874647x - 1917.353333333$

$y$  = luas puncak asam stearat ( $\mu\text{V/s}$ )

$x$  = konsentrasi asam stearat (ppm)

Luas puncak asam stearat dalam sampel =  $2245,5 \mu\text{V/s}$  → diplot persamaan regresi linier asam stearat, maka  $x = 203,0488$  ppm

Volume pengenceran = 25 ml

Berat asam stearat dalam sampel = konsentrasi asam stearat  $\times$  volume pengenceran  
 $= 203,0488 \times 25 = 5076,22 \mu\text{g}$

$$\begin{aligned} \text{\% kadar asam stearat dalam sampel} &= \frac{\text{berat asam stearat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{5,07622 \text{ mg}}{1032,2 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= 0,49\% \end{aligned}$$