SKRIPSI

VALIDASI METODE ANALISIS SENYAWA ASAM RETINOAT DALAM KRIM WAJAH DENGAN MTODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) – DENSITOMETRI

Yang diajukan oleh:

DHIMAS ADITYA PRATAMA

12613324

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Ari Wibowo, M.Sc., Apt.	Sista Werdyani, M.Biotech., Apt.

SKRIPSI

VALIDASI METODE ANALISIS SENYAWA ASAM RETINOAT DALAM KRIM WAJAH DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) – DENSITOMETRI

Oleh:

DHIMAS ADITYA PRATAMA

12613352

Telah lolos uji etik penelitian

Dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia

Tanggal:

13 Maret 2017

KetuaPenguji	: Ari Wibowo, M.Sc., Apt	(.....)
AnggotaPenguji	: 1. Sista Werdyani M. Biotech., Apt	(.....)
	2. Yuli Rohyami, S.Si., M.Sc.	(.....)
	3. Mai Anugrahwati, S.Si., M.Sc.	(.....)

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia

Drs. Allwar, M.Sc., Ph.D

Drs. Allwar, M.Sc., Ph.D

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skrpsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 20 Maret 2017

Penulis,

Dhimas Aditya Pratama

iv

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Segala puji dan syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul Validasi Metode Analisis Senyawa Asam Retinoat Dalam Krim Wajah Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) – Densitometri. Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi Prodi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia. Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

(1). Bapak Ari Wibowo, M.Sc., Apt. dan Ibu Sista Werdyani, M.Biotech., Apt. selaku dosen pembimbing utama yang telah banyak menyediakan waktu dan bimbingannya selama penelitian berlangsung.

(2). Ibu Yuli Rohyami, S.Si., M.Sc. dan Ibu Mai Anugrahwati, S.Si., M.Sc. selaku dosen penguji yang juga telah berkenan memberikan kritik dan saran terkait penulisan naskah skripsi..

(3). Bapak Drs. Allwar, M.Sc., Ph.D, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

(4). Bapak Pinus Jumaryatno, S.Si., M. Phil., Ph.D., Apt. selaku Ketua Jurusan Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

(5). Dosen pengajar Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan banyak pengetahuan kepada penulis.

(6). Bapak Riyanto dan Yon Haryanto, selaku laboran laboratorium biologi farmasi yang telah banyak membantu penulis selama penelitian berlangsung.

(7). Pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna sehingga penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini dapat membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Wassalamualaikum Wr. Wb.

Yogyakarta, 20 Maret 2017

Penulis,

Dhimas Aditya Pratama

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i
HALAMAN PERSETUJUAN ii
HALAMAN PENGESAHAN iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS iv
KATA PENGANTAR v
DAFTAR ISI vii
DAFTAR GAMBAR x
DAFTAR TABEL xi
DAFTAR RUMUS xii
DAFTAR LAMPIRAN xiii
INTISARI xiv
ABSTRACT xv

BAB I PENDAHULUAN 1
1.1. Latar Belakang Masalah 1
1.2. Perumusan Masalah 2
1.3. Tujuan Penelitian 2
1.4. Manfaat Penelitian 3

BAB II STUDI PUSTAKA 4
2.1. Tinjauan Pustaka 4
2.1.1. Krim Pemutih 4
2.1.2. Krim Wajah Sebagai Obat 5
2.1.3. Asam Retinoat 5
2.1.4. Mekanisme Efek Pemutih Asam Retinoat 6
2.1.5. Efek Samping Asam Retinoat 6
2.1.6. Kromatografi Lapis Tipis 6
2.1.7. Densitometri 7
2.1.8. Validasi Metode Analisis 8

2.1.8.1. Definisi Validasi Metode 8
2.1.8.2. Parameter Validasi Metode 9
2.2. Landasan Teori 13
2.3. Hipotesis 14

BAB III METODE PENELITIAN 16
3.1. Bahan dan Alat 16
3.1.1. Bahan 16
3.1.2. Alat 16
3.2. Cara Penelitian 16
3.2.1. Penyiapan Fase Gerak 16
3.2.2. Penyiapan Stok Larutan Baku Asam Retinoat 5000 ppm 16
3.2.3. Penyiapan Larutan Baku Asam Retinoat 1000 ppm 17
3.2.4. Pembuatan Larutan Uji 17
3.2.5. Optimasi Panjang Gelombang 17
3.2.6. Validasi Metode Analisis 17
3.2.6.1. Uji Spesifisitas 17
3.2.6.2. Uji Linearitas, LOD, dan LOQ 17
3.2.6.3. Uji Presisi 18
3.2.6.4. Uji Akurasi 18
3.2.6.5. Kisaran (*Range*) 18
3.2.7. Identifikasi dan Penetapan Kadar Asam Retinoat di dalam Krim Wajah 19
3.3. Analisis Hasil 19

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 20
4.1. Penyiapan Larutan Uji dan Fase Gerak 20
4.2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) 21
4.3. Pembuatan Kurva Baku 22
4.4. Validasi Metode 23
4.4.1. Spesifisitas 23

4.4.2. Linearitas 25
4.4.3. LOD dan LOQ 26
4.4.4. Presisi 26
4.4.5. Akurasi 28
4.4.6. Kisaran (*range*) 29
4.5. Identifikasi Kandungan Asam Retinoat di dalam Sediaan Krim Wajah ... 29
4.6. Penetapan Kadar Asam Retinoat pada Krim Wajah 31

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 32
5.1. Kesimpulan 32
5.2. Saran 32

DAFTAR PUSTAKA 33

LAMPIRAN 35

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Struktur asam retinoat	5
Gambar 4.1.	Spektra standar asam retinoat pada panjang gelombang 200-500 dengan fase gerak sistem A.....	20
Gambar 4.2.	Spektra standar asam retinoat pada panjang gelombang 200-500 nm dengan fase gerak sistem B.....	21
Gambar 4.3.	Kromatogram uji spesifisitas asam retinoat pada fase gerak sistem A.....	23
Gambar 4.4.	Kromatogram uji spesifisitas asam retinoat pada fase gerak sistem B	23
Gambar 4.5.	Hubungan kadar asam retinoat dengan AUC pada fase gerak sistem A	24
Gambar 4.6.	Hubungan kadar asam retinoat dengan AUC pada fase gerak sistem B.....	24
Gambar 4.7.	Hasil identifikasi asam retinoat di bawah sinar UV pada fase gerak sistem A	29
Gambar 4.8.	Hasil identifikasi asam retinoat di bawah sinar UV pada fase gerak sistem B	30

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Parameter analisis validasi metode	9
Tabel 2.2.	Kriteria Penerimaan Presisi pada Konsentrasi Analit yang Berbeda	10
Tabel 2.3.	Kriteria Penerimaan Akurasi pada Konsentrasi Analit yang Berbeda	11
Tabel 3.1.	Perkiraan nilai Rf senyawa asam retinoat	18
Tabel 4.1.	Data pembuatan kurva baku asam retinoat pada sistem A	22
Tabel 4.2.	Data pembuatan kurva baku asam retinoat pada sistem B.....	22
Tabel 4.3.	Data presisi asam retinoat pada sistem A	26
Tabel 4.4.	Data presisi asam retinoat sistem B	26
Tabel 4.5.	Data akurasi asam retinoat pada sistem A	27
Tabel 4.6.	Data akurasi asam retinoat pada sistem B	28

DAFTAR RUMUS

Rumus 2.1. Standar deviasi 10

Rumus 2.2. *Relative sanndard deviation* 10

Rumus 2.3. RSD Horwitz 10

Rumus 2.4. Persen perolehan kembali 11

Rumus 2.5. Simpangan baku residual 11

Rumus 2.6. *Limit of quantification* 11

Rumus 2.7. *Limit of detection* 12

Rumus 2.8. Persamaan garis lurus 12

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Sertifikat analisis asam retinoat	36
Lampiran 2.	Perhitungan dan data pembuatan kurva baku asam retinoat	37
Lampiran 3.	Contoh perhitungan nilai LOD dan LOQ asam retinoat	39
Lampiran 4.	Data dan perhitungan uji presisi asam retinoat	39
Lampiran 5.	Data dan perhitungan uji akurasi asam retinoat	41
Lampiran 6.	Kromatogram uji spesifisitas asam retinoat	43
Lampiran 7.	Kromatogram uji linearitas asam retinoat	45
Lampiran 8.	Kromatogram uji presisi asam retinoat	49
Lampiran 9.	Kromatogram uji akurasi asam retinoat	53
Lampiran 10.	Kromatogram penetapan kadar sampel asam retinoat	63

VALIDASI METODE ANALISIS SENYAWA ASAM RETINOAT DALAM KRIM WAJAH DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) – DENSITOMETRI

Dhimas Aditya Pratama
Prodi Farmasi

INTISARI

Metode kromatografi lapis tipis (KLT)-densitometri merupakan metode yang dapat digunakan untuk penetapan kadar asam retinoat dalam sediaan krim wajah. Validasi metode dilakukan untuk memberikan hasil yang dapat dipercaya sebelum dilakukan proses penetapan kadar. Asam retinoat dalam krim wajah dipisahkan dengan metode KLT menggunakan fase diam silika gel 60 F_{254} dengan fase gerak sistem A n-heksan:asam asetat glasial 0,33 % dalam etanol mutlak (9:1) dan sistem B n-heksan:aseton (6:4). Analisis kuantitatif dilakukan dengan densitometer pada panjang gelombang 334 untuk fase gerak sistem A nm dan 337 nm untuk fase gerak sistem B. Analisis hasil dilakukan dengan membandingkan nilai Rf antara standar dan sampel serta menilai kesesuaian validasi metode dengan membandingkan *International Conference on Harmonization* (ICH) dan *Association of Analytical Chemist* (AOAC) yang meliputi spesifisitas, linearitas, LOD, LOQ, presisi, akurasi, dan kisaran (*range*). Uji spesifisitas menunjukkan pemisahan yang baik antara larutan baku asam retinoat dengan larutan sampel dan sampel *spike*. Uji linearitas pada fase gerak sistem A dan sistem B diperoleh nilai (r) keduanya sebesar 0,9996. Nilai %RSD asam retinoat pada fase gerak sistem A dan sistem B berturut-turut 3,98 % dan 2,85 % . Hasil uji akurasi didapatkan perolehan kembali asam retinoat pada fase gerak sistem A dan sistem B berturut-turut 96,87% dan 96,64%. Hasil identifikasi dan penetapan kadar menunjukkan kelima sampel krim wajah yang diujikan tidak mengandung asam retinoat.

Kata Kunci : Asam retinoat, krim wajah, validasi metode, KLT-densitometri

VALIDATION OF METHODS OF ANALYSIS RETINOIC ACID COMPOUNDS IN THE FACE CREAM USING THIN LAYER CHROMATOGRAPHY METHODS (TLC) – DENSITOMETRY

Dhimas Aditya Pratama
Pharmacy Study Program

ABSTRACT

Thin layer chromatography (TLC)-densitometry method is the method that should be used for the quantification of the retinoic acid in face cream. The validation method is needed to give results trustworthy before quantification process is completed. Retinoic acid in face cream was separated with TLC method used silica gel 60 F_{254} as stationary phase and system a (n-hexane: acetic acid glacial 0,33 % in ethanol absolute (9:1)) and system b (n-heksan: acetone (6:4)) as mobile phases. The quantitative analysis was done used densitometer at wavelengths 334 nm for system A and 337 nm for system b. The analysis was done by compared the Rf value between standards and sample and assessed validation parameter by compared it with International Conference on Harmonization (ICH) and Association of Analytical Chemist (AOAC), include specificity, linearity, LOD, LOQ, precision, accuracy, and the range. Specificity test showed good separation between the standard solution of retinoic acid, sample solution and sample spike. Linearity test of retinoic acid in system A and system B obtained (r) value 0.9996. % RSD value of retinoic acid in the system A and system B respectively 3,98% and 2,85%. The accuracy of test results obtained recoveries of retinoic acid in the system A and system B respectively 96,87% and 96,64%. Identification and assay results indicated the five face creams tested did not contain retinoic acid.

Keywords: Retinoic acid, face cream, method validation, TLC-densitometry