

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Asam Retinoat

Asam Retinoat merupakan zat peremajaan non peeling karena merupakan iritan yang menginduksi aktivitas mitosis sehingga terbentuk stratum korneum yang kompak dan halus, meningkatkan kolagen dan glikosaminoglikan dalam dermis sehingga kulit menebal dan padat serta meningkatkan vaskularisasi kulit sehingga menyebabkan kulit memerah dan segar (Anita Agustina S et al., 2019).

Asam retinoat di pasaran kadang ditulis sebagai tretinoin. Asam retinoat adalah bentuk asam dan bentuk aktif dari vitamin A (retinol). Asam retinoat ini sering dipakai sebagai bentuk sediaan vitamin A topikal, yang hanya dapat diperoleh dengan resep dokter. Bahan ini sering dipakai pada preparat untuk kulit terutama untuk pengobatan jerawat, dan sekarang banyak dipakai untuk mengatasi kerusakan kulit akibat paparan sinar matahari (sundamage) dan untuk pemutih (Wardhani et al., 2019).

Asam retinoat adalah jenis obat keras yang hanya dapat dibeli dengan menyertakan resep dokter, namun kenyataannya banyak produk kosmetik yang dijual dengan bebas di pasaran dengan kandungan asam retinoat. Bahaya dari penggunaan asam retinoat adalah menyebabkan kulit kering, rasa terbakar dan teratogenic (BPOM RI, 2007). Asam retinoat sering digunakan untuk perawatan kulit, terutama mengobati jerawat, mengatasi kerusakan kulit akibat terpapar oleh sinar matahari (sun damage) dan sebagai pemutih kulit (BPOM RI, 2011).

Asam retinoat yang biasanya dimasukkan dalam komposisi krim pemutih karena dipercaya dapat memberikan efek pemutih. Efek pemutih didapatkan secara tidak langsung melalui penghambatan pigmen melanin seperti beberapa senyawa pemutih lainnya, tetapi diduga karena terjadinya peningkatan proliferasi sel-sel kreatin dan percepatan turnover epidermis (lapisan kulit paling luar), sehingga memberikan efek mencerahkan kulit). (Aditya Pratama, 2017).

Asam retinoat memiliki efek yang berbahaya pada penggunaan topikal yang diantaranya dapat menyebabkan iritasi kulit, kulit seperti terbakar, terutama buat yang memiliki kulit sensitif. Pada penggunaan sistemik, asam retinoat dapat menyebabkan abnormalitas perkembangan janin dan kandungan. Efek yang paling

nyata pada gangguan sistemik, tetapi pada gangguan topikal (dioleskan dikulit dalam jangka waktu lama yang dikuatkan akan menyebabkan terserapnya asam retinoat ke dalam tubuh dan akan mempengaruhi janin apabila digunakan oleh wanita hamil (Aditya Pratama, 2017)

2.2 Tinjauan Kosmetik

Kosmetik adalah produk yang unik karena selain kemampuan memenuhi kebutuhan dasar perempuan kecantikan Seringkali rata-rata Konsumen harus mengklarifikasi identitas mereka sosial dalam masyarakat. Bersama Perkembangan zaman seperti kosmetik kebutuhan utama sebagian wanita. Kosmetik adalah suatu keharusan yang sangat penting bagi seorang wanita. Apakah Anda menyadarinya dalam kehidupan sehari-hari wanita tidak dapat dipisahkan dari kosmetik (Gunawan, 2017).

Sediaan kosmetik yang biasa digunakan untuk diaplikasikan ke wajah adalah krim pencerah wajah. Banyak wanita maupun pria yang menginginkan kulit wajah yang cantik, putih dan bersih, tanpa memperhatikan keamanan kandungan bahan yang dipakai. Bahan yang dilarang untuk ditambahkan ke dalam sediaan krim pencerah wajah yang sering ditemukan adalah merkuri, hidrokuinon dan asam retinoat. Beberapa kosmetik dapat ditemukan berbagai bahan kimia yang berbahaya bagi kulit, seperti merkuri, hidroquinon, asam retinoat dan zat warna sintetis seperti Rhodamin B dan Merah K3. Bahan-bahan ini sebetulnya telah dilarang penggunaannya sejak tahun 1998 melalui Peraturan Menteri\ Kesehatan RI No. 445/MENKES/PER/V/19981.

Kosmetik yang beredar di pasaran sekarang ini dibuat dengan berbagai jenis bahan dasar dan cara pengolahannya. Menurut bahan yang digunakan dan cara pengolahannya, kosmetik dapat dibagi menjadi 2 golongan besar yaitu kosmetik tradisional dan kosmetik modern. Kosmetik yang beredar di Indonesia ada dua macam yaitu kosmetik tradisional dan kosmetik modern.

- a. Kosmetik Tradisional; Kosmetik tradisional adalah kosmetik alamiah atau kosmetik asli yang dapat dibuat sendiri langsung dari bahan-bahan segar atau yang telah dikeringkan, buah-buahan dan tanam-tanaman disekitar kita.
- b. Kosmetik Modern ; Kosmetik modern adalah kosmetik yang diproduksi secara pabrik (laboratorium), dimana telah dicampur dengan zat-zat kimia

untuk mengawetkan kosmetik tersebut agar tahan lama, sehingga tidak cepat rusak. (Pangaribuan, 2017)

2.3 Tinjauan Krim

Krim adalah suatu sediaan farmasi yang mengandung satu atau lebih bahan obat yang terdispersi dengan baik dalam bentuk emulsi air dalam minyak (a/m) atau minyak dalam air (m/a), mengandung air tidak kurang dari 60 %. Ditujukan untuk pemakaian topikal pada kulit dan dapat juga digunakan untuk vagina dan rektal. Namun, kebanyakan Industri Farmasi memproduksi krim untuk sediaan topikal pada kulit karena lebih banyak diminati oleh pasien maupun dokter (Haerani, 2017).

Menurut Farmakope Indonesia IV (1995), Krim adalah bentuk sediaan setengah padat mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Istilah ini secara tradisional telah digunakan untuk sediaan setengah padat yang mempunyai konsistensi relatif cair diformulasi sebagai emulsi air dalam minyak (a/m) atau minyak dalam air (m/a) (Haerani, 2017).

Pada Pembuatan krim yang harus diperhatikan adalah uji evaluasi sediaan, Evaluasi sediaan krim adalah parameter yang telah ditetapkan untuk mengetahui kestabilan sediaan krim diantaranya uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji tipe krim, uji viskositas dan uji Daya sebar (Karmilah & Musdalipah, 2018).

2.4 Zat Aktif dalam Krim Pemutih

1. Kojic Acid (Asam Kojic)

Kojic Acid terutama dalam bentuk ester sangat berpotensi dengan baik untuk ditambahkan ke dalam sediaan karena memiliki kestabilan yang lebih tinggi terhadap suhu penyimpanan. Kojic acid ester berasal dari esterifikasi kojic acid dari asam lemak minyak sawit terbukti aman dan berfungsi sebagai agen depigmenting yang tidak beracun dengan efek penghambatan yang memuaskan pada pembentukan melanin dan mengurangi aktivitas tirosinase. Sehingga, disarankan agar senyawa depigmenting ini digunakan dalam formulasi kosmetik dan untuk mengobati hiperpigmentasi seperti krim pemutih. Asam Kojic dianggap sebagai bahan pencerah kulit standar dan khasiatnya diakui di seluruh dunia.

2. Arbutin

Arbutin merupakan turunan hidrokinon dengan struktur molekul $C_{12}H_{16}O_7$. Arbutin alami adalah metabolit sekunder yang masuk golongan glikosida fenolik. Arbutin dapat mencegah sengatan sinar matahari yang serius akibat akumulasi melanin pada jaringan subkutan yang dihasilkan jalur metabolisme tirosinase-dikatalisis. Tirosinase adalah enzim penting untuk pembentukan melanin. Efek pemutih dari arbutin dapat mengurangi aktivitas tirosinase seluler tanpa mengubah viabilitas sel. Pada formulasi sediaan kosmetik whitening kadar arbutin yang dapat digunakan $\leq 7\%$.

3. Vitamin C

Vitamin C adalah obat antioksidan kuat yang bisa digunakan secara topikal dalam dermatologi untuk mengobati dan mencegah perubahan terkait dengan photoaging. Vitamin C dapat digunakan untuk pengobatan hiperpigmentasi. Formulasi Dalam Sediaan Krim (Haerani, 2017).

2.5 Evaluasi Sediaan Krim

Evaluasi sediaan krim bertujuan untuk mengetahui apakah sediaan tersebut sudah memenuhi syarat. Evaluasi sediaan krim meliputi sebagai berikut :

1. Uji Organoleptis

Uji evaluasi organoleptis bertujuan untuk mengamati warna, bau dan tekstur pada sediaan krim, uji organoleptis akan berpengaruh terhadap kenyamanan pengguna oleh karena itu sebaiknya sediaan memiliki warna yang menarik.

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk melihat tingkat kehomogenan suatu krim dengan mengamati partikel-partikel kasar pada sediaan krim, jika sediaan krim telah homogen maka diasumsikan kadar zat aktif akan selalu sama pada saat pengambilan.

3. Uji pH

Uji pH bertujuan untuk mengetahui apakah sediaan krim yang di buat sudah sesuai dengan pH krim kulit atau tidak, sediaan krim harus mempunyai nilai pH kulit sesuai ketentuan SNI 16-43991996 yaitu nilai

pH berkisar 4,58. Sehingga tidak menyebabkan iritasi pada kulit.

4. Uji Tipe Krim

Uji tipe krim bertujuan untuk mengamati tipe krim pada sediaan, uji ini biasanya menggunakan 2 metode yaitu metode pengenceran dan metode dispersi warna.

5. Uji Viskositas

Uji viskositas bertujuan untuk mengetahui kekentalan krim, biasanya faktor-faktor yang mempengaruhi penurunan nilai viskositas yaitu suhu, konsentrasi bahan, dan reaksi kimia yang terjadi saat penyimpanan.

6. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar bertujuan untuk mengetahui kemampuan penyebaran krim didalam kulit, krim yang baik memiliki daya sebar yang besar sehingga tidak perlu penekanan pada kulit.

2.6 Tinjauan E-commerce

Banyak alat komunikasi dan informasi yang digunakan dalam kegiatan dunia usaha, seperti penggunaan telepon, fax, sms, email, website dan lain-lain. Sehingga munculah istilah "e-commerce". E-commerce (*electroniccommerce*) adalah proses transaksi jual-beli dengan menggunakan alat elektronik, seperti telepon dan internet. (Shimet al.2000) dalam (Suyanto 2003) mendefinisikan e-commerce (*electroniccommerce*) sebagai konsep baru yang bisa digambarkan sebagai proses jual-beli barang atau jasa pada World Wide Web Internet. Atau menurut Turban dkk (2008) e-commerce merupakan jual beli atau pertukaran produk, jasa dan informasi melalui jaringan informasi termasuk internet. Sedangkan menurut Kalakota dan Whinston (1997) mendefinisikan e-commerce dari beberapa perspektif berikut :

1. Perspektif komunikasi

E-commerce merupakan pengiriman informasi, produk/layanan, atau pembayaran melalui lini telepon, jaringan komputer atau sarana elektronik lainnya.

2. Perspektif proses bisnis

E-commerce merupakan aplikasi teknologi menuju otomisasi transaksi dan aliran kerja perusahaan.

3. Perspektif layanan

E-commerce merupakan salah satu alat yang memenuhi keinginan perusahaan, konsumen dan manajemen dalam memangkas service cost ketika meningkatkan mutu barang dan kecepatan pelayanan.

4. Perspektif online

E-commerce berkaitan dengan kapasitas jual beli produk dan informasi di internet dan jasa online lainnya. (Maryama, 2013)

Penggunaan e-commerce pada saat ini merupakan syarat bagi sebuah organisasi atau perusahaan, agar perusahaan itu dapat bersaing secara global. Banyak penelitian yang menekankan efisiensi dalam penggunaan e-commerce. Selain itu juga peneliti banyak melihat dampak positif yang diberikan oleh e-commerce dibandingkan dampak negatifnya.

Salah satu fungsi dari pemanfaatan e-commerce ini adalah adanya efisiensi terhadap dunia usaha. Baik efisien secara materil (biaya) maupun secara non-materil (tenaga dan waktu). Dari segi biaya, perusahaan dapat menekan biaya misalnya dengan memanfaatkan telepon dan internet sebagai media penawaran dan promosi barang atau jasa. Karena hal tersebut akan lebih murah dibandingkan dengan cara tradisional atau offline. Di sisi lain, efisiensi biaya ini juga bisa terjadi karena adanya pengurangan tenaga kerja pada posisi tertentu. Selain itu, penggunaan e-commerce juga dapat menekan waktu kerja. Hal ini terjadi misalnya dengan pemanfaatan fax dan email dalam mengirimkan berbagai surat bisnis.

2.7 Tinjauan Spektrofotometri Uv-Vis

2.7.1 Spektrofotometri Uv-Vis

Spektrofotometri merupakan salah satu metode analisis instrumental yang menggunakan dasar interaksi energy dan materi. Spektrofotometri dapat dipakai untuk menentukan konsentrasi suatu larutan melalui intensitas serapan pada panjang gelombang tertentu. Panjang gelombang yang dipakai adalah panjang gelombang maksimum yang memberikan absorbansi maksimum. Salah satu prinsip kerja spektrofotometri didasarkan pada fenomena penyerapan sinar oleh spesi kimia tertentu didaerah ultra violet dan sinar tampak (visible). Pada spektrofotometer, yang penting untuk diperhatikan ialah perbedaan antara spektrofotometer sinar tunggal dan spektrofotometer sinar ganda. Spektrofotometer

sinar tunggal biasanya dipakai untuk kawasan spectrum ultraungu dan cahaya yang terlihat. Spektrofotometer sinar ganda dapat dipergunakan baik dalam kawasan ultraungu dan cahaya yang terlihat maupun dalam kawasan inframerah (Putri, 2017).

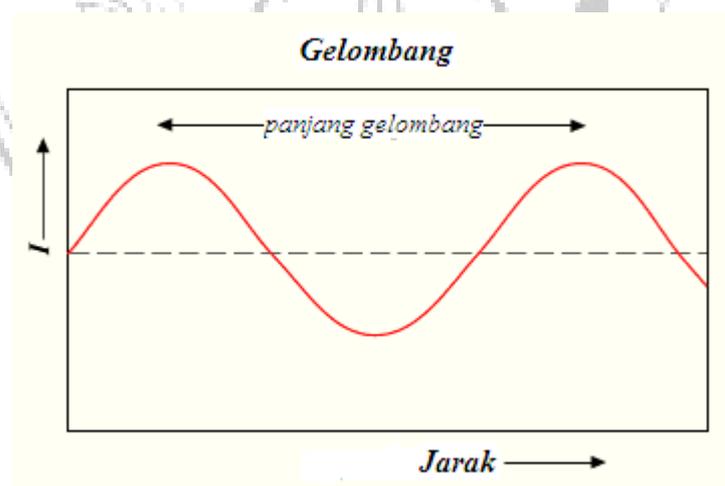
2.7.2 Spektrofotometri Sinar Tampak (visible)

Spektrofotometri visible disebut juga spektrofotometri sinar tampak. Yang dimaksud sinar tampak adalah sinar yang dapat dilihat oleh mata manusia. Cahaya yang dapat dilihat oleh mata manusia adalah cahaya dengan panjang gelombang 400-800 nm dan memiliki energi sebesar 299– 149 kJ/mol. Elektron pada keadaan normal atau berada pada kulit atom 4 dengan energi terendah disebut keadaan dasar (ground-state). Energi yang dimiliki sinar tampak mampu membuat elektron tereksitasi dari keadaan dasar menuju kulit atom yang memiliki energi lebih tinggi atau menuju keadaan tereksitasi. Cahaya atau sinar tampak adalah radiasi elektromagnetik yang terdiri dari gelombang. Seperti semua gelombang, kecepatan cahaya, panjang gelombang dan frekuensi dapat didefinisikan sebagai:

$$C = V \cdot \lambda$$

Dimana :

- C = Kecepatan cahaya
 V = Frekuensi dalam gelombang per detik
 (Hertz) λ = Panjang gelombang dalam meter



Gambar 2. 1 Radiasi Elektromagnetik dengan panjang gelombang λ

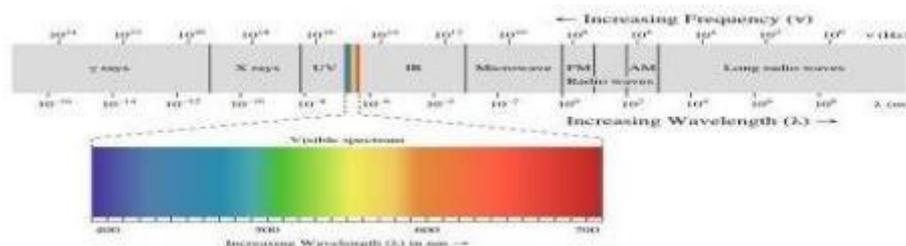
Benda bercahaya seperti matahari atau bohlam listrik memancarkan spectrum lebar yang tersusun dari panjang gelombang. Panjang gelombang yang dikaitkan dengan cahaya tampak itu mampu mempengaruhi selaput pelangi manusia yang mampu menimbulkan kesan subyektif akan ketampakan (visible). (A.L.Underwood dan R.A.Day Jr). 5 Cahaya/ sinar tampak terdiri dari suatu bagian sempit kisaran panjang gelombang dari radiasi elektromagnetik dimana mata manusia sensitive. Radiasi dari panjang gelombang yang berbeda ini dirasakan oleh mata kita sebagai warna berbeda, sedangkan campuran dari semua panjang gelombang tampak seperti sinar putih, memiliki panjang gelombang mencakup 400-700 nm. Panjang gelombang dari berbagai warna adalah sebagai berikut :

Tabel II. 1. Panjang gelombang untuk setiap jenis warna

| Jenis Sinar | Panjang Gelombang (nm) |
|-------------|------------------------|
| Ultraviolet | < 400 |
| Violet | 400-450 |
| Biru | 450-500 |
| Hijau | 500-570 |
| Kuning | 570-590 |
| Oranye | 590-620 |
| Merah | 620-760 |
| Infra merah | >760 |

(Sumber : Underwood, 2002)

Spektrometri molekular (baik kualitatif dan kuantitatif) bisa dilaksanakan di daerah sinar tampak, sama halnya seperti di daerah yang sinar ultraviolet dan daerah sinar inframerah



Gambar 2. 2 Spektrum gelombang elektromagnetik lengkap
(Sumber:Harvey,2000)

Persepsi visual tentang warna dibangkitkan dari penyerapan selektif panjang gelombang tertentu pada peristiwa penyinaran obyek berwarna. Sisa panjang gelombang dapat diteruskan (oleh obyek transparan) atau dipantulkan (oleh obyek yang buram) dan dilihat oleh mata sebagai warna dari pancaran atau pantulan cahaya. Oleh karena itu obyek biru tampak berwarna biru sebab telah menyerap sebagian dari panjang gelombang dari cahaya dari daerah oranye-merah. Sedangkan obyek yang merah tampak merah sebab telah menyerap sebagian dari panjang gelombang dari daerah ultraviolet-biru. Bagaimanapun, di dalam spektrometri molekul tidak berkaitan dengan warna dari suatu senyawa, yaitu warna yang dipancarkan atau pantulkan, namun berkaitan dengan warna yang telah dipindahkan dari spektrum, seperti panjang gelombang yang telah diserap oleh suatu unsur di dalam suatu larutan. Energi gelombang seperti bunyi dan air ditentukan oleh amplitudo dari getaran (misal tinggi gelombang air) tetapi dalam radiasi elektromagnetik energi ditentukan oleh frekuensi ν , dan quantized, terjadi hanya pada tingkatan tertentu

$$E = h \cdot \nu$$

dimana :

h = konstanta Planck, $6,63 \times 10^{-34}$ J.s

Tabel II. 2 Panjang gelombang berbagai warna cahaya

| λ (nm) | Warna yang teradsorbsi | Warna tertransmisi (komplemen) |
|----------------|------------------------|--------------------------------|
| 400-435 | Violet | Hijau-Kuning |
| 435-480 | Biru | Kuning Oranye |
| 480-490 | Biru-Hijau | Merah |
| 490-500 - | Hijau Biru | Ungu |
| 500-560 | Hijau | Violet Biru |
| 560-580 | Hijau-Kuning | Biru-Hijau |
| 580-595 | Kuning Oranye | Hijau-Biru |
| 595-650 | Merah | |
| 650-760 | | |

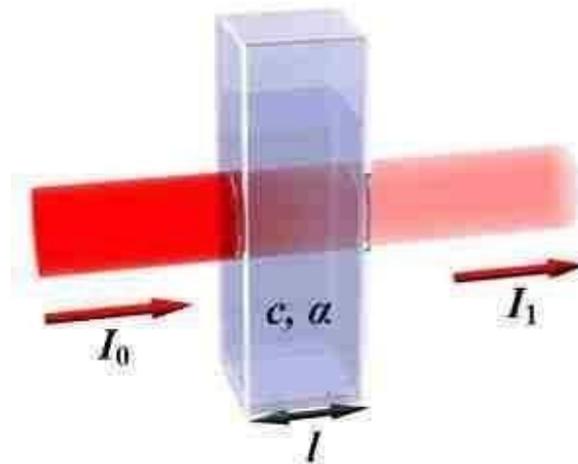
(Sumber : Underwood, 2002)

2.7.3 Proses Absorpsi Cahaya pada Spektrofotometri

Ketika cahaya dengan panjang berbagai panjang gelombang (cahaya polikromatis) mengenai suatu zat, maka cahaya dengan panjang gelombang tertentu saja yang akan diserap. Di dalam suatu molekul yang memegang peranan penting adalah elektron valensi dari setiap atom yang ada hingga terbentuk suatu materi. Elektron-elektron yang dimiliki oleh suatu molekul dapat berpindah (eksitasi), berputar (rotasi) dan bergetar (vibrasi) jika dikenai suatu energi. Jika zat menyerap cahaya tampak dan ultraviolet maka akan terjadi perpindahan elektron dari keadaan dasar menuju ke keadaan tereksitasi. Perpindahan elektron ini disebut transisi elektronik.

Apabila cahaya yang diserap adalah cahaya inframerah maka elektron yang ada dalam atom atau elektron ikatan pada suatu molekul dapat hanya akan bergetar (vibrasi). Sedangkan gerakan berputar elektron terjadi pada energi yang lebih rendah lagi misalnya pada gelombang radio. Atas dasar inilah spektrofotometri dirancang untuk mengukur konsentrasi yang ada dalam suatu sampel.

Dimana zat yang ada dalam sel sampel disinari dengan cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu. Ketika cahaya mengenai sampel sebagian akan diserap, sebagian akan dihamburkan dan sebagian lagi akan diteruskan. Pada spektrofotometri, cahaya datang atau cahaya masuk atau cahaya yang mengenai permukaan zat dan cahaya setelah melewati zat tidak dapat diukur, yang dapat diukur adalah I_t / I_0 atau I_0 / I_t (perbandingan cahaya datang dengan cahaya setelah melewati materi (sampel)). Proses penyerapan cahaya oleh suatu zat dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 2. 3 Proses penyerapan cahaya oleh suatu zat

Gambar proses penyerapan cahaya oleh zat dalam sel sampel. Dari gambar terlihat bahwa zat sebelum melewati sel sampel lebih terang atau lebih banyak di banding cahaya setelah melewati sel sampel. Cahaya yang diserap diukur sebagai absorbansi (A) sedangkan cahaya yang hamburkan diukur 10 sebagai transmitansi (T), dinyatakan dengan hukum Lambert-Beer atau Hukum Beer, berbunyi: “jumlah radiasi cahaya tampak (ultraviolet, inframerah dan sebagainya) yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan”. Berdasarkan hukum Lambert-Beer, rumus yang digunakan untuk menghitung banyaknya cahaya yang dihamburkan:

$$T = \frac{I_t}{I_0} \text{ atau } \% T = \frac{I_t}{I_0} \times 100 \%$$

Dan absorbansi dinyatakan dengan rumus:

$$A = -\log T = -\log \frac{I_t}{I_0}$$

Dimana I_0 merupakan intensitas cahaya datang dan I_t atau I_1 adalah intensitas cahaya setelah melewati sampel. Spektrofotometer modern dikalibrasi secara langsung dalam satuan absorbansi. (Dalam beberapa buku lama $\log I_0/I_t$ disebut densitas optik dan I_t digunakan sebagai ganti simbol P). Perbandingan I_t/I_0 disebut transmitans (T), dan beberapa instrumen disajikan dalam % transmitans, $(I_t/I_0) \times 100$. Sehingga hubungan absorbansi dan transmitans dapat ditulis sebagai:

$$A = -\log T$$

Dengan menggunakan beberapa instrumen, hasil pengukuran tercatat sebagai transmitansi dan absorbansi dihitung dengan menggunakan rumus tersebut. Dari pembahasan di atas dapat dikatakan bahwa konsentrasi dari suatu unsur berwarna harus sebanding dengan intensitas warna larutan. Ini adalah dasar pengukuran yang menggunakan pembandingan visual di mana intensitas warna dari suatu larutan dari suatu unsur yang konsentrasinya tidak diketahui dibandingkan dengan intensitas warna dari sejumlah larutan yang diketahui konsentrasinya. (Kusnanto Mukti, 2000). Secara eksperimen hukum Lambert-beer akan terpenuhi apabila peralatan yang digunakan memenuhi kriteria-kriteria berikut:

1. Sinar yang masuk atau sinar yang mengenai sel sampel berupa sinar dengan panjang gelombang tunggal (monokromatis).
2. Penyerapan sinar oleh suatu molekul yang ada di dalam larutan tidak dipengaruhi oleh molekul yang lain yang ada bersama dalam satu larutan.
3. Penyerapan terjadi di dalam volume larutan yang luas penampang (tebal kuvet) yang sama.
4. Penyerapan tidak menghasilkan pemancaran sinar pendafluor. Artinya larutan yang diukur harus benar-benar jernih agar tidak terjadi hamburan cahaya oleh partikel-partikel koloid atau suspensi yang ada di dalam larutan.
5. Konsentrasi analit rendah. Karena apabila konsentrasi tinggi akan mengganggu kelinearan grafik absorbansi versus konsentrasi.

2.7.4 Alat Pada Spektrofotometri

Dalam analisis spektrofotometri digunakan suatu sumber radiasi yang masuk ke dalam daerah spektrum ultraviolet itu. Dari spektrum ini, dipilih panjang-panjang gelombang tertentu dengan lebar pita kurang dari 1 nm. Proses ini menggunakan instrumen yang disebut spektrofotometer. Alat ini terdiri dari spektrometer yang menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer sebagai alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi (Bassett, 1994; Khopkar, 1990). Unsur-unsur terpenting suatu spektrofotometer adalah sebagai berikut:

1. Sumber-sumber lampu

Lampu deuterium digunakan untuk daerah UV pada panjang gelombang dari

190-350 nm, sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visibel pada panjang gelombang antara 350- 900 nm. 2.

2. Monokromotor

Monokromator digunakan untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis. Alatnya dapat berupa prisma maupun grating. Untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diinginkan dari hasil penguraian.

3. Kuvet (sel)

Kuvet digunakan sebagai wadah sampel untuk menaruh cairan ke dalam berkas cahaya spektrofotometer. Kuvet itu haruslah meneruskan energi radiasi dalam daerah spektrum yang diinginkan. Pada pengukuran di daerah tampak, kuvet kaca atau kuvet kaca corex dapat digunakan, tetapi untuk pengukuran pada daerah ultraviolet harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini. Kuvet tampak dan ultraviolet yang khas mempunyai ketebalan 1 cm, namun tersedia kuvet dengan ketebalan yang sangat beraneka, mulai dari ketebalan kurang dari 1 mm sampai 10 cm bahkan lebih.

4. Detektor

Detektor berperan untuk memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang.

5. Suatu amplifier (penguat) dan rangkaian yang berkaitan yang membuat isyarat listrik itu dapat dibaca.

6. Sistem pembacaan yang memperlihatkan besarnya isyarat listrik

2.8 Validasi Metode

2.8.1 Definisi Validasi Metode

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Validasi metode sangat diperlukan karena beberapa alasan yaitu validasi metode merupakan elemen penting dari kontrol kualitas, validasi membantu memberikan jaminan bahwa pengukuran akan dapat diandalkan. Selain itu untuk metode yang telah tersedia dan baku namun metode tersebut baru pertama kali akan digunakan

di tempat tertentu harus dilakukan verifikasi (Riyanto, 2014).

2.8.2 Unsur Data dalam Validasi Metode

Menurut Farmakope Indonesia Edisi 5 (2014), persyaratan pengujian farmakope beragam, mulai dari penetapan analisis tingkat kepastian tinggi sampai evaluasi terhadap karakteristik. Setiap prosedur analisis yang berbeda memerlukan skema validasi yang berbeda. Bagian ini hanya mencakup kategori pengujian secara umum yang mensyaratkan data validasi. Kategori-kategori tersebut adalah sebagai berikut :

- a. Kategori I, prosedur analisis untuk penetapan kadar komponen utama dalam bahan baku obat atau bahan aktif (termasuk pengawet) dalam sediaan obat jadi.
- b. Kategori II, prosedur analisis untuk penetapan cemaran dalam bahan baku obat atau senyawa hasil degradasi dalam sediaan obat jadi. Prosedur ini terdiri dari penetapan kuantitatif dan uji batas.
- c. Kategori III, prosedur untuk penetapan karakteristik kinerja sediaan (misalnya disolusi, pelepasan obat).
- d. Kategori IV, prosedur analisis untuk identifikasi Untuk setiap kategori diperlukan informasi analitik yang berbeda.

Tabel II. 3 mencantumkan unsur data yang diperlukan untuk setiap kategori.

| Parameter Kinerja Analisis | Pengujian Kategori I | Pengujian Kategori II | | Pengujian Kategori III |
|-------------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------|---------------------------|
| | | Kuantitatif | Uji Batas | |
| Akurasi | Ya | Ya | * | * |
| Presisi | ya | ya | tidak | ya |
| Spesifitas | Ya | Ya | Ya | * |
| Presisi | Ya | Ya | Tidak | * |
| Spesifitas | Ya | Ya | Ya | * |
| LOD | Tidak | Tidak | Ya | * |
| LOQ | Tidak | Ya | Tidak | * |
| Linearitas | Ya | Ya | Tidak | * |
| Kisaran | ya | Ya | * | * |

*mungkin diperlukan (tergantung sifat spesifikasi tes).

Stabilitas dari standar dan sampel merupakan syarat yang penting saat melakukan validasi metode. Keduanya harus stabil saat proses analisis berlangsung. Standar dan sampel yang sesuai kriteria yaitu kedua larutan tidak boleh terdegradasi sebanyak 2% dalam jangka waktu 24 jam (Yuwono dan Indrayanto, 2005). Parameter-parameter yang harus dipenuhi dalam validasi metode ini adalah meliputi akurasi, presisi, spesifisitas, linearitas, LOD, LOQ, dan kisaran (range).

a. Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (recovery) analit yang ditambahkan (Yuwono dan Indrayanto, 2005). 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 (senyawa pembanding) ditambahkan ke dalam campuran bahan pembawa sediaan farmasi (plasebo) 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) (Harmita, 2004). Rekomendasi yang disarankan untuk penggunaan sampel pada metode simulasi adalah minimal lima tingkat konsentrasi dengan kisaran target konsentrasi 80-120% atau 75- 125%. Sementara untuk pengukuran akurasi minimal melakukan tiga kali replikasi dengan tiga konsentrasi larutan yang berbeda (Yuwono dan Indrayanto, 2005).

Menurut ICH (2005), pengambilan data sebanyak 9 kali penetapan kadar dengan konsentrasi yang berbeda (3 konsentrasi dengan 3 kali replikasi). Kriteria penerimaan akurasi sekaligus presisi tertera pada tabel II.2. Nilai recovery dapat dihitung melalui persamaan berikut :

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(C_f - C_a)}{C_a}$$

Keterangan :

Cf : Konsentrasi total sampel yang diperoleh dari pengukuran

Ca : Konsentrasi sampel sebenarnya

C^*a : Konsentrasi analit yang ditambahkan

Kriteria penerimaan akurasi ditentukan berdasarkan kadar analit, dinyatakan dalam persen (%) perolehan kembali, seperti yang tertera pada tabel 2.1.

Tabel II. 4.Kriteria Penerimaan Akurasi Pada Konsentrasi Analit yang Berbeda

| Analyte (%) | Analyte Ratio | Unit | Mean recovery (%) |
|-------------|---------------|---------|-------------------|
| 100 | 1 | 100% | 98-102 |
| ≥ 10 | 10^1 | 10% | 98-102 |
| ≥ 1 | 10^2 | 1% | 97-103 |
| $\geq 0,1$ | 10^3 | 0,1% | 95-105 |
| 0,01 | 10^4 | 100 ppm | 90-107 |
| 0,001 | 10^5 | 10 ppm | 80-110 |
| 0,0001 | 10^6 | 1 ppm | 80-110 |
| 0,00001 | 10^7 | 100 ppb | 80-110 |
| 0,000001 | 10^8 | 10 ppb | 60-115 |
| 0,0000001 | 10^9 | 1 ppb | 40-120 |

b. Presisi

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 (Harmita, 2004). Menurut ICH (2005), presisi dibagi menjadi tiga kategori yaitu repeatability (keterulangan), intermediate precision (presisi antara) dan reproducibility (ketertiruan). Repeatability adalah keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan dalam interval waktu yang pendek. Intermediate Precision adalah keseksamaan metode yaitu sampel diuji dan dibandingkan dengan analis yang berbeda, peralatan berbeda dan hari yang berbeda. Reproducibility adalah keseksamaan penggunaan prosedur analisis pada laboratorium yang berbeda, seperti dalam studi kolaboratif (USP 38, 2015). Untuk penentuan repeatability, minimal melakukan enam kali analisis dengan menggunakan tiga konsentrasi yang berbeda (biasanya 80%, 100% dan 120%). Untuk melakukan intermediate precision minimal melakukan enam kali analisis dengan tiga konsentrasi yang berbeda dalam tiga hari yang berbeda sehingga harus menyiapkan minimal 54 sampel (Yuwono dan Indrayanto, 2004). Nilai RSD (Relative Standar Deviation) dapat dihitung melalui persamaan sebagai berikut :

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

dimana

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Keterangan :

RSD : Relative Standar Deviation

X : Nilai dari masing-masing pengukuran

\bar{x} : Rataan dari pengukuran

n : Frekuensi penetapan

c. Spesifisitas

Spesifisitas adalah kemampuan untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen-komponen lain dalam matriks sampel seperti ketidakmurnian, produk degradasi, dan komponen matriks.

d. Linearitas

Linearitas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasilhasil uji secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Metode analisis didasarkan pada proses-proses dari suatu metode yang menghasilkan suatu respon yang linier dan meningkat atau menurun secara linier sebanding dengan konsentrasi analit. Adapun persamaan suatu garis lurus menghasilkan :

$$y = a + bx$$

Keterangan

a = intersep/perpotongan garis lurus dengan sumbu y

b = slope/kemiringan garis

e. LOD

Batas deteksi dapat didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. LOD merupakan batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit di atas atau di bawah nilai tertentu. LOD dapat dihitung dengan persamaan

$$LOD = \frac{(3,3 \times \frac{Sy}{x})}{b}$$

Keterangan:

Sy/x = simpangan baku residual

b = respon dari kemiringan (slope pada persamaan garis $y = bx + a$)

f. LOQ

Perhitungan LOQ mengacu pada standar deviasi dari blanko, yaitu pada standar deviasi residual garis regresi linier atau dengan standar deviasi intersep- y pada garis regresi dengan persamaan sebagai berikut

$$Sy/x = \sqrt{\frac{\sum(y-y_1)^2}{n-2}}$$

$$LOQ = \frac{10 \times SY/X}{b}$$

Sy/x = simpangan baku residual

LOQ = Limit of quantification

B = respon kemiringan (slope pada persamaan garis $y = bx + a$)

g. Rentang

Menurut ICH (2005) yang dimaksud dengan rentang adalah interval antara konsentrasi teratas dan terbawah dari analit sampel yang telah dibuktikan presisi, akurasi, dan linieritasnya. Dalam analisis, konsentrasi baku harus diukur didekat atau sama dengan konsentrasi analit yang diharapkan. Dalam industri farmasi biasanya dipakai konsentrasi baku dengan rentang konsentrasi 80-120% (Yuwono dan Indrayanto, 2005).