

SKRIPSI

FAHRIZAL DIAN NUGRAHA

**VALIDASI METODE ANALISIS
ASAM GLIKOLAT DALAM SEDIAAN KOSMETIK
DENGAN KROMATOGRAFI GAS**



**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
BAGIAN KIMIA FARMASI
SURABAYA
2004**

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan kuliah dan naskah skripsi ini sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana S-1 Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Dalam proses penulisan naskah skripsi yang berjudul **“Validasi Metode Analisis Asam Glikolat dalam Sediaan Kosmetik dengan Kromatografi Gas”** ini, saya mendapatkan banyak bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih saya sampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Noor Cholies Zaini selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan untuk menempuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
2. Bapak Prof. Dr. H. Muhammad Mulja dan Bapak Dr. rer. nat. H. M. Yuwono, MS selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, pikiran dan tenaga untuk memberikan arahan dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi.
3. Bapak Prof. Dr. H. Achmad Syahrani, MS dan Bapak Prof. Dr. H. Bambang Soekardjo, SU, Apt. selaku penguji, atas masukan dan saran yang telah diberikan dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Ibu Ida Kusumawati, MS, Apt., selaku dosen wali atas tanda tangan KRS maupun KPRS selama ini.
5. Ibu Mahdalena dan Ibu Fajar, Laboratorium Forensik Polda Jatim atas bimbingan dan bantuan ketika bekerja dengan GC-MS.
6. Ibu Amanah, P.T Surya Dermato Laboratories atas standar asam glikolat gratisnya
7. Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas bekal ilmu pengetahuannya.
8. Papa Tjuk dan Mama Elok tercinta atas doa, *support* dan pengertian ketika saya menyelesaikan skripsi ini. Maaf saya tidak bisa lulus tepat waktu.

9. My brother Eddo dan *my little sister* Icha atas bantuan dan motivasinya hingga akhirnya abangmu ini bisa lulus
10. Teman-teman Farmasi angkatan 99 yang tidak terlalu dekat denganku, pasti kalian sedih karena tidak bisa kuliah profesi bersama saya
11. Semua laboran (Pak Haryono-terima kasih buat *refill*nya, Mbak Yayuk, Pak Kusairi, Pak Dasuki, Pak Bakir, Pak Sunar-terima kasih buat *vial*nya), teman-teman satu laboratorium (Slamet, Balan, Arum, Ira) yang telah membantu saya dan Karyawan ULP (Mbak Evi, Mas Gunarso, Mbak Yanthi, Mbak Zumaroh, Mbak Yuyun, Fajar), terima kasih.
12. Laboratorium Preskripsi-Formulasi atas *waterbath* yang telah dipinjamkan beserta laborannya yang selalu siap membantu.
13. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, terima kasih atas bantuannya baik langsung maupun tidak langsung.

Saya menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan. Untuk itu, kekurangan dan kesalahan yang ditemui mungkin dapat dijadikan bahan pemikiran pada penelitian-penelitian selanjutnya demi kesempurnaan. Harapan saya, semoga materi penulisan skripsi ini bermanfaat.

Surabaya, Juli 2004

Penulis

Lembar Pengesahan

**VALIDASI METODE ANALISIS ASAM GLIKOLAT
DALAM SEDIAAN KOSMETIK
DENGAN KROMATOGRAFI GAS**

SKRIPSI

**Dibuat untuk memenuhi syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
2004**

**Oleh :
FAHRIZAL DIAN NUGRAHA
NIM : 059912094**

Disetujui oleh :

**Prof. Dr. H. Muhammad Mulja
Pembimbing Utama**

**Dr. rer. nat. H. M. Yuwono MS
Pembimbing Serta**

RINGKASAN

VALIDASI METODE ANALISIS ASAM GLIKOLAT DALAM SEDIAAN KOSMETIK DENGAN KROMATOGRAFI GAS

Fahrizal Dian Nugraha

Sebagai salah satu negara tropis di dunia dimana sinar matahari bersinar sepanjang tahun dan dengan intensitas yang tinggi, kulit wanita Indonesia cenderung untuk mengalami penuaan dini. Salah satu pencegahan terjadinya penuaan dini adalah dengan memakai sediaan topikal.

Kandungan bahan dalam sediaan topikal dewasa ini semakin kompleks dan digunakan untuk memenuhi efek terapi yang diinginkan dan kenyamanan pemakaian. Salah satu bahan yang terkandung dalam sediaan topikal adalah *AHA* (*Alpha Hydroxy Acids*). *AHA* yang secara luas digunakan dalam dunia kosmetik antara lain asam laktat, asam glikolat, asam sitrat dan asam malat. Sedangkan asam glikolat dan asam laktat terbukti memberikan hasil terbaik dalam mengatasi penuaan dini.

Sebagai senyawa yang sebelumnya digunakan dalam industri tekstil dan logam, asam glikolat juga memiliki beberapa kerugian dalam penggunaannya. Selain menyebabkan kulit kemerahan, iritasi, perubahan sensitifitas kulit bahkan perdarahan dapat terjadi akibat penggunaan senyawa asam ini.

Metode analisis asam glikolat dalam sediaan kosmetik saat ini masih berada dalam lingkup penggunaan kromatografi cair kinerja tinggi. Sementara itu pemanfaatan kromatografi gas sebagai salah satu metode analisis yang juga memiliki keunggulan seperti kromatografi cair kinerja tinggi, masih kurang mendapat perhatian.

Analisis asam glikolat dalam sediaan kosmetik ini menggunakan metode kromatografi gas dengan kondisi yang didapat dari berbagai percobaan yang telah dilakukan. Kondisi yang diterapkan pada penelitian ini adalah dengan penggunaan kolom Kapiler HP-5 5% Phenyl methyl siloksan 30,0m x 320 μ m x 0,25 μ m; temperatur kolom terprogram 75°C dipertahankan selama 1 menit dan dinaikkan teratur 2°C/menit sampai temperatur 85°C dipertahankan 1 menit lagi dan dinaikkan kembali 20°C/menit sampai temperatur 200°C dan dipertahankan sampai diperoleh waktu analisis selama $\pm$ 30 menit; alir rata-rata gas pembawa (He) 1,0 mL/menit; temperatur inlet 250°C; dan temperatur detektor *Flame Ionization Detector (FID)* 300°C.

Dalam penelitian ini dilakukan dua macam metode analisis asam glikolat. Selain menggunakan asam glikolat tanpa derivatisasi, analisis dengan menggunakan kromatografi gas ini dapat juga menggunakan asam glikolat yang telah diderivatisasi. Derivatisasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah esterifikasi, dimana asam glikolat teresterifikasi menjadi metil glikolat atau α -hidroksi metil asetat

Esterifikasi asam glikolat dilakukan dengan mereaksikannya secara langsung pada pelarut metanol ditambah 10 μ L HCl sebagai katalisator dan

pemanasan terkontrol dalam penangas air pada temperatur 60°C selama 15 menit untuk melengkapi reaksi.

Dari hasil uji secara kualitatif maupun kuantitatif didapatkan harga parameter validasi sebagai berikut: persamaan garis regresi antara kadar dengan area puncak asam glikolat $y = 0,1033x - 20,691$ dengan rentang konsentrasi antara 1000 – 5000 $\mu\text{g/mL}$ dan harga koefisien korelasi (r) = 0,99914 serta harga $V_{X0} = 2,5 \%$; faktor selektifitas (α) = 1,26; derajat keterpisahan (R_s) = 8,75; presisi kromatografi gas (KV) = 5,71%. Untuk parameter akurasi diperoleh harga persen perolehan kembali asam glikolat dalam krim blangko melalui ekstraksi langsung dengan etil asetat diperoleh % *recovery rata-rata* = 87,55 %.

Aplikasi metode dilakukan terhadap sampel, dimana pada etiket tertera konsentrasi asam glikolat sebesar 8%. Dari hasil pengujian diperoleh kadar asam glikolat dalam sediaan sebesar 7,66%. Nilai tersebut merupakan 95,66% dari konsentrasi asam glikolat yang tertera pada etiket.

ABSTRACT

The gas chromatographic method for determination of glycolic acid used in cosmetics has been developed. Prior to GC analysis, esterification was needed by adding 10 μL of HCl and heating at 60 $^{\circ}\text{C}$ for 15 minutes in waterbath. The separation was performed by GC Agilent 6890 Series equipped with a HP-5 5% phenyl methyl siloksan 30m x 320 μm x 0.25 mm column using Helium as carrier gas and a Flame Ionized Detector (FID). The initial temperature of the oven was 75 $^{\circ}\text{C}$, held for a minute, and then increased at a rate of 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to 85 $^{\circ}\text{C}$, held it for a minute and then increased again at a rate of 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to 200 $^{\circ}\text{C}$, held finally the last temperature for approximately 30 minutes analyzing time. Under this condition the response of glycolic acid was linearly dependent on amount from 1000 to 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ with regression equation $y = 0.1033x - 20.691$ ($r = 0.9991$) and relative process standard deviation $V_{x0} = 2.5042\%$. The average recoveries from 0.04 g glycolic acids added to 0.5 g sample were 87.55%. The precision method gave relative standard deviation 5.71%.

Keywords: Glycolic acid, validation, determination, esterification, cosmetic, GC

DAFTAR ISI

	halaman
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
RINGKASAN	v
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan Tentang AHA	5
2.1.1 Tinjauan Umum	5
2.1.2 Keuntungan	5
2.1.3 Macam-macam Bentuk dan Struktur AHA	6
2.2 Tinjauan Tentang Asam Glikolat	7
2.2.1 Tinjauan Umum	7
2.2.2 Identitas	7
2.2.3 Sifat Fisika dan Kimia	8
2.2.3.1 Sifat Fisika	8
2.2.3.2 Sifat Kimia	9
2.3 Tinjauan Tentang Krim yang Mengandung Asam Glikolat	9
2.4 Tinjauan Tentang Kromatografi Gas	10
2.4.1 Tinjauan Umum	10
2.4.2 Parameter Kromatografi Gas	11
2.4.2.1 Waktu Tambat	11

2.4.2.2 Faktor Selektivitas.....	11
2.4.2.3 Derajat Keterpisahan/Resolusi	12
2.4.3 Tinjauan Tentang Instrumen Kromatografi Gas	13
2.4.3.1 Gas Pembawa.....	13
2.4.3.2 Injektor dan Sistem Injeksi	14
2.4.3.3 Kolom.....	15
2.4.3.4 Oven	15
2.4.3.5 Detektor.....	16
2.4.4 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif	18
2.4.4.1 Analisis Kualitatif	18
2.4.4.2 Analisis Kuantitatif	18
2.4.4.2.1 Pengukuran Tinggi Puncak	18
2.4.4.2.2 Pengukuran Area Puncak	19
2.4.4.2.3 Interpretasi Data	19
2.5 Tinjauan Tentang Derivatisasi	21
2.5.1 Tinjauan Umum	21
2.5.2 Silylating Agent	22
2.5.3 Esterifikasi	22
2.6 Tinjauan Tentang Validasi Metode.....	23
2.6.1 Selektivitas	23
2.6.2 Linieritas	24
2.6.3 Presisi dan Akurasi.....	25
2.6.4 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ).....	26
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	27
BAB IV METODE PENELITIAN	30
4.1 Bahan Penelitian	30
4.2 Alat Penelitian.....	30
4.3 Metode Penelitian	31
4.3.1 Penentuan Kondisi Kromatografi gas	31
4.3.2 Derivatisasi.....	31
4.3.3 Prosedur Penelitian.....	32
4.3.3.1 Pembuatan Larutan Standar	32

4.3.3.2 Penentuan Linieritas.....	32
4.3.3.3 Penentuan Selektifitas dan Derajat Keterpisahan	32
4.3.3.4 Penentuan Akurasi dan Presisi Metode.....	32
4.3.3.5 Aplikasi metode dalam sampel krim.....	33
BAB V HASIL PENELITIAN.....	34
5.1 Penentuan Kondisi Kromatografi Gas	34
5.1.1 Tanpa Derivatisasi.....	36
5.1.2 Derivatisasi.....	38
5.1.3 Dengan Derivatisasi	42
5.2 Validasi Metode	45
5.2.1 Pembuatan Larutan Baku	45
5.2.2 Linieritas	45
5.2.3 Selektifitas dan Derajat Keterpisahan	47
5.2.4 Penentuan Akurasi dan Presisi	47
5.2.5 Aplikasi terhadap Sampel	50
BAB VI PEMBAHASAN.....	55
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	62
DAFTAR PUSTAKA	64
LAMPIRAN.....	68

DAFTAR TABEL

	halaman
Tabel 2.1 Macam dan Struktur <i>AHA</i>	6
Tabel 2.2 Jenis-jenis Detektor dan gas pembawa	13
Tabel V.1 Hubungan antara waktu pemanasan pada reaksi esterifikasi terhadap area puncak asam glikolat	41
Tabel V.2 Kondisi kromatografi pada analisis metil glikolat	43
Tabel V.3 Data hubungan antara kadar metil glikolat dengan area puncak kromatogram	46
Tabel V.4 Data hasil penentuan akurasi (% <i>recovery</i>) pada krim blangko	48
Tabel V.5 Data presisi merode analisis asam glikolat berdasarkan % <i>recovery</i> blangko	49
Tabel V.6 Data hasil aplikasi metode pada sampel	53
Tabel V.7 Data aplikasi metode analisis asam glikolat pada sampel	54

DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 2.1 Skema pemisahan dua analit	12
Gambar 2.2 Skema Instrumen kromatografi gas	13
Gambar 2.3 Skema sistem Injector <i>split/splitless</i>	15
Gambar 2.4 Skema detektor <i>FID (Flame Ionization Detector)</i>	17
Gambar 5.1 Profil kromatogram asam glikolat tanpa derivatisasi pada Kondisi 1 (t_R 2,283 merupakan waktu tambat metanol).....	34
Gambar 5.2 Profil kromatogram asam glikolat tanpa derivatisasi pada Kondisi 2 (t_R 2,403 merupakan puncak pelarut)	35
Gambar 5.3 Profil kromatogram asam glikolat tanpa derivatisasi pada Kondisi 3 (t_R 2,715 merupakan puncak pelarut)	36
Gambar 5.4 Profil <i>TIC (Total Ion Chromatogram)</i> asam glikolat tanpa derivatisasi dengan Kromatografi gas-spektra massa....	37
Gambar 5.5 Profil <i>SIM (Selected Ion Monitoring)</i> asam glikolat tanpa derivatisasi dengan Kromatografi gas-spektra massa pada t_R 2,33 menit	37
Gambar 5.6 Skema reaksi esterifikasi asam glikolat	37
Gambar 5.7 Profil <i>SIM (Selected Ion Monitoring)</i> dan data <i>library</i> kromatografi gas-spektra massa asam glikolat yang telah diderivatisasi	40
Gambar 5.8 Kurva pengaruh pemanasan terhadap reaksi esterifikasi asam glikolat	41
Gambar 5.9 Profil kromatogram metil glikolat pada Kondisi 3	42
Gambar 5.10 Profil kromatogram metil glikolat pada kondisi sesuai tabel V.2	43
Gambar 5.11 Profil kromatogram krim blangko [(1) = metanol]	44
Gambar 5.12 Kurva persamaan garis regresi antara kadar metil glikolat ($\mu\text{g/mL}$) dan area puncak kromatogram	46

Gambar 5.13	Profil kromatogram metil glikolat dalam blangko krim	47
Gambar 5.14	Profil kromatogram sampel [(1)= pelarut; (2)= metil glikolat]	50
Gambar 5.15	Profil <i>overlay</i> kromatogram sampel dengan standar metil glikolat.....	51

DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
Lampiran 1 Perhitungan Selektifitas (α) dan Derajat Keterpisahan (R_s)	68
Lampiran 2 Perhitungan Presisi.....	69
Lampiran 3 Perhitungan Akurasi (Persen Perolehan Kembali) Blangko	70
Lampiran 4 Perhitungan Penentuan Kadar pada Aplikasi Metode terhadap Sampel	71
Lampiran 5 Tabel Koefisien Korelasi	72
Lampiran 6 CoA Asam Glikolat.....	73
Lampiran 7 <i>Print out</i> data penyuntikkan standar asam glikolat tanpa derivatisasi dengan kromatografi-gas spektra massa	74
Lampiran 8 <i>Print out</i> data hasil penyuntikkan asam glikolat derivatif dengan kromatografi gas-spektra massa	76

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Sebagai salah satu negara yang beriklim tropis di mana matahari bersinar sepanjang tahun dengan intensitas tinggi, masyarakat Indonesia rentan terhadap efek merugikan dari sinar matahari. Keadaan tersebut diperburuk dengan adanya pencemaran lingkungan, radiasi sinar UV dan faktor merugikan lainnya dalam jangka panjang sehingga dapat menyebabkan kulit menjadi keriput dan terjadi penuaan dini. Bagi sebagian besar wanita, kulit yang indah, cerah, tampak lebih muda, sehat dan tidak keriput sangatlah penting untuk mendukung kecantikan dan penampilan. Untuk mencegah terjadinya hal-hal tersebut, kulit dapat dilindungi secara fisik dengan memakai jaket, payung atau topi dan dilindungi secara kimia dengan memakai sediaan topikal (Harry, 1973).

Dewasa ini pemanfaatan sediaan topikal yang salah satunya yaitu kosmetik telah menjadi bagian dari kehidupan keseharian terutama wanita. Pemakaiannya yang melekat pada kulit, dapat melindungi kulit secara langsung dan menimbulkan efek yang diinginkan. Selain itu sediaan topikal relatif lebih praktis untuk dibawa maupun digunakan daripada perlindungan kulit secara fisik.

Saat ini sediaan topikal terdapat dalam berbagai jenis dan bentuk seiring dengan semakin berkembangnya kebutuhan dan kenyamanan akan pemakaian sediaan topikal. Hal tersebut menyebabkan semakin berkembang pula teknologi pembuatan dan bahan-bahan yang digunakan. Salah satu bahan yang terkandung dalam sediaan topikal adalah *AHA (Alpha Hydroxy Acids)*.

AHA atau biasa disebut asam buah adalah asam organik dengan gugus hidroksi (-OH) pada atom C α -nya. Kini *AHA* menjadi salah satu tren global pada produk kosmetik yang dipasarkan untuk berbagai tujuan, antara lain: memperhaluskan garis dan kerutan permukaan kulit, meningkatkan tekstur dan kekenyalan kulit, membuka dan membersihkan pori-pori, membuat kulit lebih berminyak dan memperbaiki kulit secara umum (Vorarat, et al. 2002). Asam buah

ini juga dapat meningkatkan metabolisme sel epitel, menguatkan kulit, menghilangkan keriput, melembabkan kulit dan melunakkan keratin (Huang, et al. 2002).

Asam buah yang sering digunakan dalam kosmetik antara lain asam glikolat, asam malat, asam laktat dan asam sitrat. Di antaranya, asam glikolat dan asam laktat terbukti memberikan efek yang terbaik pada pengurangan keriput dan menstimulasi pembaharuan sel kulit (Huang, et al. 2002). Selain itu asam glikolat juga bisa didapatkan dengan harga yang murah dan telah digunakan luas dalam produk kosmetik (Anonim, 2000).

Selain menguntungkan, asam glikolat juga dapat menimbulkan efek negatif pada kulit. Hal tersebut dapat terjadi bila terdapat perubahan konsentrasi dan pH sediaan pada proses formulasi akhir (NICNAS, 2000). Efek negatif tersebut dapat mempengaruhi kulit dan menyebabkan efek samping antara lain : kemerahan, iritasi, rasa terbakar, perdarahan dan perubahan sensitifitas kulit terhadap sinar matahari (Huang, et.al. 2002).

Asam glikolat merupakan senyawa yang relatif baru yang digunakan dalam dunia kosmetik, terutama untuk kosmetik yang dipasarkan secara bebas, dalam arti kosmetik yang langsung dapat digunakan oleh konsumen dan tidak melalui perawatan yang dilakukan dermatologis dan ahli bedah plastik. Sebagai contoh pada tahun 1992, *US Food and Drug Administration (FDA)* mengeluarkan peringatan tentang kemungkinan bahaya yang berhubungan dengan penggunaan produk pengelupasan kulit yang mengandung *AHA*. Peringatan tersebut dikeluarkan setelah *FDA* menerima laporan mengenai beberapa cedera yang ditimbulkan oleh prosedur pengelupasan kulit yang dilakukan oleh profesi nonmedik. Pada saat yang sama, *FDA* mengumumkan untuk meninjau ulang semua produk yang dipasarkan yang berhubungan dengan klaim pengelupasan kulit (NICNAS, 2000).

Oleh karena itu, diperlukan suatu metode penetapan kadar untuk menjamin keamanan konsumen dengan mengawasi dan memonitor konsentrasi *AHA* dalam kosmetik yang dipasarkan. Batas aman konsentrasi asam glikolat dalam sediaan kosmetik adalah $\leq 10\%$ dan pada pH formulasi akhir $\geq 3,5$ (Anonim, 2003),

sedangkan konsentrasi asam glikolat dalam sediaan yang beredar adalah berkisar 0,01-20% (NICNAS, 2000).

Metode analisis asam glikolat sebagai metabolit, sampai saat ini dikembangkan untuk sampel biologis secara kromatografi gas-spektra massa (Fraser & McNail, 1993) dan metode yang digunakan adalah derivatisasi dengan *derivating agent* seperti BSTFA, TMCS maupun PNBDI (Hewlett, 1995), sedangkan derivatisasi dengan esterifikasi belum banyak dilakukan. Untuk analisis asam glikolat dalam kosmetik, selama ini banyak digunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi (Huang, et al. 2002), sedangkan metode kromatografi gas sampai saat ini belum banyak yang dipublikasikan. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan metode kromatografi gas sebagai salah satu metode yang mampu mencapai sensitifitas yang cukup tinggi selain kromatografi cair kinerja tinggi untuk analisis asam organik.

Selain itu sifat asam glikolat yang mudah diatsirikan, mendukung untuk dilakukan analisis dengan metode kromatografi gas. Demikian pula dengan struktur asam glikolat yang terdiri dari ikatan atom C-C dan C-H, juga mendukung untuk dilakukan analisis secara kromatografi gas dengan detektor *FID (Flame Ionization Detektor)* yang sensitif terhadap ikatan C-C dan C-H. Mengingat juga belum adanya validasi metode analisis asam glikolat dalam kosmetik secara kromatografi gas yang dipublikasikan, maka pada penelitian ini digunakan metode kromatografi gas.

Analisis dengan kromatografi gas dapat dilakukan tanpa derivatisasi maupun dengan derivatisasi terhadap suatu analit yang ingin dianalisis. Pada asam glikolat ini memungkinkan dilakukan analisis karena pada sisi hidroksi maupun sisi karboksilnya dapat dilakukan derivatisasi secara langsung (Graham et.al., 2002). Pada metode kromatografi gas, derivatisasi dalam preparasi sampel membutuhkan waktu lebih lama namun akan menghasilkan bentuk puncak analit dan resolusi yang lebih baik. Selain itu pula dengan melakukan derivatisasi, dapat meminimalkan terjadinya *overlapping*, *fronting* maupun *tailing* pada puncak analit kromatogram (Pierce, 1968).

Berdasarkan hal tersebut, maka ingin dilakukan validasi metode analisis asam glikolat dalam sampel kosmetik secara kromatografi gas tanpa derivatisasi

dan dengan derivatisasi. Dari pengolahan data nantinya diharapkan dapat didapatkan suatu informasi tentang suatu metode yang valid yang dapat digunakan untuk menjamin keamanan konsumen terhadap pemakaian kosmetik yang mengandung *AHA* terutama asam glikolat.

1.2. Rumusan Masalah

Dengan memperhatikan latar belakang di atas, maka ingin diketahui :

1. Bagaimana kondisi kromatografi gas pada analisis asam glikolat dalam sediaan kosmetik ?
2. Berapakah rentang linieritas, presisi dan akurasi metode pada analisis asam glikolat dalam sediaan kosmetik dengan kromatografi gas, baik tanpa derivatisasi maupun dengan derivatisasi ?
3. Bagaimanakah hasil aplikasi metode analisis asam glikolat pada penetapan kadar asam glikolat dalam sampel sediaan kosmetik dengan kromatografi gas, baik tanpa derivatisasi maupun dengan derivatisasi ?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Menentukan kondisi kromatografi gas pada analisis asam glikolat dalam sediaan kosmetik dengan kromatografi gas
2. Menentukan rentang linieritas, presisi dan akurasi metode pada analisis asam glikolat dalam sediaan kosmetik dengan kromatografi gas, baik tanpa derivatisasi maupun dengan derivatisasi
3. Mengaplikasikan metode akurasi pada analisis asam glikolat pada penetapan kadar asam glikolat dalam sediaan kosmetik dengan kromatografi gas, baik tanpa derivatisasi maupun dengan derivatisasi

1.4. Manfaat Penelitian

1. Akan didapatkan informasi metode yang valid pada analisis asam glikolat dalam sediaan kosmetik dengan kromatografi gas, baik tanpa derivatisasi maupun dengan derivatisasi
2. Dapat diketahui metode analisis yang lebih efisien dalam penentuan kadar asam glikolat dengan kromatografi gas

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tentang AHA

2.1.1. Tinjauan Umum

AHA merupakan singkatan dari *Alpha Hydroxy Acid* yaitu senyawa asam organik yang mengandung gugus hidroksi (-OH) pada atom C- α (Huang, W., et al., 2002). *AHA* didapat dari berbagai macam tanaman atau susu dan menjadi sangat populer di bidang formulasi kosmetik karena efeknya yang sangat menguntungkan terhadap kulit yaitu sebagai “*water-binding agents*” (Cosmeticscop, 2002)

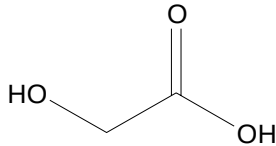
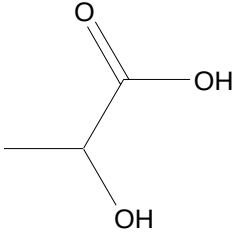
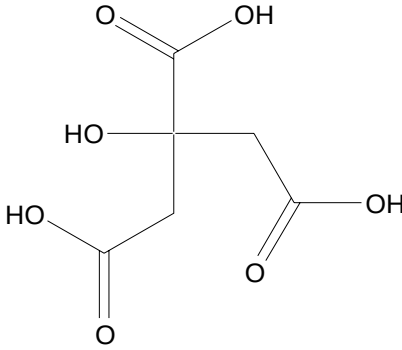
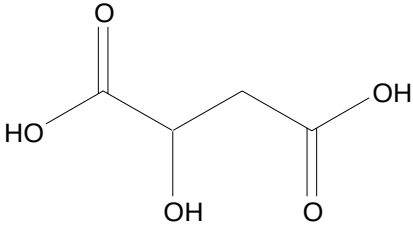
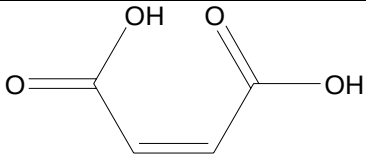
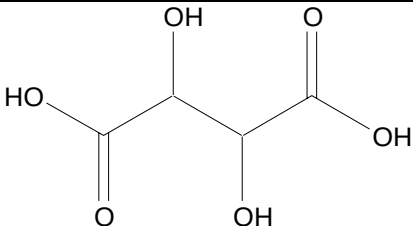
2.1.2. Keuntungan

Adapun keuntungan yang didapat dari penggunaan *AHA* terhadap kulit, antara lain :

- 1) menghaluskan garis dan kerutan pada permukaan kulit
- 2) meningkatkan tekstur dan kekenyalan kulit
- 3) membuka dan membersihkan pori-pori kulit
- 4) mengangkat sel kulit mati
- 5) melembabkan kulit (Huang, W., et al., 2002)
- 6) membantu menghilangkan jerawat
- 7) membantu mempercerah warna kulit (Redding Dermatology, 2000)
- 8) sebagai bahan terapi untuk kerusakan kulit karena cahaya dan hiperpigmentasi (Reynolds, 1982)
- 9) menormalkan hiperkeratinisasi atau kulit yang terlalu tebal (Cosmeticscop, 2002)

2.1.3. Macam-macam Bentuk dan Struktur *AHA*

Tabel 2.1 Macam dan Struktur *AHA*

Nama	Struktur
Asam Glikolat	
Asam Laktat	
Asam Sitrat	
Asam Malat	
Asam Maleat	
Asam Tartrat	

2.2. Tinjauan Tentang Asam Glikolat

2.2.1. Tinjauan Umum

Asam glikolat merupakan salah satu bentuk *AHA* yang memberikan efek terbaik terhadap pengurangan kerutan dan merangsang pembaharuan sel kulit selain asam laktat (Huang, W., et al., 2002). Selain itu, asam glikolat dan asam laktat juga aman digunakan dalam produk kosmetik pada konsentrasi $\leq 10\%$, pada nilai pH formulasi akhir ≥ 3.5 . Begitu juga untuk bentuk garam dan esternya (NICNAS, 2000).

Hanya dengan dua atom karbon, asam glikolat merupakan senyawa homolog yang terkecil dari golongan *AHA*. Asam glikolat mengandung gugus karboksilat ($-\text{COOH}$) pada salah satu atom C-nya dan gugus hidroksi ($-\text{OH}$) pada atom C lainnya.

Asam glikolat merupakan senyawa yang relatif baru yang digunakan dalam dunia kosmetik, walaupun sebetulnya penggunaan asam glikolat dalam produk kosmetik dipercaya didapat dari apa yang disebut “*Chemical Peels*” (pengelupasan kulit secara kimia) yang telah dilakukan dermatologis dan dokter spesialis operasi plastik bertahun-tahun untuk menghilangkan tanda-tanda yang tidak diinginkan dari penuaan kulit, seperti pelunturan, kulit kasar dan pengerutan (NICNAS, 2000).

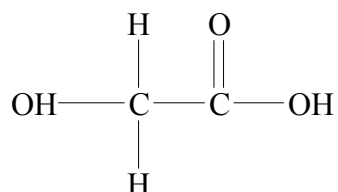
Sebelumnya asam glikolat lebih banyak digunakan dalam proses pengolahan tekstil, kulit dan logam sebagai pembentuk pH di mana dibutuhkan asam organik yang murah. Selain itu, asam glikolat juga digunakan dalam pembuatan perekat, pembersih, pewarna dan campuran kimia pada logam (Windhollz, 1983).

2.2.2. Identitas (NICNAS,2000)

Nama kimia (<i>IUPAC</i>)	: hydroxyethanoic acid, asam hidroksietanoat
Nama lain	: <i>acetic acid</i> , <i>hydroxy-</i> ; asam asetat, hidroksi-
	<i>alpha-hydroxyacetic acid</i> , asam alfa-hidroksiasetat
	<i>gluco-hydroxy-acid</i> , asam glukohidroksi
	<i>glycollic acid</i> , asam glikolat
	<i>hydroxyacetic acid</i> , asam hidroksiasetat
	<i>2-hydroxyacetic acid</i> , asam 2-hidroksiasetat

Rumus kimia : $C_2H_4O_3$

Struktur :



Berat molekul : 76,05

2.2.3. Sifat fisika dan kimia (NICNAS, 2000)

2.2.3.1. Sifat Fisika

Pemerian : kristal, tidak berwarna, tidak berbau, agak higroskopis

Titik Lebur : 78-80° C

Titik Didih : 100° C (peruraian padatan)
112° C (larutan 70%)

Koefisien Partisi ($\log P_{o/w}$) : -1,38 (Barrat, 1996)
-1,11 (Hansch & Leo, 1987)

Densitas : 1,49 g/mL (padatan pada suhu 25° C)
1,27 g/mL (larutan 70% pada suhu 15,6° C)

Tekanan Uap

- Padatan : - (pada suhu 25° C)
143 Pa (pada suhu 91° C)
779 Pa (pada suhu 119° C)

- Larutan 70% : 1,92 Pa (pada suhu 45° C)

Konstanta Disosiasi (pK_a) : 3,83 (pada suhu 25° C)

Kelarutan : mudah larut dalam air, metanol, etanol, aseton, etil asetat, eter dan asam asetat

2.2.3.2. Sifat Kimia

Asam glikolat yang mengandung asam dan juga gugus fungsi alkohol primer, dapat mengalami reaksi oksidasi menjadi asam glioksilat dan asam oksalat. Selain itu juga dapat tereduksi dengan adanya senyawa logam aktif dengan membentuk asam asetat. Sebagai senyawa asam, asam glikolat akan tereduksi membentuk garam, ester, amida dan lain-lain, sedangkan sebagai bentuk alkoholnya akan membentuk ester, acetal dan eter. Asam glikolat menggunakan kedua gugus fungsinya untuk membentuk kompleks dengan ion logam polivalen. Dalam suasana asam, asam glikolat dapat mengalami auto-esterifikasi (*self-esterification*) dan membentuk polimer siklik dan linier yang biasa disebut glycolid.

Asam glikolat merupakan senyawa yang tidak mudah terbakar, namun akan menghasilkan formaldehid, asam format, karbon monoksida dan karbon dioksida jika terbakar.

Kristal asam glikolat akan kehilangan kandungan airnya dan terpolimerasi pada suhu di atas 50° C dan akan mengeluarkan asap yang menyengat dan mengiritasi ketika dipanaskan sampai pada titik leburnya. Sedangkan larutan asam glikolat pekat akan stabil pada suhu ruangan.

2.3. Tinjauan Tentang Kosmetik Yang Mengandung Asam Glikolat

Asam glikolat dipersyaratkan dalam sediaan kosmetik tidak melebihi konsentrasi 10 % dan pH akhir sediaan di bawah 3,5. Hal tersebut berlaku untuk hampir semua jenis kosmetik (Anonim, 2003). Karena konsentrasi molekul tak terdisosiasi asam glikolat dalam bentuk larutan lebih mudah berubah sesuai pH dari pada dalam emulsi o/w pada berbagai perbandingan (%v/v), maka sebagian besar formulasi asam glikolat tidak dalam bentuk larutan melainkan emulsi o/w seperti krim dan lotion (NICNAS, 2000).

Krim adalah 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 w/o atau o/w. Sekarang ini batasan tersebut lebih diarahkan untuk produk yang terdiri dari emulsi o/w atau

dispersi mikrokristal asam-asam lemak atau alkohol berantai panjang dalam air yang dapat dicuci dengan air dan lebih ditujukan untuk penggunaan kosmetik dan estetika (Anonim, 1994).

Di dalam emulsi o/w, bentuk molekul asam glikolat tak terdisosiasi terdistribusi ke dalam fase minyak, sehingga mengurangi konsentrasi molekul tak terdisosiasi asam glikolat, ion glikolik dan ion hidrogen dalam fase air (NICNAS, 2000).

2.4. Tinjauan Tentang Kromatografi Gas

2.4.1. Tinjauan Umum

Kromatografi gas adalah salah satu teknik kromatografi, di mana yang bertindak sebagai fase diam dapat berupa fase padat atau fase cair dan sebagai fase gerak adalah fase gas. Jika ada dua atau lebih campuran atau solut maka solut tersebut akan didistribusikan pada kedua fase tersebut, yaitu fase gerak dan fase diam. Besarnya distribusi dari masing-masing solut dalam fase gerak dan fase diam adalah harga koefisien distribusi (k), yaitu:

$$k = \frac{C_s}{C_m}$$

Keterangan: C_s = konsentrasi solut dalam fase diam

C_m = konsentrasi solut dalam fase gerak

Pada umumnya koefisien distribusi fase solut dalam sistem fase gerak dan fase diam tertentu (pada suhu konstan) berbeda satu sama lainnya, sehingga harga k merupakan salah satu karakteristik dari suatu zat (solut).

Harga k mempunyai hubungan dengan waktu retensi (t_R). Waktu retensi adalah waktu yang diperlukan oleh solut untuk menempuh jarak sepanjang kolom.

Harga waktuambat fase diam dan perbandingan volume fase diam dan fase gerak suatu sistem kromatografi tertentu (panjang kolom, kecepatan fase gerak, volume fase gerak dan volume fase diam) adalah konstan, sehingga harga t_R

hanya dipengaruhi harga k yang spesifik untuk tiap macam solut. Harga t_R dan k ini nantinya akan menjadi parameter-parameter kromatografi gas.

2.4.2. Parameter Kromatografi Gas

2.4.2.1. Waktu Tambat (t_R)

Waktu tambat atau Retention time adalah selang waktu yang diperlukan oleh solut mulai saat injeksi sampai keluar dari kolom dan sinyalnya ditangkap oleh detektor (Skoog, 1985). Waktu tambat untuk setiap senyawa mempunyai harga yang berbeda dan bersifat karakteristik tetapi tidak spesifik dan dirumuskan dengan persamaan:

$$t_R = t_M \left(k + \frac{V_s}{V_m} \right)$$

Keterangan: t_R = waktu tambat analit
 t_M = waktu tambat fase gerak
 k = koefisien distribusi analit
 V_s = fase diam
 V_m = fase gerak

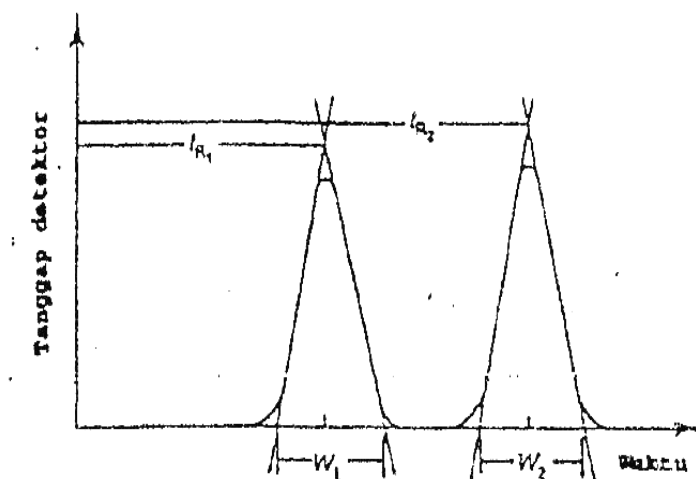
2.4.2.2. Faktor Selektifitas (α)

Menggambarkan posisi relatif dua puncak komponen yang berdekatan yaitu perbandingan waktu tambat komponen A dan komponen B yang dirumuskan dengan persamaan (Skoog, 1985) :

$$\alpha = \frac{t_{RB}}{t_{RA}}$$

Keterangan : α = faktor selektifitas
 t_{RA} = waktu tambat komponen A
 t_{RB} = waktu tambat komponen B

untuk pemisahan yang baik ditunjukkan dengan harga $\alpha > 1$, artinya kedua puncak komponen dapat terpisah, sedangkan $\alpha = 1$, puncak komponen A tidak terpisahkan.



Gambar 2.1 Skema pemisahan dua analit

2.4.2.3. Derajat Keterpisahan/ Resolusi (R_s)

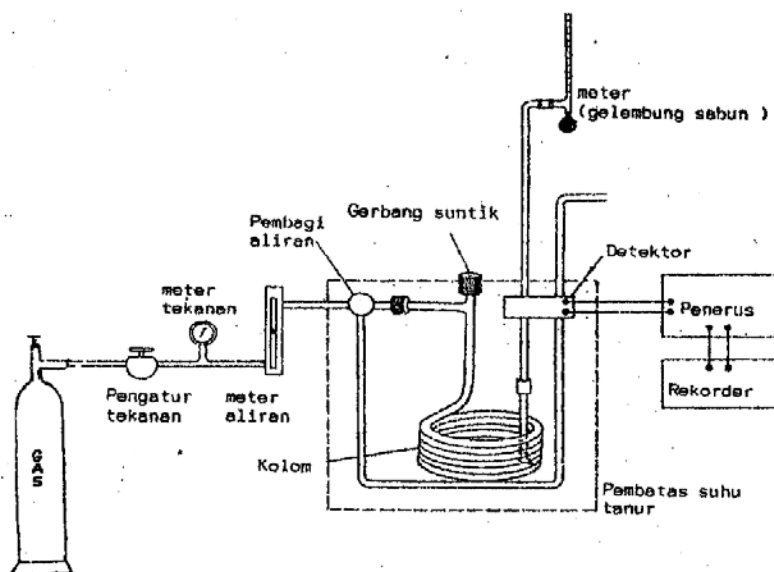
Resolusi adalah pemisahan dua puncak komponen sampel dalam kolom, yang dirumuskan dengan persamaan :

$$R_s = \frac{2(t_{RA} - t_{RB})}{w_A + w_B}$$

Keterangan : R_s = resolusi kolom
 w_A = lebar puncak komponen A
 w_B = lebar puncak komponen B

agar kedua puncak terpisah dengan sempurna antara komponen A dan komponen B, maka harga R_s harus $> 1,5$ (Skoog, 1985), sedangkan harga $R_s = 1-1,5$ menggambarkan kedua komponen terpisah 98-99 % (Mulya & Syahrani, 1991).

2.4.3. Tinjauan Tentang Instrumen Kromatografi Gas



Gambar 2.2 Skema Instrumen kromatografi gas (Skoog, 1985)

2.4.3.1. Gas Pembawa (Yuwono, 1999)

Fungsi gas pembawa adalah sebagai fase gerak yang membawa analit yang disuntikkan. Selain itu gas pembawa bertindak sebagai pembentuk keseimbangan dari molekul sampel antara fase cair dan fase gas. Gas pembawa yang sering digunakan dalam kromatografi gas adalah hidrogen, nitrogen, helium dan campuran argon atau metana. Pemilihan gas pembawa antara lain tergantung dari detektor yang dipakai. Sebagai fase gerak gas pembawa berpengaruh pula terhadap hasil pemisahan dari sistem kromatografi gas secara keseluruhan.

Tabel 2.2 Jenis-jenis detektor dan gas pembawa

Jenis detektor	Gas Pilihan I	Gas Pilihan II
<i>TCD</i>	Helium	Nitrogen
<i>FID</i>	Nitrogen	Hidrogen / Helium
<i>ECD</i>	Argon / Metana	Nitrogen

Semua gas yang dipakai dalam kromatografi gas harus murni. Zat-zat yang reaktif seperti oksigen dan air dapat mengakibatkan kerusakan pada saluran dan kolom secara permanen. Oksigen dalam gas pembawa dapat mengakibatkan

teroksidasinya fase diam, yang menyebabkan menurunnya secara cepat kemampuan pemisahan kolom. Oleh karena itu, disarankan hanya gas-gas yang cocok dan khusus saja yang digunakan untuk keperluan analisis. Dalam beberapa hal disarankan gas-gas dari tabung dialirkan lebih dahulu melalui filter yang khusus sebelum dialirkan ke kolom.

2.4.3.2. Injektor Dan Sistem Injeksi (Yuwono, 1999)

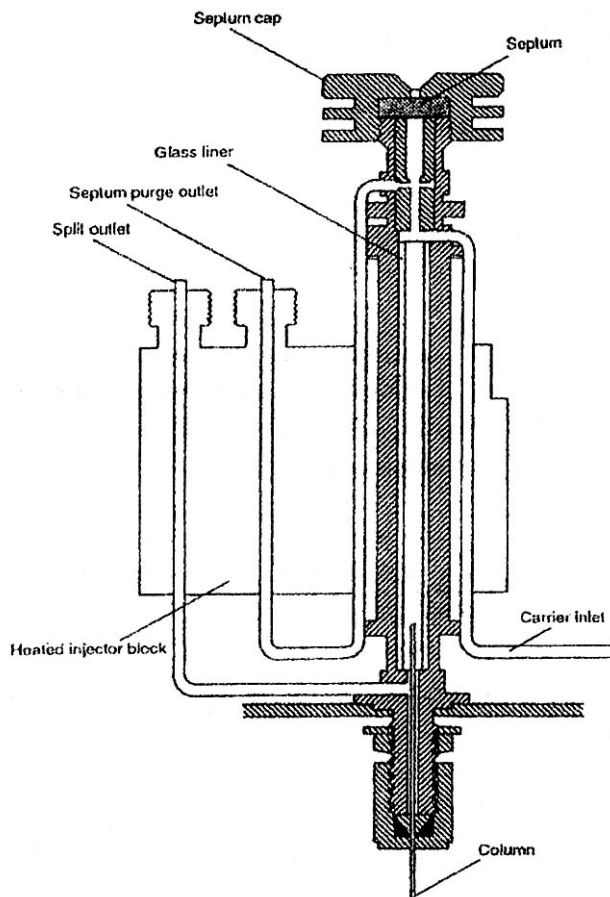
Fungsi injektor adalah memasukkan sampel dalam bentuk cair atau gas kedalam aliran gas pembawa. Syarat-syarat injektor adalah sebagai berikut :

- 1) selama injeksi sampel didalam injektor tidak boleh terjadi penurunan daya pemisahan sistem
- 2) sampel sedapat mungkin memasuki kolom tanpa terjadi perubahan komposisi
- 3) kecepatan gas pembawa selama injeksi hanya boleh berkurang dalam jumlah yang tidak berarti

Konstruksi injektor dan sistem injeksi dipilih berdasarkan konsentrasi analit, jenis sampel dan jenis kolom. Sistem injeksi yang paling banyak digunakan adalah

- 1) injeksi langsung
- 2) injeksi split
- 3) injeksi split/splitless
- 4) injeksi pada kolom

Jumlah cairan yang dimasukkan ke dalam injektor dan kolom tergantung pada diameter kolom dan ketebalan fase diam. Jumlah yang disuntikkan dan konsentrasi larutan sampel juga menentukan jumlah substansi yang mencapai kolom. Namun dalam penelitian ini, sistem injeksi yang digunakan adalah sistem injeksi split/ splitless.



Gambar 2.3 Skema sistem injektor *split/ splitless*

2.4.3.3. Kolom

Kolom adalah bagian yang terpenting, karena kolom merupakan tempat terjadinya pemisahan-pemisahan fisik komponen sampel. Efisiensi kolom dalam kromatografi secara umum berkaitan dengan waktu tambat dan jumlah pelat teori, sehingga dikatakan bahwa parameter yang mempengaruhi efisiensi kolom adalah panjang kolom, diameter kolom dan faktor kapasitas. Berdasarkan jenis pengisinya, kolom dibagi menjadi dua jenis yaitu :

- 1) kolom terpacking (*packed column*)
- 2) kolom kapiler (*capillary column*) (Yuwono, 1999)

Perbedaan keduanya adalah ada tidaknya rongga yang menyerupai pipa pada keduanya. Kolom kapiler inilah yang mempunyai rongga tersebut sehingga disebut juga *Open Tubular Column*. Kolom kapiler ini mempunyai keunggulan antara lain : memberikan harga jumlah pelat teori yang sangat besar (>300 ribu)

kemampuan resolusinya sangat besar (Mulya dan Syahrani, 1991). Kolom kapiler masih dibedakan lagi menjadi *Wall Coated Open Tubular column (WCOT)* dan *Support Column Open Tubular column*. Walaupun kolom *SCOT* memiliki kapasitas sampel yang besar, namun memiliki efisiensi yang lebih rendah daripada kolom *WCOT* (Heftmann, 1983).

2.4.3.4. Oven

Oven berfungsi untuk mengatur temperatur kolom yang dapat diatur secara isothermal (tetap) atau terprogram (naik secara teratur selama rentang waktu analisis). Temperatur oven dapat diatur 10 °C diatas suhu kamar sampai 500 °C yang pengaturannya disesuaikan dengan titik didih dari zat-zat yang dipisahkan. Cara terprogram, memiliki resolusi kromatogram yang lebih baik, efisiensi kolom meningkat dan mempertajam analisis, dalam arti banyak komponen yang tidak memberikan puncak kromatogram dengan cara pemanasan isothermal, tapi puncak akan timbul pada cara pemanasan terprogram (Mulya, 1998). Oleh karena itu, cara terprogram digunakan jika dalam suatu campuran mengandung komponen-komponen yang titik didihnya berbeda jauh.

Hal-hal yang diprogramkan sebagai berikut :

- 1) temperatur awal
- 2) lama temperatur awal dipertahankan secara isothermal
- 3) kecepatan pemanasan (derajat/menit)
- 4) temperatur akhir
- 5) lama temperatur akhir dipertahankan secara isothermal (Yuwono, 1999)

Pada kolom terpacking, kecepatan peningkatan temperatur biasanya sebesar 5-15 C/menit, sedangkan pada kolom berlapis film tipis, peningkatan temperatur disarankan sebesar 0,2-10 C.

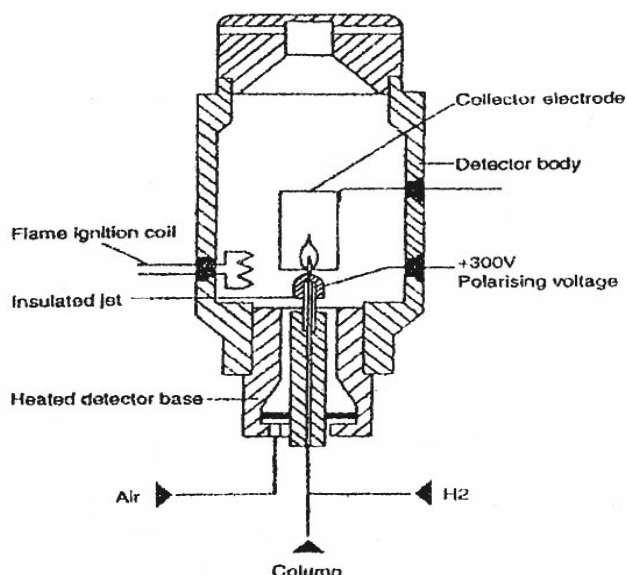
2.4.3.5. Detektor

Detektor dalam kromatografi adalah suatu sensor elektronik yang berfungsi mengubah sinyal dari gas pembawa dan komponen-komponen didalamnya menjadi sinyal elektronik (Mulya, 1998). Setiap komponen selain gas pembawa yang keluar dari kolom akan menghasilkan suatu sinyal yang sebanding dengan jumlah

komponen. Hal tersebut membuktikan konsentrasi komponen dari sampel. Sinyal elektrik yang dihasilkan diperkuat dan disajikan dalam bentuk gambar yang tergantung oleh waktu. Gambar tersebut dikenal dengan istilah kromatogram yang di dalamnya tampak peak-peak komponen sampel. Dari kromatogram selanjutnya dapat diketahui nilai maksimum dari peak dan waktu retensinya. Dengan bantuan waktu retensi dapat diduga secara kualitatif senyawa dalam sampel. Sementara berdasarkan luas puncak dapat diketahui kadar suatu senyawa melalui bantuan suatu pembanding. Detektor yang digunakan pada kromatografi gas hendaknya :

- 1) menunjukkan substansi sedapat mungkin
- 2) menghasilkan sinyal yang reproduibel bekerja terpercaya
- 3) mendeteksi zat secara umum, atau
- 4) mendeteksi hanya senyawa tunggal tertentu (Yuwono, 1999)

Sejak diperkenalkannya kromatografi gas sampai saat ini, telah ada 13 detektor yang penting dan salah satunya adalah *FID* (*Flame Ionisation Detector*). *FID* ini termasuk detektor yang sensitif terhadap ikatan C-C dan C-H. Dengan demikian, penggunaan detektor *FID* pada penelitian ini akan sangat mendukung karena struktur asam glikolat yaitu $C_2H_4O_3$ juga terdiri dari ikatan C-C dan C-H.



Gambar 2.4 Skema detektor *FID* (*Flame Ionization Detector*)

2.4.4. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif dengan Kromatografi Gas

2.4.4.1. Analisis Kualitatif

Analisis dengan metode kromatografi gas dapat dilakukan berdasarkan waktu tambat dari suatu senyawa. Waktu tambat merupakan sifat karakteristik dari suatu senyawa namun tidak spesifik analisisnya didapat dengan membandingkan waktu tambat analit dengan senyawa standar pada kondisi percobaan yang sama. Apabila waktu tambatnya sama, maka kemungkinan besar senyawa itu adalah sama (Willet, 1991).

Untuk memperkuat analisis kualitatif dapat pula digunakan :

- 1) Retensi Relatif
retensi relatif dihitung berdasarkan perbandingan waktu tambat terkoreksi dari analit dengan waktu tambat terkoreksi dari senyawa pembanding yang ditambahkan pada kondisi yang sama (Willet, 1991).
- 2) Teknik Spiking
teknik ini dilakukan dengan menambahkan sejumlah kecil komponen yang diduga dalam sampel dan apabila ukuran puncak analit bertambah maka identifikasi analit adalah benar (Willet, 1991)
- 3) derivatisasi analit dan dibandingkan dengan waktu tambat derivat standar
- 4) menggunakan detektor yang spesifik, misalnya *ECD*, *NP-FID*
- 5) menggabungkan dengan prosedur baku untuk konfirmasi, misalnya *IR*, *UV*, *NMR*, *MS* (Munson, 1981)

2.4.4.2. Analisis Kuantitatif

Kromatografi gas digunakan terutama untuk analisis kuantitatif komponen dalam campuran. Analisis tersebut dapat dicapai dengan berbagai metode, antar lain: penentuan tinggi puncak, pengukuran area puncak, presisi relatif atau pengukuran puncak dan interpretasi data.

2.4.4.2.1. Pengukuran Tinggi Puncak

Metode ini cocok untuk puncak-puncak yang tinggi, sempit, simetris dan biasanya memiliki waktu tambat yang relatif pendek. Selain itu metode ini tidak sesuai untuk puncak yang lebar dan memiliki waktu tambat yang relatif panjang.

Kelemahan metode ini adalah tinggi puncak tergantung pada kondisi kromatografi, yaitu meliputi laju alir gas pembawa, suhu dan jumlah yang diinjeksikan.

2.4.4.2.2. Pengukuran Area Puncak

Dapat dilakukan dengan cara:

- 1) integrasi elektronik atau mekanik
- 2) triangulasi (luas setengah puncak)
- 3) planimeter (lebar 15% & 85% tinggi puncak)
- 4) perkalian tinggi puncak dengan t_R
- 5) memotong dan menimbang puncak analit

dari semua cara yang ada, cara perhitungan area puncak dengan sistem elektronik memiliki presisi dan akurasi maksimum (Munson, 1981). Sedangkan cara memotong dan menimbang puncak analit dianggap sudah usang dan digunakan bila keadaan darurat saja.

2.4.4.2.3. Interpretasi Data

Merupakan metode perhitungan yang digunakan dengan mengubah data kromatogram ke dalam bentuk konsentrasi atau kadar. Metode ini meliputi:

1. *Normalisasi Area*

Kadar komponen dalam campuran ditentukan oleh persen dari area masing-masing puncak dibandingkan terhadap total area puncak semua komponen.

$$Ci\% = \frac{Ai}{\sum_n Ai} \times 100\%$$

Keterangan: $Ci\%$ = % komponen

$\sum_n Ai$ = penjumlahan area puncak komponen dalam

kromatogram

Ai = area puncak kromatogram

Bila menggunakan cara ini diasumsikan bahwa tanggap kuantitatif detektor untuk semua komponen adalah sama, semua komponen telah keluar dari kolom sehingga semua komponen tersebut terdeteksi oleh detektor. Cara ini memiliki keuntungan antara lain tidak perlu kalibrasi, perhitungan cepat dan sederhana, dan tidak tergantung pada ukuran injeksi sampel (Yuwono, 1999).

2. *Normalisasi Area dengan Faktor Koreksi Respon Detektor*

Cara ini memerlukan campuran standar yang mengandung semua komponen sampel dengan kandunga yang sama dengan kadar sampel untuk melakukan koreksi terhadap komponen-komponen dengan struktur yang bervariasi.

Faktor respon detektor dihitung dengan persamaan:

$$f_i = \frac{\sum \text{komponen}}{\text{areapuncak}}$$

sehingga persamaan pendekatan persentase komposisi menjadi:

$$Ci\% = \frac{f_i \cdot A_i}{\sum_n A_i} \times 100\%$$

cara ini memiliki kekurangan, diantaranya semua puncak harus dikalibrasi sehingga menyulitkan untuk komponen dengan matriks yang kompleks, semua komponen harus terelusi dan terukur, jika ada komponen yang tidak terukur akan menyebabkan galat tersembunyi (Yuwono, 1999).

3. *Kuantifikasi dengan Standar Eksternal*

Pada metode ini standar disuntikkan terpisah dari sampel. Satu seri larutan standar dibuat dengan konsentrasi berbeda-beda kemudian disuntikkan dan dibuat kurva kalibrasi antara luas area dengan konsentrasi standar (Willet, 1991). Harus dipastikan bahwa volume yang disuntikkan adalah sama. Karena penyuntikkan dengan tangan kurang memenuhi persyaratan,

terutama pada kromatografi gas (Crowther, 2000) , maka biasanya digunakan sistem penyuntikkan otomatis atau autosampler (Yuwono, 1991).

4. *Kuantifikasi dengan Standar Internal*

Metode ini hampir sama dengan metode standar eksternal, tetapi standar internal ditambahkan dalam sampel. Metode ini banyak digunakan karena menghasilkan data yang bagus (Yuwono, 1999). Dengan cara ini variasi kondisi penyuntikkan dapat dieliminasi serta fluktuasi pada respon detektor tidak secara drastis mempengaruhi kuantitasi. Adapun persyaratan yang harus dimiliki oleh standar internal adalah:

- 1) tidak terkandung dalam sampel, biasanya digunakan senyawa seri homolognya
- 2) memiliki puncak pada tempat yang bebas, jika mungkin berdekatan dengan komponen yang akan ditentukan kadarnya
- 3) memiliki tekanan uap yang kira-kira sama dengan komponen yang akan ditentukan kadarnya
- 4) stabil, mudah didapat dan mudah ditimbang
- 5) keuntungan metode ini adalah tidak tergantung kuantitas volume yang diinjeksikan karena area puncak hanya tergantung pada % berat (Munson, 1981)
- 6) memiliki struktur yang mirip dengan standar namun tidak bereaksi dengan komponen lainnya
- 7) memiliki kemurnian yang tinggi seperti standar (Crowther & Miller, 2000)

2.5. Tinjauan Tentang Derivatisasi (Pierce, 1968)

2.5.1. Tinjauan Umum

Derivatisasi dapat diartikan penggantian suatu gugus tertentu terhadap suatu senyawa sehingga mempengaruhi sifat-sifat fisikokimianya. Beberapa metode derivatisasi yang sering digunakan dalam kromatografi gas yaitu sililasi, asilasi dan esterifikasi. Sililasi adalah penggantian atau substitusi atom H aktif pada suatu senyawa dengan gugus TMS atau trimethylsilyl [$-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$]. Begitu juga

dengan alkilasi yang prinsipnya sama dengan sililasi. Sedangkan esterifikasi merupakan salah satu metode derivatisasi yang paling sederhana, yaitu reaksi antara senyawa golongan karboksilat dengan golongan alkohol. Dengan melakukan derivatisasi, memungkinkan untuk dilakukan analisis secara kromatografi gas dari banyak senyawa yang pada awalnya tidak mudah untuk diuapkan atau tidak stabil terhadap teknik tersebut.

Dengan adanya penggantian gugus aktif atom H oleh gugus-gugus baru pada derivatisasi, akan terjadi pengurangan gugus-gugus aktif hidrogen sehingga mengurangi polaritas senyawa induk dan mengurangi terjadinya ikatan Hidrogen intermolekul. Akibatnya, senyawa derivat biasanya akan lebih mudah menguap dan lebih stabil. Selain itu, derivatisasi juga dapat memperbaiki bentuk puncak analit pada kromatogram, mencegah terjadinya *overlapping*, *fronting* dan *tailing*.

2.5.2. Silylating Agent

Sebagian besar metode silylasi ditujukan pada aplikasi penggunaan kromatografi gas. Silylating agent ada bermacam-macam, antara lain :

- 1) N,O-Bis(trimethylsilyl)acetamide (BSA)
- 2) N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA)
- 3) Trimethylchlorosilane (TMCS)
- 4) Hexamethyldisilazane (HMDS)

Selain mereaksikan langsung antara senyawa induk dengan silylating agent, digunakan juga pelarut tambahan. Pelarut ini berfungsi sebagai akseptor ion H^+ dan juga sebagai katalis reaksi. Pelarut yang biasa digunakan dalam metode silylasi, antara lain :

- 1) Pyridine
- 2) Tetrahydrofuran (THF)
- 3) Dimethylformamide (DMF)
- 4) Dimethylsulfoxide (DMSO)

2.5.3. Esterifikasi (Blau & Darbre, 1993)

Esterifikasi melibatkan terjadinya kondensasi antara gugus karboksil sebuah asam dan gugus hidroksi sebuah alkohol dengan eliminasi air. Reaksinya adalah :



Reaksi di atas termasuk reaksi Esterifikasi Fischer. Reaksi Fischer antara alkohol dan asam karboksilat sederhana berlangsung reversibel dan posisi dari kesetimbangan cenderung bergeser pada hasil reaksi (Carey, 2000). Ester merupakan senyawa non polar yang lebih mudah menguap dan dapat terpisah dengan baik pada kromatografi terutama kromatografi gas. Selain itu, senyawa yang bersifat asam akan cenderung menyebabkan terjadinya *tailing*.

Oleh karena itu, esterifikasi menjadi pilihan pertama untuk derivatisasi asam terutama untuk analisis kromatografi gas.

2.6. Tinjauan Tentang Validasi Metode

Validasi metode adalah proses terdokumentasi yang menjamin bahwa pelaksanaan metode analisis yang bersifat karakteristik telah sesuai dengan tujuan pelaksanaannya. Proses ini hanya dilakukan di dalam laboratorium analitik untuk menguji kebenaran atau memeriksa benar tidaknya hasil penelitian yang dilakukan pada kondisi peneliti yang bersangkutan (Mulya, 1998).

Dalam penelitian ini, parameter validasi yang digunakan meliputi selektivitas, linieritas, presisi, dan akurasi.

2.6.1 Selektivitas (Spesivitas)

Spesivitas mempunyai arti metode analisis tersebut memberi tanggap detektor terhadap satu analit (Mulya, 1998). Ketinggian selektivitas dinyatakan dengan tidak terganggunya puncak kromatogram analit dengan bahan dasar semula, ekspisien, pengotor, degradasi produksi dan komponen matrik.

Pada kromatografi gas, kromatogram puncak analit harus terpisahkan dengan baik dari komponen lain dan kontaminan. Selain itu harus memperhitungkan faktor efisiensi. Parameter yang menyatakan selektivitas antara lain adalah resolusi (R_s) dan Trenzahl (TZ) atau angka pemisahan. Angka pemisahan yang baik ditunjukkan dengan harga selektifitas (α) > 1, sedangkan

pemisahan analit yang baik dan efisien apabila harga $R_s = 1-1,5$ yang menyatakan bahwa dua kromatogram dari dua komponen tersebut terpisah 98-99 % (Yuwono, 1999).

2.6.2 Kelurusan (Linieritas)

Linieritas harus diuji untuk membuktikan adanya hubungan linier antara konsentrasi analit dan respon detektor. Pengujian linieritas dilakukan pada kadar 25-200 % dari konsentrasi anlit yang diperkirakan (Anonim, 2000). Parameter yang digunakan adalah koefisien korelasi (r) pada persamaan garis regresi :

$$y = bx + a$$

Linieritas memenuhi syarat apabila harga r hitung lebih besar dari harga r tabel, yang berarti ada korelasi linier antara variabel bebas (x) dan variabel tergantung (y).

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

$$b = \frac{\sum y - a \sum x}{n}$$

$$r = \frac{n \sum (X_i . Y_i) - (\sum X_i)(\sum Y_i)}{\sqrt{\{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2\} \{n \sum Y_i^2 - (\sum Y_i)^2\}}}$$

Keterangan :

r = Koefisien korelasi

X_i = Jumlah zat yang diamati

Y_i = Area kromatogram

n = Jumlah data

2.6.3 Presisi dan Akurasi

Presisi adalah suatu ukuran derajat keterulangan (reproducibility) dari suatu metode analisis. Presisi menyatakan hasil yang didapat dengan pengukuran yang berulang-ulang pada kondisi yang sama. Presisi dinyatakan sebagai koefisien variasi (KV) atau relatif standar deviasi. Uji presisi dilakukan minimal 9 kali pada rentang prosedur pengamatan. Angka prosen koefisien variasi tergantung pada beberapa faktor:

- 1) jenis sampel yang dianalisis
- 2) jumlah sampel
- 3) jenis instrumen yang digunakan
- 4) pengalaman kerja operator

Umumnya presisi yang baik ditunjukkan dengan harga koefisien variasi tidak lebih dari 2 %. KV dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$KV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$$

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

SD menyatakan standar deviasi dan $\bar{X}$ menyatakan rerata hasil penentuan. Harga KV < 2 % dapat dikatakan bahwa metode analisis tersebut memberikan presisi yang baik.

Akurasi merupakan keterdekatan hasil penentuan metode analisis dengan harga sebenarnya. Indikasi yang paling umum untuk menyatakan “*High Accuracy*” adalah proses perolehan kembali (% *recovery*). Pada penentuan accuracy dikenal istilah “*Absolute Recovery*” adalah hasil perolehan kembali analit dari matrik sampel yang dibandingkan dengan standar murni pada tanggap detektornya. “*Relative Recovery*” adalah hasil perolehan kembali analit dari matrik sampel yang dibandingkan terhadap tanggap detektor matrik lain juga

terhadap nisbah tanggap detektor dengan pelarut murni. Accuracy dinyatakan dengan :

$$\text{Absolute Error (E)} = X_i - X_t$$

$$\text{Relative Error (Er)} = \frac{X_i - X_t}{X_i} \times 100\%$$

X_i adalah kadar rata-rata yang didapat dan X_t adalah kadar sebenarnya.

2.6.4 Batas Deteksi (*LOD*) dan Batas Kuantifikasi (*LOQ*)

Batas deteksi adalah jumlah analit terkecil dalam sampel yang bisa terdeteksi tetapi tidak perlu dikuantitasi, dibawah kondisi percobaan yang dilakukan (Anonim, 1995).

Batas kuantitasi dalah kadar terkecil analit dalam sampel yang dapat diukur dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi percobaan yang dilakukan (Anonim, 2000).

Kadar tersebut harus mampu memberikan respon detektor atau tinggi puncak dibanding simpangan maksimum dari derau garis dasar yang nilainya 3 kali lebih besar untuk *LOD* dan 10 kali lebih besar untuk *LOQ*.

Untuk menghitung *LOD* dan *LOQ* digunakan rumus sebagai berikut :

$$C = k \frac{Sb}{Sl} \quad \text{dimana:} \quad Sb = \frac{N_{P-P}}{5}$$

Keterangan : C = kadar analit pada *LOD* atau *LOQ*
 k = konstanta ($k=3$ untuk *LOD*, $k=10$ untuk *LOQ*)
 Sl = slope antara kadar dan tinggi puncak analit
 Sb = standar deviasi dari sinyal blanko
 N_{P-P} = puncak tertinggi dikurangi puncak terendah

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

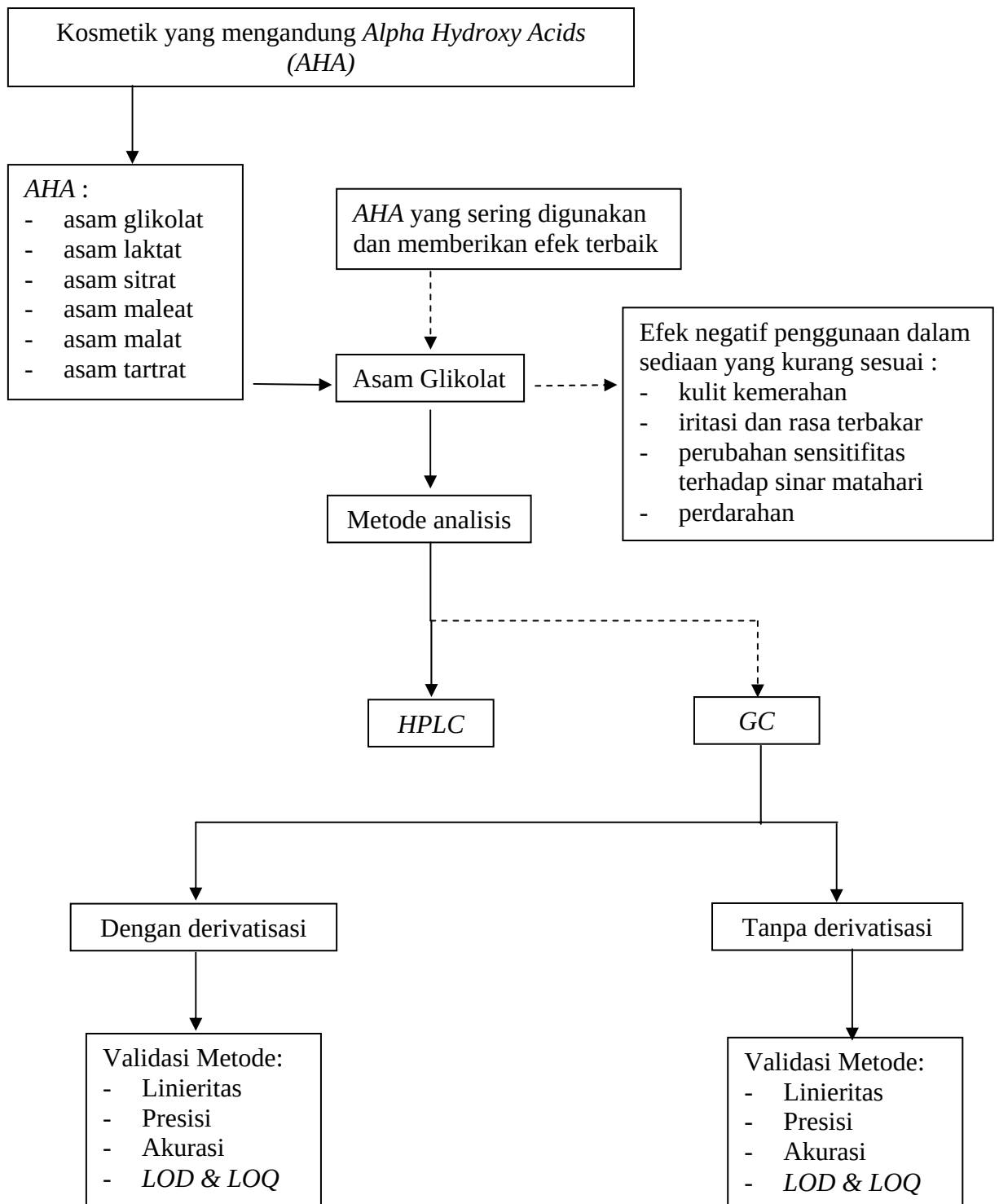
Dengan semakin banyaknya pencemaran lingkungan dan pemanasan global yang meluas, Indonesia sebagai salah satu negara tropis dengan intensitas sinar matahari yang tinggi, maka masyarakat Indonesia rentan terhadap efek merugikan sinar matahari terutama radiasi sinar *ultraviolet*. Untuk mencegah terjadinya efek merugikan sinar *ultraviolet*, dapat digunakan sediaan topikal. Sediaan topikal yang berkembang saat ini telah menggunakan teknologi dan bahan-bahan yang beragam. Salah satu sediaan topikal yang saat ini beredar mengandung asam organik yaitu *AHA*, diantaranya adalah asam glikolat.

Asam glikolat yang merupakan salah satu bentuk *AHA* yang paling efektif dan memiliki banyak keuntungan, digunakan sebagai bahan aktif untuk pembuatan krim *antiaging* atau krim pembaruan sel-sel kulit. Namun, pada konsentrasi $>10\%$ dan dalam basis dengan pH $>3,5$, asam glikolat dapat mengelupas sel kulit dengan merusak bahan dalam kulit yang menyatukan sel-sel kulit. Selain itu, berbagai efek samping, seperti : kulit kemerahan, iritasi, rasa terbakar, perdarahan dan perubahan sensitifitas terhadap sinar matahari, timbul dari penggunaan krim *antiaging* atau krim lain yang mengandung asam glikolat dengan formulasi yang kurang memperhatikan kenyamanan pemakaian oleh konsumen dan lebih mementingkan efek terapinya saja.

Oleh karena itu, dilakukan analisis dan validasi metode analisis asam glikolat dalam sampel kosmetik dengan kromatografi gas. Dipilih metode ini karena masih belum banyak publikasi data validasi analisis asam glikolat dalam kosmetik dengan menggunakan kromatografi gas. Selain itu, kromatografi gas memiliki ketepatan dan ketelitian yang relatif tinggi, dengan pembawa gas yang memiliki viskositas rendah memungkinkan untuk menggunakan kolom yang panjang (sampai 60 m) sehingga dapat menghasilkan pemisahan yang baik, kecepatan alir gas yang bertekanan tinggi dapat mempercepat waktu analisis, memiliki banyak bentuk detektor dan dapat digabungkan dengan berbagai metode deteksi lainnya,

seperti kromatografi gas-spektra massa (*GC-MS*), kromatografi gas-spektra *infrared* (*GC-FTIR*), kromatografi gas- *GC-NMR* dan lain-lain.

Validasi dan penetapan kadar asam glikolat dalam kosmetik dengan metode kromatografi gas diperlukan sebagai alternatif analisis dalam pengembangan formulasi. Selain itu informasi yang nantinya didapatkan akan bermanfaat terhadap keamanan pemakaian sediaan topikal yang mengandung *AHA*, khususnya asam glikolat.



Bagan Kerangka Konseptual

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Bahan penelitian

- 1) Air suling
- 2) Kertas saring (Whatman Nylon 0,2 μm)
- 3) Methanol p.a. (Merck)
- 4) Asam korida p.a. (Merck)
- 5) Ethyl acetate p.a. (Merck)
- 6) Asam glikolat p.a. (Dupont)
- 7) Blangko krim kosmetik
- 8) Sampel kosmetik krim
- 9) Helium p.a (gas pembawa)
- 10) Udara bertekanan p.a (gas pembakar)
- 11) Hidrogen p.a (gas pembakar)

4.2. Alat penelitian

- 1) Kromatografi gas Agilent 6890 versi A.03.08 dengan *FID (Flame Ionization Detector)*
- 2) Sonikator (Julabo, tipe USR 1)
- 3) Penyaring suntik (dengan *filter holder*)
- 4) Pengaduk getar (*Vortex IKA Works Sdn.Bhd.* tipe MS 1)
- 5) Penangas air dengan pengatur suhu (Memmet, tipe WB 22)
- 6) Alat-alat gelas

4.3. Metode Penelitian

4.3.1. Penentuan kondisi kromatografi gas

Dibuat larutan asam glikolat dalam metanol pada konsentrasi tertentu dan diinjeksikan larutan tersebut sebanyak 1 μL pada berbagai kondisi kromatografi gas yang meliputi temperatur kolom (*Isotermal* atau *Terprogram*), kecepatan alir gas pembawa, temperatur dan mode inlet dan temperatur detektor. Sistem kromatografi gas yang digunakan adalah sebagai berikut :

- Kromatografi gas Agilent 6890 versi A.03.08
- Inlet : *Split/ splitless*
- Detektor : *FID (Flame Ionization Detector)*
- Kolom : Kapiler HP5 5% Phenyl methyl siloksane, 30m x 320 μm x 0,25mm
- Gas pembawa : Helium (He)
- Gas pembakar : Hidrogen (H_2) dan udara bertekanan

Sistem kromatografi gas yang digunakan di atas merupakan fasilitas yang dimiliki oleh Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Oleh karena itu pada penentuan kondisi kromatografi gas, parameter-parameter yang terdapat dalam sistem kromatografi gas tersebut adalah tetap.

Hasil kromatogram dari berbagai kondisi diamati dan dipilih kondisi yang memberikan bentuk maupun resolusi puncak analit yang optimum.

Selain itu blanko sampel kosmetik diekstraksi dengan etil asetat yang kemudian diuapkan dan dilarutkan kembali dengan metanol lalu diinjeksikan dan diamati kromatogram terhadap adanya peak pengganggu pada t_R asam glikolat. Hal tersebut juga dilakukan terhadap blanko yang telah diderivatisasi.

4.3.2. Derivatisasi

Ditimbang sejumlah tertentu asam glikolat dan dilarutkan dengan metanol sampai volume 10,0 mL. Kemudian ditambahkan ke dalamnya asam klorida pekat 10,0 μL . Larutan baku selanjutnya dicelupkan dalam penangas air pada suhu 60° C selama 15 menit. Setelah dipanaskan, larutan baku dicelupkan ke dalam air es sampai mencapai suhu kamar. Kemudian larutan baku derivatisasi harus disaring

dahulu dengan kertas saring Whatman 0,2 μm , kemudian dapat langsung disuntikkan ke sistem kromatografi gas.

4.3.3. Prosedur Penelitian

Pada prosedur penelitian ini, selain dilakukan validasi analisis asam glikolat tanpa derivatisasi, juga dilakukan validasi analisis asam glikolat dengan derivatisasi.

4.3.3.1. Pembuatan Larutan Standar

Ditimbang seksama satu per satu 5 standar asam glikolat yaitu 0,010; 0,020; 0,030; 0,040; 0,050 g dan masing-masing dilarutkan dalam metanol sampai volume 10,0 mL.

4.3.3.2. Penentuan Linieritas

Dibuat larutan standar asam glikolat berbagai kadar (1000, 2000, 3000, 4000, 5000 $\mu\text{g/mL}$) kemudian disuntikkan 1,0 μL sesuai dengan kondisi yang telah didapat (butir 4.3.1.) kemudian ditentukan persamaan garis lurus ($y = bx + a$) dan koefisien korelasi (r) dan standar deviasi relatif proses (V_{x0}) dari plot konsentrasi versus area puncak.

4.3.3.3. Penentuan Selektivitas (α) dan Derajat Keterpisahan (R_s)

Larutan sampel krim hasil ekstraksi yang mengandung asam glikolat disuntikkan pada sistem kromatografi gas sesuai kondisi yang didapat (butir 4.3.1.), diamati kromatogramnya dan dihitung selektivitas dan derajat keterpisahan.

4.3.3.4. Penentuan Akurasi dan Presisi Metode

Penentuan akurasi dan presisi dilakukan dengan menimbang 0,5 g krim placebo untuk 3 kadar asam glikolat yang berbeda. Ditambahkan standar asam glikolat dengan 3 macam konsentrasi ke dalam masing-masing blangko krim. Masing-masing bahan diekstraksi dengan 5 mL etil asetat. Masing-masing campuran bahan divorteks selama 3-5 menit. Setelah itu masing-masing bahan

disonikasi selama 10 menit dan diuapkan sampai kering. Setelah kering, bahan dilarutkan dengan metanol sampai volume 10,0 mL. Sebelum disuntikkan, masing-masing bahan disaring dengan kertas Whatman 0,2 μm dan kemudian disuntikkan 1,0 μL ke dalam sistem kromatografi gas pada kondisi yang telah didapatkan (butir 4.3.1.). Pada percobaan ini dilakukan masing-masing 3 kali replikasi. Dihitung % *recovery* dari masing-masing kadar dan koefisien variasi rata-ratanya.

4.3.3.5. Aplikasi metode dalam sampel krim

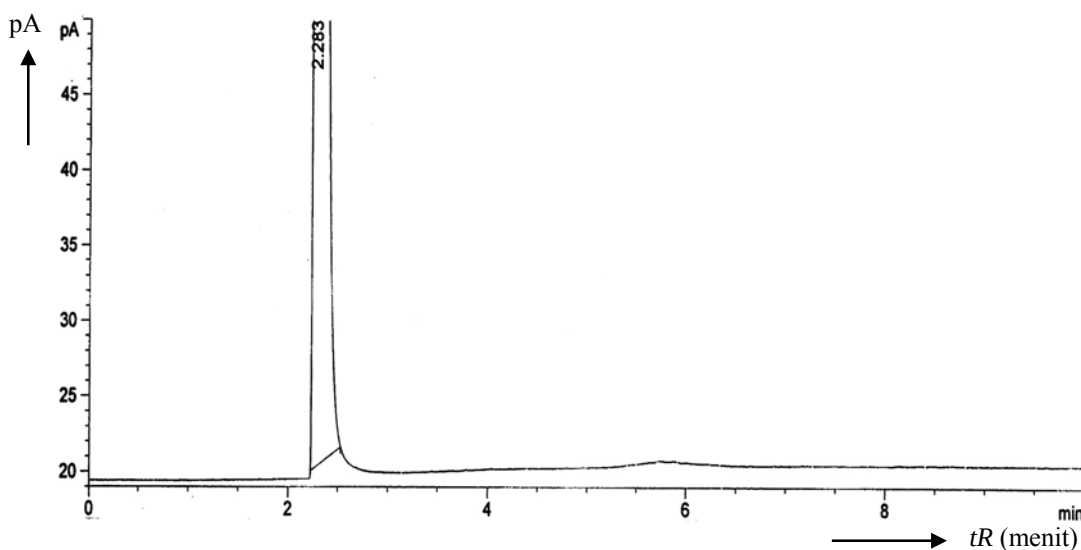
Masing-masing sampel ditimbang teliti 0,5 g, ditambahkan ke dalamnya etil asetat 5 mL. Masing-masing sampel divorteks 3-5 menit dan disonikasi selama 10 menit. Masing-masing ekstrak diuapkan sampai kering kemudian ditambahkan metanol ad 10,0 mL, disaring dengan kertas Whatman 0,2 μm lalu disuntikkan 1,0 μL ke dalam kromatografi gas. Dihitung kadar dan kadar rata-rata dari masing-masing sampel melalui ekstrapolasi persamaan Linieritas.

BAB V

HASIL PENELITIAN

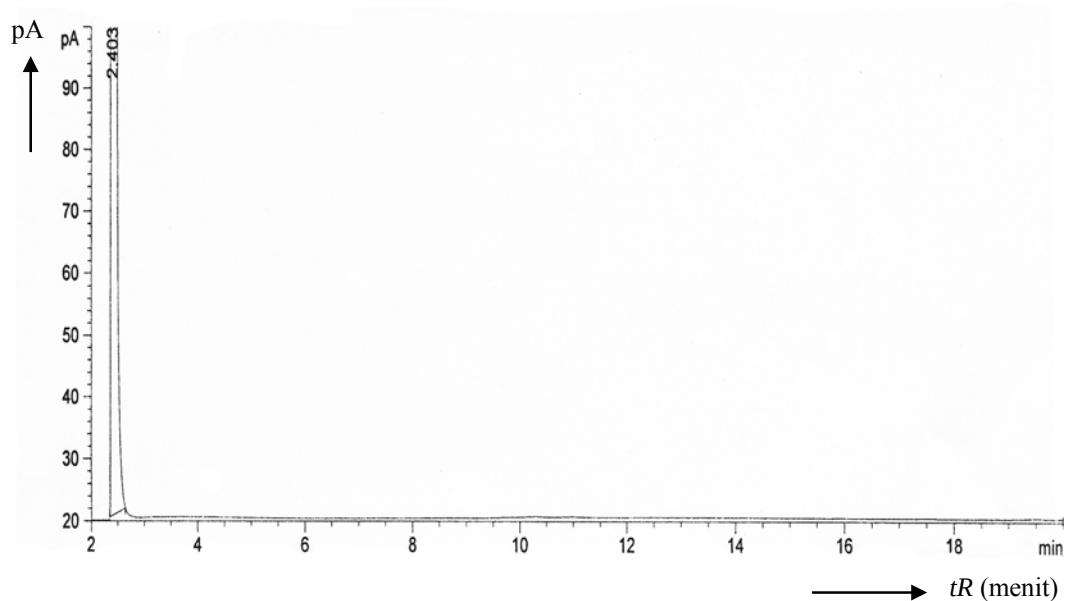
5.1. Penentuan kondisi Kromatografi gas

Pada penelitian pendahuluan dilakukan penentuan kondisi kromatografi gas dengan kondisi oven terprogram mulai temperatur 175 °C dan dipertahankan selama 1 menit, kemudian dinaikkan 25 °C/ menit sampai temperatur 250 °C dan dipertahankan selama 7 menit. Gas pembawa yang digunakan adalah Helium dengan kecepatan alir 1,0 ml/menit. Temperatur inlet 250 °C dan detektor 300 °C. Untuk selanjutnya disebut Kondisi 1. Dari penyuntikkan pada kondisi tersebut diperoleh profil kromatogram seperti pada Gambar 5.1 dimana asam glikolat tanpa derivatisasi tidak teranalisis karena puncak kromatogram tidak muncul.



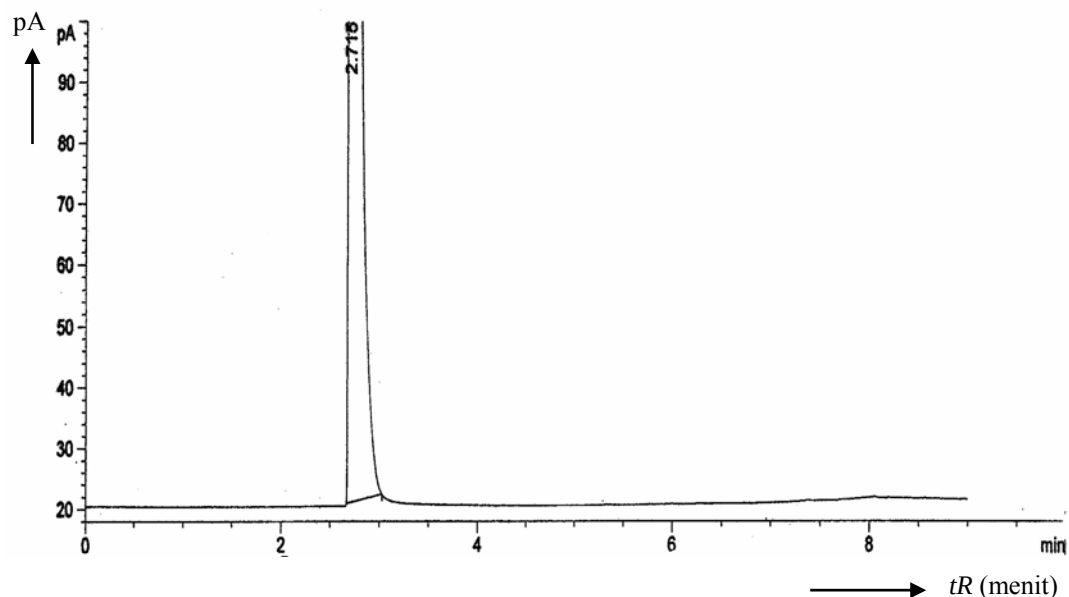
Gambar 5.1 Profil kromatogram asam glikolat tanpa derivatisasi Kondisi 1
(t_R 2,283 merupakan waktu tambat metanol)

Penentuan kondisi selanjutnya dilakukan hanya dengan mengubah temperatur oven. Pada Kondisi 2 yaitu dengan temperatur oven 150 °C dipertahankan selama 1 menit, kemudian dinaikkan 10 °C/menit sampai temperatur 250 °C dan dipertahankan selama 12 menit. Akan tetapi, asam glikolat tanpa derivatisasi tetap tidak teranalisis seperti tampak pada gambar 5.2.



Gambar 5.2 Profil kromatogram asam glikolat tanpa derivatisasi pada Kondisi 2, pada t_R 2,403 merupakan puncak pelarut (metanol)

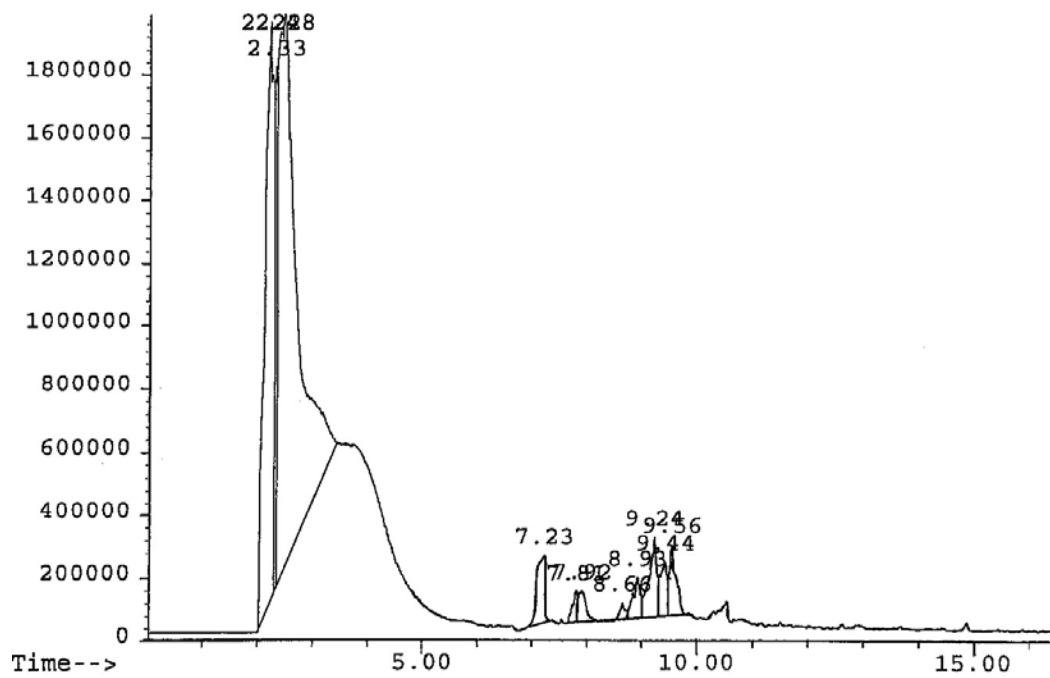
Pada Kondisi 3, yaitu temperatur oven 75 °C dipertahankan selama 1 menit kemudian dinaikkan 25 °C/menit sampai temperatur 250°C, asam glikolat tanpa derivatisasi tetap tidak teranalisis seperti tampak pada gambar 5.3.



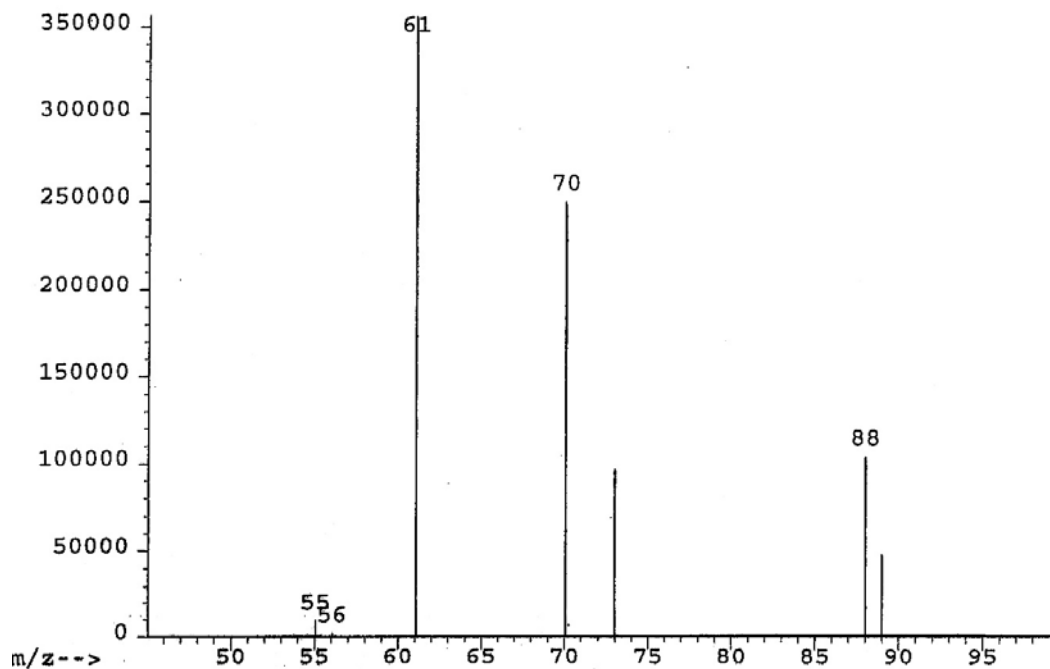
Gambar 5.3 Profil kromatogram asam glikolat tanpa derivatisasi pada Kondisi 3, t_R 2,715 merupakan puncak pelarut (metanol)

5.1.2. Tanpa Derivatisasi

Setelah dilakukan berbagai kondisi kromatografi gas yang berbeda, penelitian dilanjutkan dengan melakukan penyuntikkan asam glikolat tanpa derivatisasi ke dalam sistem kromatografi gas-spektra massa dengan menggunakan Kondisi 3 untuk mengetahui keberadaan puncak asam glikolat tanpa derivatisasi. Hasil penyuntikkan ke dalam sistem kromatografi gas-spektra massa dapat dilihat pada Gambar 5.4 dan Gambar 5.5.



Gambar 5.4 Profil TIC (*Total Ion Chromatogram*) asam glikolat tanpa derivatisasi dengan kromatografi gas-spektra massa (terlampir)



Gambar 5.5 Profil SIM (*Selected Ion Monitoring*) asam glikolat dengan kromatografi gas-spektra massa pada tR 2,33 menit (terlampir)

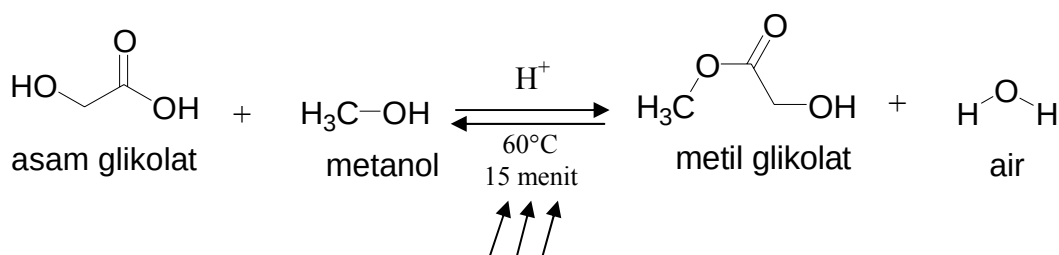
Pada gambar 5.4 dan 5.5, data kromatografi gas-spektra massa pada t_R 2,22; 2,32; 2,48 dan 7,23, menyebutkan bahwa pada t_R tersebut merupakan suatu senyawa yang tidak diketahui, sedangkan pada t_R 7,81 dan seterusnya merupakan pengotor dalam proses analisis. Data *library* hasil penyuntikan asam glikolat tanpa derivatisasi terlampir.

Berdasarkan data-data penentuan kondisi kromatografi gas, profil *TIC* (*Total Ion Chromatogram*) dan *SIM* (*Selected Ion Monitoring*) dari hasil penyuntikan asam glikolat tanpa derivatisasi dengan kromatografi gas-spektra massa, menunjukkan bahwa analisis asam glikolat tanpa derivatisasi tidak dapat dilakukan karena asam glikolat tanpa derivatisasi akan terurai pada temperatur di atas 100 °C (NICNAS, 2000).

5.1.2. Derivatisasi

Derivatisasi yang dilakukan adalah esterifikasi yaitu dengan melarutkan sejumlah tertentu asam glikolat dengan metanol. Ditambahkan ke dalam larutan asam glikolat 10,0 μ L HCl p dan menambahkan pelarut sampai diperoleh volume 10,0 mL. Larutan asam glikolat selanjutnya dicelupkan ke dalam penangas air pada temperatur 60 °C selama 15 menit. Setelah 15 menit, larutan asam glikolat langsung dicelupkan ke dalam air es sampai diperoleh temperatur kurang lebih sama dengan temperatur ruangan. Sebelum disuntikkan, larutan asam glikolat disaring terlebih dahulu dengan kertas saring Whatman Nylon 0,2 μ m.

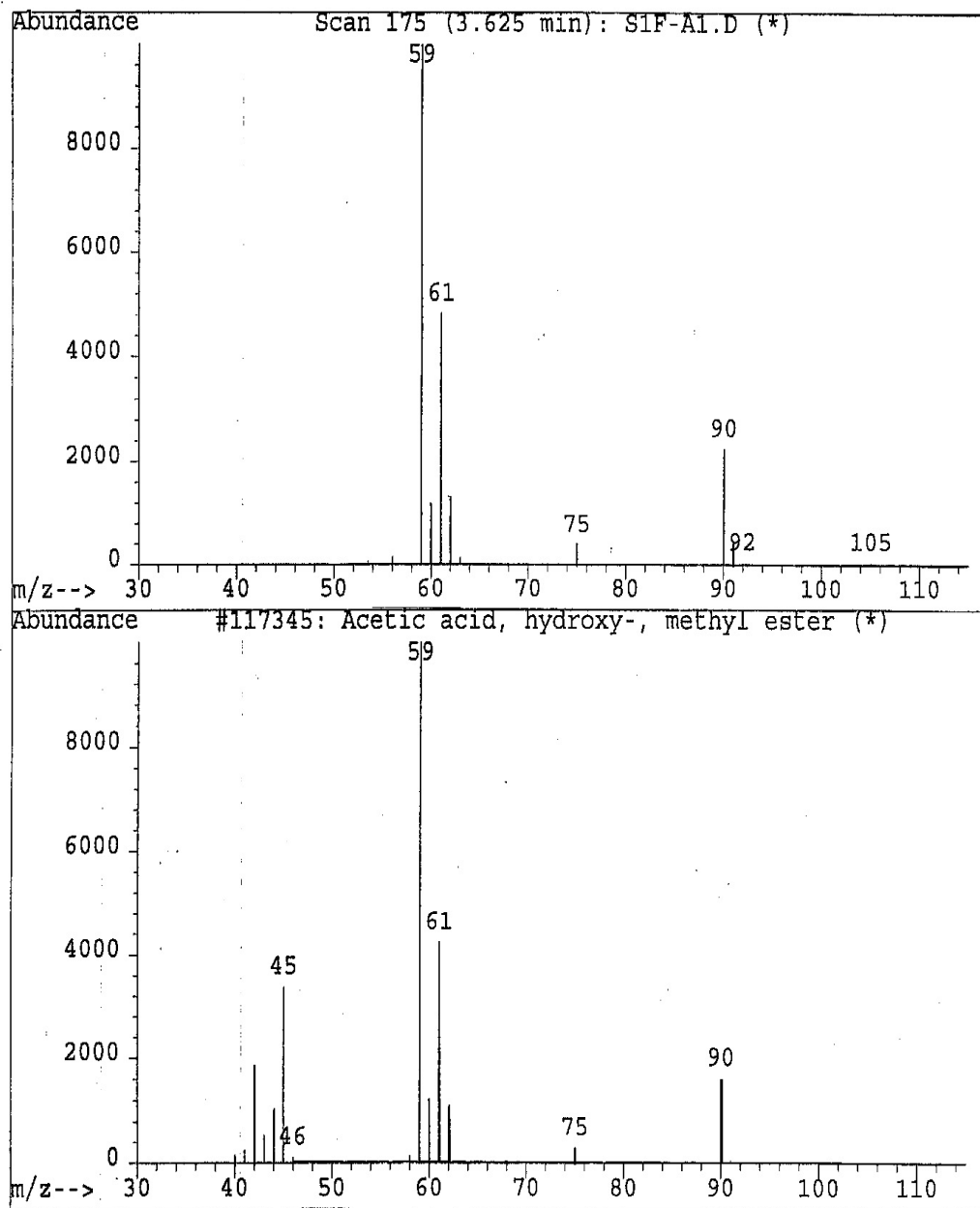
Reaksi yang terjadi pada esterifikasi asam glikolat merupakan salah satu reaksi esterifikasi Fischer. Reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 5.6. Sedangkan pada Gambar 5.7 diperoleh profil *SIM* (*Selected Ion Monitoring*) dan data *library* kromatografi gas-spektra massa yang menyatakan bahwa asam glikolat teresterifikasi menjadi metil glikolat (*acetic acid, hydroxy-, methyl ester*) pada t_R 3,625 menit dengan kemiripan 90% dari data *library* kromatografi gas-spektra massa.



Gambar 5.6 Skema reaksi esterifikasi asam glikolat

Untuk menunjang penelitian, dilakukan penyuntikkan larutan asam glikolat yang telah diderivatisasi dengan kromatografi gas-spektra massa. Profil *SIM* (*Selected Ion Monitoring*) kromatografi gas-spektra massa seperti pada Gambar 5.7 menunjukkan bahwa asam glikolat teresterifikasi menjadi metil glikolat (*acetic acid, hydroxy, methyl ester*).

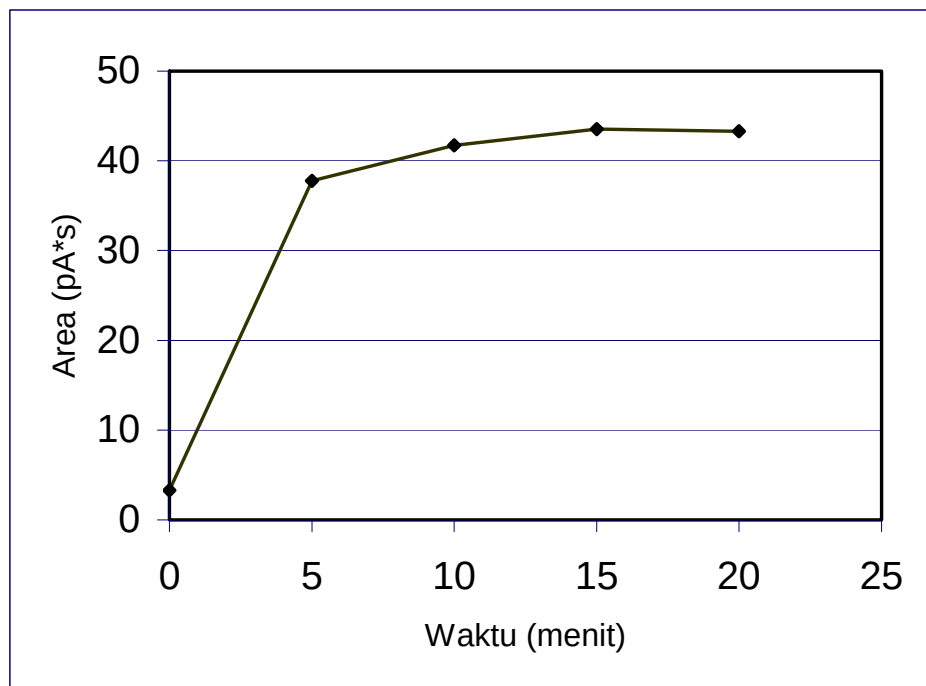
Selain itu, pada proses derivatisasi dilakukan percobaan untuk mengetahui pengaruh waktu pemanasan terhadap area puncak asam glikolat hasil esterifikasi. Pada tabel V.1 dan Gambar 5.8 menunjukkan bahwa pemanasan selama 15 menit sudah cukup untuk pembentukan senyawa ester asam glikolat.



Gambar 5.8 Profil *SIM* (*Selected Ion Monitoring*) dan data library kromatografi gas-spektra massa asam glikolat yang telah diderivatisasi (terlampir)

Tabel V.1 Tabel hubungan antara waktu pemanasan pada reaksi esterifikasi terhadap area puncak asam glikolat

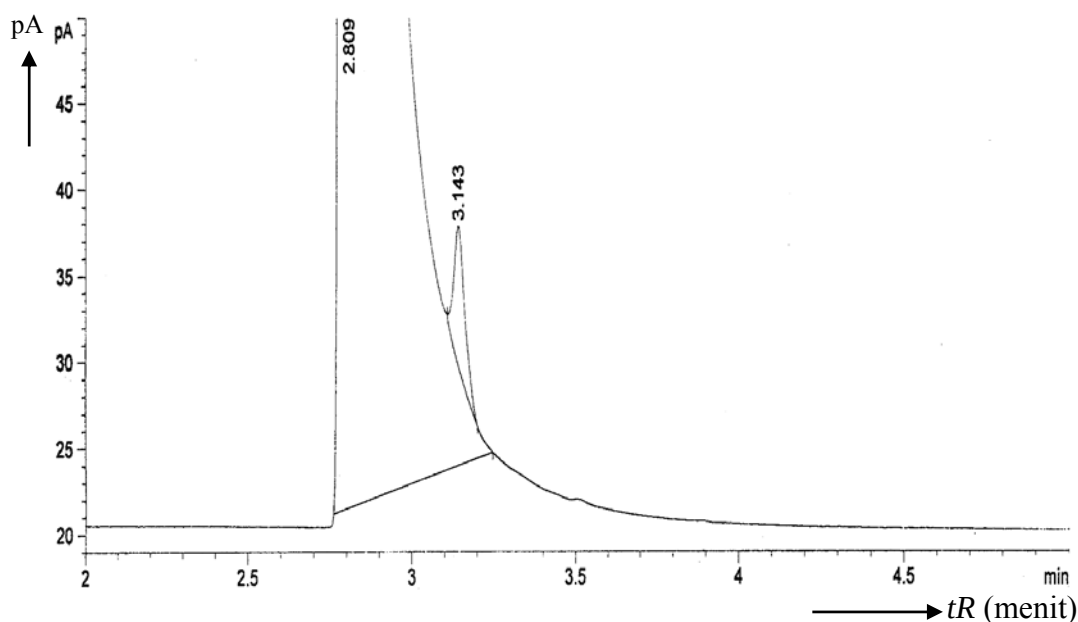
No	Waktu pemanasan (menit)	Area puncak kromatogram (pA*s)
1	0	3,30578
2	5	37,76186
3	10	41,73059
4	15	43,52735
5	20	43,29288



Gambar 5.8 Kurva pengaruh waktu pemanasan terhadap reaksi esterifikasi asam glikolat

5.1.3. Dengan Derivatisasi

Asam glikolat yang telah diderivatisasi, untuk selanjutnya disebut dengan metil glikolat (*acetic acid, hydroxy-, methyl ester*) disuntikkan ke dalam kromatografi gas dengan menggunakan Kondisi 3 yaitu oven terprogram 75 °C dipertahankan selama 1 menit, kemudian dinaikkan 25 °C/menit sampai temperatur 250 °C. Dari hasil penyuntikkan diperoleh kromatogram seperti pada gambar 5.8.



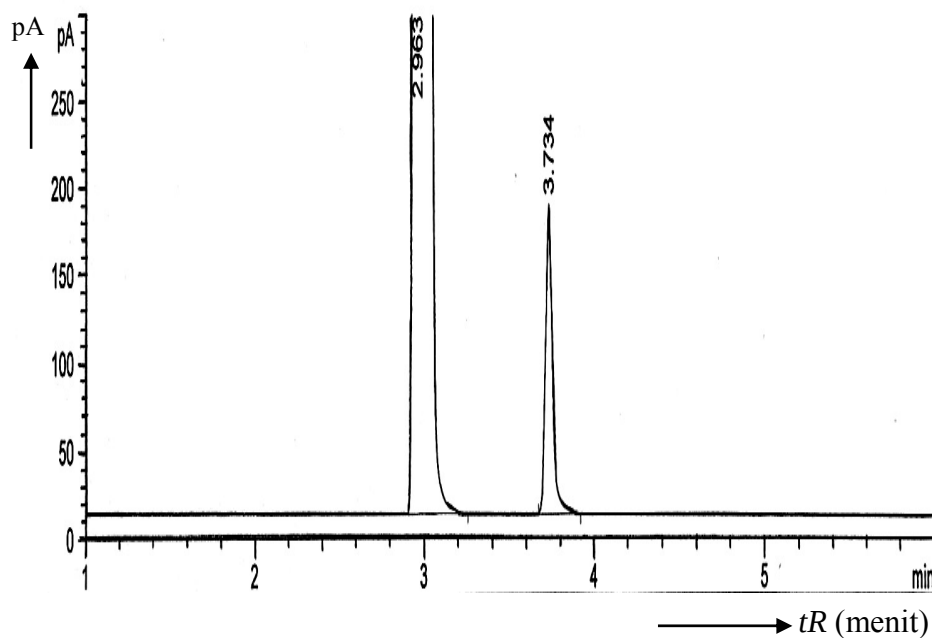
Gambar 5.9 Profil kromatogram metil glikolat pada Kondisi 3
(t_R 3,143 = metil glikolat)

Pada Gambar 5.9 puncak kromatogram metil glikolat masih tidak terpisah dengan puncak pelarut (metanol). Kemudian dilakukan berbagai perubahan kondisi sehingga diperoleh bentuk puncak yang optimal.

Dari hasil penyuntikan larutan standar metil glikolat pada berbagai kondisi, didapatkan kondisi yang sesuai seperti pada tabel V.2. Profil kromatogram metil glikolat pada Gambar 5.10 merupakan profil kromatogram metil glikolat pada kondisi yang optimal.

Tabel V.2 Kondisi kromatografi gas pada analisis metil glikolat

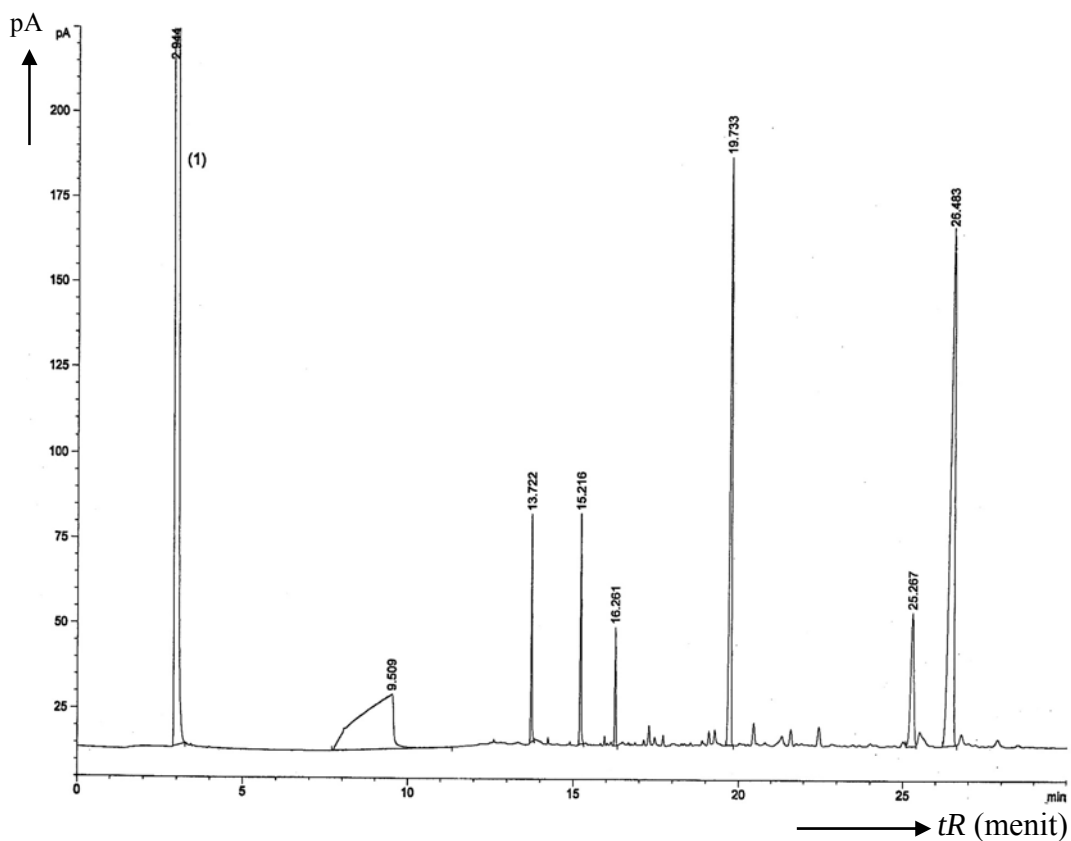
Parameter	Kondisi
Temperatur inlet	250° C
Temperatur oven	Temperatur awal 75° C dipertahankan selama 1 menit kemudian dinaikkan 2° C/menit sampai 85° C yang dipertahankan selama 1 menit, setelah itu temperatur dinaikkan kembali 20° C/menit sampai temperatur 200° C dan dipertahankan selama 25 menit
Alir rata-rata helium	1,0 mL/menit
Alir rata-rata hidrogen	30 mL/menit
Alir rata-rata udara	300 mL/menit
Temperatur detektor	300° C



Gambar 5.10 Profil kromatogram metil glikolat pada kondisi sesuai tabel V.2

Puncak kromatogram metil glikolat seperti tampak pada Gambar 5.10 memiliki harga selektifitas (α) 2,97 dan derajat keterpisahan (R_s) 10,40. Hal tersebut menunjukkan bahwa metil glikolat terpisahkan dengan baik dari pelarut.

Setelah diperoleh kondisi yang sesuai, disuntikkan ke dalam kromatografi gas larutan hasil ekstraksi krim blangko untuk mengetahui adanya puncak pengganggu pada waktu retensi metil glikolat. Dari Gambar 5.11 diketahui bahwa pada waktu retensi metil glikolat tidak terdapat adanya puncak pengganggu.



Gambar 5.11 Profil kromatogram krim blangko [(1) = metanol]

5.2. Validasi Metode

Validasi analisis yang dilakukan adalah analisis terhadap asam glikolat yang telah diderivatisasi (metil glikolat), karena pada penelitian awal asam glikolat tanpa derivatisasi tidak dapat dianalisis. Untuk selanjutnya asam glikolat yang telah diderivatisasi disebut metil glikolat dan prosedur penelitian yang dilakukan adalah prosedur untuk metil glikolat (asam glikolat yang telah diderivatisasi).

5.2.1. Pembuatan larutan baku

Ditimbang teliti berbagai berat standar asam glikolat : 0,0101; 0,0202; 0,0302; 0,0402; 0,0502 g dan masing-masing dilarutkan dalam metanol p.a. sampai volume tepat 10,0 mL sehingga didapatkan kadar 1010, 2020, 3010, 4020, 5020 $\mu\text{g/mL}$.

Ke dalam masing-masing larutan standar ditambahkan 10,0 μL HCl p dan kemudian dipanaskan dalam penangas air pada suhu 60° C selama 15 menit. Setelah 15 menit, masing-masing larutan standar dicelupkan ke dalam air dingin sehingga didapatkan suhu setara dengan suhu kamar. Sebelum diinjeksikan ke dalam kromatografi gas, masing-masing larutan baku disaring dengan kertas saring Whatman Nylon 0,2 μm terlebih dahulu. Larutan baku digunakan sebagai data linieritas dari berbagai kadar larutan standar metil glikolat.

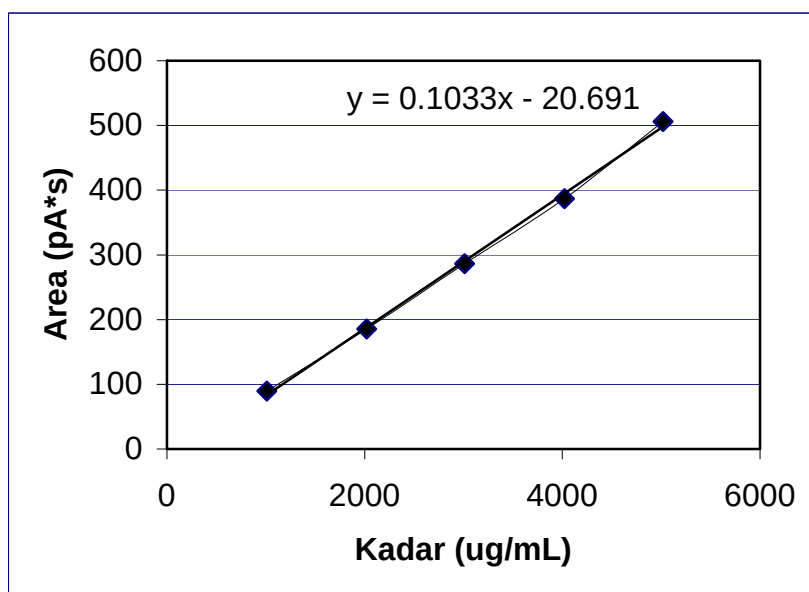
5.2.2. Linieritas

Larutan baku asam glikolat berbagai kadar yang telah diderivatisasi menjadi metil glikolat kemudian disuntikkan ke dalam sistem kromatografi gas sesuai kondisi pada Tabel V.2. Dari hasil penyuntikkan dan perhitungan perbandingan area puncak metil glikolat terhadap lima macam kadar metil glikolat dapat dilihat pada Tabel V.3.

Tabel V.3 Data hubungan antara kadar metil glikolat dengan area puncak kromatogram

No.	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Area (pA*s)
1	1010	89,41994
2	2020	185,48427
3	3010	286,30042
4	4020	387,00348
5	5020	506,25333
$R = 0,99914$		

Dari data di atas dibuat kurva persamaan garis regresi antara kadar asam glikolat derivatif dengan area asam glikolat derivatif seperti pada Gambar 5.11.

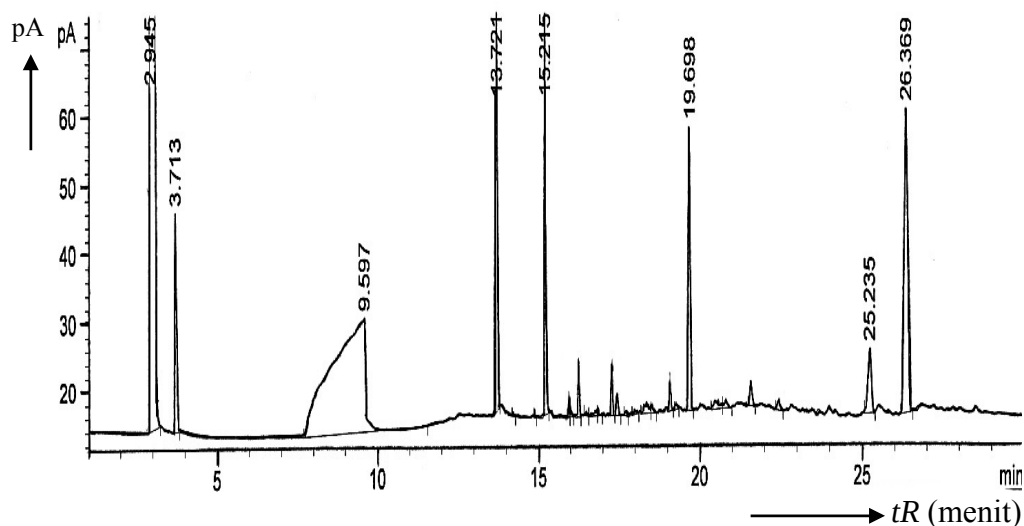


Gambar 5.12 Kurva persamaan garis regresi antara kadar metil glikolat ($\mu\text{g/mL}$) dan area puncak kromatogram (pA*s)

Dari Tabel V.3 dan Gambar 5.11 diperoleh persamaan regresi $y = 0,1033x - 20,691$ dengan $r_{\text{hitung}} = 0,99914$ dan $V_{x0} = 2,5 \%$. Data tersebut menunjukkan adanya hubungan linier antara kadar asam glikolat pada rentang 1000 – 5000 $\mu\text{g/mL}$ dengan area kromatogram metil glikolat.

5.2.3. Selektifitas dan Derajat Keterpisahan

Disuntikkan ke dalam kromatografi gas blangko krim yang mengandung asam glikolat dan telah diekstraksi serta di derivatisasi. Diperoleh kromatogram kromatografi gas serta harga α dan R_s puncak metil glikolat dan komponen lain dalam blangko krim. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 5.12.



Gambar 5.13 Profil kromatogram metil glikolat dalam blangko krim

Pada kromatogram (Gambar 5.13), t_R 3,713 merupakan puncak metil glikolat dan t_R 2,945 merupakan puncak pelarut, sedangkan t_R 9,597 merupakan waktu tambat komponen lain yang terkandung dalam blangko krim. Hasil perhitungan dari data yang ada, harga selektifitas (α) metil glikolat 1,26 dan harga derajat keterpisahan (R_s) 8,75. Berdasarkan data tersebut menunjukkan bahwa puncak metil glikolat terpisahkan dengan puncak-puncak lain dalam blangko krim.

5.2.4. Penentuan Akurasi dan Presisi

Penentuan akurasi dan presisi yang dilakukan merupakan akurasi dan presisi metode. Selain itu penentuan akurasi dan presisi pada penelitian ini dilakukan dengan metode adisi. Dari percobaan didapatkan data akurasi seperti pada Tabel V.4. Sedangkan hasil untuk data presisi metode seperti tampak pada Tabel V.5.

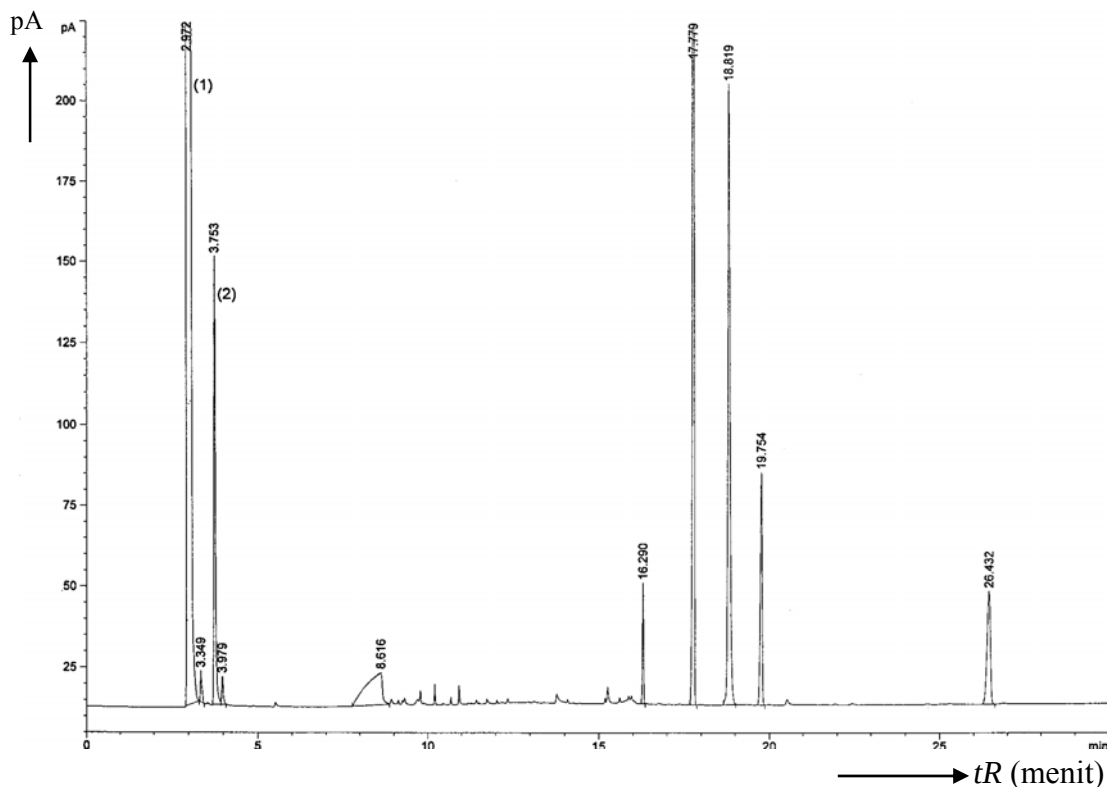
Tabel V.5 Data presisi metode analisis asam glikolat
berdasarkan % *recovery* blangko

Kadar	% <i>recovery</i>	<i>SD</i>	<i>KV</i> (%)
I	96,34 107,92 91,74	8,33715	8,4495
II	79,70 90,68 81,15	5,96495	7,1147
III	81,59 79,51 79,30	1,26587	1,5798
Rerata	87,55	5,1893	5,7147

Berdasarkan data di atas, diperoleh % *recovery* rata-rata sebesar 87,55 %;
SD rata-rata = 5,19 dan *KV* = 5,71 %.

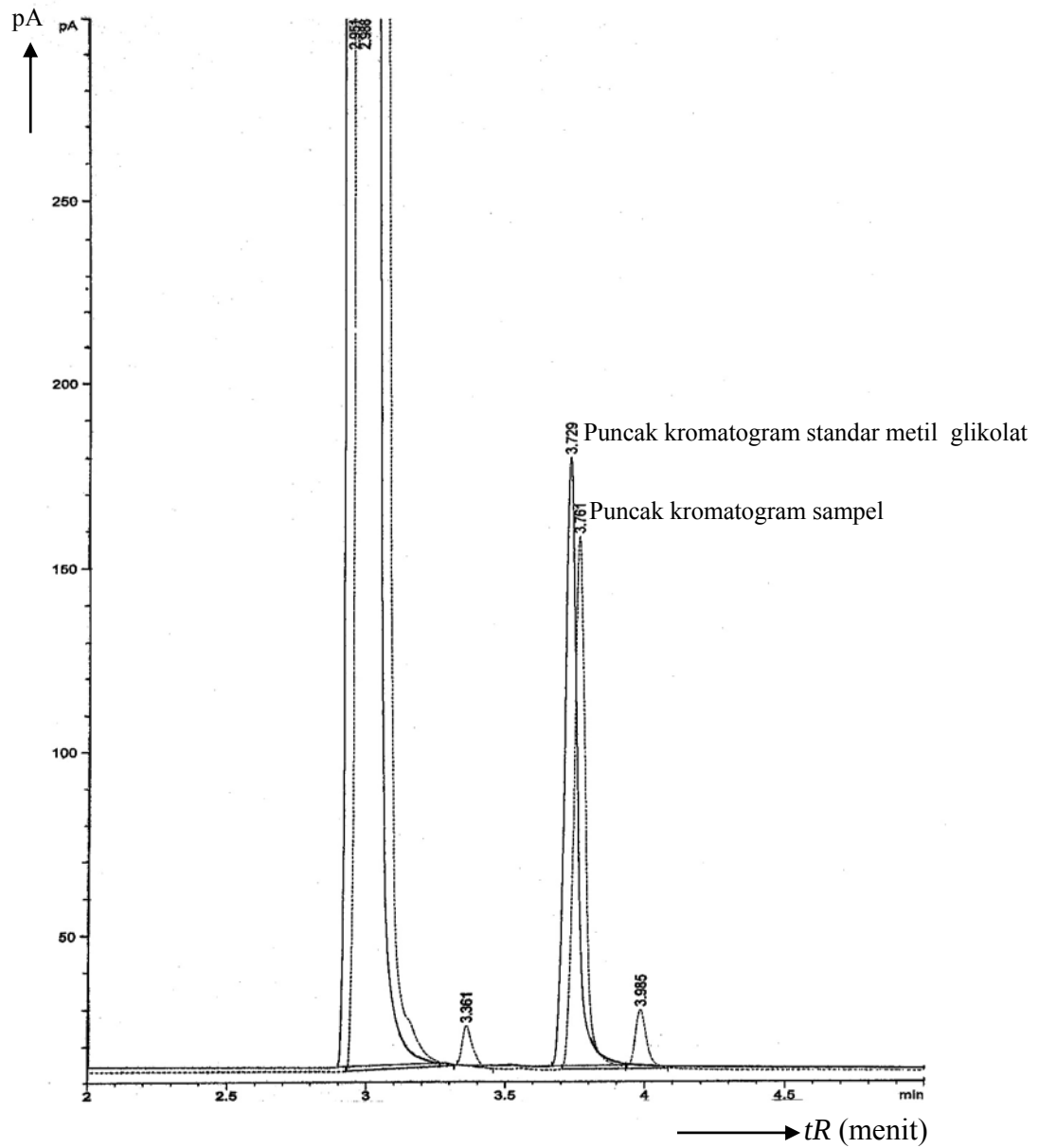
5.2.5. Aplikasi terhadap sampel

Pada penyuntikkan larutan sampel hasil ekstraksi yang telah diderivatisasi sesuai dengan kondisi yang telah diperoleh (Tabel V.2), diperoleh profil kromatogram seperti pada Gambar 5.14.



Gambar 5.14 Profil kromatogram sampel [(1) = pelarut; (2) = metil glikolat]

Untuk membuktikan yang teranalisis dalam sampel adalah asam glikolat, maka dilakukan *overlay* puncak kromatogram sampel dengan standar asam glikolat derivatif. Dari kromatogram antara standar asam glikolat derivatif dan sampel seperti pada Gambar 5.15 diketahui bahwa sampel mengandung asam glikolat.



Gambar 5.15 Profil *overlay* kromatogram sampel dengan standar metil glikolat

Puncak metil glikolat standar ditunjukkan pada t_R 3,729 dan puncak metil glikolat sampel ditunjukkan dengan t_R 3,761.

Berdasarkan data kromatogram pada Gambar 5.15, diketahui bahwa asam glikolat dalam sampel memiliki profil kromatogram yang sama dengan profil kromatogram standar, sehingga dapat dianalisis sesuai dengan prosedur analisis standar dengan kromatografi gas melalui derivatisasi yaitu esterifikasi.

Sedangkan penentuan kadar asam glikolat dalam sampel dilakukan sesuai dengan metode pada krim blangko. Berdasarkan pada etiket sampel krim tertera bahwa asam glikolat yang terkandung adalah 8 % dari bobot krim sampel, sehingga pada penimbangan yang dilakukan menghasilkan kadar yang berbeda pula tiap replikasinya. Dari percobaan diperoleh data asam glikolat yang terkandung pada sampel seperti pada Tabel V.6. Sedangkan presisi metode sampel yang merupakan aplikasi dari metode analisis asam glikolat, memberikan hasil seperti pada Tabel V.7.

Tabel V.7 Data aplikasi metode analisis asam glikolat
pada sampel

Replikasi	Kadar yang terdeteksi (%)
1	8,6780
2	8,8738
3	5,9121
4	8,3074
5	8,4830
6	5,7315
Rata-rata = 7,6643	
SD = 1,4408	
KV = 18,7988	

Berdasarkan data pada Tabel V.7, bahwa asam glikolat yang terkandung rata-rata dalam sampel adalah 7,6643 % dari bobot total krim sampel. Harga tersebut merupakan 95,66 % dari harga kadar asam glikolat yang tertera pada etiket sampel.

Tabel V.4 Data hasil penentuan akurasi (% *recovery*) pada krim blangko

Kadar	Replikasi	Penimbangan blangko krim (gram)	Asam glikolat yang ditambahkan (gram)	Rerata asam glikolat yang ditambahkan (gram)	Asam glikolat yang terdeteksi (gram)	Rerata asam glikolat yang terdeteksi (gram)	% Recovery	Rerata % recovery
I	1	0,5099	0,0101	0,0102	0,0973	0,0100	96,34	98,67
	2	0,5069	0,0096		0,1036		107,92	
	3	0,5037	0,0108		0,0991		91,74	
II	1	0,5070	0,0300	0,0303	0,0239	0,0254	79,70	83,84
	2	0,5088	0,0308		0,0279		90,68	
	3	0,5002	0,0302		0,0245		81,15	
III	1	0,5056	0,0500	0,0507	0,0408	0,0406	81,59	80,13
	2	0,5085	0,0518		0,0412		79,51	
	3	0,5068	0,0504		0,0399		79,30	
Rerata								87,55

Tabel V.6 Data hasil aplikasi metode pada sampel

Replikasi	Penimbangan sampel (gram)	Kadar 8 % yang tertera pada etiket sampel (gram)	Kadar yang terdeteksi (gram)	Kandungan asam glikolat dalam sampel hasil ekstraksi (%)
1	0,5174	0,0414	0,0449	8,6780
2	0,5026	0,0402	0,0446	8,8738
3	0,5142	0,0411	0,0304	5,9121
4	0,5140	0,0411	0,0427	8,3074
5	0,5010	0,0401	0,0425	8,4830
6	0,5147	0,0412	0,0295	5,7315
Rerata	0,5106	0,0408	0,0391	7,6643

BAB VI

PEMBAHASAN

Dalam penelitian yang dilakukan, validasi metode analisis asam glikolat dalam sediaan kosmetik menggunakan kromatografi gas. Validasi dilakukan terhadap asam glikolat tanpa derivatisasi dan asam glikolat yang telah diderivatisasi. Proses validasi ini telah melalui serangkaian tahapan kerja.

Penentuan kondisi optimal kromatografi gas pada analisis asam glikolat dilakukan dengan mengatur perubahan temperatur oven, temperatur inlet, temperatur detektor, kecepatan alir gas pembawa dan mode inlet. Pengaturan temperatur oven dilakukan untuk mendapatkan pemisahan analit yang optimal dan efisien. Sedangkan pengaturan temperatur inlet diperlukan agar senyawa analit yang dianalisis berada dalam bentuk gas pada saat memasuki kolom namun tidak terurai oleh temperatur yang terlalu tinggi. Detektor diatur dengan temperatur tinggi supaya senyawa analit yang telah dipisahkan dalam kolom dapat terurai menjadi bentuk ionnya sehingga dapat terdeteksi oleh detektor.

Pada penentuan kondisi ini terdapat beberapa parameter yang terbatas antara lain sistem kromatografi gas yang digunakan. Hal tersebut dikarenakan fasilitas yang dimiliki juga terbatas pada fasilitas milik Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Parameter-parameter tersebut antara lain: kolom kapiler HP-5 5 % fenil metil siloksan 30m x 320 μ m x 0,25mm; gas pembawa Helium; gas pembakar Hidrogen dan udara bertekanan; detektor *FID* dan sistem inlet *split/splitless*.

Kolom HP-5 5 % fenil metil siloksan merupakan jenis kolom yang bersifat non polar, sedangkan asam glikolat merupakan senyawa yang polaritasnya besar, sehingga untuk analisis asam glikolat tanpa derivatisasi dengan menggunakan kolom tersebut akan sulit dilakukan. Parameter lain yang terbatas dalam penelitian ini adalah gas pembawa Helium. Digunakan Helium sebagai gas pembawa karena selain inert, Helium relatif lebih stabil dibandingkan dengan gas pembawa lainnya, misalnya Nitrogen dan Hidrogen. Nitrogen pada analisis dengan

kromatografi gas akan menghasilkan nilai *HETP* (*High Equivalent Theoretical Plate*) yang tinggi pada kenaikan kecepatan alir gas sehingga menyebabkan nilai efisiensi pemisahan menjadi lebih kecil. Sedangkan Hidrogen sebagai gas pembawa dalam kromatografi gas memiliki faktor resiko keamanan yang tinggi yaitu mudah meledak pada konsentrasi 4% volume ruangan. Faktor lain yang mempengaruhi pemilihan gas pembawa dalam kromatografi gas adalah jenis detektor yang digunakan. Dalam penelitian ini digunakan detektor *FID* (*Flame Ionization Detector*) yang tidak sensitif dengan Helium sehingga memberikan derau (*noise*) yang sangat kecil.

Penentuan kondisi dilakukan berdasarkan pada kondisi pada penelitian pendahuluan yaitu temperatur inlet 250 °C; temperatur oven terprogram 175 °C dipertahankan selama 1 menit kemudian dinaikkan 25 °C/menit sampai temperatur 250 °C dan dipertahankan selama 7 menit; temperatur detektor 300 °C; alir gas pembawa (He) 1,0 mL/menit; alir gas pembakar (H₂) 30 mL/menit-udara bertekanan 300 mL/menit; dan menggunakan pelarut metanol. Akan tetapi pada kondisi optimal yang telah dicapai pada penelitian pendahuluan tidak memberikan puncak kromatogram yang diinginkan. Pada kondisi tersebut puncak analit tidak dapat muncul dalam kromatogram sehingga yang tampak hanya puncak kromatogram pelarut seperti pada Gambar 5.1. Penentuan kondisi selanjutnya dilakukan dengan mengganti temperatur oven. Akan tetapi pada perubahan ini asam glikolat tetap tidak teranalisis seperti tampak pada Gambar 5.2 dan Gambar 5.3, dimana yang muncul hanya puncak kromatogram pelarut.

Pada penentuan kondisi kromatografi gas asam glikolat tanpa derivatisasi dengan menggunakan pelarut metanol maupun etil asetat tidak memberikan hasil atau puncak kromatogram yang tidak tampak. Hal tersebut disebabkan karena senyawa asam glikolat tanpa derivatisasi akan terurai oleh pemanasan diatas temperatur 100°C (NICNAS, 2000) menjadi senyawa yang tidak diketahui. Pernyataan tersebut dibuktikan dengan hasil *Total Ion Chromatogram (TIC)* dan *Selected Ion Monitoring (SIM)* kromatografi gas-spektrum massa (*GC-MS*) seperti tampak pada Gambar 5.4 dan Gambar 5.5, dimana data *library* sistem kromatografi gas-spektra massa pada *tR* yang dimaksud tidak diketahui (terlampir). Untuk mengatasi permasalahan peruraian ini dapat digunakan

temperatur inlet yang lebih rendah dari temperatur peruraian asam glikolat tanpa derivatisasi. Selain itu dapat juga digunakan sistem inlet yang lain yang lebih sesuai untuk senyawa yang kurang stabil pada pemanasan yaitu dengan sistem inlet injeksi pada kolom (*Cold on Column Injector*).

Selain dalam metanol dan etil asetat, asam glikolat juga larut dalam air, aseton, eter, asam asetat dan etanol. Air tidak digunakan sebagai pelarut dalam penelitian ini. Walaupun mudah didapat dan murah, air memiliki ekspansi volume yang sangat besar. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya *backflush* dalam kolom kapiler, sehingga senyawa analit kemungkinan besar akan kembali ke inlet dan tidak masuk ke dalam kolom. Dengan kepolaran yang tinggi, air beresiko merusak fase diam kolom. Selain itu, air memiliki kemampuan membakar yang kecil sehingga memungkinkan *flame* detektor tidak menyala. Aseton dan eter merupakan pelarut organik yang relatif toksik sehingga tidak digunakan dalam penelitian ini. Sedangkan asam asetat penggunaannya harus dalam keadaan encer dan pengencerannya dilakukan dengan air. Dengan adanya air dalam jumlah besar maka *backflush* atau *flame shut down* akan terjadi. Selain itu pula, asam merupakan senyawa yang sangat reaktif dan kebanyakan terlalu polar untuk dilakukan kromatografi. Hal ini cenderung menyebabkan terjadinya *tailing* karena reaksi non spesifik dengan bahan *inert* pendukung. Etanol sebenarnya dapat digunakan sebagai pelarut alternatif dalam penelitian ini. Namun, etanol memiliki ekspansi volume dan kemampuan membakar yang tidak lebih baik dari metanol.

Karena analisis asam glikolat dengan kromatografi gas tidak dapat dilakukan pada senyawa murni atau non derivatisasi, maka dilakukan derivatisasi asam glikolat. Berdasarkan pustaka (Blau & Halket, 1993), derivatisasi yang dapat dilakukan terhadap golongan α -Hydroxy acids adalah boronasi, asilasi dan esterifikasi. Derivatisasi yang dilakukan pada penelitian ini adalah esterifikasi karena esterifikasi merupakan derivatisasi paling sederhana yang merupakan reaksi antara golongan karboksilat dengan golongan alkohol. Selain itu keterbatasan waktu penelitian dan biaya menjadikan esterifikasi sebagai salah satu alternatif metode yang efisien. Asam glikolat yang merupakan turunan karboksilat direaksikan langsung dengan pelarutnya yaitu metanol dengan bantuan sedikit asam mineral serta pemanasan.

Asam mineral yang sering digunakan dalam reaksi esterifikasi adalah HCl dan H₂SO₄. Sejalan ini H₂SO₄ sering digunakan dalam esterifikasi. Akan tetapi dalam kromatografi gas, H₂SO₄ lebih sulit dieliminasi sehingga isolasi senyawa ester yang terbentuk memerlukan ekstraksi dengan pelarut non polar seperti heksan. Selain itu juga, penggunaan H₂SO₄ kadang-kadang menyebabkan terjadinya reaksi dehidrasi akibat sampingan dari reaksi oksidasi. Sedangkan untuk kepentingan analisis esterifikasi diperlukan katalis yang mudah menguap seperti HCl. Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan HCl sebagai katalisator. Selain karena kekuatan asamnya, HCl lebih mudah untuk dieliminasi bersamaan dengan hilangnya pelarut. (Blau & Darbre, 1993)

Pada dasarnya, reaksi antara asam glikolat dengan metanol dapat terjadi dengan sendirinya atau *self-esterification*, namun reaksi yang terjadi sangat lambat karena metanol termasuk alkohol primer. Dengan bantuan pemanasan, reaksi esterifikasi yang terjadi menjadi lebih cepat. Berdasarkan pustaka (Blau & Darbre, 1993), pemanasan dilakukan terkontrol pada temperatur 70°C selama 30 menit. Akan tetapi, pada penelitian ini pemanasan dilakukan pada temperatur 60°C selama 15 menit. Hal tersebut dilakukan untuk efisiensi waktu. Setelah dilakukan percobaan pendahuluan, reaksi esterifikasi berlangsung sempurna selama ± 15 menit pemanasan temperatur 60°C. Mengingat senyawa ester mudah menguap dan ester glikolat mulai teranalisis pada temperatur $\pm 75^\circ\text{C}$, maka temperatur pemanasan dipilih 60°C untuk mengurangi sejumlah senyawa ester yang menguap selama preparasi.

Penentuan kesahihan metode dilakukan dengan validasi metode yang meliputi penentuan selektifitas, linieritas, serta akurasi dan presisi metode.

Dilakukan penyuntikan matrik krim blangko yang mengandung asam glikolat yang telah diderivatisasi ke dalam kromatografi gas untuk mengetahui harga selektifitas (α) dan derajat keterpisahan (R_s) antara puncak komponen blangko krim dengan puncak asam glikolat. Dari percobaan diperoleh harga $\alpha = 1,26$ dan $R_s = 8,75$ yang berarti bahwa antara puncak-puncak komponen lain dalam krim dengan puncak asam glikolat dapat dibedakan dan terpisah dengan baik. Sebelum dilakukan penyuntikan krim blangko yang mengandung asam glikolat perlu dilakukan penyuntikan krim blangko yang tidak mengandung asam

glikolat ke dalam kromatografi gas sebagai blanko untuk mengetahui bahwa pada waktu tambat asam glikolat tidak didapatkan puncak pengganggu yang berasal dari komponen krim blanko. Dari data yang diperoleh dapat diketahui bahwa pada waktu tambat asam glikolat tidak didapatkan adanya puncak komponen lain pada krim blanko (Gambar 5.11)

Pada penentuan linieritas dari kurva baku, diperoleh persamaan regresi $y = 0,1033x - 20,691$ dengan harga $r = 0,99914$ yang lebih besar dari r tabel ($db = 5$ dan $\alpha = 0.05$) yaitu $0,75400$. Dari data diatas diketahui r hitung $> r$ tabel yang menunjukkan bahwa ada hubungan linier antara konsentrasi asam glikolat pada rentang $1010 - 5020 \mu\text{g/mL}$ terhadap area puncak asam glikolat (pA*s) dengan nilai V_{x0} sebesar $2,5 \%$.

Pada penelitian ini penentuan batas deteksi dan batas kuantifikasi tidak dilakukan karena kadar dalam sampel krim yang beredar sangat besar, yaitu berkisar antara $0,01-20 \%$ atau $100-200.000 \text{ ppm}$. Dan keberadaannya dalam sampel topikal yang kecil dianggap tidak membahayakan (NICNAS, 2000).

Untuk penentuan akurasi dilakukan dengan penentuan persen perolehan kembali dilakukan dengan teknik adisi asam glikolat ke dalam krim blanko. Prosedur ekstraksi dilakukan dengan menggunakan krim blanko seberat $0,5 \text{ g}$, sedangkan pada sampel yang akan dianalisis tertera bahwa sediaan mengandung asam glikolat sebesar 8% . Untuk itu dalam krim blanko perlu ditambahkan standar asam glikolat sebesar $0,040 \text{ g}$ menyesuaikan kadar asam glikolat pada sampel. Kadar I, II, III berturut-turut memiliki konsentrasi $\pm 2, 6, 10 \%$ asam glikolat dari blanko krim yang ditimbang. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan etil asetat sebagai pendispersi asam glikolat dari matrik krim blanko. Dari hasil percobaan diperoleh data perolehan kembali ($\% \text{ recovery}$) pada kadar I sebesar $98,67 \%$; kadar II sebesar $83,84 \%$; kadar III sebesar $80,13 \%$ dan $\% \text{ recovery rata-rata}$ sebesar $87,55 \%$. Hasil tersebut masih dalam rentang $\% \text{ recovery}$ yang baik yaitu $80 - 120 \%$ untuk sampel biologis.

Untuk preparasi sampel, ditimbang krim sampel sebesar $0,5 \text{ g}$ dan dilakukan replikasi sebanyak $6 \times$ (U.S.P. XXIV). Pada etiket krim sampel, tertera bahwa sampel mengandung asam glikolat 8% dari bobot krim. Dari percobaan diperoleh data $\% \text{ recovery rata-rata}$ sebesar $95,87 \%$ yaitu sebesar $7,66$

% dan data ini lebih baik daripada data % *recovery* pada blangko. Hal ini membuktikan bahwa metode analisis asam glikolat dalam sediaan kosmetik dapat diaplikasikan pada sampel krim yang beredar di pasaran.

Sedangkan presisi metode telah diterapkan pada blangko maupun sampel. Presisi metode ditentukan berdasarkan % *recovery* blangko maupun sampel. Pada % *recovery* blangko diperoleh data presisi yaitu berdasarkan simpangan baku (*SD*) dan koefisien variasi (*KV*), pada kadar I *SD* = 8,34 dan *KV* = 8,45 %; kadar II *SD* = 5,96 dan *KV* = 7,11 %; kadar III *SD* = 1,27 dan *KV* = 1,58 %. Dari data tersebut diperoleh *SD rata-rata* = 5,19 dan *KV rata-rata* = 5,71 %. Sedangkan pada aplikasi metode yang telah dilakukan pada sediaan yang beredar di pasaran memberikan harga *KV* sebesar 18,79 %; *SD* sebesar 18,01 %.

Perbedaan yang besar terdapat penentuan presisi metode blangko dan sampel. Hal ini dapat disebabkan karena krim blangko dan krim sampel memiliki komposisi yang berbeda. Pada penelitian ini tidak digunakan standar internal sehingga kesalahan penyuntikkan tidak dapat dieliminasi semaksimal mungkin. Hal tersebut disebabkan kesulitan pemilihan standar internal yang sesuai karena pada penelitian ini terdapat prosedur derivatisasi. Oleh karena itu, pemilihan standar internal menjadi beban dalam penelitian ini, selain waktu yang membatasi penelitian ini. Serangkaian proses analisis yang memakan waktu dan tenaga juga menyebabkan adanya perbedaan nilai presisi metode tersebut. Dalam penelitian ini juga perbedaan kadar dalam penentuan akurasi dapat menyebabkan perbedaan nilai akurasi suatu metode dimana semakin kecil kadar akan menyebabkan nilai akurasi juga semakin kecil. Untuk mengatasi permasalahan tersebut perlu dilakukan replikasi yang lebih banyak untuk penentuan akurasi yang simpangannya besar atau dapat juga dengan menggunakan *autoinjector* pada sistem kromatografi gas.

Dalam penelitian ini, akan dibandingkan metode yang lebih baik antara asam glikolat tanpa derivatisasi dan asam glikolat yang telah diderivatisasi. Akan tetapi, karena analisis asam glikolat murni dengan kromatografi gas tidak dapat dilakukan maka metode analisis asam glikolat yang telah derivatisasi adalah yang terbaik. Metode derivatisasi yang digunakan di sini adalah esterifikasi. Dipilih metode ini karena esterifikasi merupakan metode derivatisasi yang paling

sederhana, efisien dan spesifik. Sederhana karena dalam penelitian ini asam glikolat hanya direaksikan dengan pelarutnya secara langsung dan dapat langsung diinjeksikan tanpa proses ekstraksi ulang. Efisien karena tidak membutuhkan banyak pereaksi tambahan atau *derivating agent* dan waktu pengerjaannya relatif lebih singkat. Esterifikasi merupakan reaksi yang spesifik yang terjadi antara golongan karboksilat dengan golongan alkohol, sehingga bahan-bahan lain dalam matrik krim blangko ataupun sampel yang bukan merupakan golongan karboksilat tidak akan mengalami esterifikasi.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Dari berbagai permasalahan yang ditanyakan dan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dengan ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Kondisi optimum kromatografi gas dengan *Flame Ionized Detector (FID)* untuk analisis asam glikolat meliputi kolom kapiler HP-5 5% phenyl methyl siloksan 30m x 320 μ m x 0,25mm; alir gas pembawa (Helium) 1,0mL/menit; alir gas hidrogen 30mL/menit; alir udara tekan 300mL/menit; temperatur inlet 250°C; temperatur oven terprogram mulai 75°C dipertahankan selama 1 menit kemudian dinaikkan teratur 2°C/menit sampai temperatur 85°C dan dipertahankan selama 1 menit kemudian dinaikkan kembali 20°C/menit sampai temperatur 200°C dan dipertahankan selama 25 menit; temperatur detektor 300°C. Asam glikolat yang dapat dianalisis adalah asam glikolat yang telah diderivatisasi melalui esterifikasi yaitu hidroksi metil karboksilat atau metil glikolat dengan waktu retensi (t_R) = 3,72 menit. Sedangkan analisis asam glikolat tanpa derivatisasi dengan kromatografi gas tidak dapat dilakukan karena pada temperatur diatas 100°C asam glikolat akan terurai
2. Validasi analisis asam glikolat dengan derivatisasi (metil glikolat) dengan kromatografi gas menghasilkan harga koefisien korelasi (r) = 0,9991 pada rentang analisis 1010-5020 μ g/mL dengan persamaan $y = 0,1033x - 20,691$; faktor selektifitas (α) = 1,26; derajat keterpisahan (R_S) = 8,75; presisi (KV) = 5,71 %; dan akurasi (% *recovery*) = 87,55 %.
3. Aplikasi metode pada sampel memberikan persen perolehan kembali rata-rata (% *recovery rata-rata*) = 95,87 % sehingga diperoleh kadar asam glikolat dalam sampel sebesar 7,66 % dari kadar 8 % yang tertera pada etiket untuk analisis asam glikolat yang telah diderivatisasi sedangkan aplikasi metode analisis untuk asam glikolat tanpa derivatisasi tidak dapat dilakukan

7.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, disarankan untuk melakukan beberapa hal, antara lain :

1. Analisis asam glikolat dengan kromatografi gas dalam sediaan kosmetik terutama krim sebaiknya dilakukan dengan metode derivatisasi karena asam glikolat yang telah diderivatisasi tidak terurai selama analisis dan memberikan harga perolehan kembali yang cukup baik. Selain itu derivatisasi yang dilakukan sebaiknya adalah esterifikasi, karena selain sederhana juga memberikan efisiensi yang cukup baik
2. Perlunya dilakukan penelitian asam glikolat dengan metode kromatografi gas dengan menggunakan standar internal
3. Perlunya pula dilakukan aplikasi metode pada sampel kosmetik yang lebih bervariasi

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1994. *Farmakope Indonesia* ed. IV. Jakarta: Departemen Kesehatan R.I.
- Anonim. 1999. *Glycolic Acid*. (http://www.dermusskincare.com/mdforte/details-page/facial_lotion_I_details.htm), diakses Februari 2003
- Anonim. 2000. *USP 24, Validation of Compendial Methods*, USP Convention Inc, Mark Printing Coy Easton PA, Washington
- Anonim. 2003. *USP 26, Validation of Compendial Methods*, USP Convention Inc, Mark Printing Coy Easton PA, Washington
- Anonim. 2003. *List of Prohibited and Restricted Cosmetics Ingredients*. Healthy Environment and Consumers Safety Branch. Canada (http://www.hc-sc.gc.ca/hecs-sesc/cosmetics/pdf/hotlist_april_2004.pdf), diakses Juli 2004
- Blau, et.al. 1993. *A Guide to the Handbook: the Selection of Derivatives*. Handbook of Derivatives for Chromatography. New York: John Wiley and Sons Ltd
- Bore', P.(ed). 1985. *Cosmetic Analysis: Selective Methods and Techniques*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Carey, Francis. 2000. *Organic Chemistry*, 4th ed. Boston: McGraw Hill Company Inc.
- Cosmeticscop. 2002. *AHA* (<http://www.cosmeticscop.com/learn/dictionary.asp?type=main>), diakses Februari 2003
- DuPont.1997. *Glypure99*. (<http://www.dupont.com/glycolicacid/techinfo/applications/index.html>), diakses Februari 2003
- Fraser & McNail, 1993. *Analytical Method for Determining Ethylene Glycol and Propylene Glycol in Biological Samples*. Journal of the Association of Official Analytical Chemist 66.
- Ganiswara, G.S. (ed). 1995. *Farmakologi dan Terapi* ed. 4. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran-Universitas Indonesia. Jakarta: Gaya Baru

- Gomes, et al. 2002. *Ethylene Glycol : Human Aspects*. WHO. Geneva
(<http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad45.htm#3.0>),
diakses Juli 2004
- Graham, et.al. 2002. *Water-soluble organic compounds in biomass burning aerosols over Amazonia. 1. Characterization by NMR and GC-MS*.
Journal of Geophysical Research. Vol. 107. No.D20.8047
- Gritter, R.J., 1991. *Introduction to Chromatography* terjemahan Kosasih, P.
Bandung: Penerbit ITB
- Harrington, Chris, Dr. 2002. *Gas Chromatography*. (http://www.dmu.ac.uk/Faculties/AS/chem/Lectures/chem2013_2.pdf), diakses Februari 2003
- Harry, Ralph G. 1973. *Harry's Cosmeticology*. New York: Chemical Publishing Co. Inc.
- Heftmann, E. 1983. *Chromatography: Fundamental and applications of chromatographic and electrophoretic methods, part A*. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company
- Hewlett, et al. 1983. *Diagnosis of Ethylene Glycol (antifreeze) Intoxication in Dogs by Determination of Glycolic acid in Serum and Urine with High Pressure Liquid Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectra*, Journal of the Association of Official Analytical Chemists 66 (2)
- Huang, W.S. et al. 2002. *Journal of Food and Drug Analysis vol.10 no.2: Determination of α -Hydroxyacids in Cosmetics*. National Laboratories of Foods and Drugs, Department of Health. Taiwan
- Indrayanto, G., 1995, *Validasi Metode Pada Analisis dengan Kromatografi*, Laboratorium Bioteknologi Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya
- Invitroderm. 2000. *Peeling Cream*. (<http://www.invitroderm.com/abstracts/jones.html>), diakses Februari 2003
- Khopkar, S. M., 1990, *Konsep Dasar Kimia Analisis*, Penerbit Universitas Indonesia, UI PRESS. Jakarta
- Mulya, M. dan Syahrani, A., 1991. *Kromatografi Gas: Teori Dasar, Instrumentasi dan Aplikasi*. Surabaya: MechpisoGrafika

- Mulya, M dan Suharman.,1995. *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press
- Mulja, M. 2001. *Kromatografi Gas (Gas Chromatography)*. Laboratorium Analisis Farmasi, Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi-Universitas Airlangga. Surabaya
- Mulja, Muhammad. et.al. 2004. *Kromatografi*. Buku II. Analisis Farmasi I. Fakultas Farmasi–Universitas Airlangga. Surabaya
- Miller and Crowther. 2000. *Analytical Chemistry in a GMP Environment*. New York: John Wiley & Sons.
- Munson, J.W.(ed), 1981. *Pharmaceutical Analysis: Modern Methods*. New York: Marcel Dekker Inc.
- NICNAS. 2000. *Glycolic Acid : Priority Existing Chemical Assessment Report* No. 12 .(<http://www.nicnas.gov.au/publications/car/pec/pec12/pec12a.pdf>), diakses Maret 2003
- Pierce, Alan E. 1968. *Silylation of Organic Compounds*. Illinois: Pierce Chemical Company
- Porter, et. al. 1999 *Simultaneous Determination of Etilen Glycol and Glycolic Acid in Serum by GC-MS*. Journal of Analytical Toxicology.Vol.23.No.7
- Redding Dermatology. 2000. *The Benefit of Glycolic Acid*.(<http://www.redding-dermatology.com/glycolic-acid.htm>), diakses Maret 2003
- Reynolds, J.E.F (ed). 1982. *Martindale the Extra Pharmacopoeia*. 28th edition. London: The Pharmaceutical Press.
- Siswandono dan Soekardjo, B., 2000, *Kimia Medisinal*, Edisi 2, Surabaya, Airlangga University Press.
- Skoog, D.A., 1985. *Principle of Instrumental Analysis 3th ed*. New York, Philadelphia: CBS College Publishing
- Soedigdo. S dan Soedigdo P. 1977. *Pengantar Cara Statistika Kimia*. Penerbit ITB. Bandung

- Vorarat, Suwanna. et.al. 2002. *Determination of Alpha Hydroxy Acids in Fruits by Capillary Electrophoresis*. Thailand: Faculty of Pharmaceautical Sciences, Khon Kaen University
- Windholz, M., 1983. *The Merck Index, An Encyclopedia of Chemical, Drugs, & Biologicals, 9th edition*, Whitehouse Station NJ, USA: Merck & CO, Inc.
- Willet, J.E., 1991. *Gas Chromatography: Analytical Chemistry by Open Learning*. New York: John Wiley & Sons Inc.
- Yuwono, M. dkk. 1992. *Gas Chromatography*. Unit Layanan Konsultasi, Pengujian dan Kerjasama Penelitian Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya

Lampiran 1

Perhitungan Selektifitas (α) Dan Derajat Keterpisahan (R_s)

Rumus yang digunakan untuk menghitung selektifitas (α) dan derajat keterpisahan (R_s) adalah sebagai berikut:

$$\alpha = \frac{tR2 - tR0}{tR1 - tR0}$$

$$R_s = \frac{tR2 - tR1}{0,5(W1 + W2)}$$

Keterangan:

- tR0 : waktu tambat komponen 0
- tR1 : waktu tambat komponen 1
- tR2 : waktu tambat komponen 2
- W1 : lebar dasar puncak komponen 1
- W2 : lebar dasar puncak komponen 2

Diketahui data penghitungan harga selektifitas dan derajat keterpisahan sebagai berikut:

- tR0 : waktu tambat komponen 0 = 2,945
- tR1 : waktu tambat komponen 1 pada krim blangko = 5,597
- tR2 : waktu tambat metil glikolat = 3,713
- W1 : lebar dasar puncak komponen 1 pada krim blangko = 0,8631
- W2 : lebar dasar puncak metil glikolat = 0,0420

$$\alpha = \frac{tR2 - tR0}{tR1 - tR0} = \frac{5,597 - 2,945}{3,713 - 2,945} = 1,2$$

$$R_s = \frac{tR2 - tR1}{0,5(W1 + W2)} = \frac{5,597 - 3,713}{0,5(0,8631 + 0,0420)} = 8,7$$

Lampiran 2

Perhitungan Presisi

Perhitungan presisi yang dilakukan berdasarkan % *recovery* metil glikolat dalam krim blangko.

Rumus yang digunakan untuk menghitung presisi adalah:

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

$$KV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$$

Keterangan:

SD = Standar deviasi

$\bar{X}$ = Rerata

x = Nilai data

n = Banyaknya data

KV = Koefisien Variasi

Diperoleh data sebagai berikut:

Metil glikolat yang terdeteksi (gram)	Rerata	% <i>recovery</i>
0,0973	0,0100	98,67
0,1036		
0,0991		
0,0239	0,0254	83,84
0,0279		
0,0245		
0,0408	0,0406	80,13
0,0412		
0,0399		
Rerata	0,0253	87,55
SD		5,1893
KV		5,7147

$$SD = \sum$$

Lampiran 3

Perhitungan Akurasi (Persen perolehan Kembali) Blangko

Rumus yang digunakan untuk menghitung persen perolehan kembali adalah:

$$\frac{\text{Konsentrasi metil glikolat yang terdeteksi}}{\text{Konsentrasi metil glikolat yang ditambahkan}} \times 100\%$$

Asam glikolat yang ditambahkan ke dalam 0,5 g krim blangko adalah sebanyak 0,0101 g sehingga kadar dalam blangko sebesar 1010 µg/mL, memberikan hasil area kromatogram 81,06477 (pA*s)

Hasil kromatogram diperoleh:

$A_{\text{metil glikolat dalam blangko}} (y) = 81,0647$

$A_{\text{metil glikolat dalam blangko}} (y)$ dimasukkan kedalam persamaan kurva baku:

$$y = 0,1033x - 20,691$$

$$x = 973,0452303 \text{ µg/mL}$$

$$x = 0,0097 \text{ g}$$

$$\text{Persen Perolehan Kembali} = \frac{0,0097 \text{ g}}{0,0101 \text{ g}} \times 100 \% = 96,04 \%$$

(perhitungan dilanjutkan pada konsentrasi dan replikasi selanjutnya dengan cara yang sama)

Lampiran 4

Perhitungan Penentuan Kadar pada Aplikasi Metode terhadap Sampel

Rumus yang digunakan untuk menghitung penetapan kadar adalah rumus persen perolehan kembali, sebagai berikut:

$$\frac{\text{Konsentrasi metil glikolat yang terdeteksi}}{\text{Konsentrasi asam glikolat dalam sampel}} \times 100\%$$

Asam glikolat yang tertera pada etiket sampel adalah 8 % dari bobot krim sampel. Kemudian dilakukan berbagai penimbangan krim, salah satunya dengan bobot 0,5010 g sehingga kadar asam glikolat sebesar 0,0401 g atau 4010 µg/mL, memberikan hasil area kromatogram 420,62033 (pA*s)

Hasil kromatogram diperoleh:

$$A_{\text{metil glikolat dalam blangko}} (y) = 420,62033$$

$A_{\text{metil glikolat dalam blangko}} (y)$ dimasukkan kedalam persamaan kurva baku:

$$y = 0,1033x - 20,691$$

$$x = 4272,132914 \text{ µg/mL}$$

$$x = 0,0427 \text{ g}$$

$$\text{Persen Perolehan Kembali} = \frac{0,0427 \text{ g}}{0,0401 \text{ g}} \times 100 \% = 106,5 \%$$

Nilai 106,5 % berarti sampel mengandung : $\frac{106,5}{100} \times 8 \% = 8,52 \%$ asam glikolat

perhitungan ini dilakukan replikasi enam kali dan dihitung rata-ratanya

Lampiran 5

Tabel Koefisien Korelasi Linier

DB P	r	
	0,05	0,01
1	0,997	1,000
2	0,960	0,990
3	0,878	0,959
4	0,811	0,917
5	0,754	0,874
6	0,707	0,834
7	0,666	0,798
8	0,632	0,765
9	0,602	0,735
10	0,576	0,708
11	0,553	0,684
12	0,532	0,661
13	0,514	0,641
14	0,497	0,623
15	0,482	0,605
16	0,468	0,590
17	0,456	0,575
18	0,444	0,561
19	0,433	0,549
20	0,423	0,537

Dikutip Dari Soedigdo. S dan Soedigdo P, *Pengantar Cara Statistika Kimia*. Penerbit ITB. 1977.

Lampiran 6



DuPont Chemical Solutions Enterprise

DuPont Chemical Solutions Enterprise
901 W. DuPont Avenue
Belle, West Virginia 25015

CERTIFICATE OF QUALITY GLYPURE 99

CUSTOMER:
DUPONT COMPANY (SINGAPORE) PTE LTD
1 MARITIME SQUARE #07-01
WORLD TRADE CENTRE
SINGAPORE 099253

DUPONT ORDER NO: XCF507121A00

CUSTOMER ORDER NO: 022

CUSTOMER CODE: -

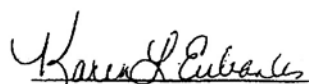
NUMBER OF DRUMS: 4

DATE OF SHIPMENT: 05 JUL 2003

LOT NUMBER	2110599
TOTAL ACIDITY, %	99.96
DATE OF MANUFACTURE	11/17/02

APPEARANCE: A CLEAR, COLORLESS CRYSTAL FREE OF VISIBLE SUSPENDED MATTER.

TOTAL DISTRIBUTION INC
150 57TH STREET
CHARLESTON WV 25304

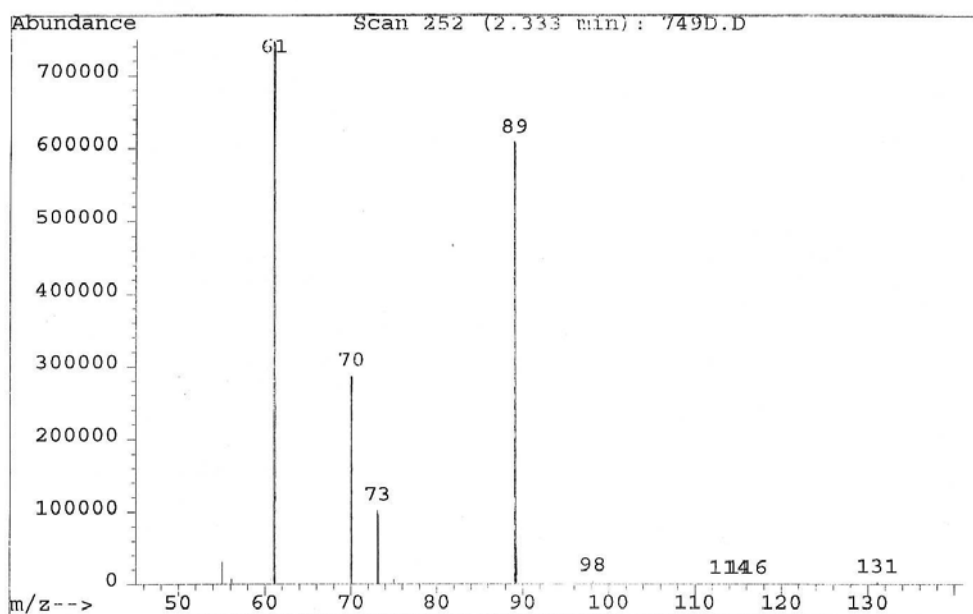
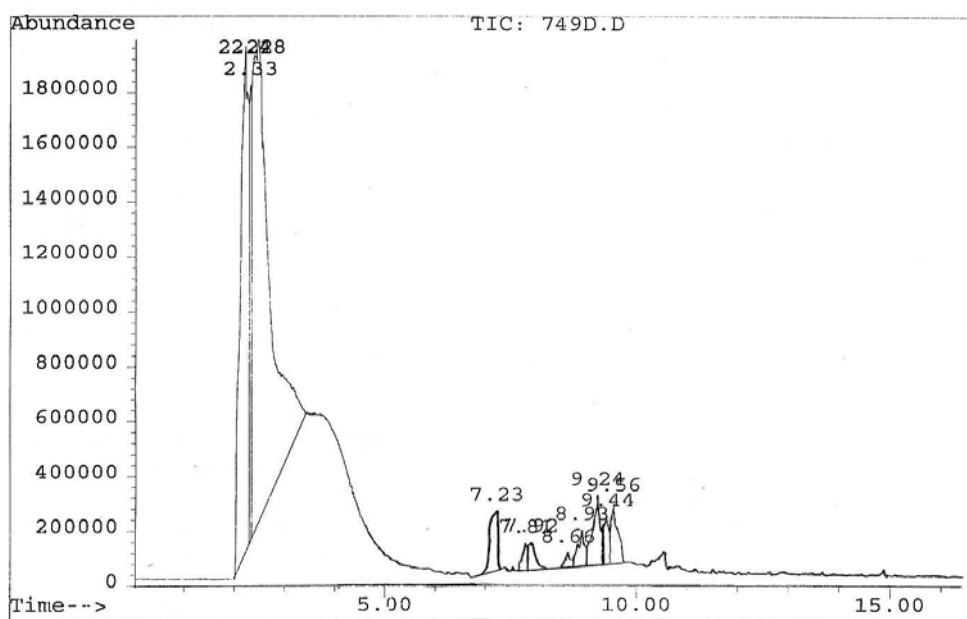

C&P SHIPPING COORDINATOR

COA Asam Glikolat

Lampiran 7

**Print out data penyuntikan standar asam glikolat tanpa derivatisasi
dengan kromatografi gas-spektra massa**

File : C:\HPCHEM\1\DATA\749D.D
 Operator : che2
 Acquired : 2 Mar 104 1:53 pm using AcqMethod BBM
 Instrument : 5972 - In
 Sample Name: fahrizal ff
 Misc Info : std glycolyc
 Vial Number: 1



(Profil *TIC* dan *SIM* asam glikolat tanpa derivatisasi pada tR 2,333 menit)

Lampiran 7 (lanjutan)

Information from Data File:
 : C:\HPCHEM\1\DATA\749D.D
 ator : che2
 ired : 2 Mar 104 1:53 pm using AcqMethod BBM
 le Name: fahrizal ff
 Info : std glycolyc
 Number: 1

ch Libraries: C:\DATABASE\NBS75K.L Minimum Quality: 0

own Spectrum: Apex
 gration Params: AutoIntegrate

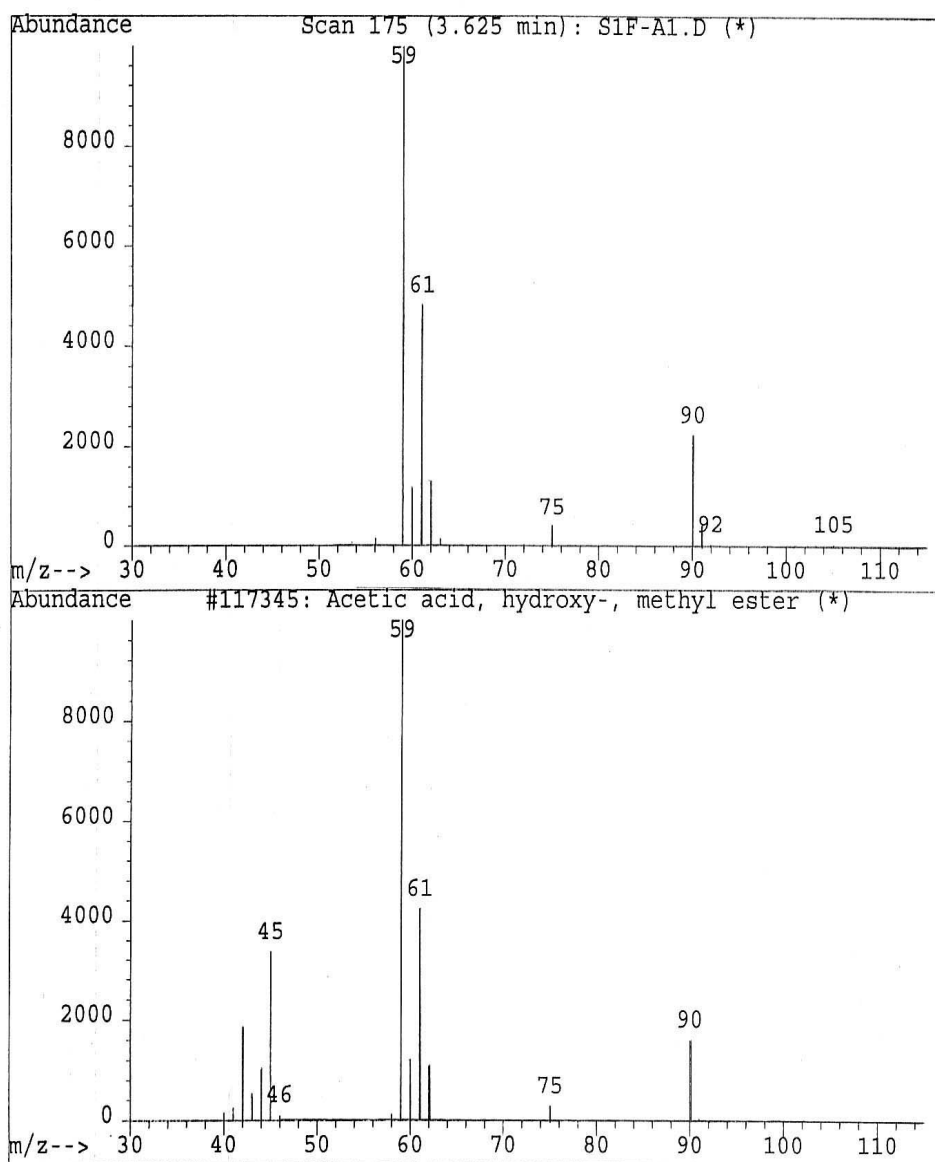
RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
2.22	25.67	C:\DATABASE\NBS75K.L No matches found			
2.32	6.02	C:\DATABASE\NBS75K.L No matches found			
2.48	53.99	C:\DATABASE\NBS75K.L No matches found			
7.23	2.89	C:\DATABASE\NBS75K.L No matches found			
7.81	0.69	C:\DATABASE\NBS75K.L 8-Thiabicyclo[3.2.1]octan-3-ol, 6-met	16101	056323-65-0	25
		4-Imidazolidinone, 2-thioxo-	3179	000503-87-7	17
		Hydrazine, 1,2-bis(1-methylethyl)-	3328	003711-34-0	10
7.92	1.42	C:\DATABASE\NBS75K.L 3(2H)-Thiophenone, dihydro-2-methyl-	3205	013679-85-1	50
		8-Thiabicyclo[3.2.1]octan-3-ol, 6-met	16101	056323-65-0	25
		2-Methyltetrahydrothiophen-3-one	3201	000000-00-0	25
8.66	0.50	C:\DATABASE\NBS75K.L 4-Imidazolidinone, 5-(1-methylethyl)-	11807	056805-20-0	50
		3-Thiophenethiol	3185	007774-73-4	47
		Urea, N,N'-diethyl-	3220	000623-76-7	47
8.93	1.50	C:\DATABASE\NBS75K.L Oleic Acid	72314	000112-80-1	94
		Oleic Acid	39820	000112-80-1	49
		Ethyl 9-hexadecanoate	39817	000000-00-0	47
9.24	2.97	C:\DATABASE\NBS75K.L Oleic Acid	72314	000112-80-1	99
		Oleic Acid	39820	000112-80-1	95
		Ethyl 9-hexadecanoate	39817	000000-00-0	55
9.44	1.93	C:\DATABASE\NBS75K.L Oleic Acid	72314	000112-80-1	97
		Oleic Acid	39820	000112-80-1	78
		15-Tetracosenoic acid, methyl ester,	52240	002733-88-2	43
9.55	2.43	C:\DATABASE\NBS75K.L Oleic Acid	72314	000112-80-1	99
		Oleic Acid	39820	000112-80-1	89
		Ethyl 9-hexadecanoate	39817	000000-00-0	55

**(Data library kromatografi gas-spektra massa
pada berbagai tR sesuai profil TIC)**

Lampiran 8

**Print out data hasil penyuntikan asam glikolat derivatif
dengan kromatografi gas-spektra massa**

Library Searched : C:\DATABASE\WILEY138.L
Quality : 90
ID : Acetic acid, hydroxy-, methyl ester



(Profil SIM dan data library kromatografi gas-spektra massa)