

**VALIDASI METODE ANALISIS SENYAWA
KORTIKOSTEROID TOPIKAL DALAM KRIM WAJAH
DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS
(KLT) – DENSITOMETRI**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Oleh:

ARIN WIDIASTUTI

12613352

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
MARET 2017**

SKRIPSI
VALIDASI METODE ANALISIS SENYAWA
KORTIKOSTEROID TOPIKAL DALAM KRIM WAJAH
DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS
(KLT) – DENSITOMETRI



Yang diajukan oleh:

ARIN WIDIASTUTI

12613352

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Ari Wibowo, M.Sc., Apt

Sista Werdyani, M. Biotech., Apt

SKRIPSI
**VALIDASI METODE ANALISIS SENYAWA
KORTIKOSTEROID TOPIKAL DALAM KRIM WAJAH
DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS
(KLT) – DENSITOMETRI**



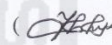

Oleh:

ARIN WIDIASTUTI

12613352A

Telah lolos uji etik penelitian
dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal:
13 Maret 2017

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

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



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

PERNYATAAN

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

Yogyakarta, 17 Maret 2016

Penulis



Arin Widiastuti

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamualaikum Wr. Wb.

Segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayat-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul Validasi Metode Analisis Senyawa Kortikosteroid Topikal Dalam Krim Wajah Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) – Densitometri. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi Prodi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia. Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Ari Wibowo, M.Sc., Apt. dan Ibu Sista Werdyani, M. Biotech., Apt. selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing penulis dalam menyusun skripsi ini.
2. Ibu Yuli Rohyami, S.Si., M.Sc. dan Ibu Mai Anugrahwati, S.Si., M.Sc. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran untuk penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Drs. Allwar, M.Sc., Ph. D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
4. Bapak Pinus Jumaryatno, S.Si., M. Phil., Ph.D., Apt. selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
5. Dosen-dosen pengajar Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan banyak pengetahuan kepada penulis.
6. Bapak Riyanto dan Bapak Yon Haryanto selaku laboran laboratorium biologi farmasi yang telah banyak membantu penulis selama penelitian berlangsung.

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

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini dapat membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Wassalamualaikum Wr. Wb.

Yogyakarta, 17 Maret 2017

Penulis,

Arin Widiastuti



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR RUMUS.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
<i>ABSTRACT</i>	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II STUDI PUSTAKA	4
2.1 Tinjauan Pustaka.....	4
2.1.1. Kosmetik.....	4
2.1.1.1. Definisi Kosmetik.....	4
2.1.1.2. Penggolongan Kosmetik.....	4
2.1.2. Krim	6
2.1.3. Kortikosteroid Topikal.....	6
2.1.4. Kromatografi Lapis Tipis.....	11
2.1.4.1. Prinsip KLT	11
2.1.4.2. Fase Diam KLT	11

2.1.4.3. Fase Gerak KLT	12
2.1.4.4. Kelebihan dan Kekurangan KLT.....	12
2.1.5. Densitometri.....	13
2.1.6. Validasi Metode	13
2.1.6.1. Definisi Validasi Metode.....	13
2.1.6.2. Parameter Validasi Metode	14
2.2. Landasan Teori	18
2.3. Hipotesis	19
BAB III METODE PENELITIAN	20
3.1. Bahan dan Alat.....	20
3.1.1. Bahan	20
3.1.2. Alat.....	20
3.2. Cara Penelitian	20
3.2.1 Pembuatan Fase Gerak	20
3.2.2 Pembuatan Larutan Penampak Bercak	20
3.2.3 Pembuatan Stok Larutan Baku Betametason Valerat dan Triamsinolon Asetonida 5000 ppm	21
3.2.4 Pembuatan Larutan Baku Tunggal Betametason Valerat dan Triamsinolon Asetonida 1000 ppm	21
3.2.5 Pembuatan Larutan Baku Campuran Betametason Valerat dan Triamsinolon Asetonida 1000 ppm.....	21
3.2.6 Pembuatan Larutan Uji.....	21
3.2.7 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	22
3.2.8 Pembuatan Kurva Baku Betametason Valerat dan Triamsinolon Asetonida	22
3.2.9 Validasi Metode Analisis.....	22
3.2.9.1. Uji Spesifisitas.....	22
3.2.9.2. Uji Linearitas, Batas Deteksi, dan Batas Kuantifikasi.....	22
3.2.9.3. Uji Presisi	23
3.2.9.4. Uji Akurasi	23

3.2.9.5. Kisaran (<i>Range</i>).....	23
3.2.10. Identifikasi Kandungan Kortikosteroid Topikal di dalam Krim Wajah	24
3.2.11. Penetapan Kadar Kortikosteroid Topikal di dalam Krim Wajah	24
3.3. Analisis Hasil	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks})	26
4.2. Pembuatan Kurva Baku.....	28
4.3. Validasi Metode Analisis	29
4.3.1. Uji Spesifisitas	29
4.3.2. Uji Linearitas, Batas Deteksi, dan Batas Kuantifikasi	31
4.3.3. Uji Presisi.....	32
4.3.4. Uji Akurasi.....	34
4.3.5. Kisaran (<i>Range</i>)	35
4.4. Identifikasi Kandungan Kortikosteroid Topikal di dalam Sediaan Krim Wajah	35
4.5. Penetapan Kadar Kortikosteroid Topikal di dalam Sediaan Krim Wajah.....	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1. Kesimpulan	39
5.2. Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Struktur kortison.....	6
Gambar 2.2.	Struktur betametason valerat.....	9
Gambar 2.3.	Struktur triamsinolon asetonida	10
Gambar 4.1.	Bagian kromofor betametason valerat	27
Gambar 4.2.	Bagian kromofor triamsinolon asetonida	27
Gambar 4.3.	Spektra larutan baku tunggal betametason valerat.....	27
Gambar 4.4.	Spektra larutan baku tunggal triamsinolon asetonida	28
Gambar 4.5.	Kromatogram hasil uji spesifisitas betametason valerat dan triamsinolon asetonida	30
Gambar 4.6.	Hubungan kadar betametason valerat dengan AUC	31
Gambar 4.7.	Hubungan kadar triamsinolon asetonida dengan AUC	31
Gambar 4.8.	Hasil identifikasi kortikosteroid topikal di bawah sinar UV	36
Gambar 4.9.	Hasil identifikasi kortikosteroid topikal dengan larutan penampak bercak.....	37

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Klasifikasi potensi kortikosteroid topikal menurut BNF.....	8
Tabel 2.2.	Elemen data yang dibutuhkan untuk uji validasi	14
Tabel 2.3.	Kisaran penerimaan % <i>recovery</i> berdasarkan kadar analit.....	15
Tabel 2.4.	Hubungan konsentrasi dengan RSD	16
Tabel 3.1.	Perkiraan warna bercak dan nilai Rf senyawa kortikosteroid.....	24
Tabel 4.1.	Data pembuatan kurva baku betametason valerat.....	28
Tabel 4.2.	Data pembuatan kurva baku triamsinolon asetonida	29
Tabel 4.3.	Nilai resolusi (Rs) baku campuran betametason valerat dan triamsinolon asetonida	30
Tabel 4.4.	Data presisi betametason valerat.....	33
Tabel 4.5.	Data presisi triamsinolon asetonida	33
Tabel 4.6.	Data akurasi betametason valerat	34
Tabel 4.7.	Data akurasi triamsinolon asetonida.....	35

DAFTAR RUMUS

Rumus 2.1.	Persen perolehan kembali.....	15
Rumus 2.2.	Standar deviasi (SD)	16
Rumus 2.3.	<i>Relative Standard Deviation</i> (RSD).....	16
Rumus 2.4.	RSD Horwitz	16
Rumus 2.5.	Batas deteksi (LOD).....	17
Rumus 2.6.	Batas kuantifikasi (LOQ)	17



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Sertifikat analisis betametason valerat	43
Lampiran 2.	Sertifikat analisis triamsinolon asetonida.....	44
Lampiran 3.	Data dan perhitungan pembuatan kurva baku	45
Lampiran 4.	Contoh perhitungan nilai resolusi	46
Lampiran 5.	Contoh perhitungan nilai LOD dan LOQ.....	47
Lampiran 6.	Data dan perhitungan uji presisi.....	47
Lampiran 7.	Data dan perhitungan uji akurasi.....	49
Lampiran 8.	Kromatogram identifikasi kandungan kortikosteroid topikal di dalam krim wajah racikan dokter.....	51
Lampiran 9.	Kromatogram uji spesifisitas.....	60
Lampiran 10.	Kromatogram uji linearitas	63
Lampiran 11.	Kromatogram uji presisi.....	66
Lampiran 12.	Kromatogram uji akurasi.....	70

**VALIDASI METODE ANALISIS SENYAWA KORTIKOSTEROID
TOPIKAL DALAM KRIM WAJAH DENGAN METODE
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) – DENSITOMETRI**

**Arin Widiastuti
Prodi Farmasi**

INTISARI

Berdasarkan keputusan yang dikeluarkan oleh BPOM tahun 2011, kortikosteroid topikal (KT) termasuk ke dalam salah satu bahan yang dilarang penggunaannya dalam kosmetik karena dapat menimbulkan berbagai macam efek samping berbahaya. Meskipun demikian, di negara-negara Afrika, Asia, dan bahkan Amerika KT kerap disalahgunakan sebagai agen pencerah kulit (*bleaching agent*) dalam bentuk krim wajah. KT yang paling banyak disalahgunakan sebagai pencerah kulit adalah KT dengan potensi *super potent*, *potent*, dan *moderate*. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi kandungan KT di dalam krim wajah dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT)-densitometri. Identifikasi dilakukan menggunakan KLT dimana nilai Rf sebagai parameternya, dan kuantifikasi dilakukan menggunakan densitometer. Validasi metode menunjukkan bahwa metode KLT-densitometri telah valid dan dapat digunakan untuk melakukan identifikasi dan penetapan kadar kortikosteroid topikal di dalam krim wajah racikan dokter. Hasil uji spesifisitas diperoleh nilai resolusi sebesar 1,61. Uji linearitas betametason valerat dan triamsinolon asetonida diperoleh nilai r keduanya masing-masing sebesar 0,9995 dan 0,9993. Nilai %RSD betametason valerat = 1,92% dan triamsinolon asetonida = 3,89%. Hasil uji akurasi didapatkan nilai perolehan kembali betametason valerat sebesar 97,48% dan triamsinolon asetonida sebesar 98,30%. Hasil identifikasi dan penetapan kadar menunjukkan kelima sampel krim wajah yang diujikan tidak mengandung betametason valerat dan triamsinolon asetonida.

Kata Kunci : Kortikosteroid topikal, kosmetik, *bleaching agent*, KLT-densitometri, validasi metode.

THE METHOD ANALYSIS VALIDATION OF TOPICAL CORTICOSTEROIDS COMPOUNDS IN FACE CREAM USING THIN LAYER CHROMATOGRAPHY (TLC) – DENSITOMETRY

Arin Widiastuti
Pharmacy Study Program

ABSTRACT

Based on the decision that issued by BPOM in 2011, topical corticosteroid (TC) was included in one of the ingredients that has been banned for cosmetics use because it may cause a variety of dangerous effects. Nevertheless, in Africa, Asia, and America, TC is misused as a bleaching agent in the form of face cream. The TC that the most widely abused as a bleaching agent is super potent, potent, and moderate. This study aims to identify and quantify the TC in the face cream using thin layer chromatography (TLC)-densitometry. Rf value is the parameter for the identification, and densitometer is used for the quantification. The validation resulted that TLC-densitometry method has good validity and it can be used for identified and quantified the topical corticosteroids in face cream. Specificity test showed that this method can separated the mixture of betamethasone valerate and triamcinolone acetonide well, as showed as its resolution factor was 1,61. R value as the linearity parameter of betamethasone valerate and triamcinolone acetonide was 0,9995 and 0,9993. The %RSD value of betamethasone valerate was 1,89% and triamcinolone acetonide was 2,75%. Accuracy test of betamethasone valerate obtained recovery percentage 97,48% and triamcinolone acetonide 98,30%. Identification and quantification test resulted five samples of face cream were not contain betamethasone valerate and triamcinolone acetonide.

Keywords: Topical corticosteroid, cosmetic, bleaching agent, TLC-densitometry, method validation.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Kortikosteroid topikal digunakan sebagai obat untuk mengatasi berbagai kondisi yang dikarakterisasi oleh inflamasi, hiperproliferasi, melibatkan sistem imun, *atrophogenic*, *melanopenic* dan dapat juga meringankan gejala dari luka bakar serta pruritus⁽¹⁾⁽²⁾. Beberapa penyakit yang dapat diterapi dengan kortikosteroid topikal, antara lain *alopecia areata*, *atopic dermatitis*, *discoid lupus*, *psoriasis*, *asteatotic eczema*, *seborrheic*, *severe dermatitis*, dan *intertrigo*⁽³⁾. Kortikosteroid topikal digunakan 2-3 kali sehari dengan jumlah 0,3 g per aplikasi, dan tidak boleh digunakan lebih dari 45 g/minggu untuk kortikosteroid topikal *potent* atau 100 g/minggu untuk kortikosteroid topikal *moderate*. Durasi terapi tidak boleh lebih dari 2 minggu untuk penggunaan pada wajah⁽⁴⁾.

Penyalahgunaan kortikosteroid topikal sebagai krim pencerah kulit yang digunakan dalam jangka panjang dilaporkan kerap terjadi di negara-negara Afrika, Asia, dan bahkan negara maju seperti Amerika⁽⁵⁾. Kortikosteroid topikal yang paling banyak disalahgunakan adalah kortikosteroid topikal dengan potensi *super potent*, *potent* dan *moderate*⁽⁶⁾. Berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.03.1.23.08.11.07331 yang dikeluarkan pada tahun 2011, kortikosteroid topikal termasuk ke dalam bahan berbahaya yang dilarang digunakan dalam kosmetik karena memiliki berbagai efek samping berbahaya⁽⁷⁾. Efek samping yang dapat timbul akibat penggunaan kortikosteroid topikal jangka panjang, antara lain: *seborrheid*, dermatitis perioral, *steroid rosacea*, *telangiectasis*, selulit, infeksi bakteri dan fungal, jerawat, atrofi kulit, kelainan pigmentasi, dan fenomena *rebound*⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁶⁾.

Tahun 2009 Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) mengeluarkan *public warning* terkait penarikan krim wajah yang mengandung bahan berbahaya, salah satunya kortikosteroid topikal⁽⁸⁾. Melihat hal tersebut, peneliti merasa perlu

dilakukan suatu penelitian untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi bahan berbahaya, khususnya kortikosteroid topikal di dalam krim wajah agar masyarakat



terlindungi dari kosmetik yang tidak memenuhi persyaratan mutu, keamanan, dan kemanfaatan. Kortikosteroid topikal yang akan diidentifikasi adalah betametason 17-valerat dan triamsinolon asetonida.

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Yun Sik Nam (2012) dan Gimeno (2015), metode yang umum digunakan untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi kandungan kortikosteroid topikal di dalam kosmetik adalah kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) yang dikombinasikan dengan detektor UV, UV-DAD, MS/detektor MS⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾. Metode KCKT memiliki efisiensi yang tinggi, namun membutuhkan biaya yang banyak dan waktu yang lama, karena membutuhkan ekstraksi pelarut yang berulang⁽⁹⁾.

Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) merekomendasikan metode kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengidentifikasi kandungan kortikosteroid topikal di dalam kosmetik⁽⁷⁾. Kuantifikasi kandungan kortikosteroid topikal dilakukan menggunakan metode densitometri. Metode KLT menawarkan prosedur yang lebih sederhana, murah, mampu menganalisis sampel secara cepat dan bersamaan, serta teknik pemisahan dan prosedur deteksi yang ganda dapat diterapkan⁽¹¹⁾⁽¹²⁾. Metode densitometri dapat menentukan kadar analit, nilai resolusi, nilai koefisien variansi (KV), dan perolehan kembali yang menggambarkan presisi dan akurasi metode⁽¹²⁾. Penggunaan metode densitometri dapat menghilangkan kesalahan yang disebabkan pemindahan bercak atau kesalahan ekstraksi⁽¹¹⁾.

Validasi metode diperlukan untuk memastikan bahwa metode yang digunakan sesuai dengan tujuan penggunaannya dan memberikan hasil pengujian yang valid⁽¹²⁾. Berdasarkan *International Conference on Harmonization (ICH)*, parameter validasi yang dilakukan untuk kategori *assay* meliputi akurasi, presisi, spesifisitas, linearitas, batas deteksi (LOD), batas kuantifikasi (LOQ), dan kisaran. Validasi dilakukan agar hasil yang didapat merupakan hasil yang valid dan dapat dipercaya, karena validasi merupakan kebutuhan dasar untuk menjamin kualitas dan *reliable* hasil dalam aplikasi analitis⁽¹³⁾.

1.2. Perumusan Masalah

1. Bagaimanakah validitas dari metode analisis KLT-densitometri meliputi akurasi, presisi, spesifisitas, linearitas, LOD, LOQ, dan kisaran yang digunakan untuk mengkuantifikasi kandungan kortikosteroid topikal di dalam krim wajah yang diujikan berdasarkan ICH dan *Association of Analytical Chemist (AOAC)*?
2. Apakah di dalam krim wajah yang diujikan dengan metode KLT-densitometri mengandung kortikosteroid topikal?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui validitas metode analisis KLT-densitometri meliputi akurasi, presisi, spesifisitas, linearitas, LOD, LOQ, dan kisaran yang digunakan untuk mengkuantifikasi kandungan kortikosteroid topikal di dalam krim wajah berdasarkan ICH dan AOAC.
2. Mengidentifikasi dan mengkuantifikasi kadar kortikosteroid topikal yang terkandung di dalam krim wajah menggunakan metode KLT-densitometri.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Dapat memberikan informasi kandungan kortikosteroid topikal di dalam krim wajah kepada masyarakat.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan ilmiah terkait penerapan metode KLT-densitometri pada identifikasi kandungan kortikosteroid topikal di dalam krim wajah.

BAB II

STUDI PUSTAKA

2.1. Tinjauan Pustaka

2.1.1. Kosmetik

2.1.1.1. Definisi Kosmetik

Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (FFDCA) mendefinisikan kosmetik sebagai sediaan yang digunakan dengan cara dioleskan, dituang, ditaburkan, atau disemprotkan, serta diaplikasikan ke tubuh manusia dengan tujuan membersihkan, mempercantik, menarik perhatian, atau merubah penampilan. Produk yang termasuk ke dalam definisi ini, antara lain pelembab kulit, *shampoo*, parfum, lipstik, pewarna kuku, sediaan *make up* mata dan wajah, obat pengeriting rambut, pewarna rambut, dan *deodorant*⁽¹⁴⁾. Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.00.05.4.1745 mendefinisikan kosmetik sebagai bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia (epidermis, rambut, kuku, bibir, dan organ genital bagian luar) atau gigi dan mukosa mulut terutama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan dan atau memperbaiki bau badan atau melindungi atau memelihara tubuh pada kondisi baik⁽¹⁵⁾.

2.1.1.2. Penggolongan Kosmetik

Kosmetik digolongkan menjadi 3, yaitu menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia, menurut sifatnya (modern atau tradisional), dan menurut kegunaannya bagi kulit⁽¹⁶⁾.

1. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia, kosmetik dibagi ke dalam 13 kelompok, antara lain:
 - 1) Preparat untuk bayi
 - 2) Preparat untuk mandi
 - 3) Preparat untuk mata
 - 4) Preparat wangi-wangian
 - 5) Preparat untuk rambut

- 6) Preparat pewarna rambut
 - 7) Preparat *make up* (kecuali mata)
 - 8) Preparat untuk kebersihan mulut
 - 9) Preparat untuk kebersihan badan
 - 10) Preparat kuku
 - 11) Preparat perawatan kulit
 - 12) Preparat cukur
 - 13) Preparat untuk *suntan* dan *sunscreen*
2. Penggolongan menurut sifat dan cara pembuatan, antara lain:
- 1) Kosmetik modern, merupakan kosmetik yang diracik dari bahan kimia dan diolah secara modern.
 - 2) Kosmetik tradisional:
 - (1) Benar-benar tradisional, yaitu dibuat dari bahan alam dan diolah menurut resep dan cara yang turun-temurun.
 - (2) Semi tradisional, yaitu diolah secara modern dan diberi bahan pengawet agar tahan lama.
 - (3) Hanya namanya yang tradisional, tanpa komponen yang benar-benar tradisional dan diberi zat warna yang menyerupai bahan tradisional.
3. Penggolongan menurut kegunaannya bagi kulit:
- 1) Kosmetik perawatan kulit (*skin-care cosmetics*)

Jenis ini digunakan untuk merawat kebersihan dan kesehatan kulit. Termasuk di dalamnya:

 - (1) Kosmetik untuk membersihkan kulit (*cleanser*).
 - (2) Kosmetik untuk melembabkan kulit (*moisturizer*).
 - (3) Kosmetik pelindung kulit.
 - (4) Kosmetik untuk menipiskan atau mengampelas kulit (*peeling*).
 - 2) Kosmetik riasan (dekoratif atau *make up*)

Kosmetik jenis ini digunakan untuk merias dan menutupi cacat pada kulit sehingga menghasilkan penampilan yang lebih menarik serta menimbulkan efek psikologis yang baik, seperti percaya diri (*self*

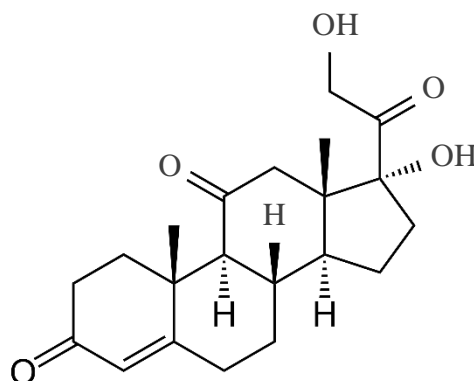
confidence). Dalam kosmetik riasan, peran zat pewarna dan zat pewangi sangat besar.

2.1.2. Krim

Krim merupakan sediaan setengah padat, yang 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 dan diformulasikan sebagai emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air⁽¹⁷⁾. Krim terdiri dari emulsi minyak dalam air atau dispersi mikrokristal asam-asam lemak atau alkohol rantai panjang dalam air, yang dapat dicuci dengan air dan lebih ditujukan untuk pemakaian kosmetika dan estetika⁽¹⁸⁾.

2.1.3. Kortikosteroid Topikal

Kortikosteroid (kortison atau steroid) merupakan analog sintetik dari hormon steroid yang dihasilkan oleh kelenjar korteks adrenal. Kortikosteroid terdiri dari sekelompok senyawa organik siklik yang disintesis dari kolesterol yang memberikan 17 atom karbon-nya⁽¹⁹⁾. Sebagian kortikosteroid memiliki gugus 3-keto, 4 ikatan jenuh, rantai samping berupa aseton dihidroksi pada C-17, dan sebuah atom oksigen pada C-11⁽²⁰⁾. Sama halnya dengan hormon steroid alami, kortikosteroid juga memiliki sifat serupa dengan glukokortikoid dan mineralokortikoid. Glukokortikoid berperan penting dalam metabolisme karbohidrat dan protein, perpindahan lemak, menjaga tekanan darah dan keseimbangan cairan, serta memiliki efek anti-inflamasi dan immunosupresan. Sedangkan mineralokortikoid berperan dalam reabsorpsi sodium dan ekskresi ion potassium serta hidrogen, untuk menjaga keseimbangan elektrolit⁽²¹⁾.





Gambar 2.1. Struktur kortison⁽¹⁹⁾.

Kortikosteroid topikal pertama kali dikenal dalam bidang dermatologi pada tahun 1951 sebagai senyawa F atau hidrokortison yang digunakan secara luas untuk mengatasi kondisi inflamasi serta non-infeksius pada kulit⁽²²⁾. Kortikosteroid topikal selanjutnya terus dikembangkan menjadi fluorohidrokortison (1955), triamsinolon asetonida (1958), fluosinolon asetonida (1961), betametason (1963), klobetason propionat (1974), flutikason dan halobetason (1990), serta mometason (1991) yang memiliki potensi berbeda-beda⁽²³⁾. Selain memiliki efek anti inflamasi, kortikosteroid topikal juga memiliki efek anti pruritus, *atrofogenic*, *melanopenic*, menyerupai hormon seks dan immunosupresif pada kulit⁽¹⁾. Adanya efek tersebut menjadikan kortikosteroid kerap digunakan untuk mengatasi berbagai macam kondisi inflamasi pada kulit, seperti eksim, dermatitis kontak, gigitan serangga, psoriasis, *lupus erythematosus*, dan *alopecia areata*⁽¹⁹⁾.

Melihat begitu besar efek kortikosteroid topikal dalam menangani berbagai jenis penyakit kulit, zat ini kerap disalahgunakan oleh ahli kecantikan, pekerja salon, dan bahkan dokter. Penyalahgunaan tersebut ditujukan untuk beberapa kondisi seperti melasma, urtikaria, anti-jerawat, erupsi kulit, dan hampir sebagian besar digunakan sebagai pencerah kulit (*bleaching agent*) yang digunakan dalam jangka panjang⁽¹⁾. Depigmentasi merupakan efek samping dari kortikosteroid topikal, sehingga zat ini kerap disalahgunakan sebagai pemutih yang ditambahkan ke dalam kosmetik. Depigmentasi terjadi akibat adanya vasokonstriksi, perlambatan penggantian sel kulit, penurunan jumlah dan aktivitas melanosit serta penurunan produksi hormon yang menstimulus melanosit⁽¹⁰⁾. Berdasarkan *public warning* yang dikeluarkan oleh BPOM pada tahun 2009 ditemukan adanya kandungan kortikosteroid topikal pada 3 merk krim wajah yang beredar di pasaran⁽⁸⁾. Seiring dengan maraknya penyalahgunaan kortikosteroid topikal, berbagai efek yang tidak diinginkanpun bermunculan, antara lain: timbulnya

jerawat, *tinea incognito*, *spider vein*, penipisan kulit, dermatitis perioral, atrofi kulit, kelainan pigmentasi, fenomena *rebound*, dan *tachyphylaxis*. Terdapat pula beberapa efek samping sistemik, seperti hipertensi, diabetes mellitus, osteoporosis, alergi dermatitis kontak, dan sindrom *cushing*⁽⁶⁾.

British National Formulary (BNF) mengklasifikasikan kortikosteroid topikal menjadi 4 kelas berdasarkan potensinya⁽²⁴⁾:

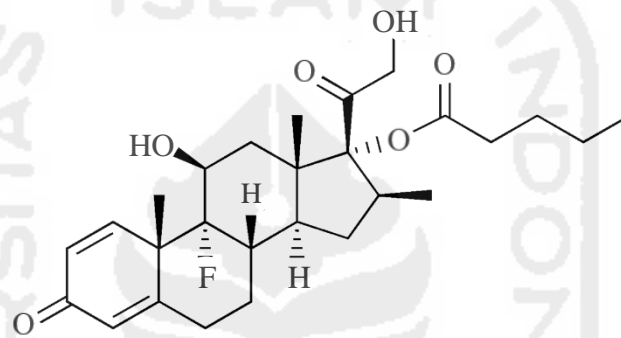
Tabel 2.1. Klasifikasi potensi kortikosteroid topikal menurut BNF⁽²⁴⁾.

Kelas Kortikosteroid Topikal	Contoh Kortikosteroid topikal
I <i>Very potent</i> (sangat potensial)	Klobetasol propionat 0,05% krim atau salep Halobetasol propionat 0,05% krim atau salep Betametason dipropionat 0,05% salep Betametason dipropionat 0,05% krim
II <i>Potent</i> (potensial)	Fluosinonida 0,05% salep Halsinonida 0,1% krim Mometasone furoate 0,1% salep Betametason dipropionat 0,05% <i>lotion</i> Flutikason propionat 0,004% salep Triamsinolon asetonida 0,1% salep Halometason 0,05% krim Fluosinolon asetonida 0,025% salep
III <i>Moderate</i> (menengah)	Betametason valerat 0,1% krim Fluosinolon asetonida 0,025% krim Flutikason propionat 0,05% krim Hidrokortison butirat 0,1% krim Aklometason dipropionat 0,05% krim atau salep Desonida 0,05% krim Fluosinolon asetonida 0,01% krim Triamsinolon asetonida 0,025% krim
IV <i>Mild</i> (ringan)	Desoximetason 0,05% Hidrokortison 1% atau 2,5% krim, 1% atau 2,5% <i>lotion</i> , 1% atau 2,5% salep Hidrokortison asetat 1% atau 2,5% krim, 1% atau 2,5% <i>lotion</i>

Betametason 17-valerat merupakan kortikosteroid topikal dengan potensi menengah (*moderate*) yang memiliki efek utama glukokortikoid (anti-inflamasi,

vasokonstriksi, immunosupresan, dan aktivitas anti-mitotik pada sel kulit) dengan efek mineralokortikoid yang minimal. Betametason valerat diindikasikan untuk mengatasi inflamasi dan pruritus yang merupakan manifestasi dari psoriasis⁽²⁵⁾. Persyaratan batas kadar betametason valerat dalam sediaan krim tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110% dari kadar yang tertera pada label⁽²⁶⁾.

Betametason valerat memiliki monografi sebagai berikut⁽²⁶⁾⁽²⁷⁾:

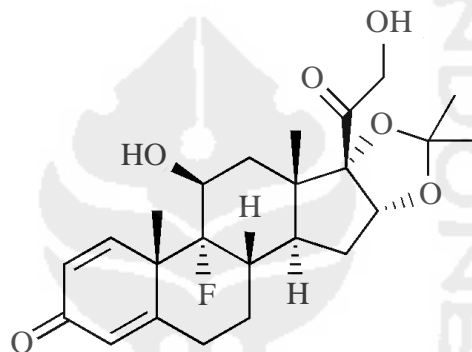


Gambar 2.2. Struktur betametason valerat⁽²⁷⁾.

1. Rumus molekul : $C_{27}H_{37}FO_6$
2. Berat molekul : 476,69 g/mol
3. Nama kimia : 9-*fluoro*-11 β ,17, 21-*trihydroxy*-16 β -*methylpregna*-1, 4-*diene*- 3, 20-*dione* 17-*valerate*
4. Nama IUPAC : [(8S,9R,10S,11S,13S,14S,16S,17R)-9-*fluoro*-11-*hydroxy*-17-(2-*hydroxyacetyl*)-10,13,16-*trimethyl*-3-*oxo*-6,7,8,11,12,14,15,16-*octahydrocyclopenta*[a]*phenanthren*-17-yl] *pentanoate*
5. Kelarutan : mudah larut dalam aseton dan dalam kloroform; larut dalam metanol; sukar larut dalam benzen; praktis tidak larut dalam air.
6. Pemerian : berupa serbuk putih dan tidak berbau

Triamsinolon asetonida merupakan kortikosteroid dengan aktivitas utamanya yaitu glukokortikoid⁽²⁸⁾. Triamsinolon asetonida diklasifikasikan ke dalam kortikosteroid topikal dengan potensi menengah (*moderate*) yang diindikasikan untuk mengatasi kelainan radang kulit yang hebat, seperti eksim yang tidak menunjukkan respons terhadap kortikosteroid yang kurang kuat, serta psoriasis⁽²⁶⁾. Kadar triamsinolon asetonida yang dipersyaratkan dalam krim adalah tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 115% dari kadar yang tertera pada label⁽²⁶⁾.

Triamsinolon asetonida memiliki monografi sebagai berikut⁽²⁵⁾⁽²⁹⁾:



Gambar 2.3. Struktur triamsinolon asetonida⁽²⁹⁾.

1. Rumus molekul : $C_{24}H_{31}FO_6$
2. Berat molekul : 434,504 g/mol
3. Nama kimia : *9 α -fluoro-11 β ,21-dihydroxy-16 α ,17 α -isopropylidenedioxypregna-1,4-diene-3,20-dione*
4. Nama IUPAC : (4aS,4bR,5S,6aS,6bS,9aR,10aS,10bS)-4b-fluoro-6b-glycoloyl-5-hydroxy-4a,6a,8,8-tetramethyl-4a,4b,5,6,6a,6b,9a,10,10a,10b,11,12-dodecahydro-2H-naphtho[2',1':4,5]indeno[1,2-d][1,3]dioxol-2-one
5. Kelarutan : praktis tidak larut di dalam air; sedikit larut dalam alkohol terdehidrasi, kloroform, dan metil alkohol.
6. Pemerian : serbuk kristal berwarna putih hingga krem, tidak berbau atau sedikit berbau.

United States Pharmacopeia (USP) 29 merekomendasikan metode untuk mengidentifikasi betametason valerat dan triamsinolon asetonida yaitu spektrofotometri infra merah, KLT, dan KCKT⁽²⁶⁾. Metode KLT dengan fase gerak diklorometana:etil asetat:akuades (100:50:50) merupakan metode yang digunakan untuk mengidentifikasi kandungan kortikosteroid topikal di dalam kosmetik berdasarkan panduan BPOM⁽⁷⁾. Penelitian terkait pengembangan metode KLT untuk mengidentifikasi kandungan kortikosteroid topikal di dalam kosmetik telah dilakukan oleh Gagliardi L pada tahun 2002 dan menunjukkan validitas yang baik⁽³⁰⁾. Tahun 2012, Yun Sik Nam melakukan identifikasi kortikosteroid topikal pada produk kosmetik yang beredar di Korea menggunakan kromatografi cair-spektrofotometri massa (LC-MS). Sebanyak 65 sampel krim wajah yang diujikan menunjukkan bahwa 4 krim wajah mengandung kortikosteroid topikal jenis prednisolon dan 9 krim wajah mengandung triamsinolon asetonida dengan kadar yang cukup tinggi⁽⁹⁾. Tahun 2015 Gimeno melakukan identifikasi dan skrining hidrokuinon dan kortikosteroid topikal yang digunakan sebagai pencerah kulit pada kosmetik yang beredar di Prancis menggunakan metode KCKT-UV. Sebanyak 16 dari 52 produk krim wajah yang diujikan terbukti mengandung klobetasol propionat, 4 krim wajah mengandung betametason dipropionat, dan 8 krim wajah mengandung fluosinonid⁽¹⁰⁾.

2.1.4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

2.1.4.1. Prinsip KLT

Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu bentuk kromatografi planar, dimana fase diamnya berupa lapisan yang seragam pada permukaan bidang datar yang didukung oleh pelat aluminium, pelat plastik, atau lempeng kaca. Fase gerak yang digunakan pada KLT adalah larutan pengembang yang akan bergerak sepanjang fase diam secara menaik (*ascending*) atau menurun (*descending*)⁽¹²⁾. Prinsip metode ini yaitu memisahkan komponen-komponen dari campuran berdasarkan perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam di bawah pengaruh larutan pengembang. Parameter pada KLT yang digunakan untuk identifikasi atau analisis kualitatif adalah nilai R_f atau faktor retensi. Nilai R_f merupakan hasil

bagi dari jarak zona awal substansi ke depan fase gerak⁽³¹⁾. Dua senyawa dikatakan identik apabila memiliki nilai Rf yang serupa jika diukur pada kondisi KLT yang sama⁽¹²⁾.

2.1.4.2. Fase Diam KLT

Fase diam yang digunakan pada KLT berupa penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Ukuran partikel fase diam menentukan kinerja KLT. Semakin kecil dan sempit ukuran partikel fase diam, maka efisiensi dan resolusi KLT semakin baik⁽¹²⁾. Sejauh ini silika gel merupakan fase diam yang paling sering digunakan, sementara mekanisme sorpsi yang utama adalah partisi dan adsorpsi. Terjadinya pemisahan disebabkan oleh adanya ikatan hidrogen atau interaksi dipol dengan permukaan gugus silanol (SiOH)⁽³²⁾. Silika gel mampu mengikat tiga lapisan molekul air dan 2 lapisan teratas dapat dihilangkan secara *reversible* dengan cara dipanaskan pada suhu 120 °C dan secara *irreversible* pada suhu lebih dari 200 °C⁽³³⁾. Polaritas suatu senyawa berperan penting dalam laju migrasi senyawa tersebut pada silika gel. Semakin polar suatu senyawa, maka semakin lambat laju migrasinya pada plat silika yang bersifat polar, dan sebaliknya semakin non polar suatu senyawa akan mempercepat laju migrasi dari senyawa tersebut⁽¹²⁾.

2.1.4.3. Fase Gerak KLT

Umumnya fase gerak dapat dipilih dari pustaka, namun dapat juga dipilih dengan pendekatan *trial-and-error*. Sistem yang paling sederhana ialah campuran antara 2 pelarut organik karena daya elusi campuran dapat diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat optimal. Berikut adalah petunjuk yang digunakan untuk melakukan optimasi fase gerak⁽¹²⁾:

1. Memiliki kemurnian yang sangat tinggi.
2. Daya elusi harus diatur sedemikian rupa agar nilai Rf terletak di antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan.
3. Polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut, yang juga akan menentukan nilai Rf.

4. Campuran pelarut sebagai fase gerak sebaiknya digunakan untuk solut-solut ionik dan solut-solut polar.

2.1.4.4. Kelebihan dan Kekurangan KLT

Beberapa kelebihan kromatografi lapis tipis, antara lain⁽¹²⁾:

1. Peralatan yang digunakan lebih sederhana dan prosesnya lebih cepat.
2. Banyak digunakan untuk tujuan analisis.
3. Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultra violet.
4. Dapat dilakukan elusi secara menaik (*ascending*), menurun (*descending*), atau dengan cara elusi 2 dimensi.
5. Ketepatan penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak.

Adapun kekurangan dari metode ini antara lain⁽³¹⁾:

1. Efisiensi pemisahan yang lebih sedikit.
2. Reprodusibilitas nilai Rf bergantung pada kondisi lingkungan.

2.1.5. Densitometri

Teknik densitometri merupakan salah satu cara analisis kuantitatif secara langsung (*in situ*) pada kromatografi lapis tipis, yang dapat bekerja secara fluoresensi atau serapan. Sistem serapan dapat dilakukan dengan model pantulan atau transmisi, sedangkan sistem pantulan digunakan sinar tampak maupun ultraviolet yang dapat diukur sinar pantulnya⁽¹²⁾. Metode densitometri dapat digunakan untuk menentukan kadar analit, nilai resolusi, nilai CV, dan perolehan kembali yang menggambarkan akurasi dan presisi metode⁽¹²⁾. Penggunaan metode densitometri dapat menghilangkan kesalahan yang disebabkan pemindahan bercak atau kesalahan ekstraksi⁽⁹⁾.

2.1.6. Validasi Metode

2.1.6.1. Definisi Validasi Metode

Validasi metode adalah suatu tindakan penilaian yang dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis yang digunakan telah akurat, spesifik,

reproduksibel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. Metode harus divalidasi ketika metode baku digunakan di laboratorium yang berbeda, atau dikerjakan dengan alat yang berbeda, untuk mengatasi masalah analisis tertentu, mendemonstrasikan kesetaraan antar 2 metode, serta penjaminan mutu. Validasi dilakukan agar hasil yang didapat merupakan hasil yang valid dan dapat dipercaya, karena validasi merupakan kebutuhan dasar untuk menjamin kualitas dan *reliable* hasil dalam aplikasi analitis

International Conference on Harmonization mengindikasikan bahwa prosedur-prosedur analisis terpenting yang memerlukan validasi adalah⁽¹³⁾:

1. Uji identifikasi
2. Uji kuantitatif untuk konten pengotor
3. Uji batas untuk mengontrol pengotor
4. Uji kuantitatif dari bagian aktif dalam sampel pada substansi obat atau produk obat atau komponen lain yang dipilih dalam produk obat.

Tabel 2.2. Elemen-elemen data yang dibutuhkan untuk uji validasi⁽¹³⁾.

Parameter prosedur analisis	Identifikasi	Uji untuk pengotor		Assay
		Kuantitatif	Uji batas	
Akurasi	-	+	-	+
Presisi	-			
Keterulangan	-	+	+	+
Presisi interm.	-	+(1)	+	+(1)
Spesifisitas	+	+	+	+
LOD	-	-(3)	+	-
LOQ	-	+	-	-
Linearitas	-	+	-	+
Kisaran	-	+	-	+

- normalnya karakteristik tidak dievaluasi

+ normalnya karakteristik dievaluasi

(1) jika reproduksibilitas dilakukan, presisi intermediet tidak diperlukan

(2) kurangnya spesifisitas dari salah satu prosedur analisis dapat dikompensasi dengan prosedur analisis lain yang mendukung

(3) mungkin dibutuhkan pada beberapa kasus

2.1.6.2. Parameter Validasi Metode

Berdasarkan ICH, parameter validasi yang dilakukan untuk kategori *assay* meliputi akurasi, presisi, spesifisitas, linearitas, LOD, LOQ, dan kisaran (*range*).

Berikut adalah penjelasan parameter-parameter validasi metode analisis tersebut⁽¹³⁾:

1. Akurasi

Akurasi didefinisikan sebagai ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya, yang dinyatakan dengan persen perolehan kembali (*recovery*). Akurasi dapat ditentukan dengan 2 cara, yaitu metode simulasi atau metode penambahan baku. ICH merekomendasikan pengumpulan data untuk uji akurasi sebaiknya dilakukan 9 kali penetapan kadar dengan 3 konsentrasi yang berbeda.

Tabel 2.3. Kisaran penerimaan %*recovery* berdasarkan kadar analit⁽³⁴⁾.

Analit (%)	Fraksi Analit	Unit	Kisaran <i>recovery</i> (%)
100	1	100%	98-102
10	10 ⁻¹	10%	98-102
1	10 ⁻²	1%	97-103
0,1	10 ⁻³	0,1%	95-105
0,01	10 ⁻⁴	100 ppm	90-107
0,001	10 ⁻⁵	10 ppm	80-110
0,0001	10 ⁻⁶	1 ppm	80-110
0,00001	10 ⁻⁷	100 ppb	80-110
0,000001	10 ⁻⁸	10 ppb	60-115
0,0000001	10 ⁻⁹	1 ppb	40-120

Persen perolehan kembali ditentukan dengan rumus⁽³⁵⁾:

$$\%Recovery = \frac{(C_f - CA)}{C^*A} \times 100 \quad (2.1)$$

Keterangan:

C_f : kadar total sampel hasil pengukuran

CA : kadar sampel sebenarnya

C*A : kadar analit yang ditambahkan

2. Presisi

Presisi merupakan derajat kesesuaian atau ukuran keterulangan metode analisis dibawah kondisi tertentu yang diekspresikan sebagai variansi, standar deviasi, atau variasi koefisien. Presisi dilakukan pada tingkatan yang berbeda, yaitu keterulangan (*repeatability*), presisi antara (*intermediate precision*), dan ketertiruan (*reproducibility*)⁽¹³⁾. Parameter lain yang dapat digunakan untuk menentukan presisi adalah dengan RSD Horwitz. Ditemukan bahwa koefisien variansi meningkat seiring dengan menurunnya konsentrasi analit (RSD Horwitz)⁽³⁶⁾.

Tabel 2.4. Hubungan konsentrasi dengan RSD⁽³⁵⁾.

Analit (%)	Fraksi Analit	Unit	Horwitz %RSD
100	1	100%	2
10	10 ⁻¹	10%	2,8
1	10 ⁻²	1%	4
0,1	10 ⁻³	0,1%	5,7
0,01	10 ⁻⁴	100 ppm	8
0,001	10 ⁻⁵	10 ppm	11,3
0,0001	10 ⁻⁶	1 ppm	16
0,00001	10 ⁻⁷	100 ppb	22,6
0,000001	10 ⁻⁸	10 ppb	32
0,0000001	10 ⁻⁹	1 ppb	45,3

Nilai standar deviasi (SD), *relative standard deviation* (RSD), dan RSD Horwitz dapat dihitung dengan menggunakan persamaan berikut⁽³⁶⁾:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(X-\bar{X})^2}{n-1}} \quad (2.2)$$

Keterangan :

X = nilai dari masing-masing pengukuran

\bar{X} = rata-rata dari pengukuran

n = frekuensi penetapan

$$RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\% \quad (2.3)$$

Keterangan :

SD = standar deviasi

\bar{X} = rata-rata kadar

$$\text{RSD Horwitz} = 2 \times C^{-0,15} \quad (2.4)$$

Keterangan :

C = fraksi konsentrasi

3. Spesifisitas

Spesifisitas adalah kemampuan untuk mengukur analit dengan adanya komponen-komponen lain yang terdapat dalam sampel, misalnya degradasi, matriks, dan ketidakmurnian. Uji spesifisitas dibagi menjadi 2 kategori, yaitu uji identifikasi dan uji kemurnian atau pengukuran. Spesifisitas pada uji identifikasi ditunjukkan dengan kemampuan metode dalam membedakan antar senyawa yang memiliki struktur molekul yang hampir sama, sedangkan pada uji kemurnian atau pengukuran, spesifisitas ditunjukkan oleh daya pisah 2 senyawa yang berdekatan dengan nilai resolusi (Rs) sebagai parameternya.

4. LOD

LOD merupakan jumlah terkecil dari suatu analit di dalam sampel yang dapat dideteksi. LOD dapat dihitung dengan persamaan⁽³⁵⁾:

$$\text{LOD} = \frac{(3,3 \times \frac{S_y}{x})}{b} \quad (2.5)$$

Keterangan:

S_y/x = simpangan baku residual

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

5. LOQ

LOQ adalah jumlah terkecil dari analit yang dapat dihitung dengan presisi dan akurasi yang sesuai. Berikut persamaan untuk menghitung nilai LOQ⁽³⁵⁾:

$$\text{LOQ} = \frac{(10 \times \frac{S_y}{x})}{b} \quad (2.6)$$

Keterangan:

S_y/x = simpangan baku residual

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

6. Linearitas dan Kisaran (*range*)

Linearitas didefinisikan sebagai kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Kisaran (*range*) merupakan pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima.

2.2. Landasan Teori

Kortikosteroid topikal merupakan obat yang digunakan untuk mengatasi berbagai kondisi yang dikarakterisasi oleh inflamasi, hiperproliferasi, melibatkan sistem imun, *atrophogenic*, *melanopenic* dan dapat juga meringankan gejala dari luka bakar serta pruritus. Dilaporkan bahwa kortikosteroid topikal kerap disalahgunakan sebagai agen pencerah kulit oleh ahli kecantikan dan dokter di negara-negara Afrika, Asia, bahkan negara maju seperti Amerika. Tahun 2009, BPOM mengeluarkan *public warning* terkait kosmetik berupa krim wajah yang mengandung bahan berbahaya, salah satunya kortikosteroid topikal.

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi kandungan kortikosteroid topikal di dalam krim wajah adalah metode KLT-densitometri. Metode KLT-densitometri menawarkan prosedur yang lebih sederhana, murah, mampu menganalisis sampel secara cepat dan bersamaan, serta teknik pemisahan dan prosedur deteksi yang ganda dapat diterapkan, dapat menentukan kadar analit, nilai resolusi, nilai koefisien variansi (KV), dan perolehan kembali yang menggambarkan presisi dan akurasi metode, serta menghilangkan kesalahan yang disebabkan pemindahan bercak atau kesalahan ekstraksi. Tahun 2012, Yun Sik Nam melakukan identifikasi kortikosteroid topikal pada produk kosmetik yang beredar di Korea menggunakan kromatografi cair-spektrofotometri massa (LC-MS). Sebanyak 65 sampel krim wajah yang diujikan menunjukkan bahwa 4 krim wajah mengandung kortikosteroid topikal jenis prednisolon dan 9 krim wajah mengandung triamsinolon asetonida dengan

kadar yang cukup tinggi⁽⁹⁾. Tahun 2015 Gimeno melakukan identifikasi dan skrining hidrokuinon dan kortikosteroid topikal yang digunakan sebagai pencerah kulit pada kosmetik yang beredar di Prancis menggunakan metode KCKT-UV. Sebanyak 16 dari 52 produk krim wajah yang diujikan terbukti mengandung klobetasol propionat, 4 krim wajah mengandung betametason dipropionat, dan 8 krim wajah mengandung fluosinonid. Metode perlu divalidasi untuk menjamin keakuratan, kespesifikan, kereproduksibelan, dan ketahanannya pada kisaran analit yang akan dianalisis. Berdasarkan ICH, parameter validasi yang dilakukan meliputi akurasi, presisi, linearitas, LOD, LOQ, spesifisitas, dan kisaran (*range*). Metode analisis dikatakan memiliki validitas yang baik apabila memenuhi parameter-parameter validasi yang mengacu pada ketentuan ICH dan AOAC. Penelitian sebelumnya dilakukan oleh Gagliardi L menggunakan metode KLT yang dikombinasikan dengan KCKT untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi kandungan kortikosteroid topikal di dalam krim wajah. Penelitian tersebut telah menunjukkan validitas yang baik dilihat dari parameter validasi yang dilakukan, meliputi akurasi, presisi, nilai resolusi, batas deteksi, dan batas kuantifikasi. Krim wajah dinyatakan positif mengandung kortikosteroid topikal apabila memiliki nilai R_f yang identik atau serupa dengan dengan nilai R_f standar pada kondisi kromatografi yang sama. Penetapan kadar dilakukan dengan memasukkan data luas area pada densitogram pada persamaan regresi linier ($y=bx+a$). Persyaratan batas kadar kortikosteroid topikal dalam sediaan krim yaitu tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110% untuk betametason valerat serta tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 115% untuk triamsinolon asetonida dari kadar yang tertera pada label.

2.3. Hipotesis

1. Metode KLT-densitometri yang digunakan untuk mengkuantifikasi kandungan kortikosteroid topikal di dalam krim wajah yang diujikan memenuhi parameter-parameter validasi ICH dan AOAC meliputi akurasi, presisi, spesifisitas, linearitas, LOD, LOQ, dan kisaran.

2. Krim wajah yang diujikan dengan metode KLT-densitometri kemungkinan mengandung kortikosteroid topikal dengan kadar melebihi atau di bawah kadar yang dipersyaratkan.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Bahan dan Alat

3.1.1. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah baku pembanding yang terdiri dari betametason valerat BPFI dan triamsinolon asetonida BPFI, 5 buah sampel krim wajah yang diperoleh dari klinik kecantikan di Kota Yogyakarta, plat KLT silika gel 60F₂₅₄ (Merck), aquades, asam asetat glasial p.a (Merck), diklorometan p.a (Merck), etil asetat p.a (Merck), methanol p.a (Merck), anisaldehyda dan asam sulfat pekat.

3.1.2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bejana kromatografi (Camag, 21 x 5 x 21 cm), detektor UV 254 nm, TLC *Scanner* 4 (Camag), timbangan analitik (Mettler Toledo, XS 205 DU), oven (Memmert), kertas *Whattman*, penangas air (Memmert), penangas ultrasonik (Branson), sentrifugator (Hanil), pipet tetes, pipet volume 1 mL; 2 mL; 5 mL (Iwaki Pyrex), pro pipet, linomat 5 (Camag), labu takar 10 mL; 25 mL (Iwaki Pyrex), gelas ukur 5 mL; 10 mL; 25 mL; 50 mL (Iwaki Pyrex), labu erlenmeyer (Iwaki Pyrex), corong saring kecil, corong pisah, dan gelas arloji.

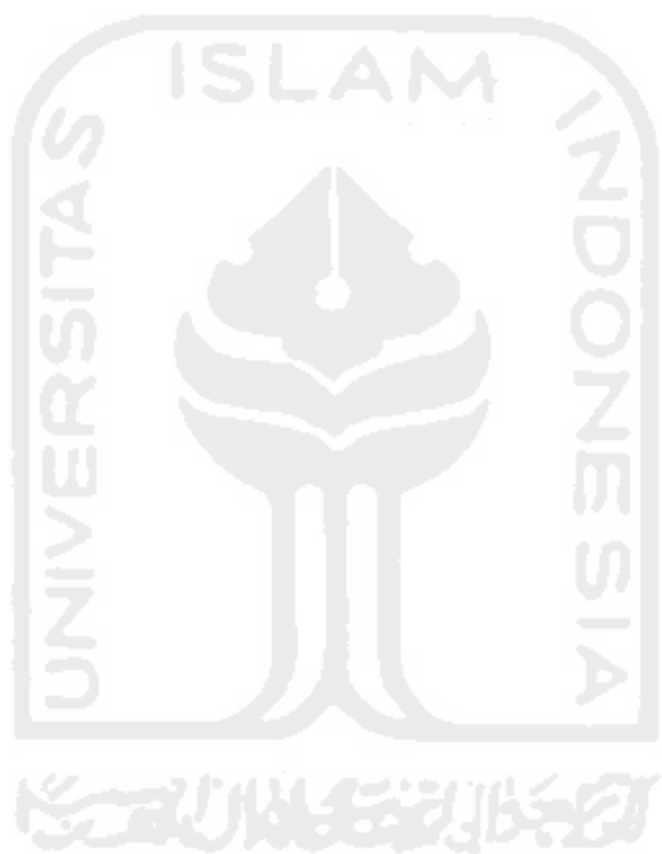
3.2. Cara Penelitian

3.2.1. Pembuatan Fase Gerak

Komposisi fase gerak yang digunakan mengacu pada panduan BPOM, yaitu campuran diklorometan-etil asetat-air (100:50:50) v/v/v dalam volume 30 mL. Lapisan bawah dari campuran tersebut digunakan sebagai fase gerak⁽⁷⁾.

3.2.2. Pembuatan Larutan Penampak Bercak

Sebanyak 50 mL asam asetat glasial, 5 mL anisaldehyda, dan 11 mL asam sulfat pekat dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer bertutup 100 mL dan dikocok secara perlahan⁽⁷⁾.



3.2.3. Pembuatan Stok Larutan Baku Betametason Valerat dan Triamsinolon Asetonida 5000 ppm

Baku pembanding betametason valerat dan triamsinolon asetonida ditimbang seksama lebih kurang 50 mg, dimasukkan ke dalam masing-masing labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan 5 mL methanol. Larutan baku tersebut selanjutnya disonifikasi selama 5 menit dan diencerkan dengan metanol hingga tanda batas.

3.2.4. Pembuatan Larutan Baku Tunggal Betametason Valerat dan Triamsinolon Asetonida 1000 ppm

Larutan baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida 5000 ppm yang telah dibuat masing-masing dipipet sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL. Larutan baku tersebut selanjutnya diencerkan dengan metanol hingga tanda batas.

3.2.5. Pembuatan Larutan Baku Campuran Betametason Valerat dan Triamsinolon Asetonida 1000 ppm

Larutan stok betametason valerat dan triamsinolon asetonida 5000 ppm dipipet masing-masing 5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL. Campuran larutan baku tersebut selanjutnya diencerkan dengan metanol hingga tanda batas.

3.2.6. Pembuatan Larutan Uji

Sebanyak 2 g sampel krim wajah ditimbang, dimasukkan ke dalam tabung sentrifus dan dilarutkan dengan 10 mL metanol. Larutan uji tersebut selanjutnya dipanaskan di atas penangas air selama 10 menit dan dikocok kuat selama 5 menit menggunakan vortex. Campuran tersebut kemudian disentrifus pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dan dimasukkan ke dalam lemari pembeku selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan selanjutnya diuapkan hingga kering di atas penangas air, residu yang tersisa dilarutkan dengan 3 mL metanol dan disaring menggunakan kertas *Whattman*.

3.2.7. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Masing-masing larutan baku tunggal betametason valerat dan triamsinolon asetonida, larutan baku campuran dan pelarut metanol ditotolkan sebanyak 2 μ L pada plat KLT menggunakan linomat. Plat tersebut selanjutnya dikembangkan hingga jarak rambat larutan pengembang mencapai 6 cm dari batas penotolan dan dilakukan pembacaan panjang gelombang 200-400 nm.

3.2.8. Pembuatan Kurva Baku Betametason Valerat dan Triamsinolon Asetonida

Kurva baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida dibuat dengan cara memipet 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, dan 5 mL larutan baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida 1000 ppm dan masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Larutan tersebut selanjutnya diencerkan dengan metanol hingga tanda batas, ditotolkan pada plat KLT, dan dilakukan pembacaan pada panjang gelombang maksimal.

3.2.9. Validasi Metode Analisis

3.2.9.1. Uji Spesifisitas

Sebanyak 2 μ L larutan uji, larutan baku betametason valerat, larutan baku triamsinolon asetonida, larutan baku campuran betametason valerat dan triamsinolon asetonida (3 totolan), serta larutan *spike* sampel ditotolkan pada plat KLT. Plat tersebut selanjutnya dikembangkan hingga jarak rambat larutan pengembang mencapai 6 cm dan dianalisis menggunakan densitometer. Kromatogram yang dihasilkan kemudian dibandingkan dan dihitung nilai resolusi (R_s).

3.2.9.2. Uji Linearitas, LOD, dan LOQ

Larutan kurva baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida yang telah dibuat masing-masing ditotolkan sebanyak 2 μ L ke plat KLT. Kelinearan metode diukur dari kurva hubungan antara area dengan kadar dan dihitung persamaan garis liniernya ($y=bx+a$). Nilai koefisien korelasi (r), LOD, dan LOQ selanjutnya dapat ditentukan menggunakan data luas area.

3.2.9.3. Uji Presisi

Sebanyak 2 μL larutan baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida 300 ppm ditotolkan pada plat sebanyak 6 totalan. Plat tersebut selanjutnya dikembangkan hingga jarak rambat larutan pengembang mencapai 6 cm dari batas awal penotolan dan dianalisis dengan densitometer. Kromatogram yang dihasilkan kemudian dihitung nilai koefisien variansinya.

3.2.9.4. Uji Akurasi

1. Akurasi rendah

Larutan baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida 1000 ppm dipipet masing-masing sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan ke dalam masing-masing larutan uji dalam labu ukur 10 mL. Campuran tersebut kemudian diencerkan dengan metanol hingga tanda batas dan ditotolkan sebanyak 2 μL (3 totalan) pada plat KLT.

2. Akurasi sedang

Larutan baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida 1000 ppm dipipet masing-masing sebanyak 2 mL, kemudian ditambahkan ke dalam masing-masing larutan uji dalam labu ukur 10 mL. Campuran tersebut kemudian diencerkan dengan metanol hingga tanda batas dan ditotolkan sebanyak 2 μL (3 totalan) pada plat KLT.

3. Akurasi tinggi

Larutan baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida 1000 ppm dipipet masing-masing sebanyak 3 mL, kemudian ditambahkan ke dalam masing-masing larutan uji dalam labu ukur 10 mL. Campuran tersebut kemudian diencerkan dengan metanol hingga tanda batas dan ditotolkan sebanyak 2 μL (3 totalan) pada plat KLT.

3.2.9.5. Kisaran (*range*)

Data yang diperoleh dari akurasi, presisi, dan linearitas digunakan untuk menentukan kisaran (*range*). Kisaran merupakan interval kadar analit dari kadar

rendah hingga kadar atas dalam kurva baku yang memenuhi kriteria presisi, akurasi, dan linearitas.

3.2.10. Identifikasi Kandungan Kortikosteroid Topikal di dalam Krim Wajah

Sebanyak 2 μL larutan uji (3 totalan) dan larutan larutan baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida ditotolkan pada plat dan dielusikan hingga jarak rambat larutan pengembang mencapai 6 cm dari batas awal penotolan. Selanjutnya plat dianalisis di bawah sinar UV dan disemprotkan menggunakan larutan penampak bercak.

3.2.11. Penetapan Kadar Kortikosteroid Topikal di dalam Krim Wajah

Sebanyak 2 μL larutan uji (3 totalan), larutan *spike* sampel, larutan baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida ditotolkan pada plat dan dielusikan hingga jarak rambat larutan pengembang mencapai 6 cm dari batas awal penotolan. Plat selanjutnya dikeringkan dan dianalisis menggunakan densitometer. Hasil analisis berupa data luas area kemudian di plotkan pada persamaan regresi linier ($y=bx+a$) untuk memperoleh nilai kadar sampel.

3.3. Analisis Hasil

Identifikasi kandungan senyawa kortikosteroid topikal dilakukan dengan menghitung nilai Rf untuk masing-masing bercak. Nilai Rf yang diperoleh dari larutan uji kemudian dibandingkan dengan larutan baku, dan warna bercak dibawah penyinaran lampu UV serta warna bercak setelah penyemprotan dengan larutan penampak bercak anisaldehida. Sampel dinyatakan positif apabila nilai Rf sampel mendekati atau menyerupai perkiraan nilai Rf senyawa kortikosteroid.

Tabel 3.1. Perkiraan warna bercak dan nilai Rf senyawa kortikosteroid⁽⁷⁾.

Senyawa kortikosteroid	Warna bercak	Perkiraan nilai Rf
Triamsinolon asetonida	Hijau kekuningan	0,3
Betametason 17-valerat	Ungu tua	0,35

Nilai parameter validasi metode mengacu pada ICH dan AOAC. Parameter uji spesifisitas adalah nilai resolusi dengan kriteria keberterimaan $\geq 1,5$. Linearitas dinyatakan dengan nilai koefisien korelasi (r) $> 0,99$. Akurasi dinyatakan dengan persen perolehan kembali sebesar 90-110%, dan presisi sebagai standar deviasi relative (%RSD) serta RSD Horwitz yang sesuai dengan kadar analit yang dianalisis yaitu $< 8\%$ ⁽³⁷⁾.



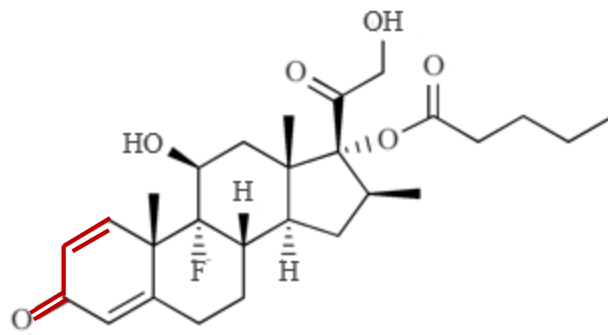
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

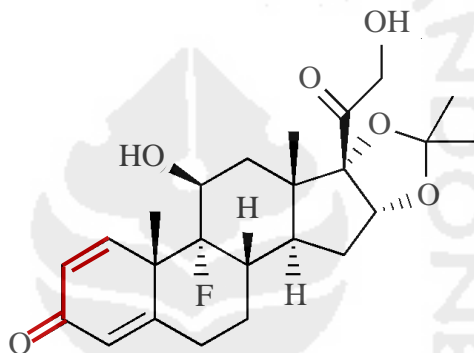
4.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks})

Penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang optimal pada pengukuran betametason valerat dan triamsinolon asetonida secara bersamaan sehingga mampu meningkatkan respon terhadap perubahan kadar yang kecil⁽³⁸⁾. Larutan yang digunakan adalah larutan baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida 300 ppm, larutan baku campuran keduanya, dan pelarut metanol. Pelarut metanol turut serta diujikan dengan tujuan untuk melihat apakah pelarut tersebut dapat mempengaruhi spektra dari larutan baku. Beberapa alasan penggunaan λ_{maks} pada pengukuran, antara lain: meningkatkan kepekaan karena pada panjang gelombang maksimal, perubahan luas area untuk setiap satuan kadar adalah yang paling besar; disekitar panjang gelombang maksimal bentuk kurva yang dihasilkan akan linear; dan jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali, ketika digunakan λ_{maks} ⁽¹²⁾.

Scanning λ_{maks} dilakukan pada panjang gelombang 200-400 nm menggunakan detektor UV. Penggunaan detektor UV disebabkan betametason valerat dan triamsinolon asetonida memiliki gugus kromofor dan auksokrom (**Gambar 4.1** dan **Gambar 4.2**) yang mampu menyerap sinar ultraviolet dan sinar tampak. Gugus kromofor adalah gugus fungsional yang mengabsorpsi radiasi sinar ultraviolet dan sinar tampak jika mereka diikat oleh senyawa-senyawa bukan pengabsorpsi (auksokrom). Hampir semua kromofor memiliki ikatan rangkap terkonjugasi, antara lain: alken; alkin; karbonil; karboksil; amido; azo; nitro; dan lain-lain. Auksokrom merupakan gugus fungsional yang mempunyai elektron bebas, seperti: OH; -O; -NH₂; dan -OCH₃. Terikatnya gugus auksokrom pada gugus kromofor akan mengakibatkan pergeseran pita absorpsi menuju ke panjang gelombang yang lebih besar diikuti dengan peningkatan intensitas⁽¹²⁾⁽³⁸⁾⁽³⁹⁾.

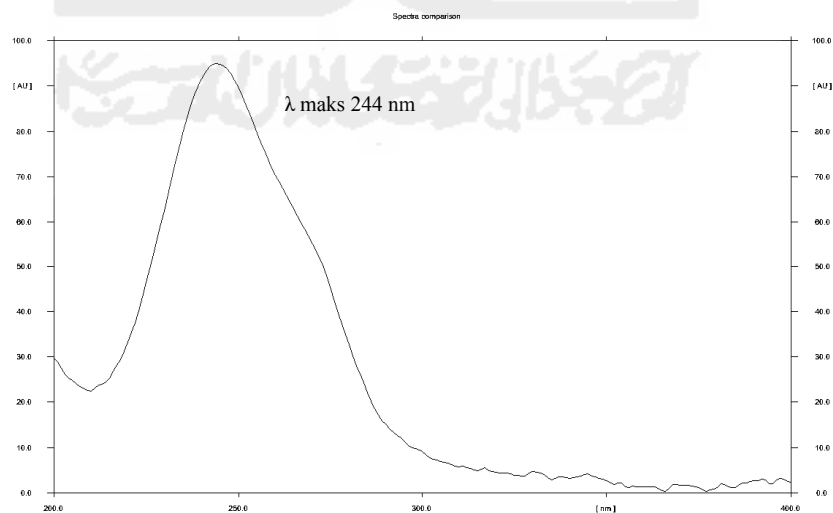


Gambar 4.1. Bagian kromofor betametason valerat.

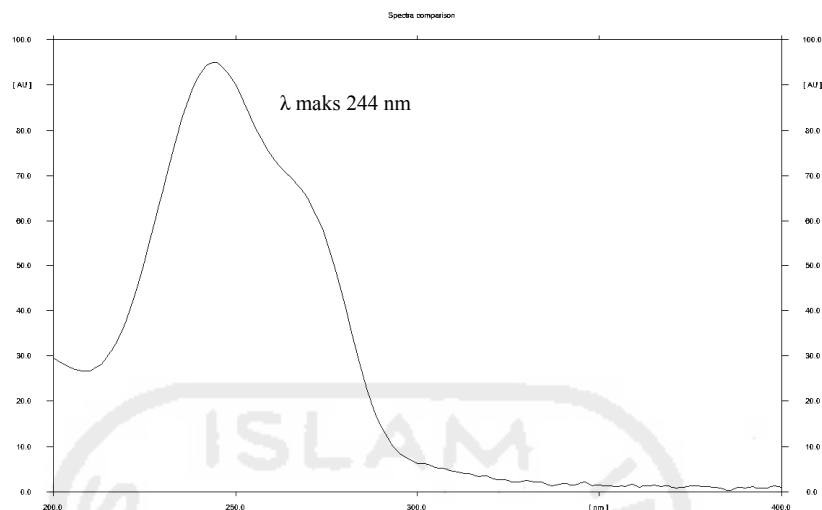


Gambar 4.2. Bagian kromofor triamsinolon asetonida.

Hasil *scanning* menunjukkan λ_{maks} betametason valerat dan triamsinolon asetonida sebesar 244 nm sehingga untuk pengukuran-pengukuran berikutnya digunakan panjang gelombang tersebut.



Gambar 4.3. Spektra larutan baku tunggal betametason valerat.



Gambar 4.4. Spektra larutan baku tunggal triamsinolon asetonida.

4.2. Pembuatan Kurva Baku

Pembuatan kurva baku bertujuan untuk membuat persamaan garis yang digunakan untuk menghitung kadar betametason valerat dan triamsinolon asetonida. Pembuatan kurva baku menggunakan satu seri larutan yang berbeda kadarnya antara 50-150% atau 0-200% kadar analit dalam sampel yang terdiri dari minimal 4 kadar⁽³⁵⁾. Kadar larutan baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida yang digunakan pada penelitian ini adalah sebesar 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm yang merupakan hasil dari optimasi. Kurva baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida yang dihasilkan menunjukkan adanya hubungan yang linear antara luas area (AUC) dan kadar.

Data kurva baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida yang tertera pada **Tabel 4.1** dan **Tabel 4.2** selanjutnya diolah sehingga didapatkan persamaan garis untuk betametason valerat adalah $y = 13,11x + 249,9$ dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9995 dan persamaan garis untuk triamsinolon asetonida adalah $y = 13,314x + 1102,2$ dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9993. Parameter nilai r yang dapat diterima berdasarkan AOAC yakni $\geq 0,99$ sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar betametason valerat dan triamsinolon asetonida dengan AUC memiliki hubungan yang bermakna⁽³⁷⁾. Selanjutnya

persamaan garis yang dihasilkan digunakan untuk menghitung kadar pada uji selanjutnya.

Tabel 4.1. Data pembuatan kurva baku betametason valerat.

Kadar (ppm)	AUC
100	1558,5
200	2929,7
300	4139,1
400	5418,1
500	6869,4

Tabel 4.2. Data pembuatan kurva baku triamsinolon asetonida.

Kadar (ppm)	AUC
100	2347,9
200	3828,3
300	5176,9
400	6420,6
500	7708,9

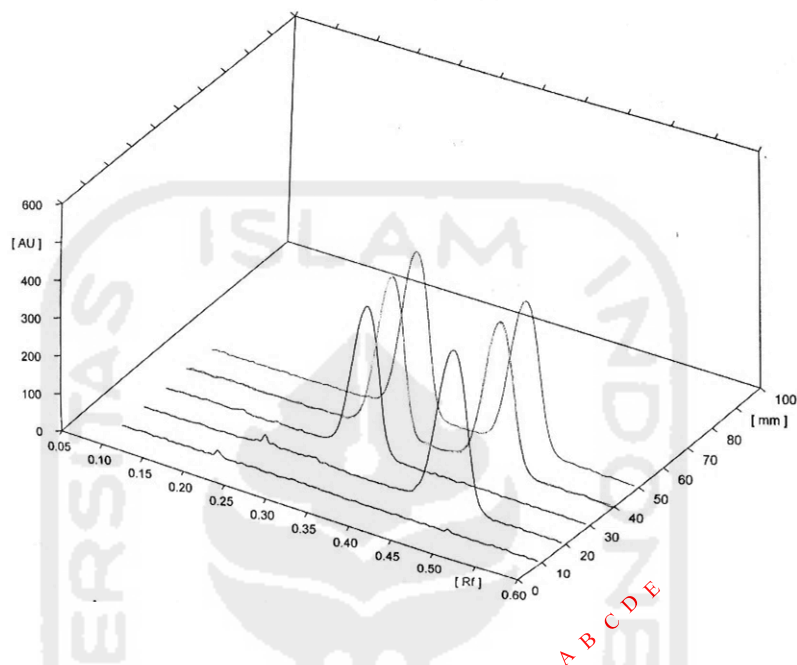
4.3. Validasi Metode Analisis

4.3.1. Uji Spesifisitas

Spesifisitas adalah kemampuan untuk mengukur zat tertentu atau analit yang dituju secara cermat dan spesifik dengan adanya komponen-komponen lain dalam matriks sampel seperti ketidakmurnian, produk degradasi, dan komponen matriks. Uji ini dapat ditentukan dengan membandingkan hasil analisis sampel yang mengandung cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya atau pembawa plasebo dengan hasil analisis sampel tanpa penambahan bahan-bahan tadi⁽³⁴⁾. Berdasarkan AOAC, metode dikatakan telah memenuhi parameter selektivitas apabila nilai resolusi (R_s) yang dihasilkan $\geq 1,5$ ⁽³⁷⁾.

Spesifisitas metode ditentukan dengan cara melakukan pengamatan pada kromatogram larutan uji, larutan baku betametason valerat, larutan baku triamsinolon asetonida, larutan baku campuran betametason valerat dan triamsinolon asetonida, serta larutan *spike*-sampel. Kromatogram yang dihasilkan

menunjukkan bahwa metode KLT-densitometri telah mampu menganalisis analit secara spesifik. Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya gangguan senyawa lain yang terdapat dalam sampel pada pemisahan analit di dalam sampel tersebut.



Gambar 4.5. Kromatogram hasil uji spesifisitas betametason valerat dan triamsinolon asetonida

Keterangan: A. larutan uji, B. baku betametason valerat, C. baku triamsinolon asetonida, D. baku campuran betametason valerat dan triamsinolon asetonida, E. *spike sampel*

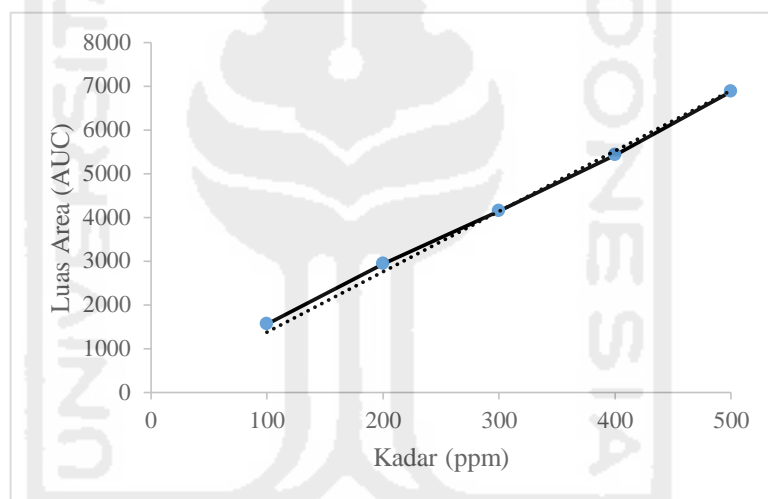
Nilai resolusi (R_s) menyatakan nilai pemisahan antara 2 puncak yang berdekatan. **Tabel 4.3** menunjukkan nilai R_s betametason valerat dan triamsinolon asetonida yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 1,61 sehingga dapat disimpulkan bahwa metode KLT-densitometri telah memenuhi persyaratan spesifisitas berdasarkan AOAC.

Tabel 4.3. Nilai resolusi (R_s) baku campuran betametason valerat dan triamsinolon asetonida.

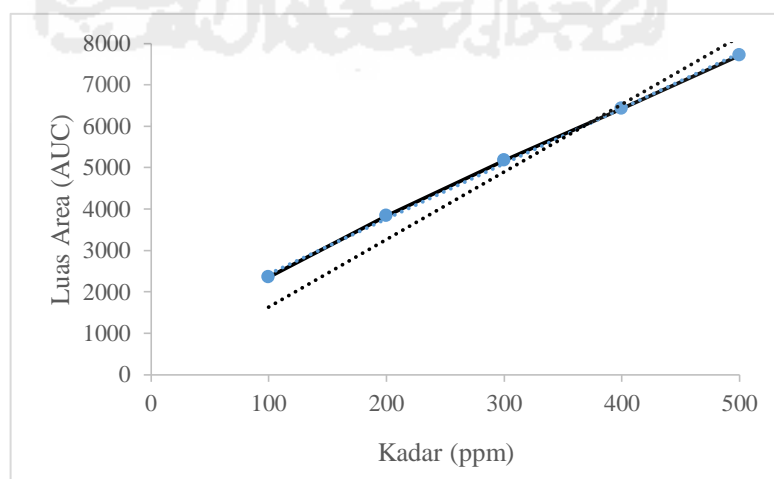
Replikasi	Rf Betametason valerat	Rf Triamsinolon asetonida	Nilai Resolusi (R_s)
1	0,47	0,35	1,67
2	0,47	0,35	1,58
3	0,48	0,36	1,58
Rata-rata			1,61

4.3.2. Uji Linearitas, LOD, dan LOQ

Linearitas adalah kemampuan metode analisis memberikan respon proporsional terhadap kadar analit dalam sampel. Linearitas metode dapat menggambarkan ketelitian pengerjaan analisis suatu metode yang ditunjukkan oleh nilai koefisien korelasi (r) sebesar $\geq 0,99$ ⁽³⁷⁾. Pengujian kurva baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida pada penelitian ini dilakukan pada kadar 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm. Persamaan regresi linear yang diperoleh untuk betametason valerat adalah $y = 13,11x + 249,9$ dengan nilai $r = 0,9995$ dan persamaan garis triamsinolon asetonida adalah $y = 13,314x + 1102,2$ dengan nilai $r = 0,9993$.



Gambar 4.6. Hubungan kadar betametason valerat dengan AUC



Gambar 4.7. Hubungan kadar triamsinolon asetonida dengan AUC.

Nilai r yang diperoleh menunjukkan bahwa antara kadar dengan nilai luas area memiliki hubungan yang linear. Nilai *slope* (b) pada persamaan garis digunakan untuk melihat sensitivitas metode analisis dan dapat menunjukkan kepekaan respons luas area yang dihasilkan oleh instrumen terhadap perubahan konsentrasi. Nilai b yang diperoleh pada kedua persamaan garis menunjukkan bahwa metode memiliki kepekaan yang baik dengan nilai kemiringan sebesar 13,11 untuk betametason valerat dan 13,314 untuk triamsinolon asetonida. Nilai intersep (a) digunakan untuk melihat bias konstan pada metode. Idealnya nilai intersep yang mendekati 0 (nol) menunjukkan bias yang kecil^(12,34). Mengacu pada parameter tersebut, maka nilai intersep betametason valerat dan triamsinolon asetonida yang diperoleh pada persamaan garis menunjukkan adanya bias yang besar.

Batas deteksi merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi, sedangkan LOQ merupakan kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih memenuhi parameter akurasi dan presisi⁽¹³⁾. Nilai LOD dan LOQ dihitung dengan mengukur respon blanko beberapa kali dan dihitung simpangan baku respon blanko tersebut untuk analisis dengan menggunakan instrumen⁽³⁶⁾. Semakin kecil nilai LOD dan LOQ menunjukkan semakin sensitif metode yang digunakan⁽¹²⁾. Nilai LOD untuk betametason valerat dan triamsinolon asetonida masing-masing sebesar 17,90 ppm dan 20,44 ppm sedangkan nilai LOQ keduanya masing-masing sebesar 54,24 ppm dan 61,96 ppm.

4.3.3. Uji Presisi

Presisi didefinisikan sebagai kedekatan hasil pengukuran analitik yang diukur pada kondisi metode yang sama. Presisi biasanya dinyatakan sebagai koefisien variansi (KV) atau standar deviasi relatif (RSD). Presisi pengukuran kuantitatif dapat ditentukan dengan menganalisis sampel berulang-ulang, minimal 6 kali replikasi. Kriteria presisi bersifat fleksibel karena pada penelitian kerap dijumpai bahwa nilai RSD meningkat dengan menurunnya kadar analit yang dianalisis⁽¹³⁾. Menurut AOAC, parameter presisi pada kadar 200-500 ppm dikatakan telah memenuhi syarat apabila memiliki nilai RSD $\leq 8\%$ ⁽³⁷⁾. Nilai RSD

yang diperoleh selanjutnya dibandingkan dengan RSD Horwitz, yaitu kurva berbentuk terompeta yang menghubungkan reproduibilitas dengan kadar analit. Presisi metode dikatakan baik atau memenuhi syarat apabila nilai RSD Horwitz lebih besar dibandingkan nilai RSD yang diperoleh dari percobaan⁽³⁵⁾.

Tabel 4.4. Data presisi betametason valerat.

Replikasi	Kadar (ppm)
1	301,16
2	302,24
3	303,78
4	304,79
5	313,54
6	314,76
Jumlah	1840,27
Rata-rata	306,71
SD	5,90
%RSD	1,92%
RSD Horwitz	6,98

Tabel 4.5. Data presisi triamsinolon asetonida.

Replikasi	Kadar (ppm)
1	285,75
2	281,94
3	287,50
4	273,35
5	302,59
6	300,80
Jumlah	1731,93
Rata-rata	288,65
SD	11,23
%RSD	3,89%
RSD Horwitz	7,09

Uji presisi dilakukan selama 1 hari dengan metode *repeatability* (keterulangan), yaitu pengujian presisi yang dilakukan di bawah kondisi analisis yang sama, pada kondisi yang sama, dan dalam interval waktu yang pendek⁽³⁷⁾. Larutan baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida 300 ppm ditotolkan pada plat sebanyak 6 totolan dan selanjutnya dielusikan di bawah pengaruh fase gerak. Nilai RSD dan RSD Horwitz betametason valerat yang diperoleh sebesar

1,92% dan 6,89 serta triamsinolon asetonida sebesar 3,89% dan 7,09. Nilai tersebut menunjukkan bahwa metode telah memenuhi parameter uji presisi berdasarkan AOAC.

4.3.4. Uji Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan kedekatan antara hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya yang dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (% *recovery*). Akurasi ditentukan melalui 2 cara, yaitu metode simulasi atau metode penambahan baku (adisi). Uji akurasi biasanya dilakukan dengan menggunakan 3 *spike*-sampel yang berbeda kadarnya (rendah, sedang, dan tinggi) dengan 3 kali replikasi untuk mewakili area kerja⁽¹³⁾. Menurut Harmita (2004), rentang penerimaan % *recovery* berbeda-beda tergantung dari kadar analit⁽³⁵⁾. Uji akurasi pada penelitian ini dilakukan dengan metode penambahan baku (adisi) menggunakan baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida dengan 3 rentang kadar yang berbeda. Masing-masing ketiga rentang kadar tersebut diujikan sebanyak 3 totalan.

Persen *recovery* betametason valerat dan triamsinolon asetonida yang diperoleh pada penelitian ini masing-masing sebesar 97,48% dan 98,30%. Berdasarkan AOAC, untuk unit kadar 100 ppm nilai persen *recovery* berkisar antara 90-110%, sehingga dapat disimpulkan bahwa metode KLT-densitometri telah memenuhi persyaratan uji akurasi berdasarkan AOAC.

Tabel 4.6. Data akurasi betametason valerat.

Akurasi	Kadar <i>akurasi</i> (ppm)	Rataan kadar <i>akurasi</i> (ppm)	Kadar standar (ppm)	<i>Recovery</i> (%)	Rataan <i>Recovery</i> (%)
Rendah	105,66	106,37	109,86	96,18	96,83
	106,43			96,88	
	107,03			97,43	
Sedang	211,91	215,86	220,19	96,24	98,03
	216,36			98,26	
	219,31			9,60	
Tinggi	302,39	303,90	311,46	97,09	97,57
	302,01			96,97	
	307,29			98,66	

Rata-rata	97,48
-----------	-------

Tabel 4.7. Data akurasi triamsinolon asetonida.

Akurasi	Kadar <i>akurasi</i> (ppm)	Rataan kadar akurasi (ppm)	Kadar standar (ppm)	<i>Recovery</i> (%)	Rataan <i>Recovery</i> (%)
Rendah	92,53	90,15	91,67	100,93	98,34
	89,14			97,24	
	88,87			96,85	
Sedang	192,80	202,77	212,54	90,71	95,40
	209,35			98,50	
	206,14			96,98	
Tinggi	313,13	319,89	317,58	99,02	101,16
	316,52			100,09	
	330,02			104,36	
Rata-rata					98,30

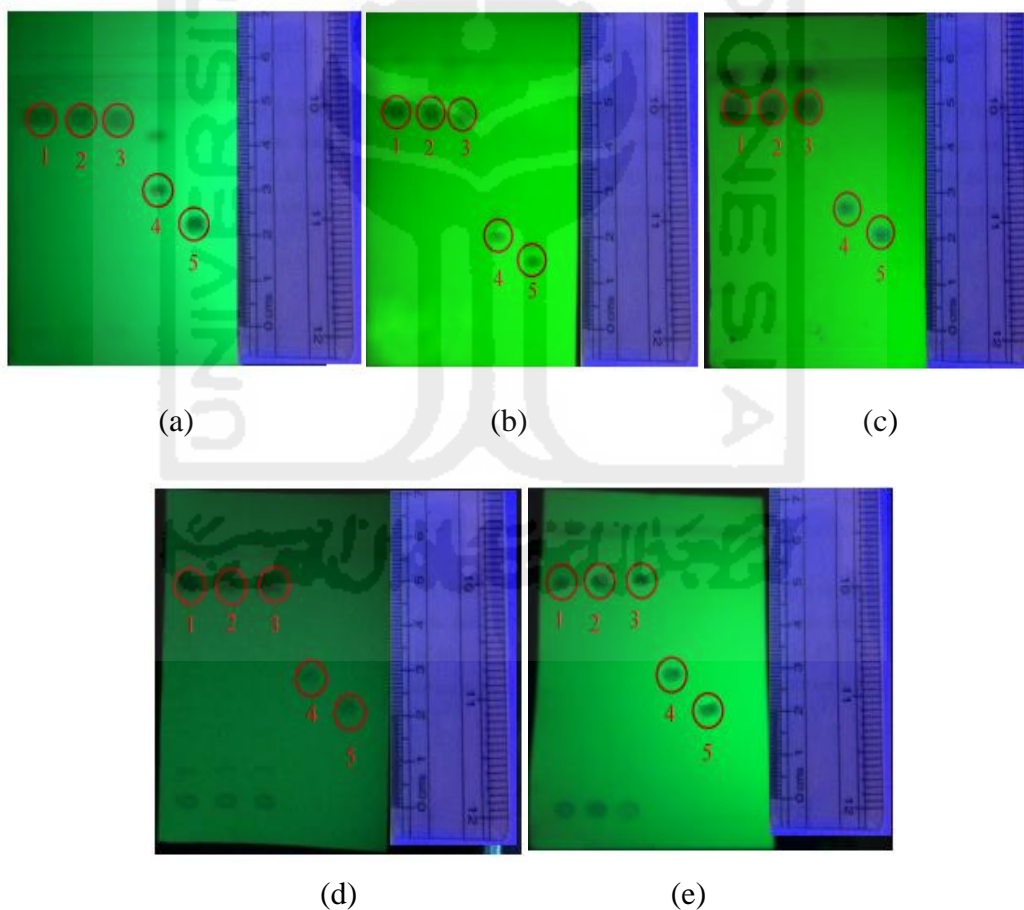
4.3.5. Kisaran (*Range*)

Kisaran (*range*) merupakan pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima⁽¹³⁾. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan bahwa betametason valerat dan triamsinolon asetonida yang telah memenuhi persyaratan presisi, akurasi, dan linearitas berada pada kisaran kadar 100-500 ppm.

4.4. Identifikasi Kandungan Kortikosteroid Topikal di dalam Sediaan Krim Wajah

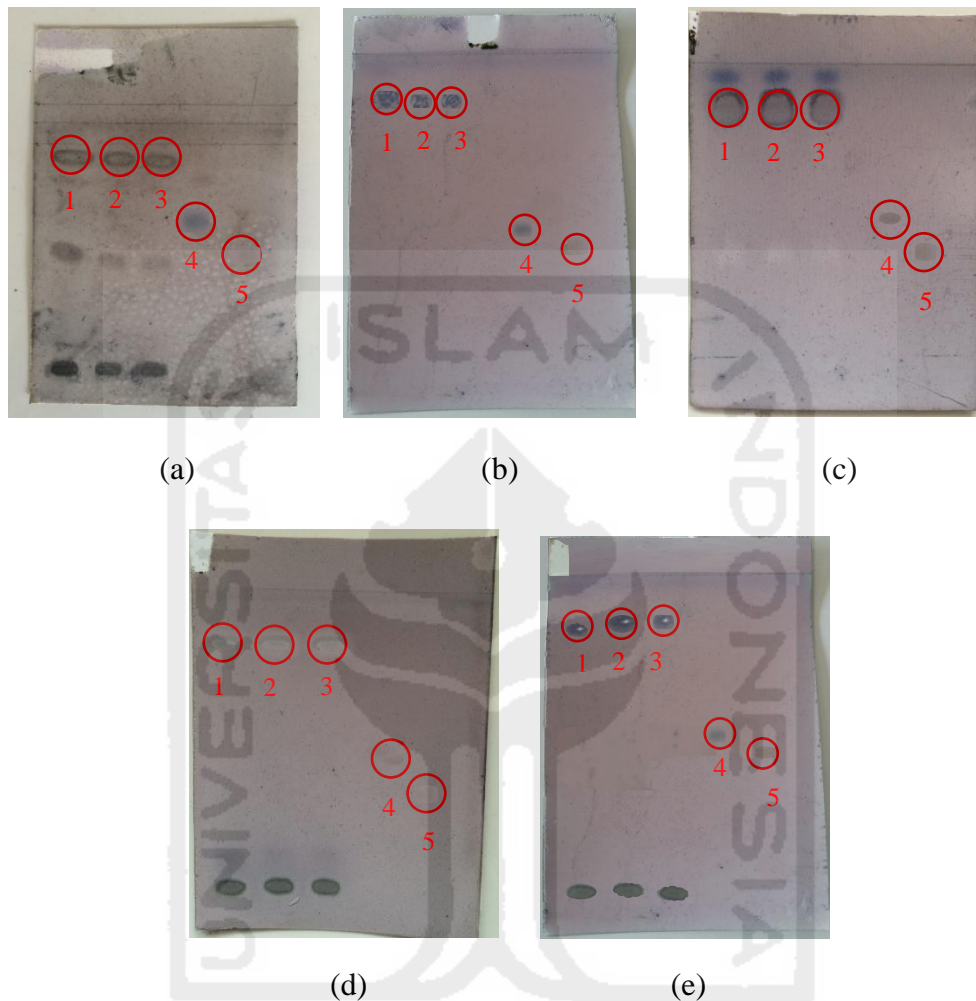
Nilai R_f merupakan parameter yang digunakan untuk mengidentifikasi kandungan betametason valerat dan triamsinolon asetonida di dalam krim wajah. Dua senyawa dikatakan serupa apabila keduanya memiliki nilai R_f yang sama jika diukur pada kondisi KLT yang juga sama. Selain nilai R_f , deteksi bercak juga diperlukan untuk meyakinkan identifikasi, karena umumnya bercak pemisahan pada KLT merupakan bercak yang tidak berwarna. Deteksi bercak dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain deteksi bercak secara kimia, fisika, maupun biologi⁽¹²⁾. Deteksi bercak yang digunakan pada penelitian ini yaitu deteksi secara kimia dengan menggunakan reagen kromogenik yang merupakan

campuran antara anisaldehida dan asam sulfat pekat. Campuran anisaldehida dan asam sulfat pekat merupakan reagen spesifik yang digunakan untuk mendeteksi senyawa kortikosteroid. Reagen ini dapat bereaksi dengan kortikosteroid sehingga membentuk warna yang spesifik tergantung dari jenis kortikosteroid tersebut. Mekanisme reaksi antara reagen ini dengan senyawa kortikosteroid masih belum dapat dijelaskan dengan pasti, namun terdapat beberapa asumsi yang mengaitkannya pada kondensasi dengan gugus aldehyd. Gugus fungsional yang berperan memberikan warna adalah ikatan rangkap dan eter siklik⁽³⁸⁾. Berdasarkan panduan metode analisis kosmetik BPOM larutan penampak bercak anisaldehida yang disemprotkan pada betametason valerat akan menghasilkan warna ungu tua dan pada triamsinolon asetonida akan menghasilkan hijau kekuningan⁽⁷⁾.



Gambar 4.8. Hasil identifikasi kortikosteroid topikal di bawah sinar UV.

Keterangan: (a) sampel A, (b) sampel B, (c) sampel C, (d) sampel D, (e) sampel E, 1. larutan uji rep.1, 2. larutan uji rep.2, 3. larutan uji rep.3, 4. baku betametason valerat, 5. baku triamsinolon asetonida



Gambar 4.9. Hasil identifikasi dengan larutan penampak bercak.

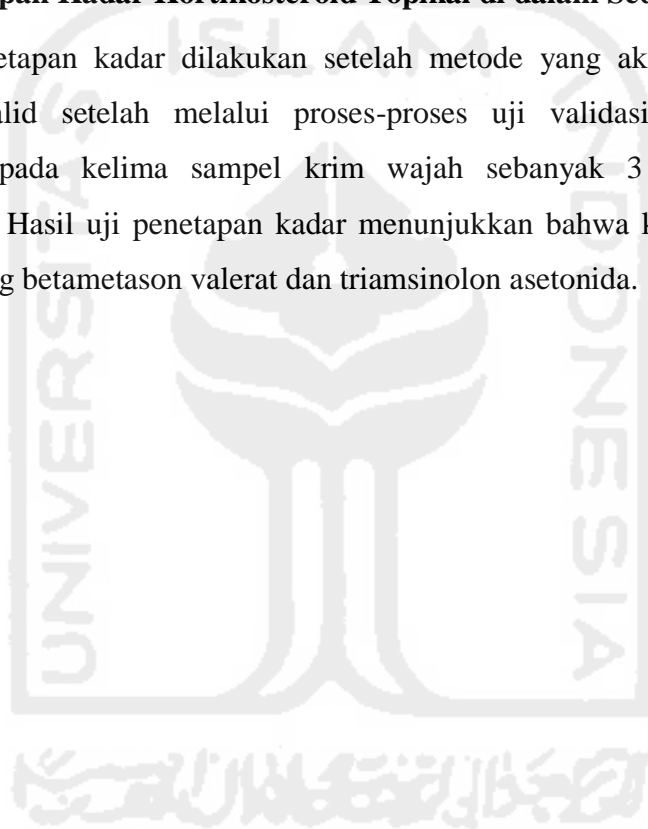
Keterangan: (a) sampel A, (b) sampel B, (c) sampel C, (d) sampel D, (e) sampel E, 1. baku betametason valerat 2. baku triamsinolon asetonida, 3. larutan uji.

Plat KLT yang telah ditotolkan dengan larutan uji serta larutan baku betametason valerat dan triamsinolon asetonida diamati di bawah sinar UV dan disemprotkan dengan larutan penampak bercak campuran anisaldehida dan asam sulfat pekat. Kelima sampel yang diujikan tidak menunjukkan adanya bercak yang setara dengan bercak larutan baku betametason valerat maupun triamsinolon asetonida pada pengamatan di bawah sinar UV. Identifikasi kelima sampel uji menggunakan larutan penampak bercak terjadi perubahan warna spot menjadi ungu tua pada baku betametason valerat dan hijau kekuningan pada baku

triamsinolon asetonida. Hal sebaliknya terjadi pada spot sampel, tidak terjadi perubahan warna yang menandakan adanya reaksi antara betametason valerat maupun triamsinolon asetonida dengan larutan penampak bercak. Berdasarkan hasil identifikasi di bawah sinar UV dan penyemprotan dengan larutan penampak bercak, disimpulkan bahwa kelima sampel tidak mengandung betametason valerat maupun triamsinolon asetonida.

4.5. Penetapan Kadar Kortikosteroid Topikal di dalam Sediaan Krim Wajah

Penetapan kadar dilakukan setelah metode yang akan digunakan telah terbukti valid setelah melalui proses-proses uji validasi. Penetapan kadar dilakukan pada kelima sampel krim wajah sebanyak 3 totalan pada tiap sampelnya. Hasil uji penetapan kadar menunjukkan bahwa kelima sampel tidak mengandung betametason valerat dan triamsinolon asetonida.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Metode KLT-densitometri yang digunakan untuk mengkuantifikasi kandungan kortikosteroid topikal di dalam krim wajah yang diujikan telah memenuhi parameter-parameter validasi ICH dan AOAC, meliputi akurasi, presisi, spesifisitas, linearitas, LOD, LOQ, dan kisaran.
2. Kelima krim wajah yang diujikan menggunakan metode KLT-densitometri tidak mengandung kortikosteroid topikal jenis betametason valerat dan triamsinolon asetonida.

5.2. Saran

1. Perlu dilakukan optimasi menggunakan beberapa fase gerak yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi kandungan kortikosteroid topikal di dalam krim wajah.
2. Perlu dilakukan pengujian kandungan kortikosteroid topikal lainnya di dalam krim wajah dengan tujuan sebagai pemutih sesuai dengan yang tercantum di dalam Metode Analisis BPOM.
3. Perlu dilakukan validasi metode lainnya seperti estimasi ketidakpastian metode, *ruggedness* (ketangguhan) dan *robustness* (kekuatan).

DAFTAR PUSTAKA

1. Chohan SN, Suhail M, Salman S, Bajwa UM, Saeed M, and Kausar S. Facial Abuse of Topical Steroids and Fairness Creams: A Clinical Study of 200 Patients. *JPAD* [serial online]. 2014 [cited 2016 Mar 7]; 24(3):204-211. Available from: PubMed.
2. Rathod SS, Motghare VM, Deshmukh VS, Deshpande RP Bhamare CG, and Patil JR. Prescribing Practices of Topical Corticosteroids in The Outpatient Dermatology Department Of A Rural Tertiary Care Teaching Hospital. *Indian J Dermatol* [serial online]. 2013 [cited 2016 Mar 8]; 58(5): 342–345. Available from: PubMed.
3. Ference JD and Last AR. Choosing Topical Corticosteroid. *Am Fam Physician* [serial online]. 2009 [cited 2016 May 1]; 79(2):135-140. Available from: www.aafp.org/afp/2009/0115/p135.pdf.
4. Carlos G, Uribe P, and Penas PF. Rational Use of Topical Corticosteroid. *Aust Prescr* [serial online]. 2013 [cited 2016 May 10]; 36(5):158-161. Available from <http://www.australianprescriber.com/magazine/36/5/article/1452.pdf>.
5. Dey VK. Misuse Of Topical Corticosteroids: A Clinical Study of Adverse Effect. *Indian Dermatol Online J* [serial on the internet]. 2014 [cited 2016 Mar 7]; 5:436-440. Available from: <http://www.idoj.in/text.asp?2014/5/4/436/142486>.
6. Saraswat A, Lahiri K, Chatterjee M, Barua S, Coondoo A, and Mittal A. Topical Corticosteroid Abuse on The Face: A Prospective, Multicenter Study Of Dermatology Outpatients. *Indian J Dermatol* [serial on the internet] 2011 [cited 2016 Mar 8]; 77: 160-166 Available from: <http://www.ijdv1.com/text.asp?2011/77/2/160/77455>.
7. Badan POM RI. 2011. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.03.1.23.08.11.07331 Tahun 2011 Tentang Metode Analisis Kosmetika*. Jakarta: BPOM.
8. Badan POM RI. 2009. *Public Warning Nomor KH.00.01.43.2503 Tahun 2009*. Jakarta: BPOM.
9. Nam YS, Kwon IK, Lee Y, and Lee KB. Quantitative Monitoring of Corticosteroids in Cosmetic Products Manufactured in Korea Using LC-MS/MS. *Forensic Sci Int* [serial online]. 2012 [cited 2016 May 28]; 220(1-3):e23-8. Available from: PubMed.
10. Gimeno P, Maggio AF, Bancelhon M, Lassu N, Gornes H, Brenier C and Lempereur L. HPLC-UV Method for the Identification and Screening of Hydroquinone, Ethers of Hydroquinone and Corticosteroids Possibly Used as Skin-Whitening Agents in Illicit Cosmetic Products. *JCS* [serial online] 2015 [cited on 2017 January 1]; 1-10.
11. Dolowy M and Pyka A. TLC-Densitometric Method for Qualitative Analysis of Betametason and Its Related Compounds in Pharmaceutical Preparations. *Act Poloniae Pharm* [serial online]. 2014 [cited 2016 May 28]; 71(6): 922-932. Available from: http://www.ptfarm.pl/pub/File/Acta_Poloniae/2014/6/922.pdf

12. Gandjar IG and Rohman A. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar, 2012; hlm. 354-469.
13. ICH. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). USA. 2005; 1-10.
14. Food and Drug Administration. *Cosmetics and U.S. Law*. Diambil dari: <http://www.fda.gov/Cosmetics/GuidanceRegulation/LawsRegulations/ucm2005209.htm>. Diakses 28 April, 2016.
15. Badan POM RI. 2003. *Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.00.05.4.1745 Tentang Kosmetik*. Jakarta: BPOM.
16. Tranggono RI and Latifah F. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta: Gramedia, 2007; hlm. 7-8.
17. Syamsuni A. *Buku Ilmu Resep*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2007; hlm. 25.
18. Dirjen POM RI. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 1995; hlm 440. Jakarta: Depkes RI.
19. Seunghoon H. The Clinical Pharmacology Review For Primary Health Care Providers: II. Steroids. *Transl Clin Pharmacol* [serial online]. 2015 [cited 2016 Apr 28]; 23(1):15-20. Available from: <http://synapse.koreamed.org/Synapse/Data/PDFData/1179TCP/tcp-23-15.pdf>.
20. Lamparckzyk H. *Handbook of Chromatography: Analysis and Characterization of Steroids*. USA: CRC Press, 2000; hlm. 95.
21. Gupta P and Bhatia V. Corticosteroid Physiology and Principles of Therapy. *Indian J Pediatr* [serial online] 2008 [cited 2016 Apr 29]; 75(10): 1039-1044. Available from: <http://medind.nic.in/icb/t08/i10/icbt08i10p1039.pdf>.
22. Inakanti Y, Thimmasharti VN, Anupama, Kumar S, Nagaraj A, Peddireddy S, and Rayapati A. Topical Corticosteroids: Abuse and Misuse. *Our Dermatol Online* [serial on the internet]. 2015 [cited 2016 8 Mar]; 6(2):130-134. Available from: <http://www.odermatol.com/odermatology/20152/2.Topical-InakantiY.pdf>.
23. Coondoo A. Topical Corticosteroid Misuse: The Indian Scenario. *Indian J Dermatol* [serial online] 2014 [cited 2016 Apr 29]; 59(5): 451-455. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4171911/>.
24. Rathi SK and D'Souza P. Rational and Ethical Use of Topical Corticosteroids Based on Safety and Effication. *Indian J Dermatol* [serial online] 2012 [cited 2016 May 1]; 57(4): 251-259. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3401837/>.
25. Sweetman SC. *Martindale: The Complete Drug Reference*. United Kingdom: Pharmaceutical Press, 2009; hlm. 1519, 1535, 1544.
26. Anonim. *US Pharmacopeia*. Available from: <http://www.pharmacopeia.cn/usp.asp>. Diakses 1 Mei 2016.
27. Pubchem. *Betamethasone valerate*. Diambil dari: URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/betamethasone_valerate. Diakses pada 8 Maret 2016.

28. Badan POM RI. Pusat Informasi Obat Nasional. Available from: <http://pionas.pom.go.id/monografi>. Diakses 1 Mei 2016.
29. Pubchem. *Triamcinolone acetonide*. Diambil dari: URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6436>. Diakses pada 8 Maret 2016.
30. Gagliardi L, Orsi DD, Giudice MR, Gatta F, Porra R, Chimenti P, and Tonelli D. Development of a Tandem Thin-Layer Chromatography Method for Identification and Determination of Corticosteroid in Cosmetics Product. *Analytica Chimica Acta* [serial online]. 2002 [cited 2016 June 2]; 457(2):187-198. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000326700200017X>.
31. Spangenberg B, Pool CF and Weins C. *Theoretical Basis of Thin Layer Chromatography (TLC: A Practical Survey)*. New York: Springer, 2011; hlm. 24-67.
32. NPTEL. *Thin Layer Chromatography*. Diambil dari: URL: <http://nptel.ac.in/courses/102103047/21>. Diakses 8 Maret 2016.
33. Sherma J and Fred B. *Handbook of Thin Layer Chromatography*, New York: Marcel Dekker Inc, 2003; hlm. 146, 793.
34. Gonzales AG and Herrador MA. A Practical Guide to Analytical Method Validation Including Measurement Uncertainty and Accuracy Profiles. *Trends Anal. Chem* [serial online] 2007 [cited on 2017 January 1]; 26(3): 232.
35. Harmita. Petunjuk Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian* [review artikel]. 2004 [disitasi 8 Juni 2016];1(3):117-135.
36. Riyanto. *Validasi dan Verifikasi Metode Uji*. Yogyakarta: Deepublish Publisher, 2014; hlm. 21-78.
37. AOAC. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemist. Washington. 1995; 1-38.
38. Watson DG. *Analisis Farmasi: Buku Ajar untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi*, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2009; hlm. 367-377.
39. Karunawati MS. Validasi Metode Kromatografi Lapis Tipis Densitometri Pada Penetapan Kadar Campuran Deksametason dan Deksklorfeniramin Maleat dalam Kaplet [skripsi]. 2013 [disitasi 8 Juni 2016]; 24.

Lampiran 2. Sertifikat analisis triamsinolon asetonida



BADAN POM RI

SERTIFIKAT ANALISIS

NAMA ZAT : **TRIAM SINOLON ASETONIDA** BPFI
 NO KONTROL : B0114287
 FORMULA : $C_{24}H_{31}FO_6$
 BOBOT MOLEKUL : 434.5 g/mol



TUJUAN PENGGUNAAN : - identifikasi secara spektrofotometri inframerah
 - identifikasi secara spektrofotometri ultraviolet
 - identifikasi secara kromatografi cair kinerja tinggi
 - Uji senyawa sejenis secara kromatografi cair kinerja tinggi
 - penetapan kadar secara kromatografi cair kinerja tinggi

WADAH DAN PENYIMPANAN : Dalam wadah tertutup rapat, dan terhindar dari cahaya

PENGUJIAN	ACUAN/METODE	SPEKIFIKASI	HASIL
Pemerian		Serbuk hablur, putih sampai krem	Memenuhi syarat
Identifikasi	Spektrofotometri Inframerah (BP 2009 hal. 2073)	Sesuai dengan spektrum inframerah baku primer <i>Triamsinolon acetonide</i> USPRS no. Lot K	Memenuhi syarat
	Spektrofotometri Ultraviolet (FI IV hal. 802)	Sesuai dengan spektrum ultraviolet baku primer <i>Triamsinolon acetonide</i> USPRS no. Lot K	Memenuhi syarat
	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (USP 32 hal. 3782)	Sesuai dengan waktu retensi baku primer <i>Triamsinolon acetonide</i> USPRS no. Lot K	Memenuhi syarat
Kadar Air	(BP 2009 hal. 2074)	≤ 2,0%	1,72%
Uji senyawa sejenis	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (BP 2009 hal. 2074)	Cemaran A ≤ 0,25% Cemaran total ≤ 0,5%	Tidak terdeteksi cemaran A -Cemaran 1 = 0,25 % -Cemaran 2 = 0,10 % -Cemaran 3 = 0,28 % -Cemaran total = 0,63 %
Penetapan Kadar	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (USP 32 hal. 3782)	97,0% - 102,0%	98,02 ± 1,37%



Kantor Pusat Pengujian Obat dan Makanan Nasional
 U.b. Merdika, Teknis Laboratorium Bahan Baku Pembanding

Dra. Dini Prati Karyani, M.Si., Apt.
 NIP. 19601223 199503 2 001

BADAN PENGAWAS OBAT DAN MAKANAN REPUBLIK INDONESIA
 Jl. Percetakan Negara No. 23, Jakarta Pusat 10560 Telp. 4245075, Fax. : 4201427, 4245150, E-mail. : ppomn@pom.go.id

Lampiran 3. Data dan perhitungan pembuatan kurva baku

3.1. Data pembuatan kurva baku

Data kurva baku betametason valerat

X	y	yi	(y-yi)	(y-yi) ²
100	1558,5	1560,9	-2,4	5,76
200	2929,7	2871,9	57,8	3340,84
300	4139,1	4182,9	-43,8	1918,44
400	5418,1	5493,9	-75,8	5745,64
500	6869,4	6804,9	64,5	4160,25
Jumlah (Σ)				15171,93
Sy/x				71,11
\bar{X} konsentrasi				300
$(Sy/x)/\bar{X}$				0,23
$((Sy/x)/\bar{X})/b$				0,018
Vx0				1,81%

Persamaan regresi linear betametason valerat:

$$y = 13,11x + 249,9$$

$$r = 0,9995$$

Data kurva baku triamsinolon asetonida

X	y	yi	y-yi	(y-yi) ²
100	2347,9	2433,6	-85,7	7344,49
200	3828,3	3765	63,3	4006,89
300	5176,9	5096,4	80,5	6480,25
400	6420,6	6427,8	-7,2	51,84
500	7708,9	7759,2	-50,3	2530,09
Jumlah (Σ)				20413,56
Sy/x				82,49
\bar{X} konsentrasi				300
$(Sy/x)/\bar{X}$				0,27
$((Sy/x)/\bar{X})/b$				0,021
Vx0				2,10%

Persamaan regresi linear triamsinolon asetonida:

$$y = 13,314x + 1102,2$$

$$r = 0,9993$$

3.2. Perhitungan pembuatan kurva baku

a). 100 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 1 \text{ mL}$$

b). 200 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 200 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 2 \text{ mL}$$

c). 300 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 300 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 3 \text{ mL}$$

d). 400 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 400 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 4 \text{ mL}$$

e). 500 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 500 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 5 \text{ mL}$$

Lampiran 4. Perhitungan nilai resolusi

Contoh perhitungan nilai resolusi replikasi 1

$$\text{Nilai resolusi (Rs)} = \frac{2(\max Rf1 - \max Rf2)}{(\text{end Rf1} - \text{start Rf1}) + (\text{end Rf2} - \text{start Rf2})}$$

$$\text{Nilai resolusi (Rs)} = \frac{2(0,50 - 0,35)}{(0,53 - 0,45) + (0,38 - 0,28)}$$

$$\text{Nilai resolusi (Rs)} = \frac{2(0,15)}{(0,08) + (0,1)}$$

$$\text{Nilai resolusi (Rs)} = 1,67$$

Lampiran 5. Contoh perhitungan nilai LOD dan LOQ

Perhitungan nilai LOD dan LOQ betametason valerat

$$\text{LOD} = (3,3 \times S_{y/x})/b$$

$$\text{LOD} = (3,3 \times 54,24)/13,11$$

$$\text{LOD} = 17,90 \text{ ppm}$$

$$\text{LOQ} = (10 \times S_{y/x})/b$$

$$\text{LOQ} = (10 \times 54,24)/13,11$$

$$\text{LOQ} = 54,24 \text{ ppm}$$

Lampiran 6. Data dan perhitungan uji presisi

Data uji presisi betametason valerat

Luas Area	Kadar (X)	Xi-X	(Xi-X) ²
4198,1	301,16	5,55	30,83
4212,3	302,24	4,47	19,98
4232,5	303,78	2,92	8,56
4245,7	304,79	1,92	3,69
4360,4	313,54	-6,82	46,61
4376,4	314,76	-8,05	64,76
Jumlah (Σ)	1840,27		174,45
Rata-rata (\bar{X})	306,71		
SD	5,90		
%RSD	1,92		
RSD Horwitz	6,75		

Data uji presisi triamsinolon asetonida

Luas Area	Kadar (X)	Xi-X	(Xi-X) ²
4906,7	285,75	2,90	8,43
4856	281,94	6,71	45,04
4910,2	287,50	1,16	1,34
4741,6	273,35	15,30	234,20
5130,9	302,60	-13,94	194,21
5107	300,80	-12,14	147,40
Jumlah (Σ)	1731,93		630,64
Rata-rata (\bar{X})	288,65		
SD	11,23		

%RSD	3,89
RSD Horwitz	6,82

a. Contoh perhitungan konsentrasi:

$$y = 13,11x + 249,9$$

$$4198,1 = 13,11x + 249,9$$

$$x = \frac{4198,1 - 249,9}{13,11}$$

$$= 301,15 \text{ ppm}$$

b. Contoh perhitungan SD, RSD, dan RSD Horwitz:

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

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

$$RSD \text{ Horwitz} = 2^{(1 - 0,5 \log C)}$$

Keterangan:

X = nilai dari masing-masing pengukuran

\bar{X} = nilai rata-rata dari pengukuran

n = frekuensi penetapan

C = rata-rata konsentrasi (% b/v)

$$SD = \sqrt{\frac{174,45}{6 - 1}}$$

$$SD = 5,91$$

$$RSD = \frac{5,91}{306,71} \times 100\%$$

$$RSD = 1,92\%$$

Contoh perhitungan RSD Horwitz:

$$306,71 \text{ ppm} = \frac{306,71 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{0,30671 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} = \frac{0,030671 \text{ gram}}{100 \text{ ml}}$$

$$\text{Berat jenis} = 1,25 \text{ gram/ml}$$

$$\left(\frac{a}{b}\right) = \frac{0,030671 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} : 1,25 \frac{\text{gram}}{\text{ml}} = \frac{0,024 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} = 0,00024$$

$$\text{RSD Horwitz} = 2 \times C^{-0,15}$$

$$\text{RSD Horwitz} = 2 \times 0,00024^{-0,15}$$

$$\text{RSD Horwitz} = 6,98$$

Lampiran 7. Data dan perhitungan uji akurasi

Data uji akurasi betametason valerat

Akurasi	Rep	Area	Kadar akurasi (ppm)	Kadar standar (ppm)	Kadar sampel (ppm)	Recovery (%)	Rata-rata Recovery (%)
Rendah	1	1635,1	105,66	109,86	0	96,18	96,83
	2	1645,2	106,43			96,88	
	3	1653,1	107,03			97,43	
Sedang	1	3028,0	211,91	215,86	0	96,24	98,03
	2	3086,4	216,36			98,26	
	3	3125,0	219,31			99,60	
Tinggi	1	4214,2	302,39	303,90	0	97,09	97,57
	2	4209,3	302,01			96,97	
	3	4278,5	307,29			98,66	
Rata-rata							97,48

Data uji akurasi triamsinolon asetonida

Akurasi	Rep	Area	Kadar akurasi (ppm)	Kadar standar (ppm)	Kadar sampel (ppm)	Recovery (%)	Rata-rata Recovery (%)
Rendah	1	2334,1	92,53	91,67	0	100,93	98,34
	2	2289,0	89,14			97,24	
	3	2284,2	88,78			96,85	
Sedang	1	3669,2	192,80	212,54	0	90,71	95,40
	2	3889,6	209,36			98,50	
	3	3846,8	206,14			96,99	
Tinggi	1	5271,2	313,13	316,23	0	99,02	101,16
	2	5316,3	316,52			100,09	
	3	5496,1	330,02			104,36	
Rata-rata							98,30

a. Contoh perhitungan konsentrasi

Persamaan garis betametason valerat:

$$y = 13,11x + 249,9$$

Akurasi rendah:

$$x = \frac{1635,1 - 249,9}{13,11}$$

$$x = 105,66 \text{ ppm}$$

Akurasi sedang:

$$x = \frac{3028,0 - 249,9}{13,11}$$

$$x = 211,91 \text{ ppm}$$

Akurasi tinggi:

$$x = \frac{4214,2 - 249,9}{13,11}$$

$$x = 302,39 \text{ ppm}$$

b. Contoh perhitungan %recovery

$$\%recovery = \frac{(C_f - CA)}{C * A} \times 100$$

Keterangan:

C_f : kadar total sampel hasil pengukuran

CA : kadar sampel sebenarnya

$C * A$: kadar analit yang ditambahkan

Akurasi rendah:

$$\%Recovery = \frac{(105,66 - 0)}{106,37} \times 100\%$$

$$\%Recovery = 96,18\%$$

Akurasi sedang:

$$\%Recovery = \frac{(211,91 - 0)}{220,19} \times 100\%$$

$$\%Recovery = 96,24\%$$

Akurasi tinggi:

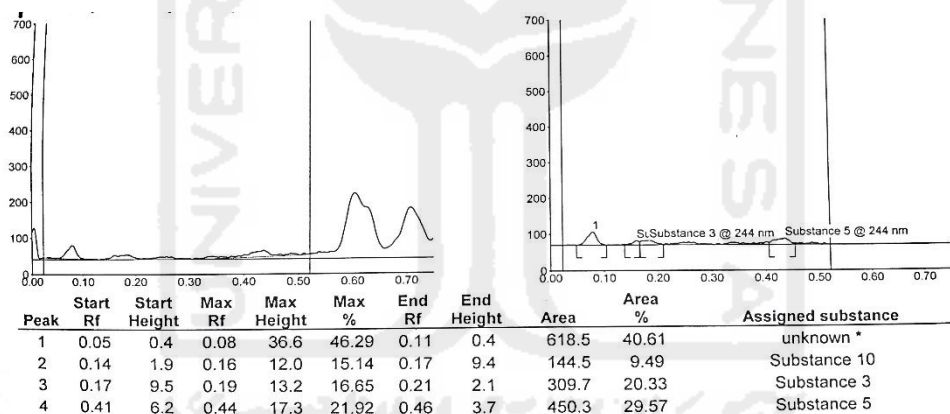
$$\%Recovery = \frac{(302,39 - 0)}{311,46} \times 100\%$$

$$\%Recovery = 97,09\%$$

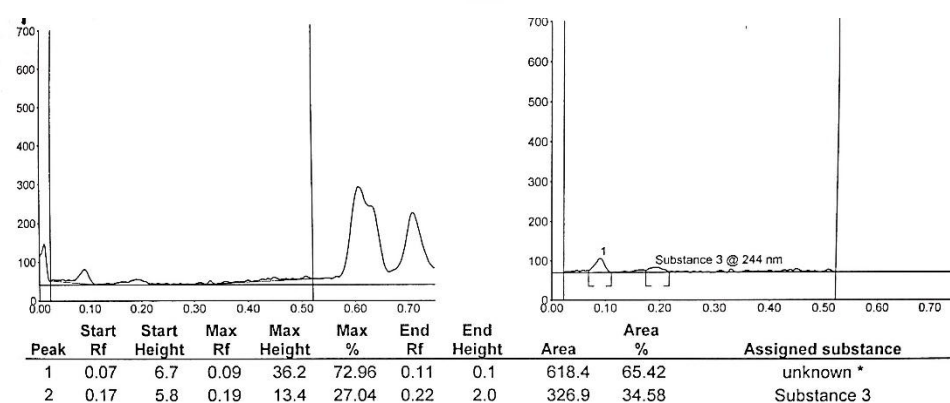
Lampiran 8. Kromatogram penetapan kadar kandungan kortikosteroid topikal di dalam krim wajah racikan dokter

8.1. Sampel A

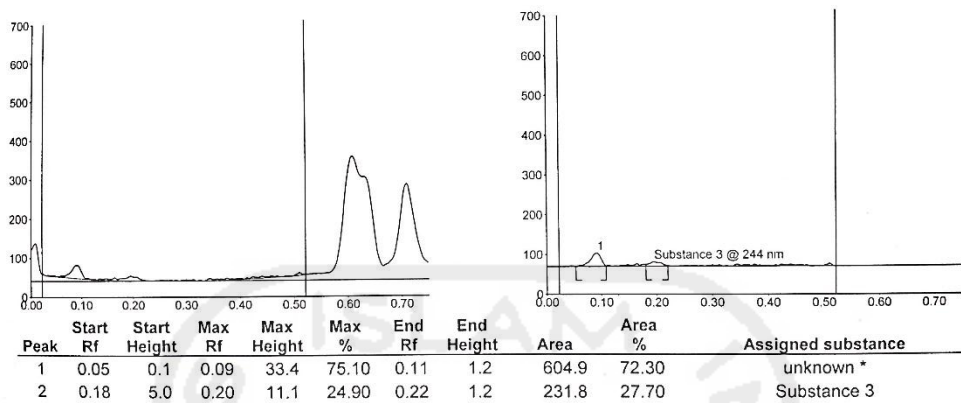
a. Replikasi 1



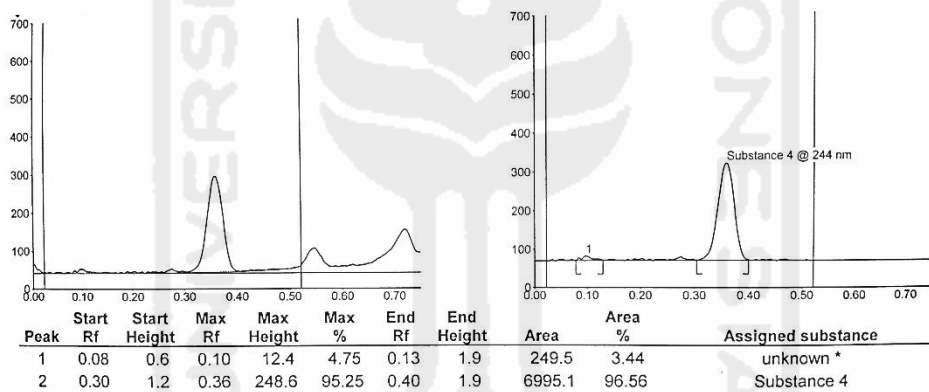
b. Replikasi 2



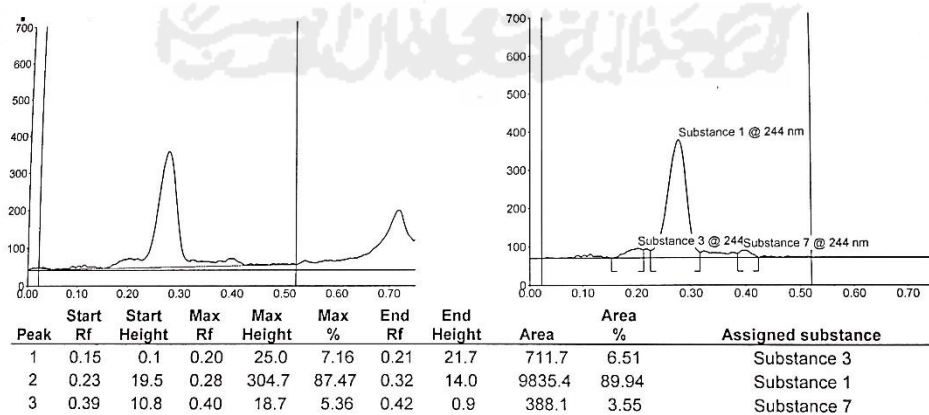
c. Replikasi 3



d. Baku betametason valerat

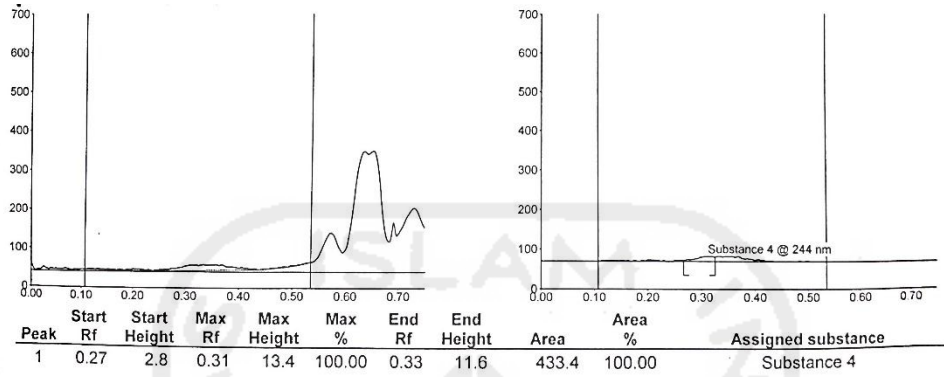


e. Baku triamsinolon asetonida

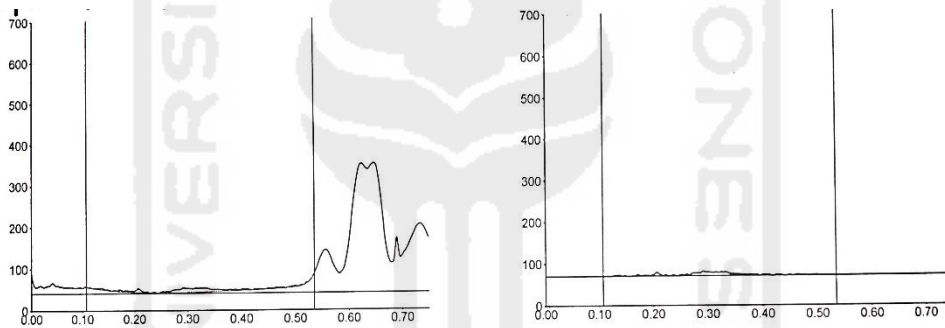


8.2. Sampel B

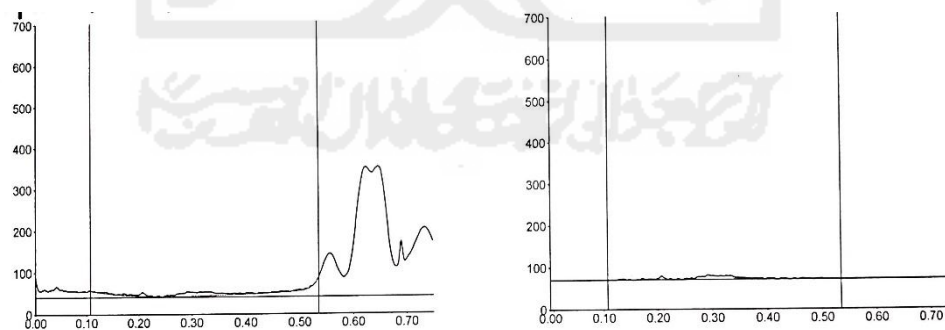
a. Replikasi 1



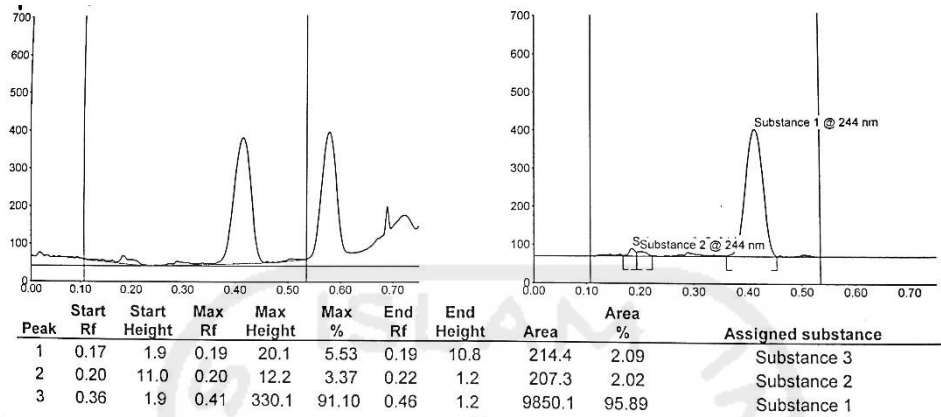
b. Replikasi 2



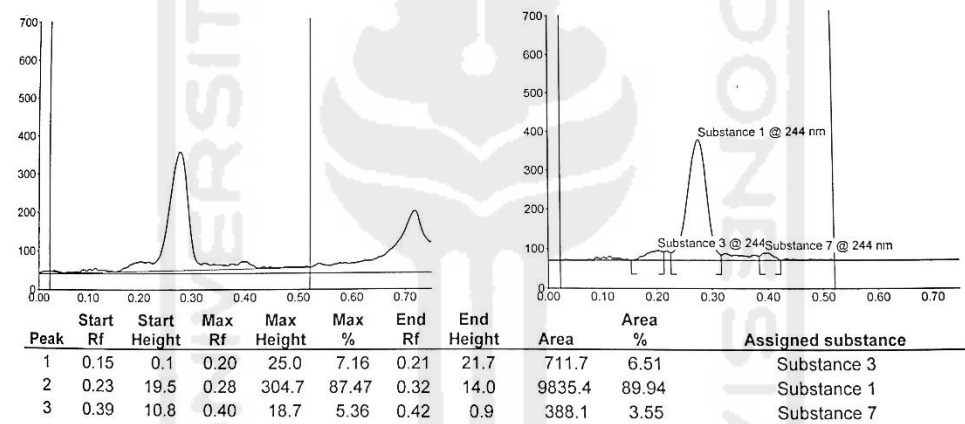
c. Replikasi 3



d. Baku betametason valerat

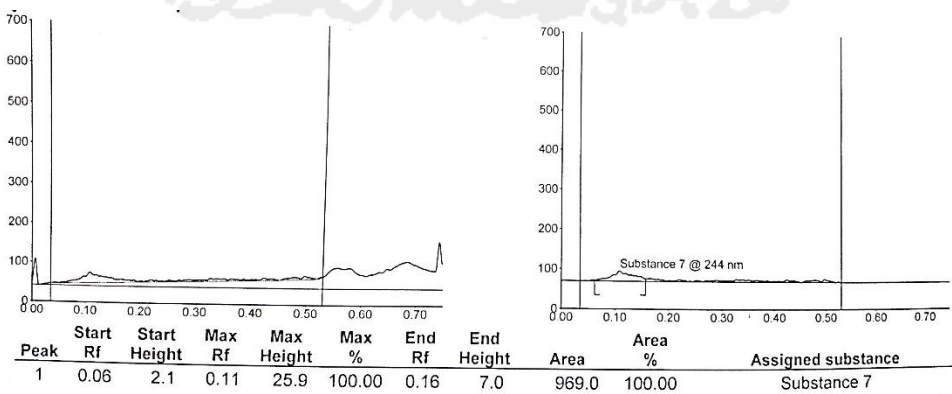


e. Baku triamsinolon asetonida

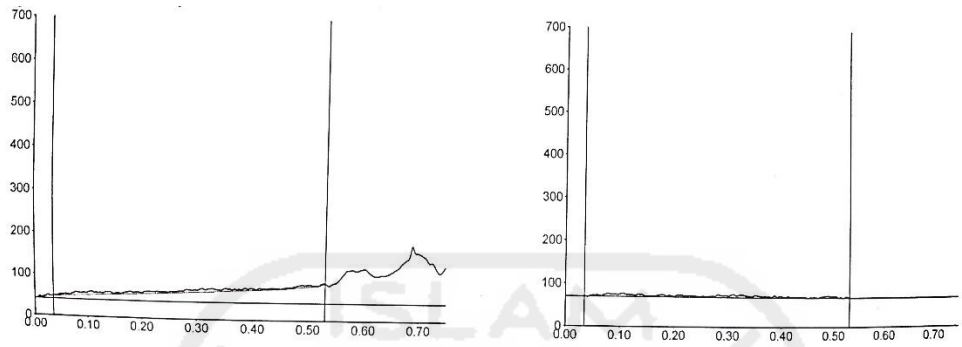


8.3 Sampel C

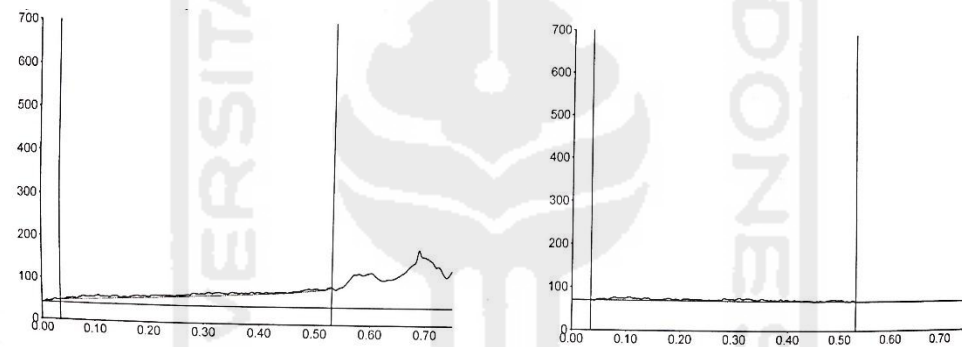
a. Replikasi 1



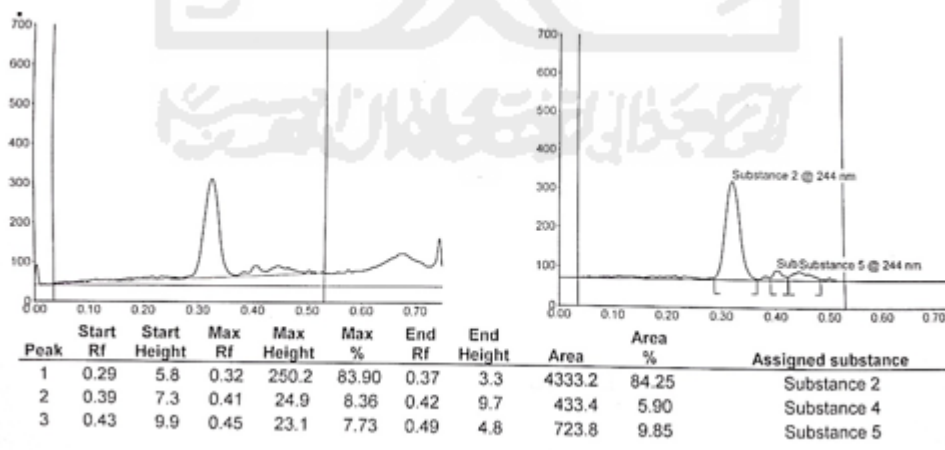
b. Replikasi 2



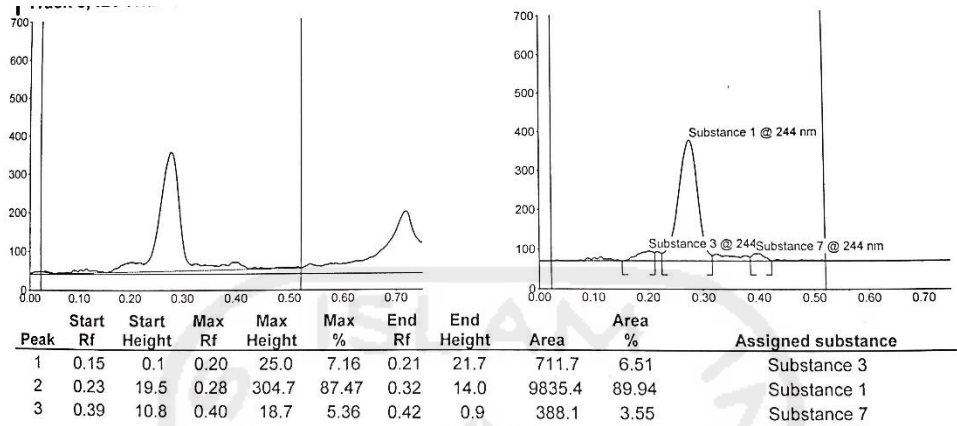
c. Replikasi 3



d. Baku betametason valerat

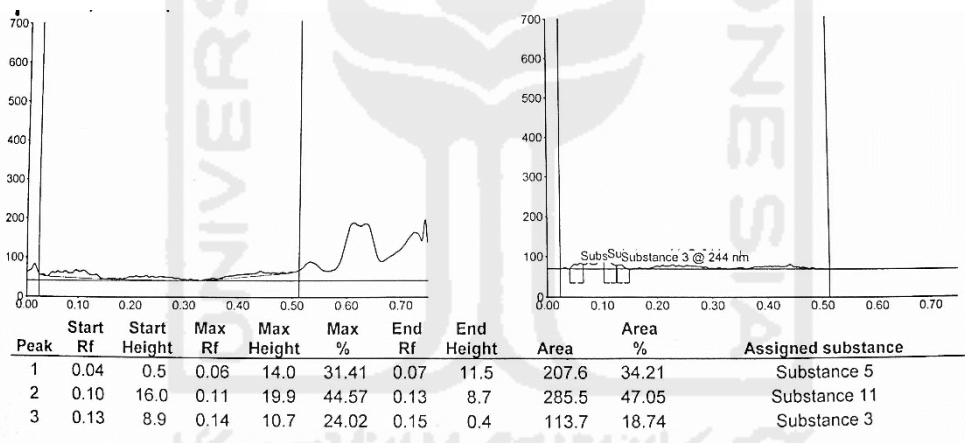


e. Baku triamsinolon asetonida

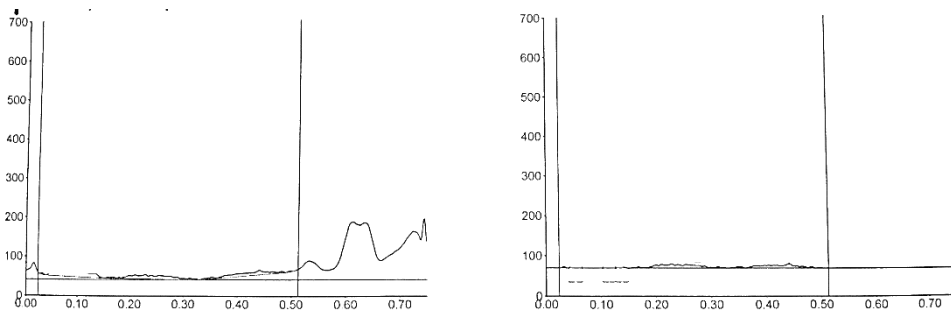


8.4. Sampel D

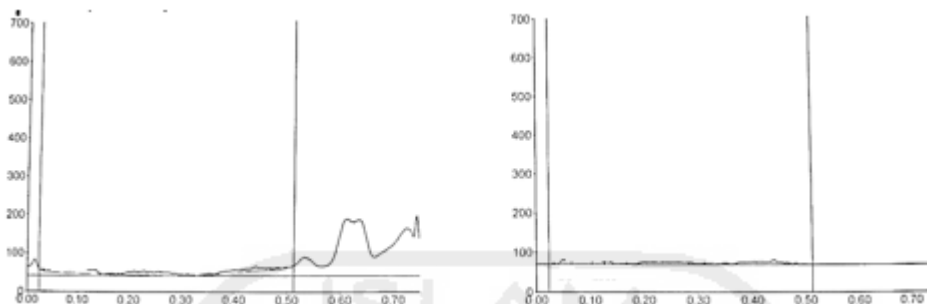
a. Replikasi 1



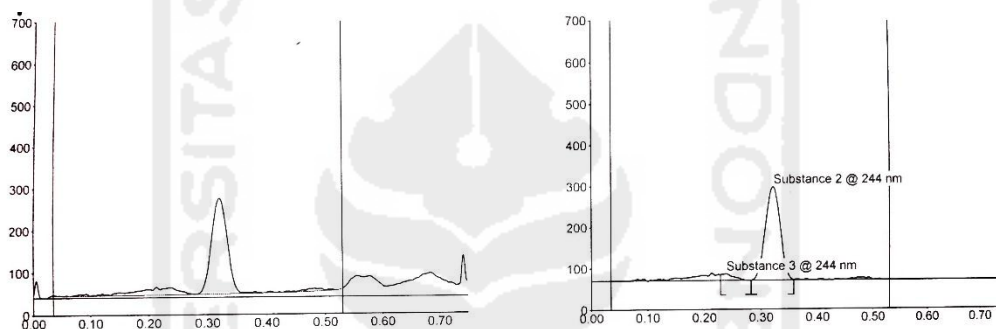
b. Replikasi 2



c. Replikasi 3

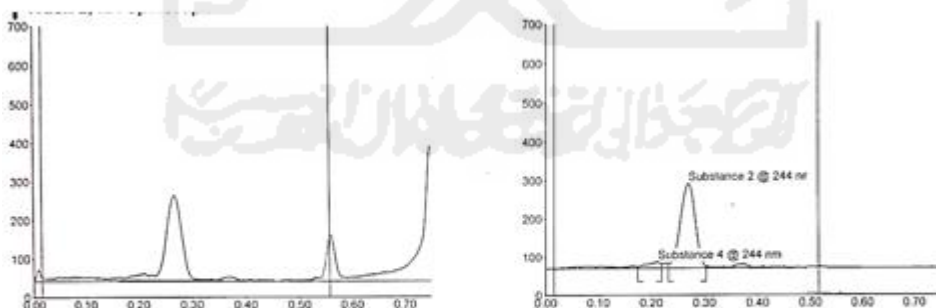


d. Baku betametason valerat



Peak	Start Rf	Start Height	Max Rf	Max Height	Max %	End Rf	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.23	14.2	0.24	16.1	6.64	0.28	0.1	350.4	5.94	Substance 3
2	0.28	0.3	0.32	226.6	93.36	0.36	1.3	4214.2	94.06	Substance 2

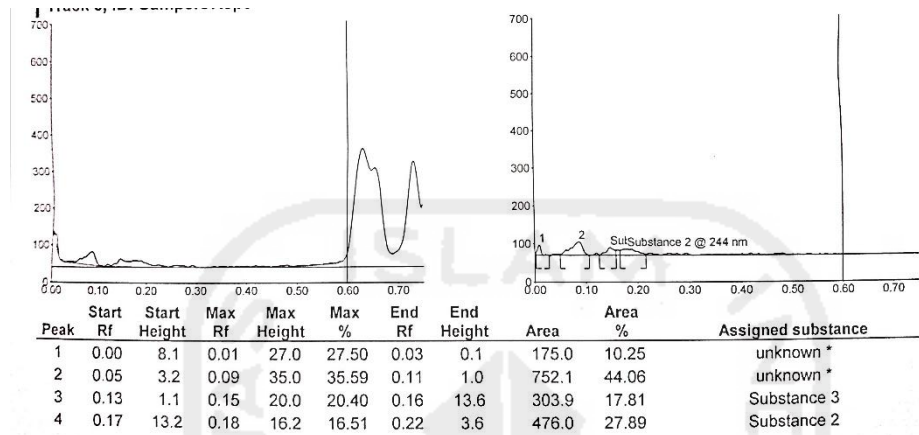
e. Baku triamsinolon asetonida



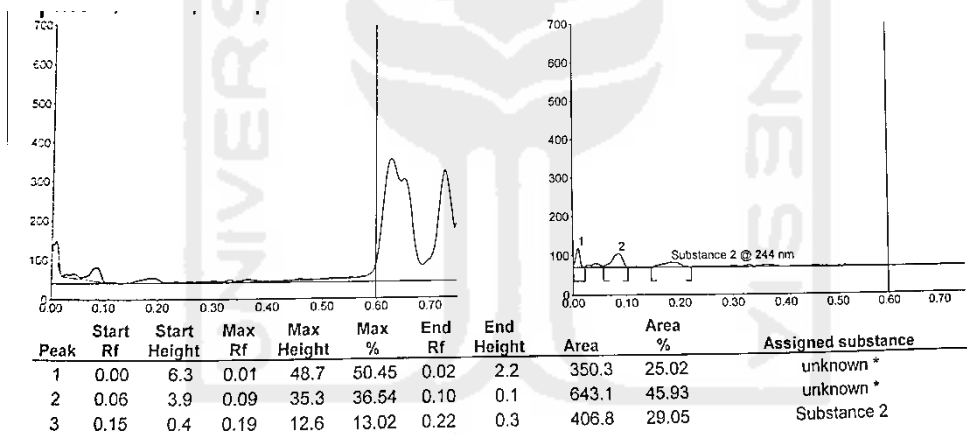
Peak	Start Rf	Start Height	Max Rf	Max Height	Max %	End Rf	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.17	4.0	0.21	16.8	7.12	0.22	11.3	412.1	6.77	Substance 4
2	0.23	11.0	0.27	219.4	92.88	0.30	4.0	5271.2	93.23	Substance 2

8.5. Sampel E

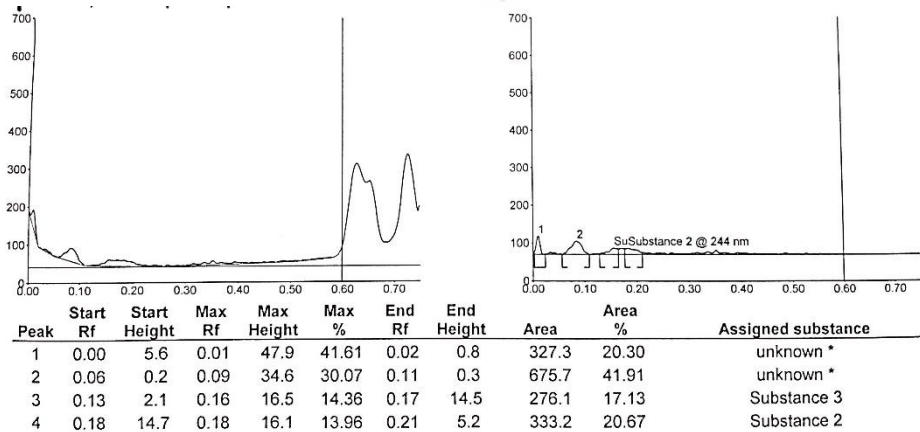
a. Replikasi 1



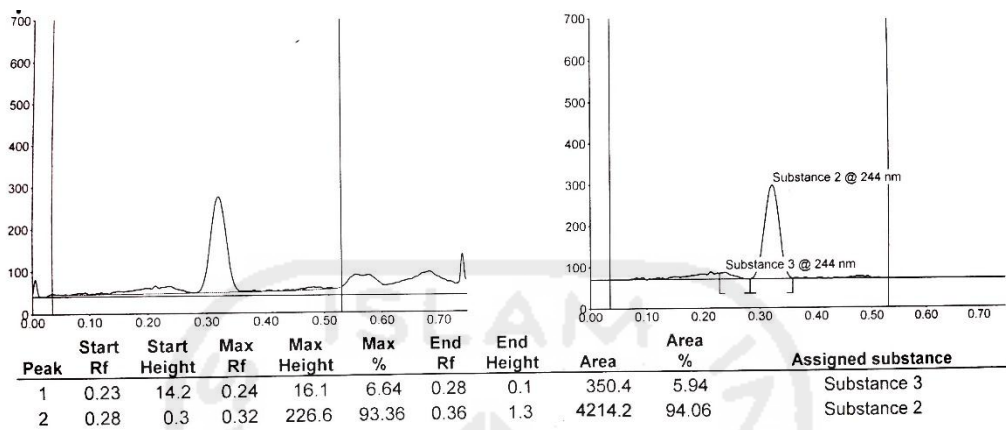
b. Replikasi 2



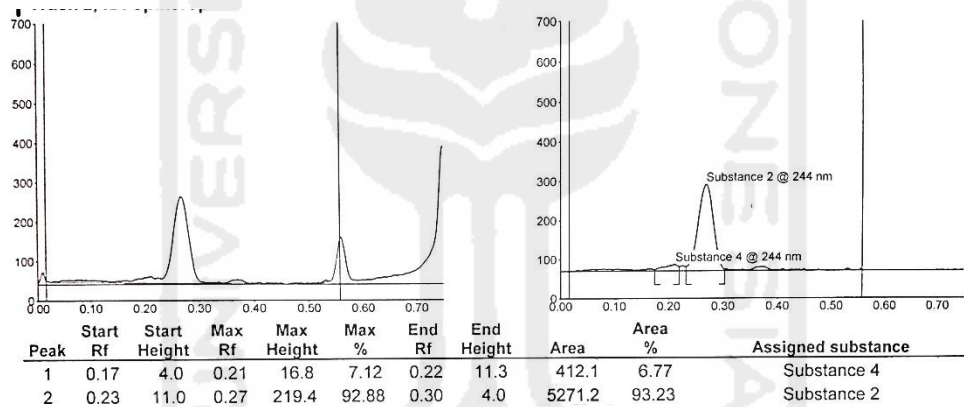
c. Replikasi 3



d. Baku betametason valerat

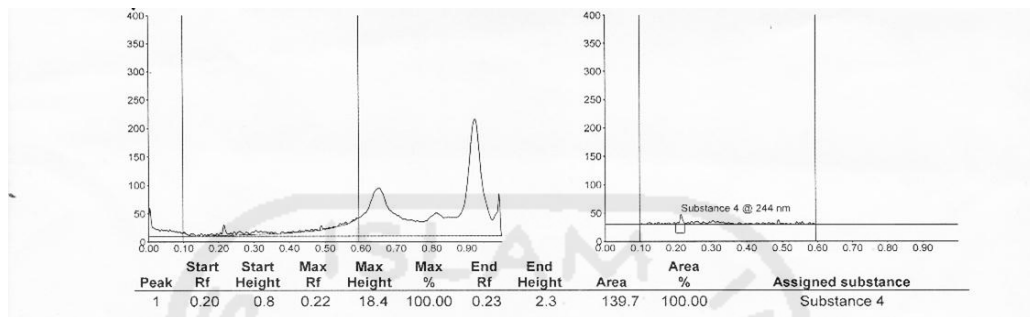


e. Baku Triamsinolon Asetonida

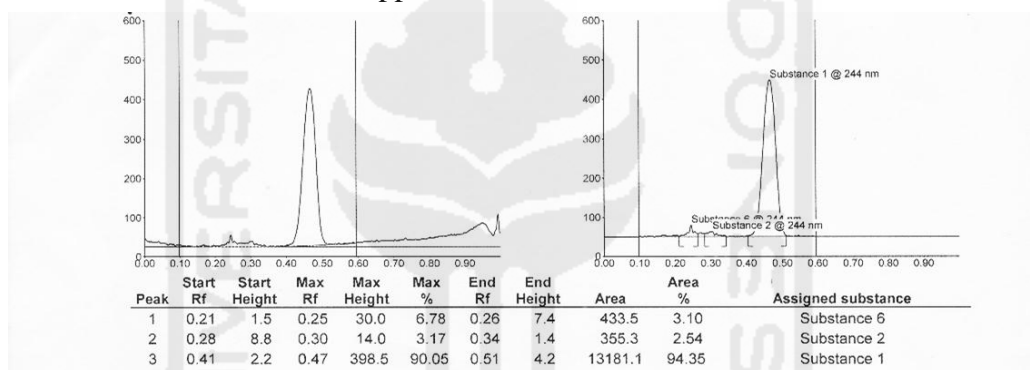


Lampiran 9. Kromatogram uji spesifisitas

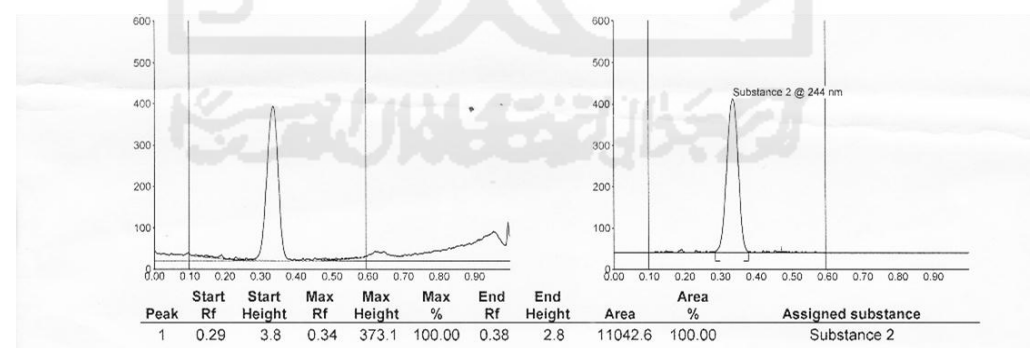
a. Sampel



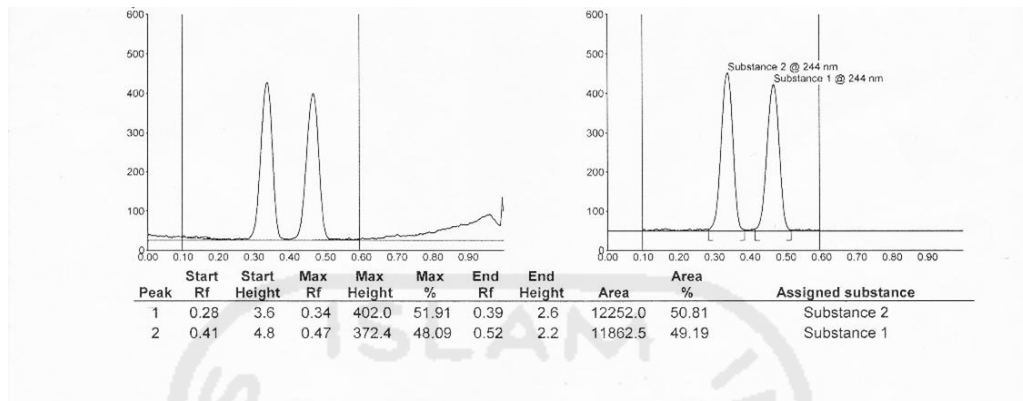
b. Betametason valerat 1000 ppm



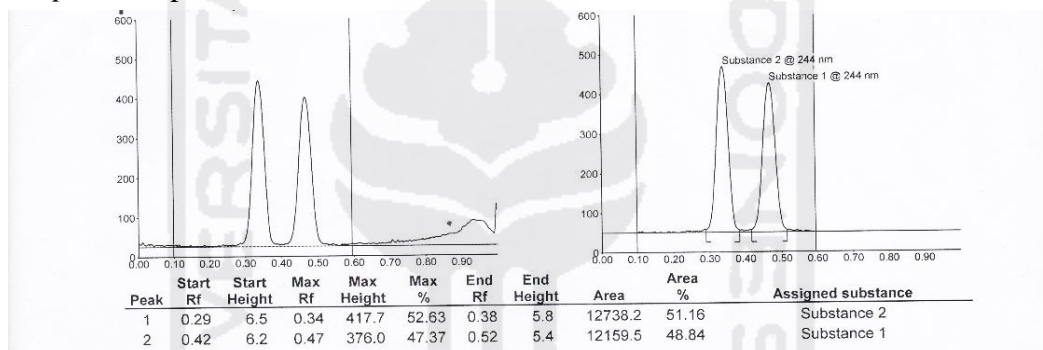
c. Triamsinolon asetonida 1000 ppm



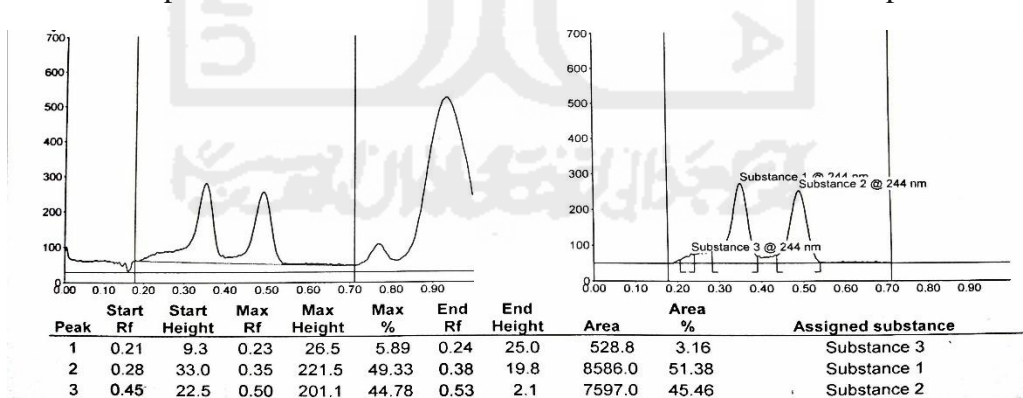
d. Baku campuran betametason valerat dan triamsinolon asetonida 1000 ppm



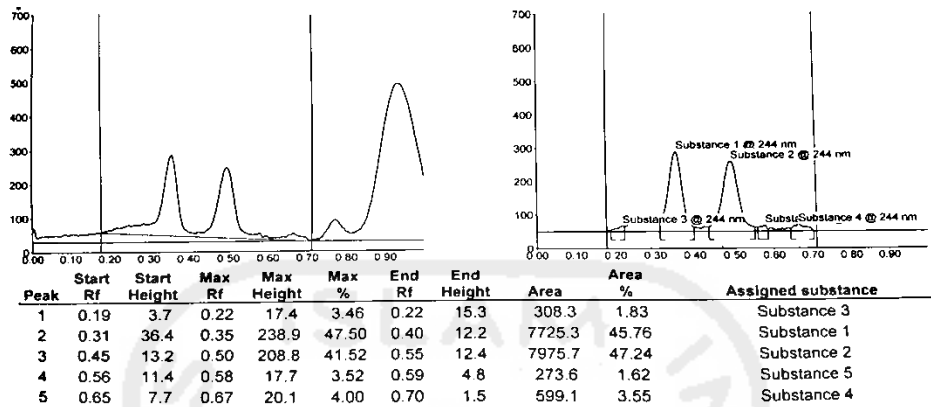
e. Spike-sampel



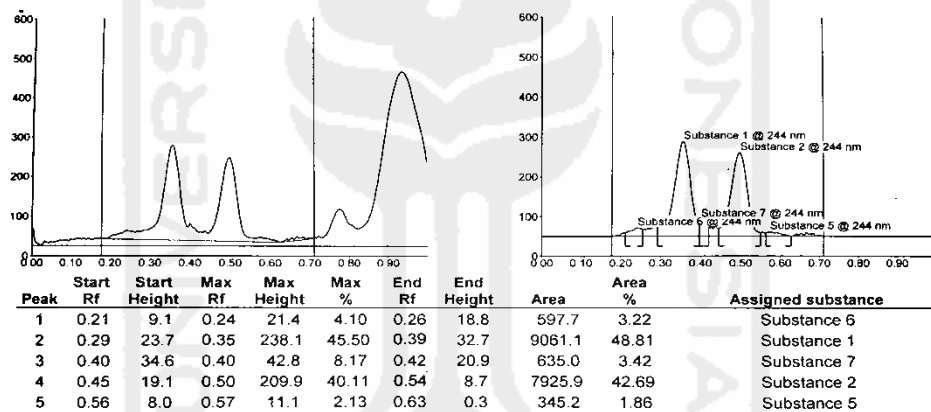
f. Baku campuran betametason valerat dan triamsinolon asetonida replikasi 1



g. Baku campuran betametason valerat dan triamsinolon asetonida replikasi 2



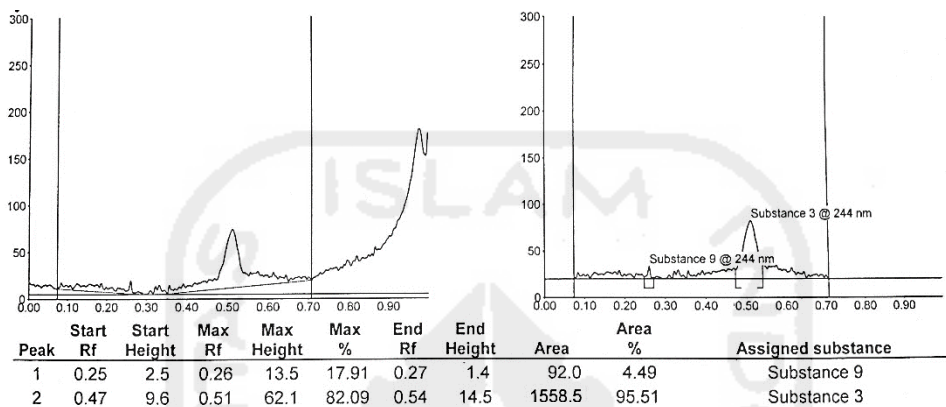
h. Baku campuran betametason valerat dan triamsinolon asetonida replikasi 3



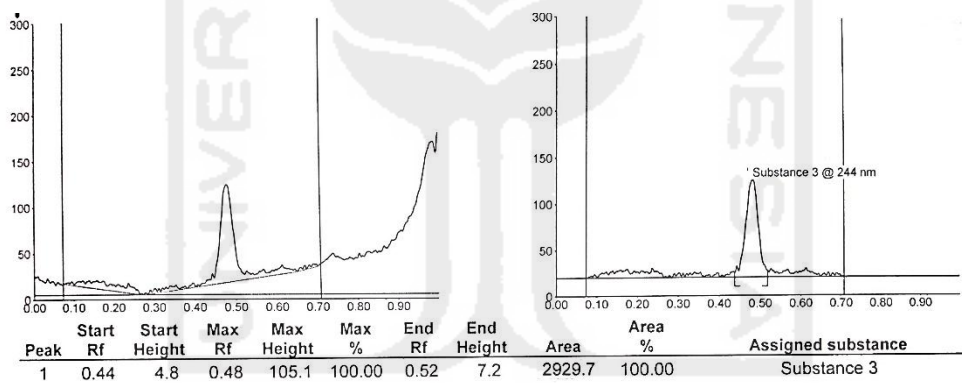
Lampiran 10. Kromatogram uji linearitas

10.1. Kromatogram linearitas betametason valerat

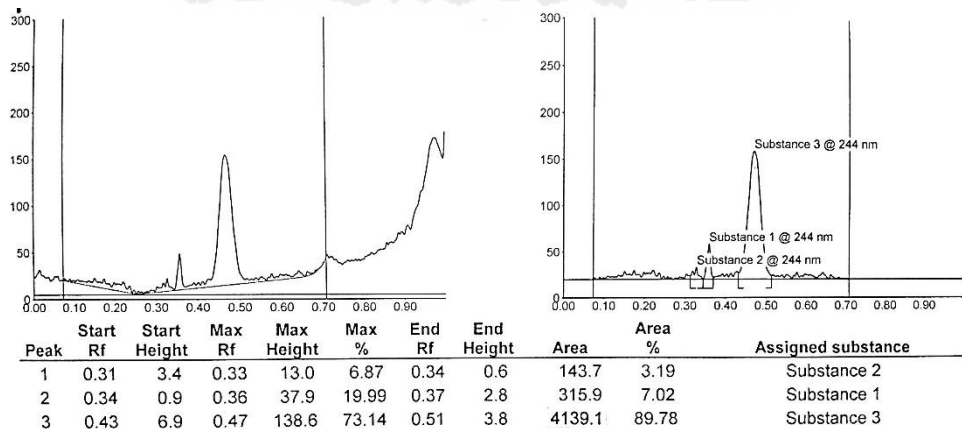
a. 100 ppm



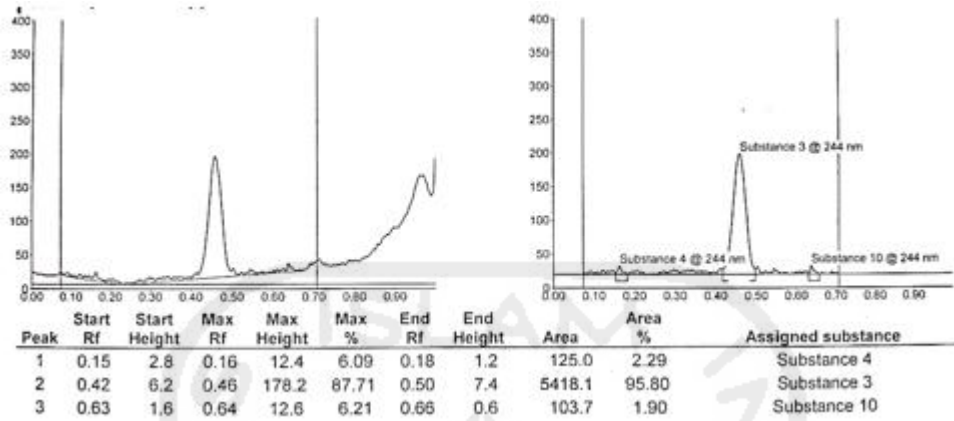
b. 200 ppm



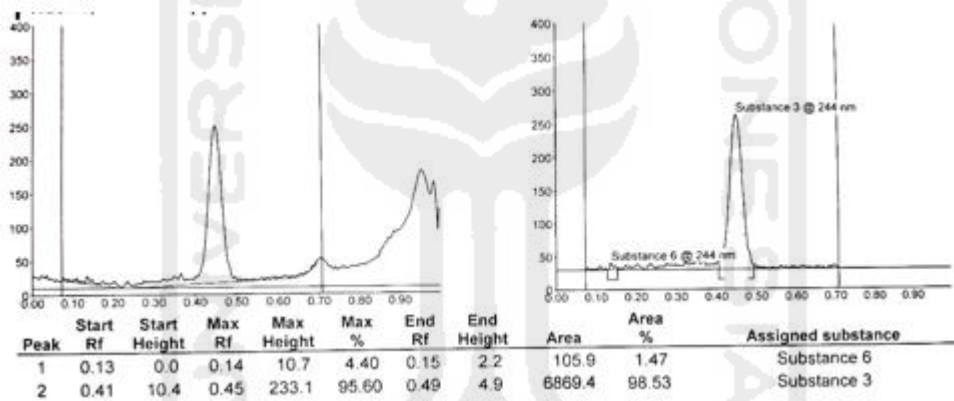
c. 300 ppm



d. 400 ppm

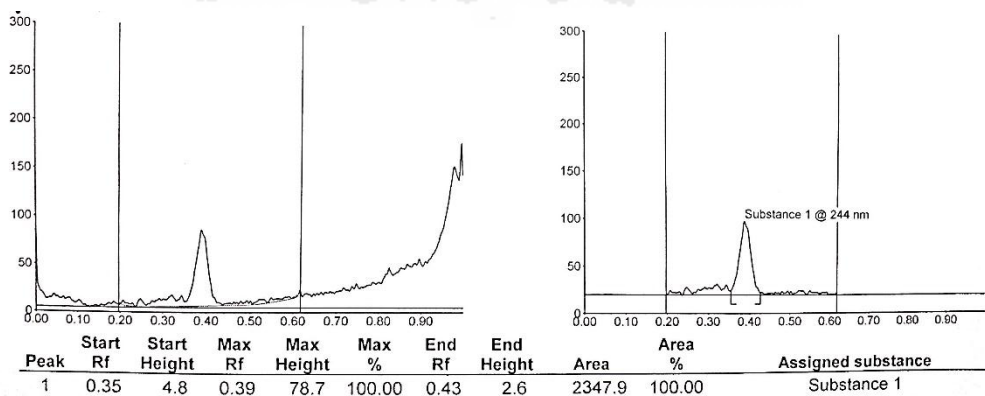


e. 500 ppm

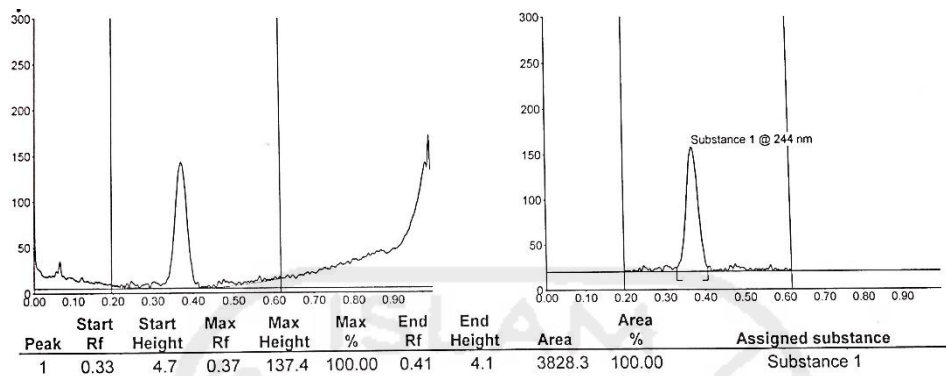


10.2. Kromatogram linearitas triamsinolon asetonida

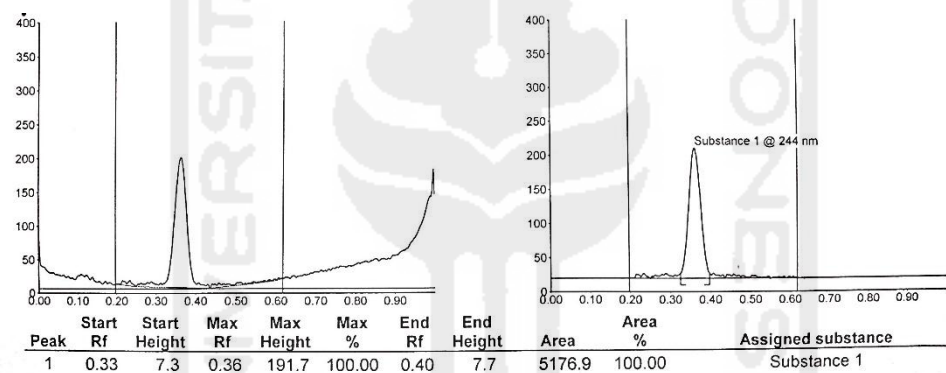
a. 100 ppm



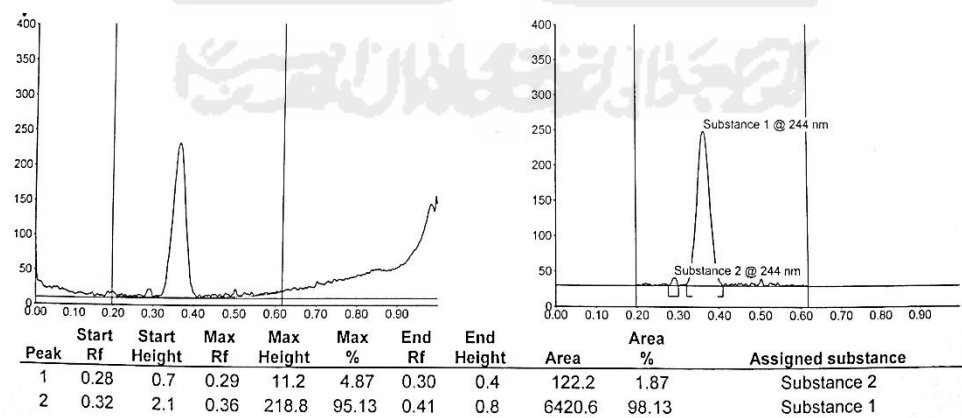
b. 200 ppm



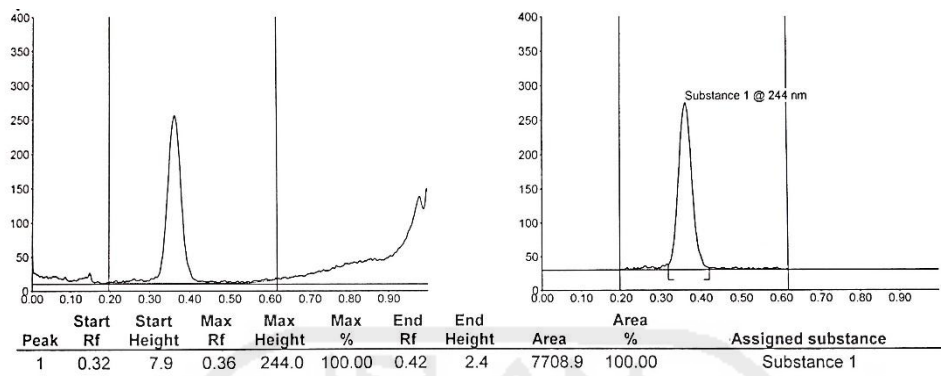
c. 300 ppm



d. 400 ppm



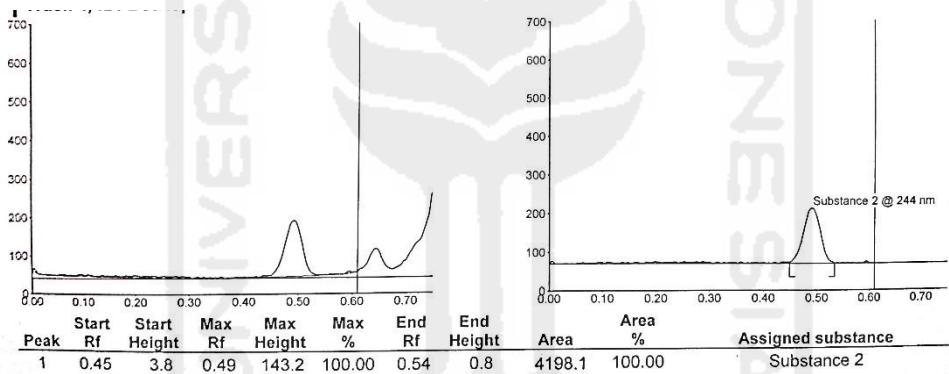
e. 500 ppm



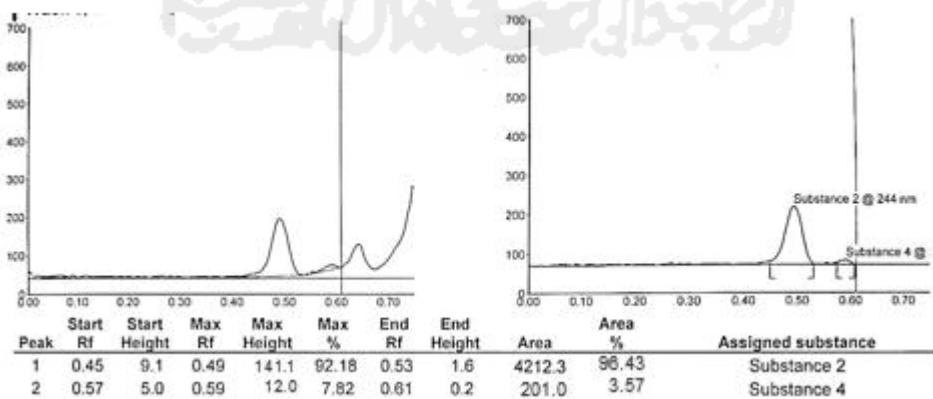
Lampiran 11. Kromatogram uji presisi

11.1. Kromatogram uji presisi betametason valerat

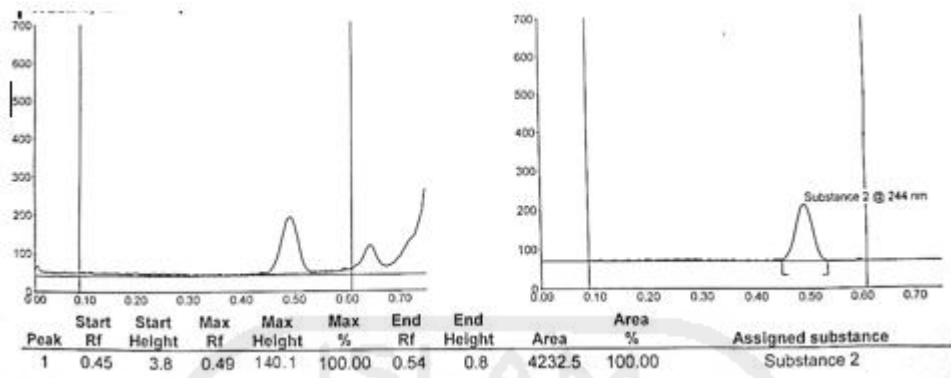
a. Replikasi 1



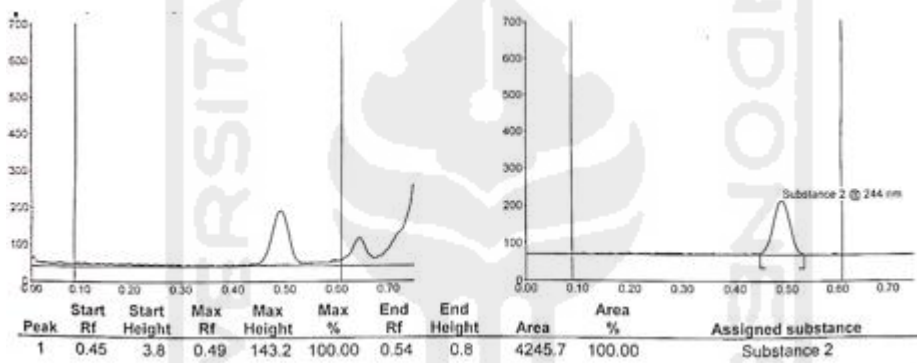
b. Replikasi 2



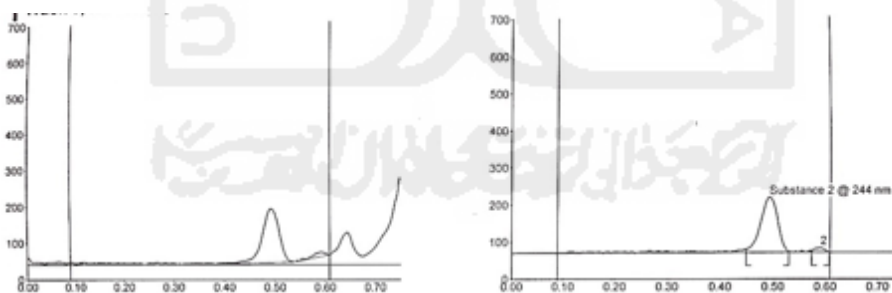
c. Replikasi 3



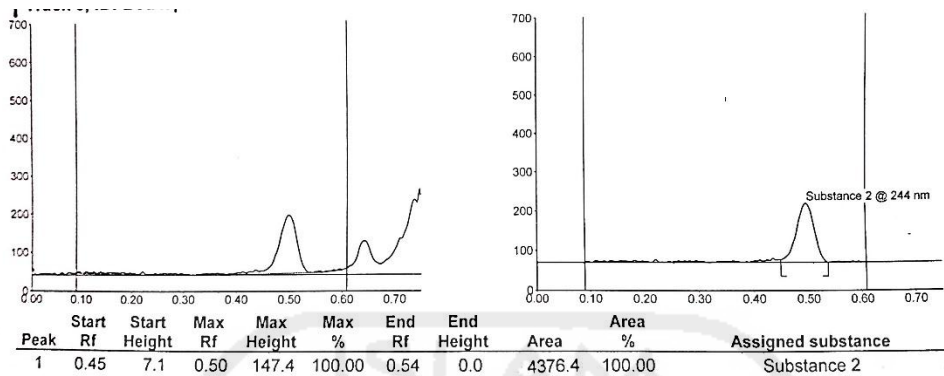
d. Replikasi 4



e. Replikasi 5

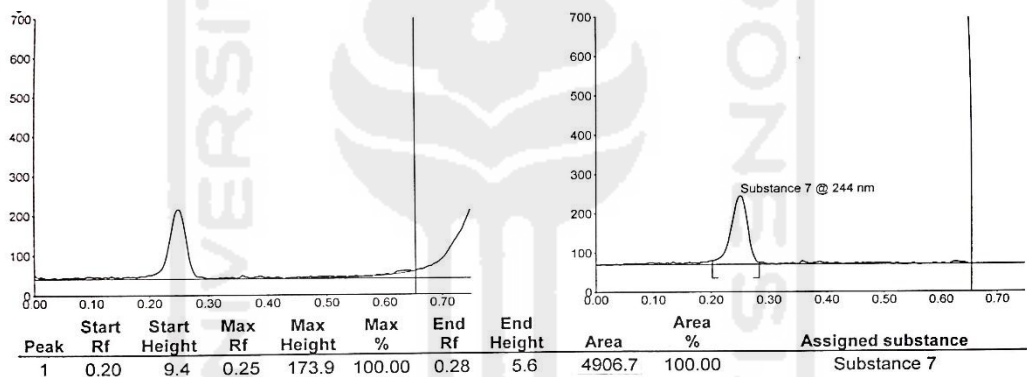


f. Replikasi 6

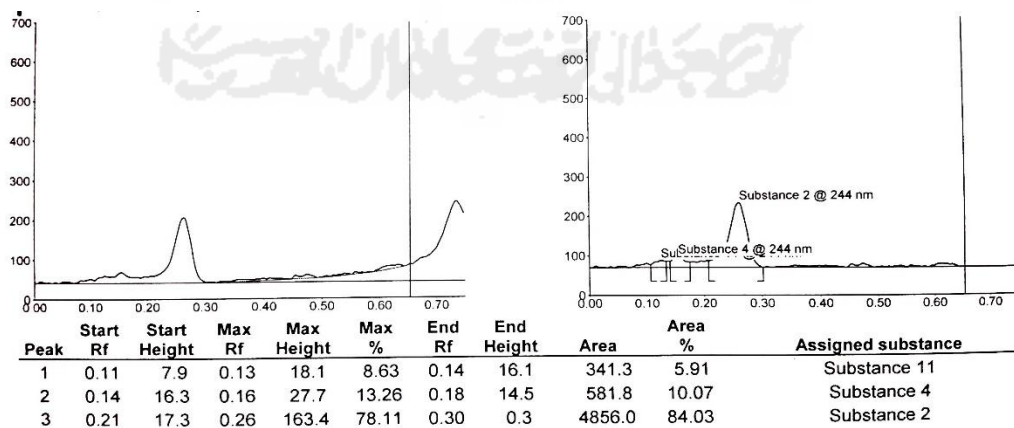


11.2. Kromatogram uji presisi triamsinolon asetonida

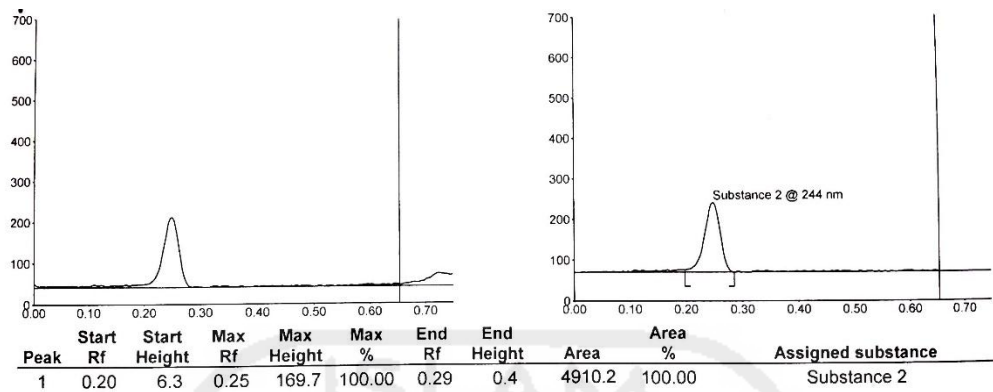
a. Replikasi 1



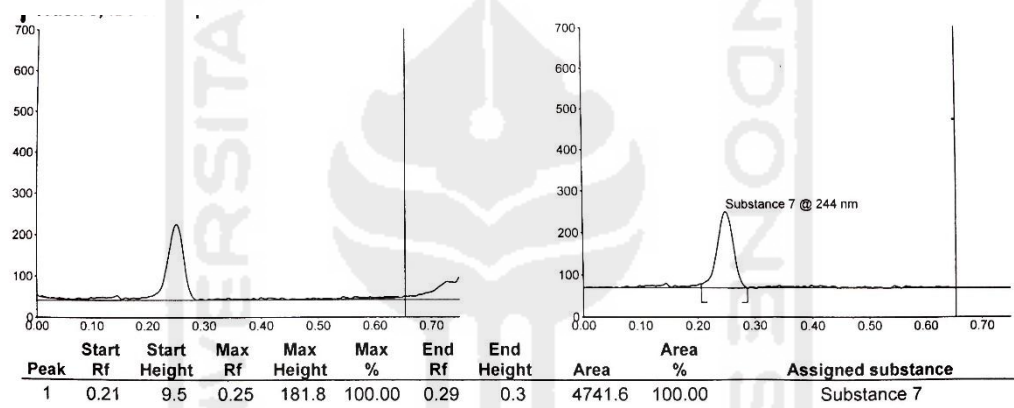
b. Replikasi 2



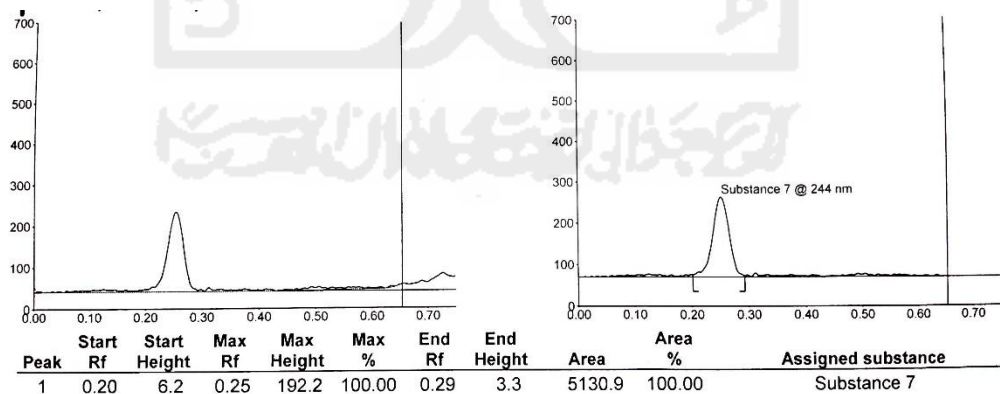
c. Replikasi 3



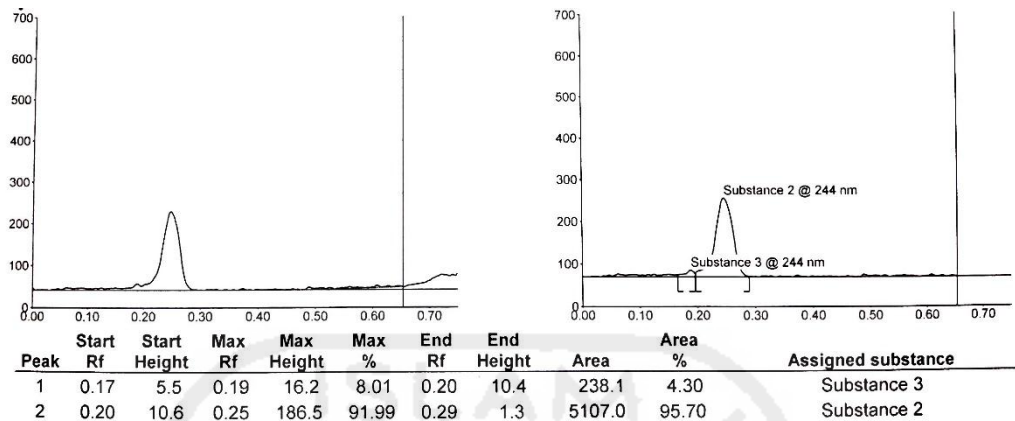
d. Replikasi 4



e. Replikasi 5



f. Replikasi 6

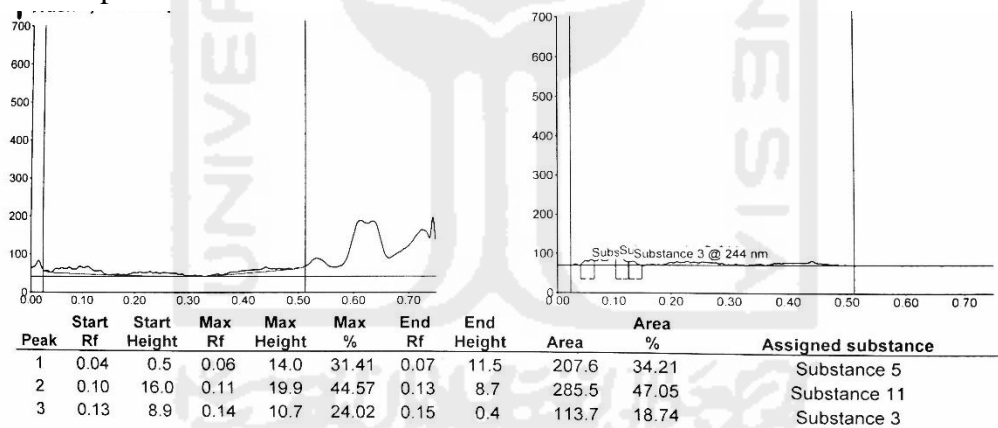


Lampiran 12. Kromatogram uji akurasi

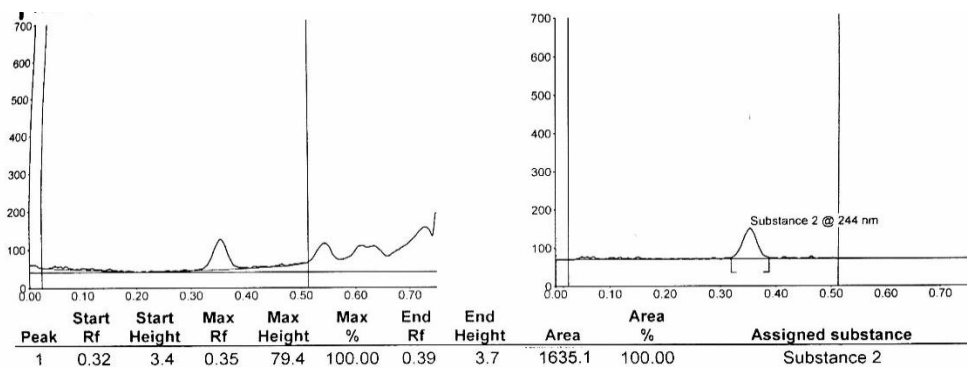
12.1. Akurasi betametason valerat

a. Akurasi betametason valerat 100 ppm

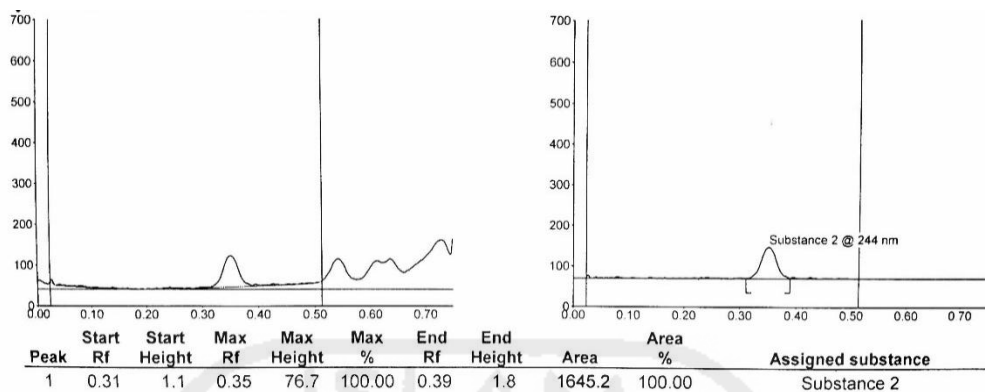
1. Sampel



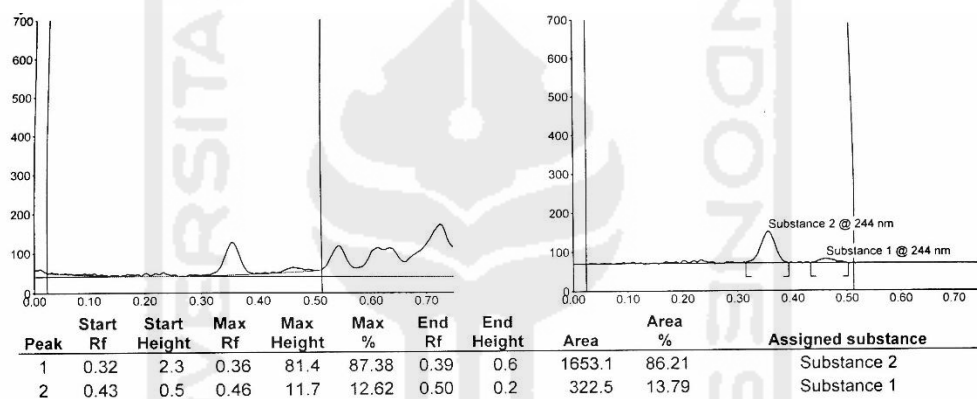
2. Akurasi betametason valerat 100 ppm replikasi 1



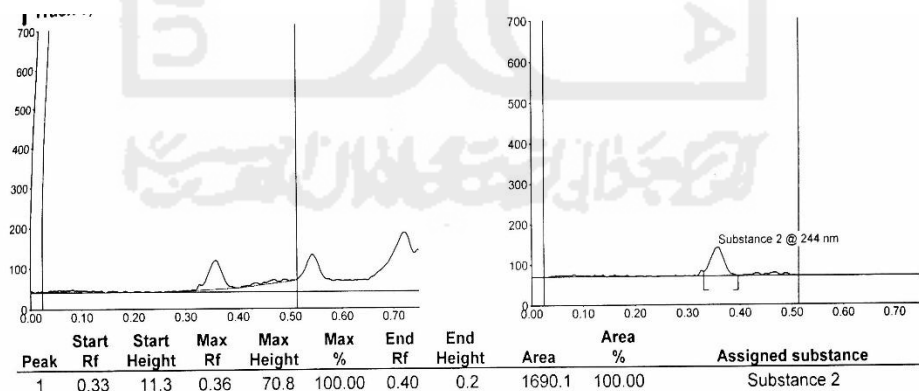
3. Akurasi betametason valerat 100 ppm replikasi 2



4. Akurasi betametason valerat 100 ppm replikasi 3

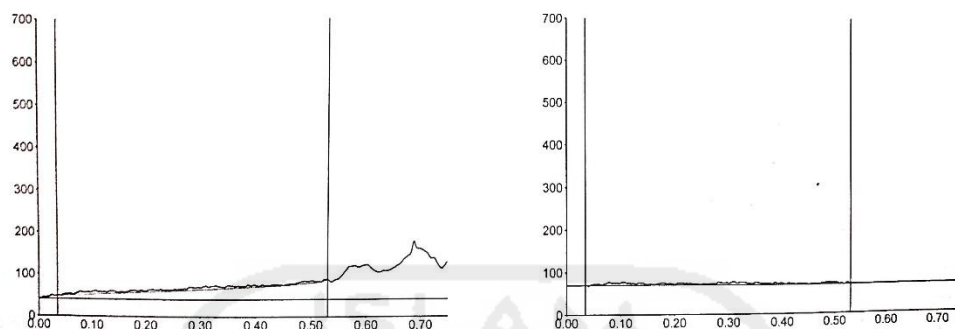


5. Baku betametason valerat 100 ppm

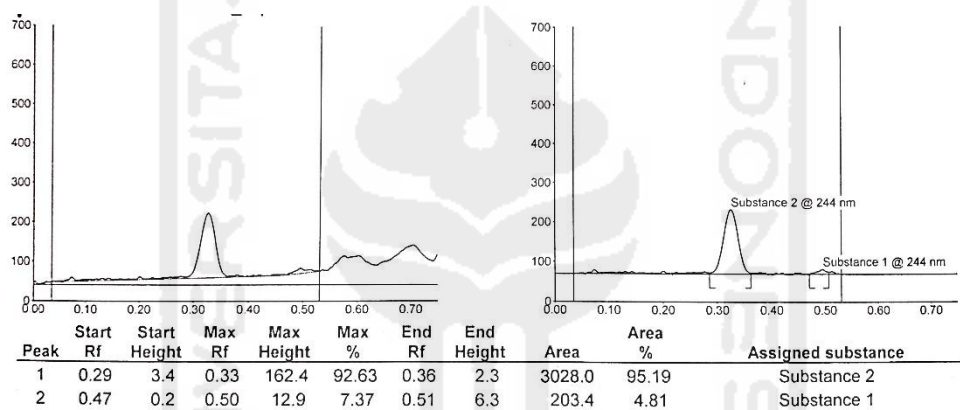


b. Akurasi betametason valerat 200 ppm

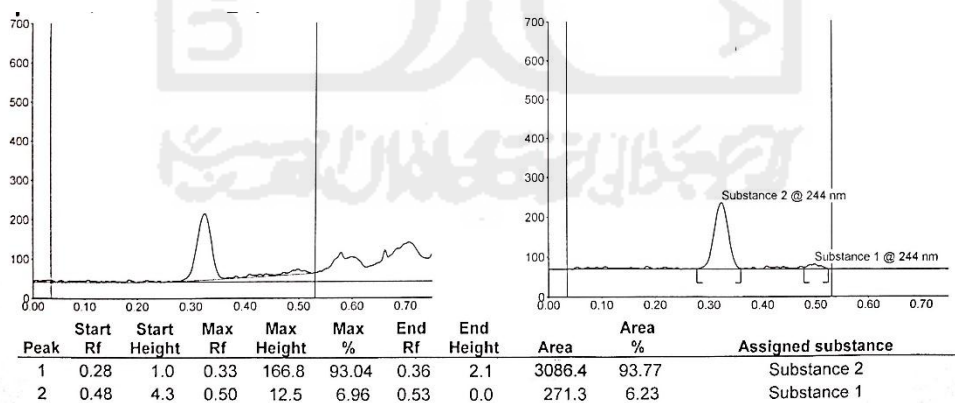
1. Sampel



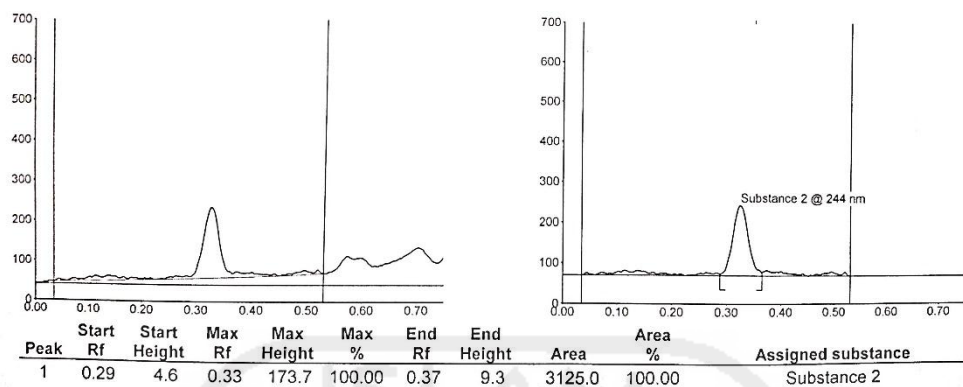
2. Akurasi betametason valerat 200 ppm replikasi 1



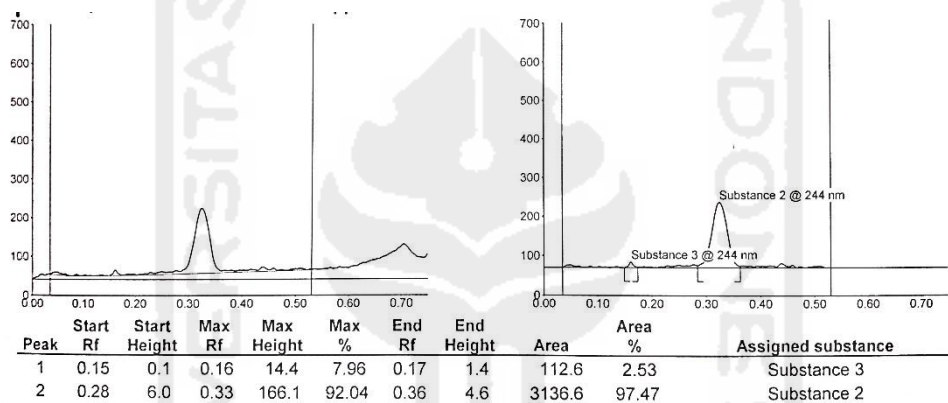
3. Akurasi betametason valerat 200 ppm replikasi 2



4. Akurasi betametason valerat 200 ppm replikasi 3

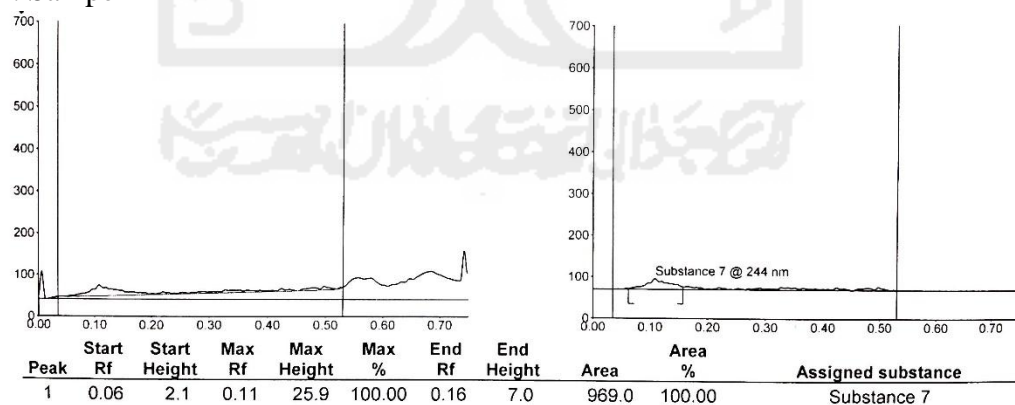


5. Baku betametason valerat 200 ppm

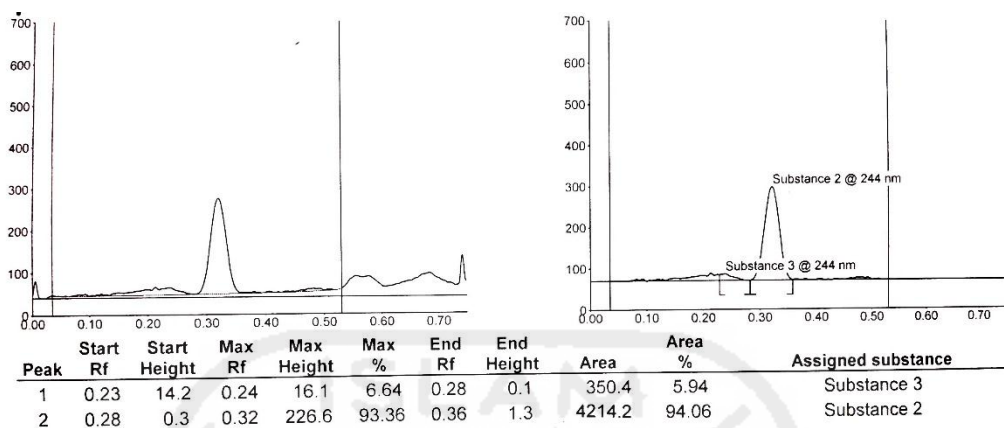


c. Akurasi betametason valerat 300 ppm

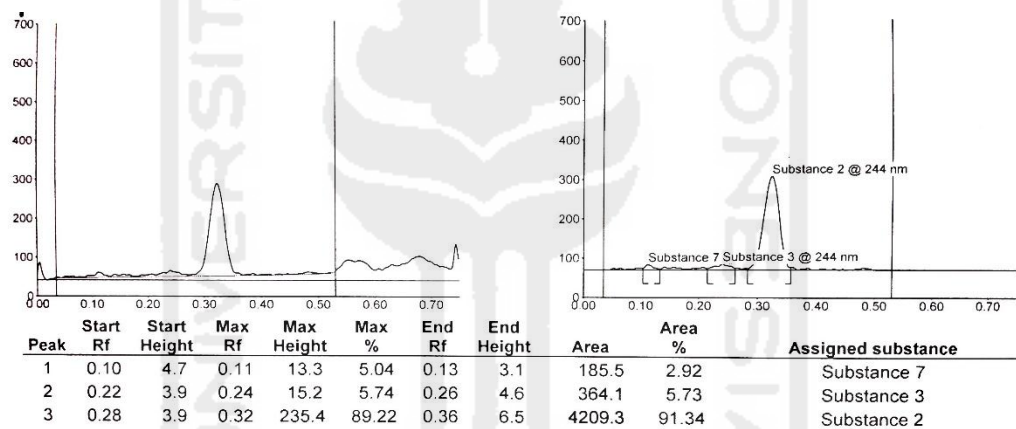
1. Sampel



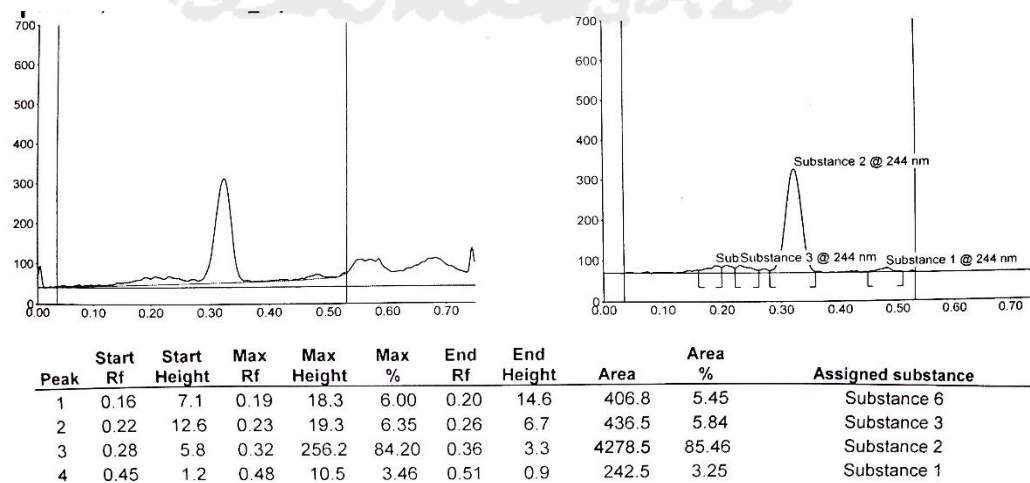
2. Akurasi betametason valerat 300 ppm replikasi 1



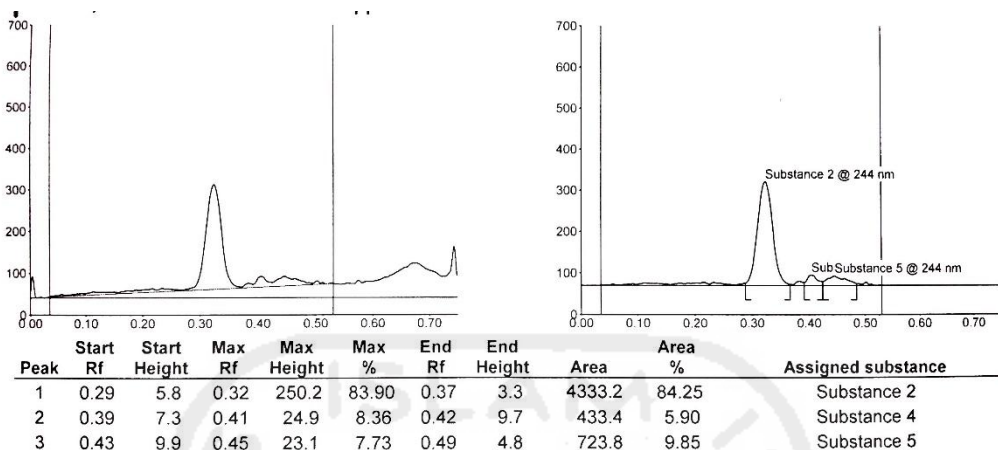
3. Akurasi betametason valerat 300 ppm replikasi 2



4. Akurasi betametason valerat 300 ppm replikasi 3



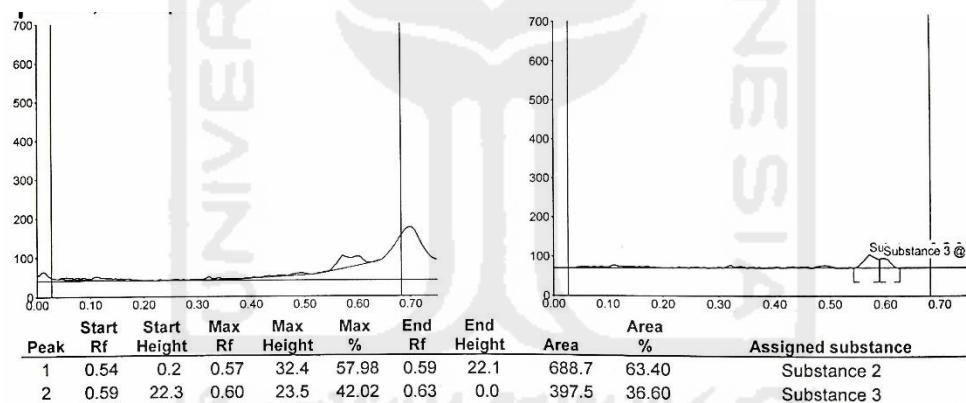
5. Baku betametason valerat 300 ppm



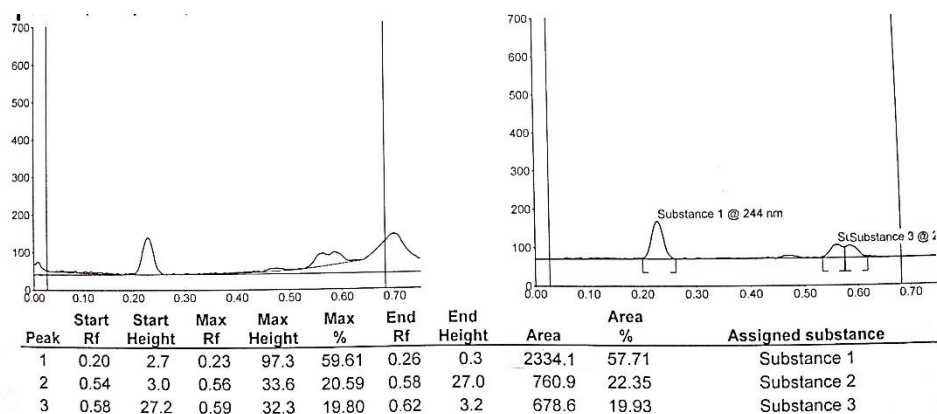
12.2. Akurasi triamsinolon asetonida

a. Akurasi triamsinolon asetonida 100 ppm

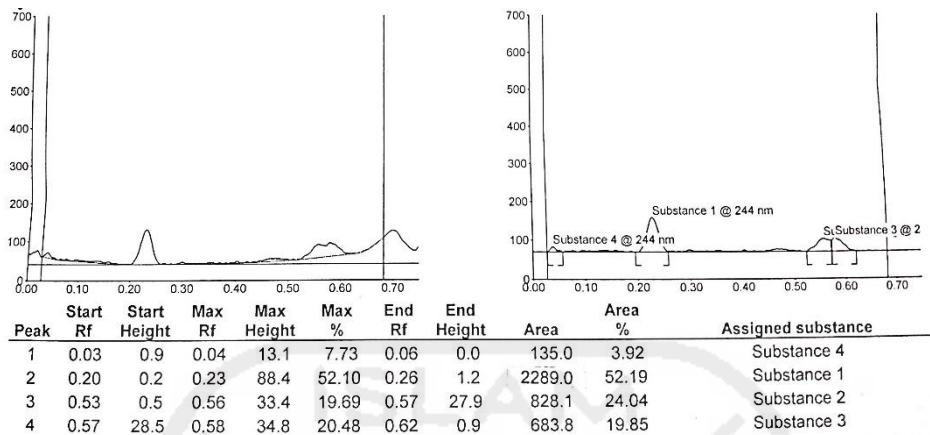
1. Sampel



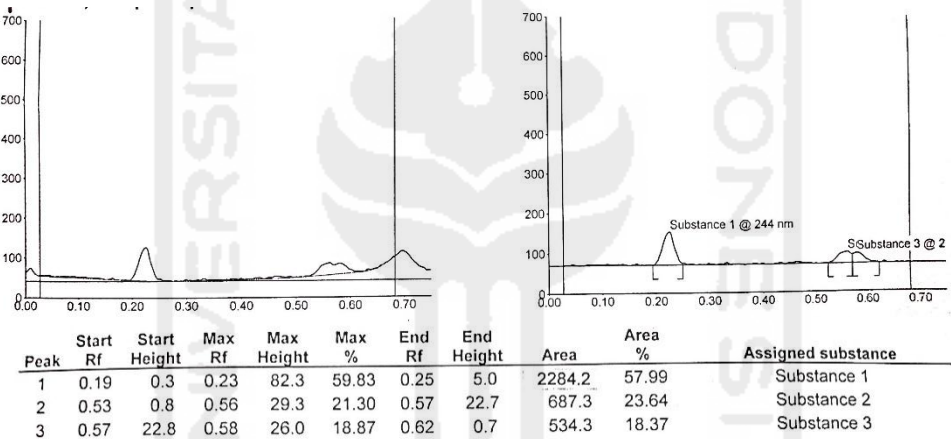
2. Akurasi triamsinolon asetonida 100 ppm replikasi 1



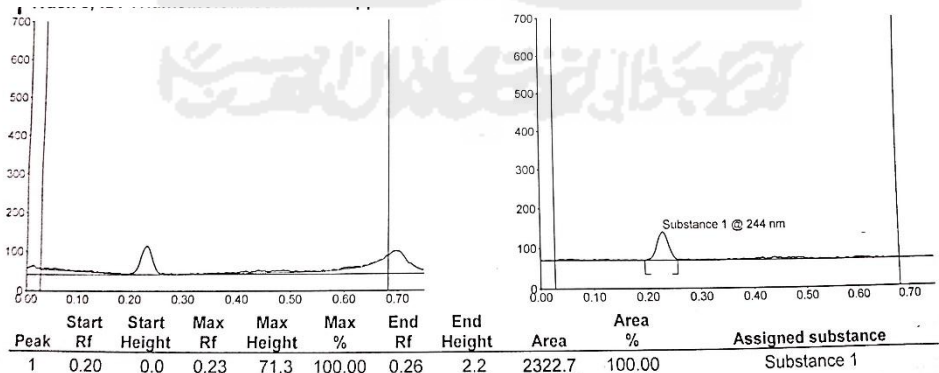
3. Akurasi triamsinolon asetonida 100 ppm replikasi 2



4. Akurasi triamsinolon asetonida 100 ppm replikasi 3

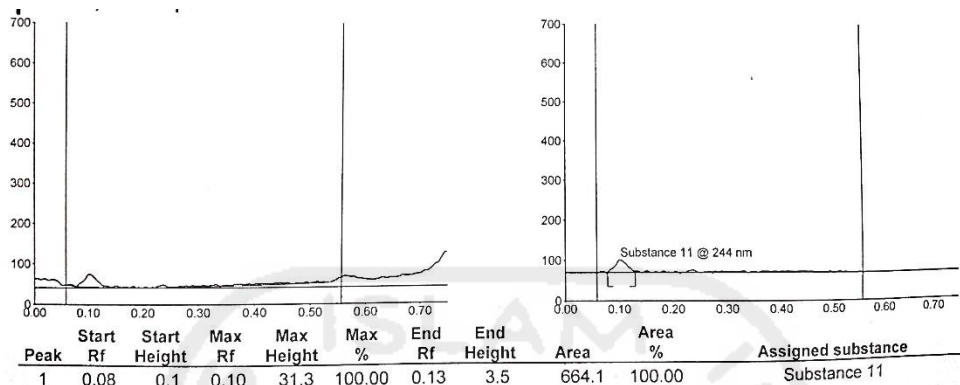


5. Baku triamsinolon asetonida 100 ppm

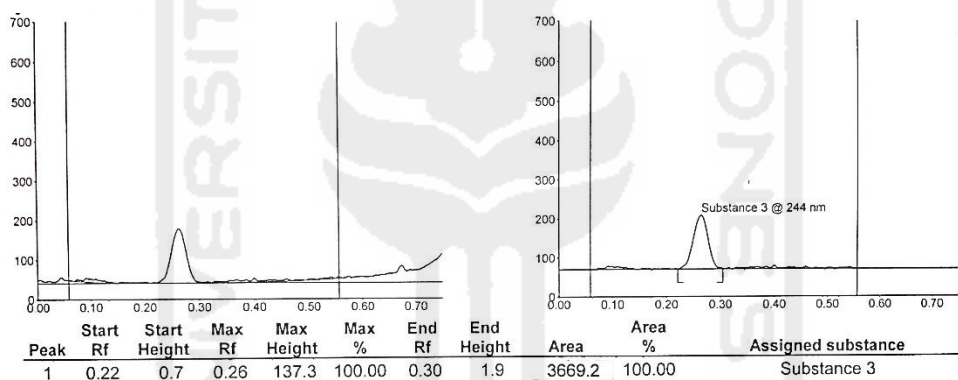


b. Akurasi triamsinolon asetonida 200 ppm

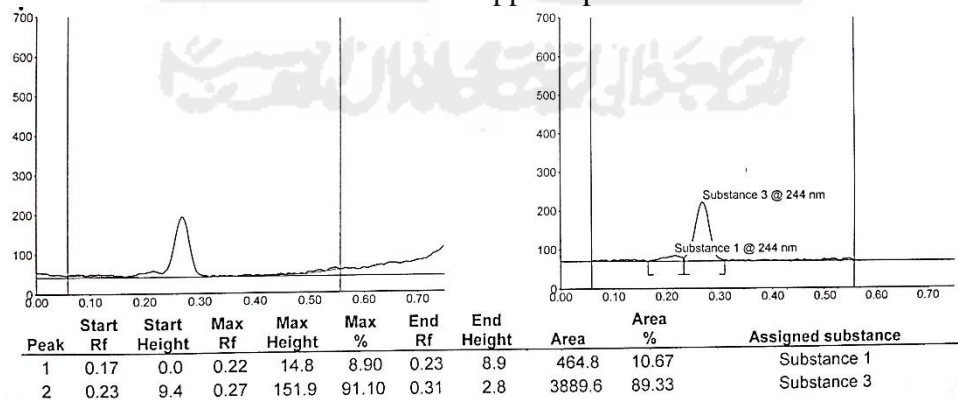
1. Sampel



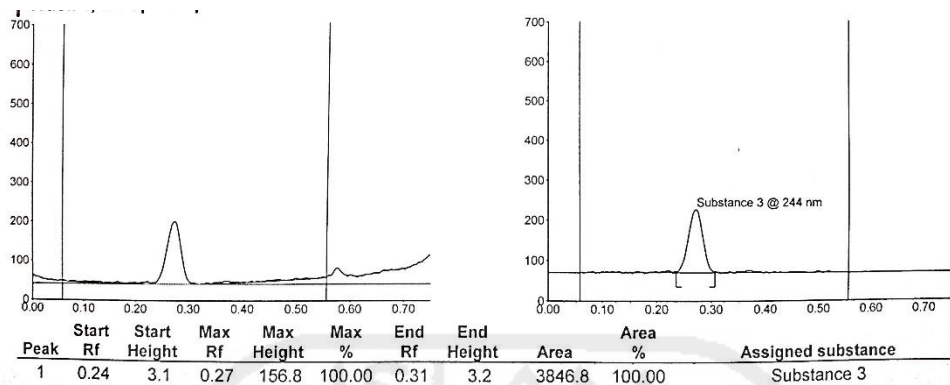
2. Akurasi triamsinolon asetonida 200 ppm replikasi 1



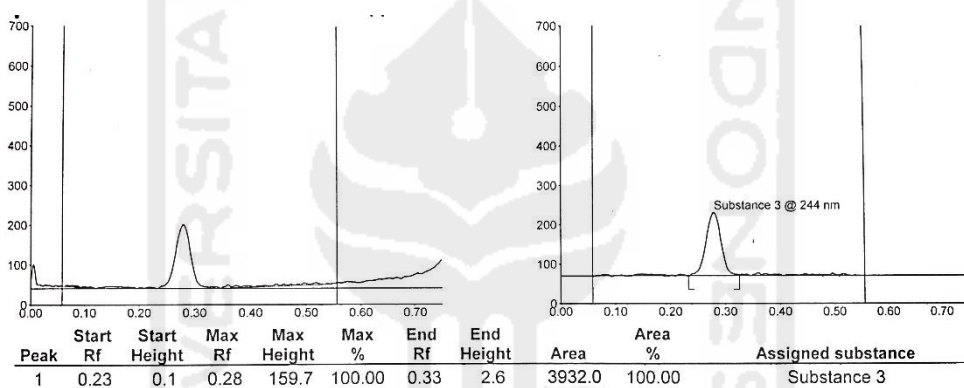
3. Akurasi triamsinolon asetonida 200 ppm replikasi 2



4. Akurasi triamsinolon asetonida 200 ppm replikasi 3

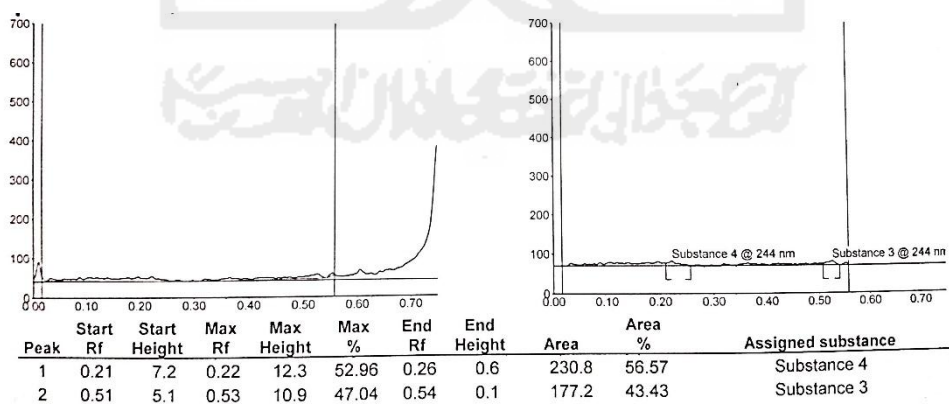


5. Baku triamsinolon asetonida 200 ppm

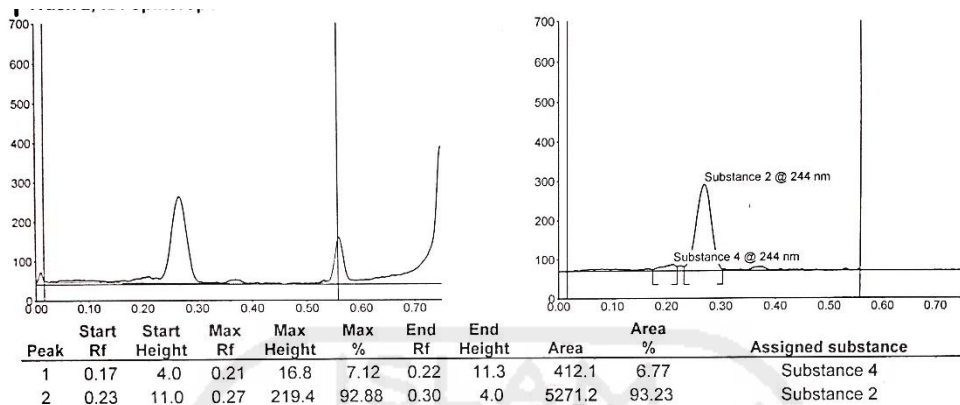


c. Akurasi triamsinolon asetonida 300 ppm

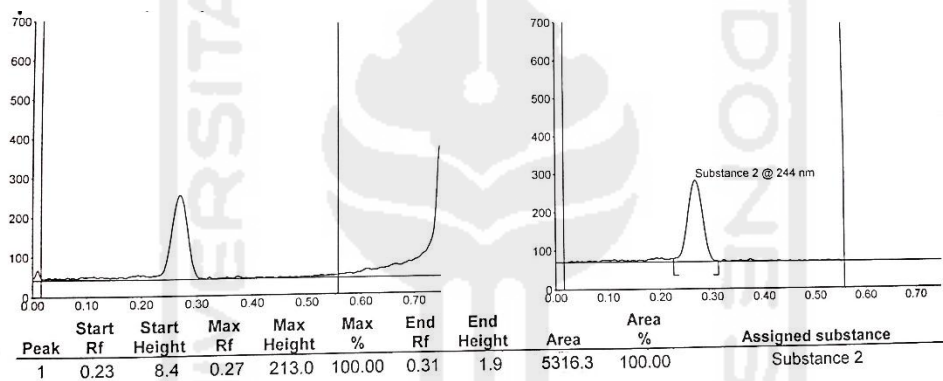
1. Sampel



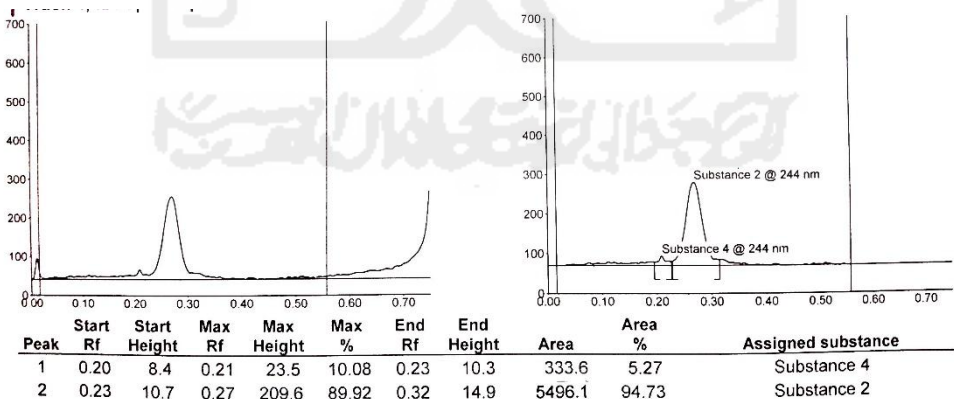
2. Akurasi triamsinolon asetonida 300 ppm replikasi 1



3. Akurasi triamsinolon asetonida 300 ppm replikasi 2



4. Akurasi triamsinolon asetonida 300 ppm replikasi 3



5. Baku triamsinolon asetonida 300 ppm

