

SKRIPSI

**VALIDASI METODE KROMATOGRAFI GAS DENGAN
DETEKTOR IONISASI NYALA UNTUK PENETAPAN
KADAR KAMFER, MENTOL, DAN METIL SALISILAT
SECARA SIMULTAN DALAM SEDIAAN BALSAM**



CINDY WULAN SARI

FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA

DEPARTEMEN ILMU KEFARMASIAN

SURABAYA

2022

Lembar Pengesahan

**VALIDASI METODE KROMATOGRAFI GAS DENGAN
DETEKTOR IONISASI NYALA UNTUK PENETAPAN
KADAR KAMFER, MENTOL, DAN METIL SALISILAT
SECARA SIMULTAN DALAM SEDIAAN BALSAM**

SKRIPSI

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

2022

Oleh:

Cindy Wulan Sari

NIM. 051811133033

Skripsi ini telah disetujui pada tanggal 1 Agustus 2022 oleh

Pembimbing Utama



Prof. Dr. rer. nat. apt. M. Yuwono, M. S.
NIP. 196005051986011003

Pembimbing Serta



Dr. apt. Isnaeni, M. S.
NIP. 195601131982032003

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Cindy Wulan Sari

NIM : 051811133033

adalah mahasiswa Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Naskah Skripsi yang saya tulis dengan judul:

**Validasi Metode Kromatografi Gas dengan Detektor Ionisasi Nyala untuk
Penetapan Kadar Kamfer, Mentol, dan Metil Salisilat Secara Simultan dalam
Sediaan Balsam**

adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa isi Naskah Skripsi ini merupakan hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 1 Agustus 2022

Yang membuat pernyataan,



Cindy Wulan Sari

NIM 051811133033

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Cindy Wulan Sari

NIM : 051811133033

menyatakan bahwa demi kepentingan ilmu pengetahuan, saya menyetujui abstrak Skripsi yang saya tulis dengan judul:

**Validasi Metode Kromatografi Gas dengan Detektor Ionisasi Nyala untuk
Penetapan Kadar Kamfer, Mentol, dan Metil Salisilat Secara Simultan dalam
Sediaan Balsam**

untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan akademik, sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 1 Agustus 2022

Yang membuat pernyataan,



Cindy Wulan Sari

NIM 051811133033

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Validasi Metode Kromatografi Gas dengan Detektor Ionisasi Nyala untuk Penetapan Kadar Kamfer, Mentol, dan Metil Salisilat Secara Simultan dalam Sediaan Balsam”** sebagai syarat untuk mencapai gelar Sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik tidak terlepas dari peran berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan banyak terima kasih atas segala kontribusi baik secara langsung maupun tidak langsung, dukungan moral dan material kepada:

1. Prof. Dr. rer. nat. apt. M. Yuwono, M.S. selaku pembimbing utama dan Dr. apt. Isnaeni, M.S. selaku pembimbing serta yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, mengarahkan, dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Mohammad Nasih, S.E., M.T., Ak. selaku Rektor Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh program sarjana Strata 1 Pendidikan Apoteker di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
3. Prof. apt. Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh program sarjana Strata 1 di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
4. Prof. Dr. apt. Juni Ekowati, M.Si. selaku Ketua Departemen Ilmu Kefarmasian, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang disediakan selama penelitian.
5. Prof. Dr. apt. Djoko Agus Purwanto, M.Si. dan Prof. Dr. apt. Siswandono, M.S. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan masukan untuk skripsi ini.
6. apt. Bambang Subakti Zulkarnain, S.Si., M.Clin.Pharm. selaku dosen wali yang telah memberikan arahan, dukungan, dan motivasi selama menempuh perkuliahan di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
7. Seluruh dosen yang telah memberikan ilmu serta civitas akademik Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas bantuan dan kerja sama yang baik selama menjalani perkuliahan.

8. Orang tua penulis, Bapak Suparno dan Ibu Mujiati, serta seluruh keluarga yang tiada henti mendoakan, memberi dukungan, kasih sayang, dan motivasi yang luar biasa kepada penulis.
9. Teman-teman yang telah bekerja sama dengan baik, saling mendukung, serta selalu berbagi motivasi untuk menyelesaikan skripsi ini.
10. Pihak-pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang telah membantu dalam penelitian maupun penyusunan naskah skripsi ini.

Penulis menyadari akan kekurangan dan keterbatasan dari skripsi ini. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan dan penyempurnaan. Semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi keilmuan dan almamater Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Surabaya, 1 Agustus 2022

Penulis

Cindy Wulan Sari

RINGKASAN

**VALIDASI METODE KROMATOGRAFI GAS DENGAN
DETEKTOR IONISASI NYALA UNTUK PENETAPAN KADAR
KAMFER, MENTOL, DAN METIL SALISILAT SECARA
SIMULTAN DALAM SEDIAAN BALSAM**

Cindy Wulan Sari

Kamfer, mentol, dan metil salisilat merupakan bahan umum dalam sediaan topikal yang digunakan sebagai analgesik dan *rubefacient* atau *counterirritant* (Adib *et al.*, 2017). Ketiganya, baik tunggal maupun ketika dikombinasikan, dapat diformulasikan dalam berbagai bentuk sediaan farmasi topikal, salah satunya balsam. Balsam dipilih dan banyak digunakan dalam penggunaan karena memberikan waktu kontak lebih lama antara bahan aktif dengan kulit. Untuk menjamin mutu produk, diperlukan suatu metode analisis penetapan kadar ketiga bahan aktif tersebut di dalam sediaan, sehingga dalam penggunaannya dapat diperoleh efek terapi yang diinginkan.

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh metode analisis yang tervalidasi untuk penetapan kadar kamfer, mentol, dan metil salisilat dalam sediaan balsam menggunakan kromatografi gas – detektor ionisasi nyala. Parameter validasi yang diujikan meliputi spesifisitas, linieritas, akurasi, dan presisi. Metode analisis dilakukan menggunakan Kromatografi Gas (KG) Agilent 6890, dengan Detektor Ionisasi Nyala (DIN), dan kolom HP-5 (5% *phenyl* – 95% *methylpolysiloxane*). Kondisi optimum kromatografi gas yang diperoleh adalah sebagai berikut; gas pembawa helium dengan laju alir 4,0 mL/menit; suhu inlet 250°C; volume injeksi 1,0 µL; *split ratio* (50:1); suhu detektor 250°C; suhu oven terprogram, 100°C selama 2,5 menit, dinaikkan 25°C/menit hingga 150°C, didiamkan selama 2 menit. Dengan kondisi optimum tersebut, puncak area analit dalam sampel balsam dapat terpisah dengan baik (R_s 1,78 – 4,17). Urutan elusi dari ketiga analit dari kolom, yang pertama adalah kamfer (sekitar 2,870 menit), diikuti oleh mentol (sekitar 3,143 menit), dan metil salisilat (sekitar 3,487 menit).

Selektivitas metode analisis ditunjukkan dengan puncak masing-masing analit yang dapat terpisah dengan baik ($R_s \geq 1,5$). Pada pengujian linieritas, dapat dibuktikan adanya hubungan yang linier antara konsentrasi analit dengan respon detektor (rasio area analit dan standar internal) pada rentang kadar pengujian antara 80% hingga 150% klaim kadar tiap analit pada label. Ditunjukkan dengan perolehan harga r 0,9973 dan V_{x0} 4,16% untuk kamfer ($y = 0,0008x - 0,0133$), mentol memiliki harga r 0,9989, V_{x0} 2,87%, serta persamaan regresi $y = 0,0008x - 0,0334$. Sementara persamaan regresi dari metil salisilat adalah $y = 0,0007x + 0,0162$ dengan nilai r 0,9969 dan V_{x0} 4,82%. Persen perolehan kembali masing-masing analit ditentukan pada 80%, 100%, dan 120% dari klaim kadar tiap analit pada label. Perolehan kembali kamfer adalah $99,88 \pm 0,85$ %; $100,39 \pm 1,38$ % untuk mentol; dan $97,52 \pm 1,20$ % untuk metil salisilat. Metode analisis ini menunjukkan presisi perolehan kembali yang dapat diterima dengan simpangan baku relatif yang rendah, yaitu 0,85% untuk kamfer; mentol 1,38%; serta 1,22% untuk metil salisilat.

Dengan demikian metode analisis kromatografi gas – detektor ionisasi nyala telah memenuhi persyaratan validasi. Metode analisis dapat diaplikasikan untuk penetapan kadar kamfer, mentol, dan metil salisilat pada sediaan balsam hijau. Diperoleh kadar kamfer sebesar $7,41 \pm 0,05$ % b/b; mentol $4,95 \pm 0,06$ % b/b; dan metil salisilat $3,69 \pm$

0,04 % b/b. Metode ini dapat pula menjadi salah satu alternatif untuk penetapan kadar kamfer, mentol, dan metil salisilat dalam produk balsam yang lain.

ABSTRACT

Validation of Gas Chromatography Method with Flame Ionization Detector for Simultaneous Determination of Camphor, Menthol, and Methyl Salicylate in Balsam Preparations

Cindy Wulan Sari

A gas chromatography method with flame ionization detector has been validated for simultaneous determination of camphor, menthol, and methyl salicylate in samples of balsam. Camphor, menthol, and methyl salicylate were separated on a capillary column with helium (4.0 mL/min) as carrier gas within 6.5 min run time. Each of analyte gives a retention time (t_R) about 2.870; 3.143; and 3.487 min for camphor, menthol, and methyl salicylate respectively. Selectivity of analysis method has been confirmed with analyte peaks that can separate well ($R_s \geq 1.5$). Analyte concentration vs detector response (ratio between analyte peak area and internal standard peak area) has shown a linear relationship ($r > 0.9963$; V_{x0} 2.87 – 4.82%) within a range between 80% to 150% of label claim concentration for each analyte. Recovery of each analyte at 80, 100, and 120% of label claim concentration level was showed at 99.88 ± 0.85 % for camphor, 100.39 ± 1.38 % for menthol, and $97.52 \pm 1,20$ % for methyl salicylate. The analysis method was showed acceptable precision and percent recoveries with low relative standard deviation (RSD 0.85 – 1.38%). The validated method was successfully applied for simultaneous determination of camphor, menthol, and methyl salicylate in samples.

Keywords: validation method, gas chromatography, camphor, menthol, methyl salicylate

DAFTAR ISI

	Halaman
Lembar Pengesahan	ii
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN	vii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Sampel.....	6
2.1.1 Balsam	6
2.1.2 Kamfer	7
2.1.3 Mentol.....	7
2.1.4 Metil Salisilat.....	8
2.2 Tinjauan Standar Internal	9
2.2.1 Eugenol.....	9
2.2.2 Sineol	10
2.3 Tinjauan Kromatografi Gas.....	11
2.3.1 Sistem Peralatan Kromatografi Gas	12
2.3.2 Gas Pembawa	12
2.3.3 Ruang Suntik Sampel	13
2.3.4 Kolom	13
2.3.5 Detektor	15
2.3.6 Parameter Kromatografi	18
2.3.7 Kondisi Optimum Kromatografi Gas untuk Analisis Kamfer, Mentol, dan Metil Salisilat.....	21

2.4 Tinjauan Validasi Metode	25
2.4.1 Akurasi	26
2.4.2 Presisi	27
2.4.3 Spesifisitas.....	28
2.4.4 Linieritas.....	28
2.4.5 Rentang.....	29
BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL	30
3.1 Uraian Kerangka Konseptual.....	30
3.2 Hipotesis.....	31
3.3 Bagan Kerangka Konseptual.....	32
BAB IV. METODE PENELITIAN.....	33
4.1 Jenis Penelitian.....	33
4.2 Variabel Penelitian.....	33
4.2.1 Variabel Bebas.....	33
4.2.2 Variabel Terikat.....	33
4.2.3 Variabel Kontrol	34
4.3 Alat dan Bahan.....	34
4.3.1 Alat	34
4.3.2 Bahan.....	34
4.4 Kerangka Operasional.....	35
4.5 Prosedur Kerja Penelitian.....	36
4.5.1 Optimasi Kondisi Kromatografi Gas.....	36
4.5.2 Pembuatan Larutan Baku Induk	37
4.5.3 Pembuatan Larutan Baku Kerja.....	37
4.5.4 Pembuatan Larutan Standar Internal	38
4.5.5 Preparasi Sampel	38
4.5.6 Preparasi Matriks Sampel.....	38
4.5.7 Validasi Metode.....	39
4.6 Analisis Data Hasil Pengamatan	41
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	43
5.1 Optimasi Kondisi Kromatografi Gas	43
5.2 Pemilihan Standar Internal.....	44
5.3 Validasi Metode	45
5.3.1 Spesifisitas.....	45

5.3.2	Linieritas.....	48
5.3.3	Akurasi	51
5.3.4	Presisi	53
5.4	Penentuan Kadar Kamfer, Mentol, dan Metil Salisilat dalam Sampel Balsam.....	55
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....		56
6.1.	Kesimpulan.....	56
6.2.	Saran.....	56
DAFTAR PUSTAKA.....		57
LAMPIRAN		59

DAFTAR TABEL

	Halaman
II.1 Perbandingan kolom kemas dan kolom kapiler	15
II.2 Kondisi optimum penetapan kadar terpentin, kamfer, mentol, dan metil salisilat dalam analgesik topikal dengan kromatografi gas.....	21
II.3 Kondisi optimum penetapan kadar kamfer dengan kromatografi gas	22
II.4 Kondisi optimum penetapan kadar mentol dengan kromatografi gas.....	22
II.5 Kondisi optimum penetapan kadar kamfer, mentol, dan metil salisilat dalam salep dengan kromatografi gas	23
II.6 Kondisi optimum penetapan kadar metil salisilat, mentol, timol, dan kamfer dalam salep dengan kromatografi gas.....	23
II.7 Kondisi optimum penetapan kadar mentol dengan kromatografi gas.....	24
II.8 Kondisi optimum penetapan kadar mentol dan metil salisilat dalam salep balsam dengan kromatografi gas	24
II.9 Unsur data yang dibutuhkan untuk validasi prosedur analisis	25
IV.1 Kondisi optimum kromatografi gas untuk penetapan kadar kamfer, mentol, dan metil salisilat dalam balsam	36
IV.2 Formula basis balsam.....	38
IV.3 Analisis data	42
V.1 Kondisi optimum kromatografi gas untuk penetapan kadar kamfer, mentol, dan metil salisilat dalam sediaan balsam	43
V.2 Nilai resolusi analit pada kondisi optimum kromatografi gas	44
V.3 Nilai resolusi analit	47
V.4 Hasil pengujian linieritas kamfer	48
V.5 Hasil pengujian linieritas mentol	48
V.6 Hasil pengujian linieritas metil salisilat	49
V.7 Hasil pengujian akurasi kamfer.....	51
V.8 Hasil pengujian akurasi mentol.....	52
V.9 Hasil pengujian akurasi metil salisilat.....	52
V.10 Hasil pengujian presisi kamfer.....	53
V.11 Hasil pengujian presisi mentol.....	54
V.12 Hasil pengujian presisi metil salisilat.....	54
V.13 Penetapan kadar kamfer dalam sampel balsam.....	55

V.14 Penetapan kadar mentol dalam sampel balsam	55
V.15 Penetapan kadar metil salisilat dalam sampel balsam.....	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Sampel balsam hijau	6
2.2 Struktur kimia kamfer	7
2.3 Struktur kimia mentol	8
2.4 Struktur kimia metil salisilat	9
2.5 Struktur kimia eugenol	10
2.6 Struktur kimia sineol	10
2.7 Skema representasi dari proses kromatografi	11
2.8 Skema kromatografi gas	12
2.9 (a) kolom kemas, (b) kolom kapiler	14
2.10 Bentuk puncak: (a) ideal, (b) lebar, (c) <i>fronting</i> , (d) <i>tailing</i> , (e) doublet..	19
2.11 Definisi faktor tailing	20
3.1 Bagan kerangka konseptual	32
4.1 Bagan kerangka operasional	35
5.1 Kromatogram larutan baku campuran kamfer – mentol – metil salisilat – eugenol	44
5.2 Kromatogram eugenol	44
5.3 Kromatogram sineol	45
5.4 Kromatogram sampel balsam	45
5.5 Kromatogram larutan baku kamfer	46
5.6 Kromatogram larutan baku mentol	46
5.7 Kromatogram larutan baku metil salisilat	46
5.8 Kromatogram larutan baku eugenol	46
5.9 Kromatogram larutan hasil preparasi matrix sampel	47
5.10 Kromatogram larutan baku campuran kamfer – mentol – metil salisilat – eugenol	47
5.11 Kurva hubungan antara kadar larutan baku kerja kamfer (ppm) terhadap rasio area kamfer – standar internal	49
5.12 Kurva hubungan antara kadar larutan baku kerja mentol (ppm) terhadap rasio area mentol – standar internal	50
5.13 Kurva hubungan antara kadar larutan baku kerja mentol (ppm) terhadap rasio area mentol – standar internal	50

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1 Perhitungan Nilai Resolusi (R_s).....	60
2 Perhitungan Faktor Selektivitas (α).....	62
3 Perhitungan Linieritas.....	64
4 Perhitungan Akurasi.....	70
5 Perhitungan Presisi.....	75
6 Perhitungan Penentuan Kadar Balsam.....	78