

**LAPORAN TUGAS AKHIR**

**PENENTUAN KESESUAIAN KADAR *TRETINOIN* PADA  
SEDIAAN SAMPEL SERUM *IN-USED* KOSMETIK  
MENGUNAKAN METODE HPLC (*HIGH PERFORMANCE  
LIQUID CHROMATOGRAPHY*) DI PT. GENERO  
PHARMACEUTICALS**

**Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Derajat Ahli  
Madya Sains (A.Md.Si) di Program Studi D III Analisis Kimia**



**Disusun Oleh :**

**Mochammad Setya Adjie Pradana  
NIM : 17231086**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALISIS KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
2020**

**LAPORAN TUGAS AKHIR**

**PENENTUAN KESESUAIAN KADAR *TRETINOIN* PADA  
SEDIAAN SAMPEL SERUM *IN-USED* KOSMETIK  
MENGUNAKAN METODE HPLC (*HIGH PERFORMANCE  
LIQUID CHROMATOGRAPHY*) DI PT. GENERO  
PHARMACEUTICALS**

***DETERMINATION TRETINOIN CONFORMITY ON COSMETIC  
IN-USED SERUM SAMPLES USING HPLC METHOD (HIGH  
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY) IN PT.  
GENERO PHARMACEUTICALS***



**Disusun Oleh :**

**Mochammad Setya Adjie Pradana  
NIM : 17231086**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALISIS KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
2020**

**HALAMAN PENGESAHAN  
LAPORAN TUGAS AKHIR**

**PENENTUAN KESESUAIAN KADAR *TRETINOIN* PADA  
SEDIAAN SAMPEL SERUM *IN-USED* KOSMETIK  
MENGUNAKAN METODE HPLC (*HIGH PERFORMANCE  
LIQUID CHROMATOGRAPHY*) DI PT. GENERO  
PHARMACEUTICALS**



Dipersiapkan dan Disusun Oleh:

**Mochammad Setya Adjie Pradana**

**NIM: 17231086**

Telah disetujui oleh Dosen Pembimbing Tugas Akhir  
Program studi DIII Analisis Kimia  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia  
Pada tanggal 26 September 2020

Menyetujui,

**Ketua Program Studi**

**Pembimbing**

**Tri Esti Purbaningtias, S.Si., M.Si**  
**NIK. 132311102**

**Puji Kurniawati, S.Pd.Si., M.Sc**  
**NIK. 132311103**

**HALAMAN PENGESAHAN  
LAPORAN TUGAS AKHIR**

**PENENTUAN KESESUAIAN KADAR *TRETINOIN* PADA  
SEDIAAN SAMPEL SERUM *IN-USED* KOSMETIK  
MENGUNAKAN METODE HPLC (*HIGH PERFORMANCE  
LIQUID CHROMATOGRAPHY*) DI PT. GENERO  
PHARMACEUTICALS**

Dipersiapkan dan Disusun Oleh:

**Mochammad Setya Adjie Pradana**

**NIM : 17231086**

Telah dipertahankan di depan tim penguji pada tanggal 26 September 2020

**Susunan Tim Penguji**

**Pembimbing/ Penguji**

  
**Puji Kurniawati, S.Pd.Si., M.Sc**  
**NIK. 132311103**

**Penguji I**


  
**Reni Banowati Istiningrum, S.Si., M.Sc**  
**NIK. 052316002**

**Penguji II**

  
**Tri Esti Purbaningtias, S.Si., M.Si**  
**NIK. 132311102**

**Mengetahui,**  
**Dekan Fakultas MIPA UII**



  
**Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.**  
**NIK. 006120101**



## PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa Laporan Tugas Akhir ini tidak terdapat bagian yang pernah digunakan untuk memperoleh gelar Ahli Madya atau gelar lainnya di suatu Perguruan Tinggi dan sepengetahuan saya tidak terdapat bagian yang pernah ditulis dan diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 11 Oktober 2020



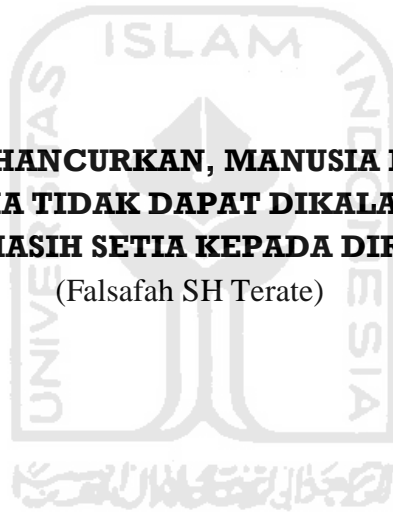
Mochammad Setya Adjie Pradana



## MOTTO

*SAK APIK-APIKE UWONG YEN AWEH PITULUNGAN KANTI  
DEDEMITAN*

**MANUSIA DAPAT DIHANCURKAN, MANUSIA DAPAT DIMATIKAN  
TETAPI MANUSIA TIDAK DAPAT DIKALAHKAN SELAMA  
MANUSIA ITU MASIH SETIA KEPADA DIRINYA SENDIRI**  
(Falsafah SH Terate)



**SEPIRA GEDENE SENGSAARA YEN TINAMPA AMUNG DADI COBA**

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan Alhamdulillah atas rasa syukur dan karunia nikmat iman, kesehatan, kebahagiaan, kemudahan dan atas segala nikmat lain yang Allah SWT. berikan tatkala tugas kecil ini dapat terselesaikan dengan Ridho-mu Gusti.

Karya ini kupersembahkan dan kudedikasikan sebagai tanda kasihku kepada:

- Kedua orang tuaku yaitu (Alm.) Ayahanda dan Ibu tercinta yang selalu memberikan dukungan moral, kasih sayang dan doa yang tiada hentinya dengan rasa tulus dan ikhlas, sehingga saya bisa seperti saat ini.
- Nenekku yang telah mendidik, merawat dan membesarkan saya sampai sekarang ini
- Keluarga besar Ayah dan Ibu yang telah mensupport saya secara ikhlas dan baik hati mendorong untuk terus menuntut ilmu.
- Sahabat kecil yang telah memberi dukungan dan motivasinya kepada saya
- Keluarga besar Mahasiswa DIII Analisis Kimia Angkatan 2017 yang selalu memberikan canda tawa serta rasa kekeluargaan ketika bersama.
- Adik Tingkat saya yang selalu memberikan motivasi, dukungan dan doa agar selalu semangat dalam menjalani apapun.
- Untuk seseorang yang mungkin sering mendoakanku, semoga Allah SWT. juga memberikan karunia-Nya untukmu.

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Dengan memanjatkan puja dan puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir dengan baik. Tak lupa sholawat serta salam kita haturkan kepada Nabi besar Muhammad SAW yang telah membimbing kita dari jaman jahiliyah menuju jaman islamiyah sampai sekarang saat ini. Judul tugas akhir ini adalah Penentuan Kesesuaian Kadar *Tretinoin* Pada Sediaan Sampel Serum *In-used* Kosmetik Menggunakan Metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) Di PT. Genero Pharmaceuticals. Tujuan utama penulisan tugas akhir ini dibuat sebagai salah satu syarat kelulusan Diploma III Analisis Kimia.

Penyusunan dan penulisan Laporan Tugas Akhir ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, serta dukungan dari berbagai pihak. Maka dari itu, dalam kesempatan ini penulis dengan senang hati menyampaikan banyak terimakasih kepada yang terhormat :

1. Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas MIPA UII
2. Tri Esti Purbaningtias, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi Diploma III Analisis Kimia
3. Kuntari, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik
4. Puji Kurniawati, S.Pd.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Praktik Kerja Lapangan
5. Arini Dwi Pratiwi selaku *Human Resources* di PT. Genero Pharmaceuticals
6. Lies Nur Oktariani selaku AnDev Officer dan Pembimbing Tugas Akhir di PT. Genero Pharmaceuticals

Penulis menyadari laporan tugas akhir ini masih jauh dari kata sempurna. Maka dari itu, penulis mengharapkan masukan dan kritik yang bersifat membangun untuk menyempurnakan laporan tugas akhir ini.

Akhir kata penulis mengharapkan laporan tugas akhir ini bisa berguna bagi penulis pada khususnya dan bagi para pembaca pada umumnya.

*Wassalamualaikum warrahmatullahi wabarakaatuh.*

Yogyakarta, 20 September 2020

Penulis

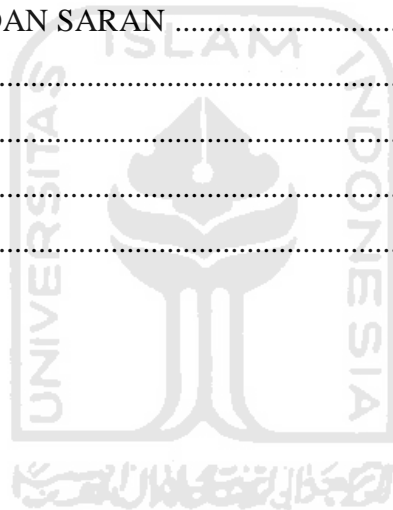
M. Setya Adjie Pradana



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	vii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xii
INTISARI .....	x
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
BAB 2 DASAR TEORI .....	5
2.1 Profil singkat PT.Genero Pharmaceuticals .....	5
2.2 Sampel <i>in-used</i> .....	6
2.3 <i>Tretinoin</i> .....	7
2.4 <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC) .....	9
2.4.1 Prinsip dasar HPLC.....	9
2.4.2 Komponen utama pada HPLC .....	12
2.4.3 Parameter pada kromatografi .....	17
2.4.4 Penetapan kadar sediaan .....	20
2.4.5 Pengoperasian instrumen HPLC .....	21
2.4.6 Penerapan uji HPLC pada sampel <i>tretinoin</i> .....	24
2.5 Estimasi Ketidakpastian Pengukuran.....	24
BAB 3 METODOLOGI .....	26
3.1 Bahan .....	26
3.2 Alat .....	26
3.3 Cara Kerja .....	26

3.3.1 Pembuatan larutan dan preparasi sampel .....	26
3.3.2 Uji kesesuaian sistem .....	27
3.3.3 Penentuan <i>tretinoin</i> pada sampel .....	28
3.3.4 Analisis data .....	28
<b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>30</b>
4.1 Preparasi Sampel .....	30
4.2 Uji Kesesuaian Sistem .....	31
4.3 Penetapan Kadar.....	32
4.4 Penentuan Presisi .....	33
4.5 Estimasi Ketidakpastian Pengukuran.....	36
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>42</b>
5.1 Kesimpulan .....	42
5.2 Saran .....	42
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>43</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>45</b>



## DAFTAR GAMBAR

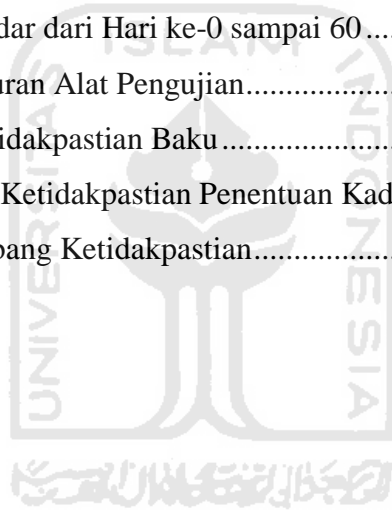
Gambar 2.1 Struktur Kimia <i>Tretinoin</i> .....	7
Gambar 2.1 Komponen Utama pada Instrumen HPLC .....	12
Gambar 4.1 Kromatogram Uji Kesesuaian Sistem dari Hari ke-0 sampai 60 ....	35
Gambar 4.2 Diagram Tulang Ikan Pengukuran Ketidakpastian .....	38





## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Modifikasi Silika pada Kolom dan Aplikasinya .....	16
Tabel 2.2 Jenis-Jenis Detektor yang Tersedia Secara Umum dan Penggunaannya .....	17
Tabel 3.1 Kondisi HPLC pada Analisa <i>Tretinoin</i> .....	27
Tabel 3.2 Kriteria Penerimaan Hasil Kadar <i>Tretinoin</i> .....	29
Tabel 4.1 Hasil Uji Kesesuaian Sistem Analisa <i>Tretinoin</i> dengan HPLC dari Hari ke-0 Sampai 60 .....	31
Tabel 4.2 Hasil Penentuan Kadar <i>Tretinoin</i> .....	32
Tabel 4.3 Hasil Penentuan Presisi Keberulangan Sistem.....	34
Tabel 4.4 Hasil Presisi Kadar dari Hari ke-0 sampai 60 .....	36
Tabel 4.5 Data Ketertelusuran Alat Pengujian.....	37
Tabel 4.6 Perhitungan Ketidakpastian Baku .....	39
Tabel 4.7 Hasil Pelaporan Ketidakpastian Penentuan Kadar <i>Tretinoin</i> .....	41
Tabel 4.8 Urutan Penyumbang Ketidakpastian.....	41



**PENENTUAN KESESUAIAN KADAR *TRETINOIN* PADA  
SEDIAAN SAMPEL SERUM *IN-USED* KOSMETIK  
MENGUNAKAN METODE HPLC (*HIGH PERFORMANCE  
LIQUID CHROMATOGRAPHY*) DI PT. GENERO  
PHARMACEUTICALS**

Program Studi D3 Analisis Kimia  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia

Mochammad Setya Adjie Pradana  
[17231086@students.uii.ac.id](mailto:17231086@students.uii.ac.id)

**INTISARI**

Telah dilakukan penentuan kesesuaian kadar *tretinoin* dalam sediaan sampel kosmetik analit *in-used* dari hari ke-0 sampai hari ke-60 menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) di PT. Genero Pharmaceuticals. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kestabilan kadar *tretinoin* dalam produk kosmetik *Reticor Lotion* guna memenuhi registrasi yang dipersyaratkan oleh Badan POM, serta untuk membuktikan bahwa metode analisa menggunakan HPLC dapat menunjukkan hasil yang selektif dan dapat digunakan sebagai pengujian rutin penentuan kadar *tretinoin*. Hasil penentuan kadar *tretinoin* dari hari ke-0 sampai hari ke-60 didapatkan rentang sebesar 100,3377% sampai 107,0283%. Nilai %RPD kadar dari hari ke-0 sampai hari ke-60 didapatkan rentang sebesar 0,0632% sampai 0,7242%. Hasil yang diperoleh memenuhi syarat keberterimaan yang ditetapkan oleh perusahaan dan metode yang digunakan dapat dijadikan sebagai pengujian rutin penentuan kadar *tretinoin*

Kata kunci : Kadar *tretinoin*, Kosmetik, *Tretinoin*, HPLC

# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1. Latar Belakang

Perseroan Terbatas (PT) Genero Pharmaceuticals merupakan perusahaan yang berdiri pada tahun 2000 sebagai *pharmacor lab*, telah berevolusi dari pabrik yang mengkhususkan dalam memproduksi produk dermatologi untuk kebutuhan Erha Group hingga menjadi sebuah perusahaan yang inovatif dan kompetitif dalam memproduksi berbagai produk farmasi dan kosmetik. Kosmetik adalah sediaan atau paduan bahan yang digunakan pada bagian luar badan (kulit, rambut, kuku, bibir, organ genital bagian luar), gigi dan rongga mulut dengan fungsi yaitu untuk membersihkan, member aroma wangi, mengubah penampilan, dan atau memperbaiki bau badan atau melindungi atau melindungi atau memelihara tubuh dalam kondisi baik (BPOM, 2011). Kosmetik bukan hanya digunakan untuk fungsi estetika, akan tetapi kosmetik juga berperan dalam penyembuhan dan perawatan kulit. Kosmetik merupakan salah satu penggunaan produk secara rutin dan terus menerus oleh manusia dan menjadi sesuatu yang cukup penting khususnya bagi wanita karena kosmetik dapat membantu dalam merawat supaya kulit putih dan terlihat cerah (Erariska, 2015).

Kulit putih dan cerah terutama kaum wanita adalah hal yang sangat didambakan. Oleh karena itu setiap orang berusaha untuk menjaga dan memperbaiki kesehatan kulitnya sehingga kebanyakan kaum wanita selalu berusaha berpenampilan menarik (Thormfeldt dkk, 2010). Selain perawatan juga untuk mengatasi berbagai masalah kulit seperti noda hitam, kulit gelap dan kusam sehingga diperlukan adanya perawatan. Memakai kosmetik, konsumen harus lebih berhati-hati untuk pemilihan suatu produk yang mengandung zat pemutih, karena zat pemutih yang beredar tidak semuanya aman digunakan.

Zat pemutih (*whitening agent*) merupakan senyawa yang digunakan untuk memutihkan kulit dan telah lama digunakan dalam membantu pengobatan penyakit kulit karena jerawat dan paparan sinar matahari. Sebagian zat pemutih yang telah dikenal diantaranya adalah asam askorbat, asam kojat, arbutin, *alpha hidroxy acid* (AHA), beberapa derivat vitamin A, hidroquinon, *azelaic acid*, dan

merkuri (Wasitaatmaja, 1997). Sebagian pemutih memiliki fungsi memutihkan dan mengobati jerawat dengan baik, Karena kestabilan senyawa aktifnya pada sediaan liquid maupun semisolid. Beberapa senyawa yang lain tidak memiliki kestabilan yang cukup pada sediaan liquid dan perlu penyimpanan khusus agar khasiatnya terjamin. Di samping penurunan khasiat ada dampak buruk yang mungkin akan ditemukan pada sediaan yang mengandung pemutih yang tidak stabil. Dampak buruk yang mungkin terjadi yaitu iritasi, kemerahan dan rasa terbakar pada kulit karena kehadiran senyawa hasil degradasi atau isomerisasi zat aktif (Pozo dan Viscassilas, 2007) Produk zat pemutih kulit terbagi menjadi 3 golongan yaitu kosmetik, kosmetisikal dan kosmetomedik. Golongan pertama disebut kosmetik, jika produk tersebut memiliki efek pada fisiologi kulit dan dapat dibeli secara bebas, contohnya sabun. Golongan kedua disebut kosmetisikal, jika produk tersebut memiliki efek fisiologi kulit tapi masih boleh dibeli secara bebas-terbatas tanpa memakai resep dokter, contohnya produk yang mengandung *Alpha Hydroxy Acid* (AHA), asam glikolat, arbutin dan hidrokuinon. Golongan ketiga disebut kosmetomedik, produk-produk ini memiliki efek fisiologi kulit dan hanya boleh dibeli dengan resep dokter, contohnya hidrokuinon diatas 2% dan asam retinoat atau *tretinoin*(Andriyani, 2011).

Menurut Menaldi (2003), *tretinoin* (asam retinoat) yaitu zat peremajaan *non peeling* karena merupakan iritan yang menginduksi aktivitas mitosis sehingga terbentuk stratum korneum yang kompak dan halus, meningkatkan kolagen dan glikosaminoglikan dalam dermis sehingga kulit menebal dan padat, serta meningkatkan vaskularisasi kulit sehingga menyebabkan kulit memerah dan segar. *Tretinoin* mampu mengatur pembentukan dan penghancuran sel-sel kulit, kemampuannya mengatur siklus hidup sel ini juga dimanfaatkan oleh kosmetik anti aging atau efek-efek penuaan (BPOM, 2008). *Tretinoin* juga memiliki efek samping bagi kulit yang sensitif, seperti kulit menjadi gatal, memerah dan terasa panas serta jika pemakaian yang berlebihan khususnya pada wanita yang sedang hamil dapat menyebabkan cacat pada janin yang dikandungnya (BPOM, 2008). Maka dari itu perlu dilakukannya penentuan kadar *tretinoin* dari hari ke-0 sampai

60 untuk mengetahui kestabilan kadar *tretinoin* pada sampel kosmetik supaya khasiatnya terjaga.

Metode analisa yang dapat digunakan untuk penetapan kadar *tretinoin* menggunakan Riset *Tretinoin* dalam *Reticor Lotion* No: RMA.FG.11.A.19 , inhouse metode. Metode analisa yang digunakan untuk penetapan kadar *tretinoin* dalam konsentrasi kecil adalah metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Penggunaan HPLC dalam metode ini yaitu memiliki sensitifitas yang baik dan memiliki batas deteksi yang cukup rendah sehingga diharapkan mampu untuk mendeteksi residu atau kadar *tretinoin* dalam konsentrasi yang sangat kecil, presisi kuantitatif terjamin baik dikarenakan mudah dalam memasukkan sampel dengan tepat sehingga mudah dikendalikan, waktu analisa lebih singkat dan dapat dilakukan pada suhu kamar. Penggunaan metode ini perlu dilakukannya uji kesesuaian sistem terlebih dahulu untuk mengetahui instrumen yang akan digunakan dapat bekerja secara optimal atau tidak dan juga untuk menyesuaikan kondisi instrumen dengan sampel yang akan dianalisis. Pengujian ini dilakukan mulai hari ke-0 sampai 60 karena dalam pengujian ini masih memasuki tahap riset, produk ini masih ditahap *in-used* jadi perlu dilakukan analisa dari hari ke-0 sampai ke-60 sesuai dengan permintaan divisi *Research and Development* (RnD) untuk mengetahui kestabilan kadar, setelah tahap ini selesai dilakukan masuk ke tahap berikutnya untuk memenuhi persyaratan BPOM agar produk kosmetik yang dibuat dapat dipasarkan dan mendapatkan ijin edar.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, dapat dirumuskan masalah yang akan dikaji adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana hasil uji kesesuaian sistem analisis *tretinoin* dengan HPLC pada hari ke-0 sampai 60 menggunakan parameter presisi (%RSD), *Plate Count* (N) dan *Tailing Factor* (Tf) ?

2. Bagaimana hasil analisis kadar *tretinoin* pada sampel serum dengan HPLC pada hari ke-0 sampai 60 dan kesesuaiannya dengan syarat keberterimaan yang ditetapkan perusahaan?

### **1.3 Tujuan**

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Membuktikan bahwa metode analisa untuk pemeriksaan kadar *tretinoin* menggunakan metode HPLC menunjukkan hasil yang valid.
2. Membuktikan bahwa metode analisa menggunakan HPLC dapat menunjukkan hasil yang selektif dan dapat digunakan sebagai pengujian rutin penentuan kadar *tretinoin*.

### **1.4 Manfaat**

#### **1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan dan rujukan untuk penelitian mengenai penentuan kadar *Tretinoin* pada sampel kosmetik menggunakan metode HPLC pada bidang industri farmasi.

#### **1.4.2 Bagi Industri**

Manfaat bagi industri diharapkan dapat dijadikan sebagai pedoman dalam menerapkan metode analisa tersebut untuk analisa rutin dalam penentuan kadar *Tretinoin* menggunakan metode HPLC.

## **BAB II**

### **DASAR TEORI**

#### **2.1 Profil Singkat PT. Genero Pharmaceuticals**

Perseroan Terbatas (PT) Genero Pharmaceuticals merupakan suatu perusahaan yang bergerak di bidang Farmasi terpadu, berbasis operasi yang beralamat di Jalan Industri Selatan 1B, Blok KK Nomor 1-2, Kawasan Industri, Jababeka, Cikarang-Bekasi, Indonesia. Perusahaan ini merupakan anak perusahaan dari Arya Group yang lebih mengkhususkan diri pada bisnis *Contact Development dan Manufacturing Area* atau lebih dikenal dengan CDMO pada tahun 2014.

Tahun 2000 merupakan awal berdirinya Perseroan Terbatas (PT) Genero Pharmaceuticals sebagai *pharmacor lab*, yang telah berevolusi dari pabrik yang mengkhususkan dalam memproduksi produk dermatologi untuk kebutuhan Erha Group hingga menjadi sebuah perusahaan yang inovatif dan kompetitif dalam memproduksi berbagai produk farmasi dan kosmetik. PT. Genero Pharmaceuticals hingga saat ini merupakan Mitra strategis dalam *supply chain management* untuk beberapa perusahaan nasional dan multinasional terkemuka. PT. Genero Pharmaceuticals pada tahun 2005, telah mendapatkan sertifikat *Good Manufacturing processes (GMP)* untuk perusahaan Plant 1, dan pada tahun 2007 PT. Genero Pharmaceuticals mengembangkan perusahaan dengan membangun perusahaan Plant 2, yang beralamat di Jalan Industri Selatan 1B, Blok H nomor 1-4, Kawasan Industri, Jababeka II, Cikarang-Bekasi, Indonesia. Plant 2 ini juga mendapatkan sertifikat *Good Manufacturing Processes (GMP)* pada tahun 2010. Perseroan Terbatas (PT) Genero Pharmaceuticals memiliki tujuan sebagai perusahaan yang bergerak di bidang farmasi dan kosmetik yaitu:

1. Memberikan kepuasan dan kepercayaan akan produk kepada pelanggan yang dapat meningkatkan usaha secara signifikan.
2. Memberikan kepercayaan dan ketenangan kepada para pelanggan dengan kualitas dan persediaan produk.

Perseroan Terbatas (PT) Genero Pharmaceuticals merupakan sebuah perusahaan yang didukung oleh fasilitas terkini, para ahli yang berpengalaman

dan *after sales service* yang baik, membuat PT. Genero Pharmaceuticals hadir sebagai sebuah *center of excellence*, karena memiliki semua yang dibutuhkan untuk membuat produk lebih unggul di pasaran.

Perseroan Terbatas (PT) Genero Pharmaceuticals memiliki Divisi *Research and Development* yang terletak di Plant 2. Divisi *Research and Development* memiliki tujuan yaitu memberikan solusi riset dan inovasi, sehingga membantu usaha pelanggan berkembang dengan menciptakan produk yang unggul dan inovatif. Divisi *Research and Development* menawarkan solusi *contract development* dalam skala yang luas, juga menangani hak kekayaan intelektualnya selama bertahun-tahun dan telah memperdalam keahlian di bidang *dermatology, skin care atau cosmetics dan nutraceuticals*. Produk yang dihasilkan berawal dari tahap *idea generation* hingga didapatkan konsep yang menjanjikan pertumbuhan. Tahapan teknis dimulai dengan pengembangan formula bersamaan dengan pengembangan metode analisa serta proses seleksi kemasan.

PT. Genero Pharmaceuticals menjalankan fasilitas yang sesuai dengan standar *Good Manufacturing Process* terkini. Proses produksi di PT. Genero Pharmaceuticals berfokus pada kepatuhan peraturan, perbaikan secara berkala, dan kesempurnaan proses manufaktur di seluruh organisasi. Sistem manajemen mutu sejalan dengan pedoman Indonesia pada cara pembuatan obat yang baik sesuai dengan standar yang telah ditetapkan Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM).

## **2.2 Sampel In-Used**

Cara Pembuatan Kosmetika yang Baik (CPKB) merupakan salah satu factor penting untuk dapat menghasilkan produk kosmetik yang memenuhi standard mutu dan keamanan. Penerapan CPKB merupakan persyaratan kelayakan dasar untuk menerapkan system jaminan mutu dan keamanan yang diakui dunia internasional, guna mengantisipasi pasar bebas di era globalisasi maka penerapan CPKB merupakan nilai tambah bagi produk kosmetik Indonesia agar dapat bersaing dengan produk sejenis dari Negara lain baik di pasar dalam negeri maupun internasional. Dalam pembuatan kosmetik, pengawasan yang menyeluruh

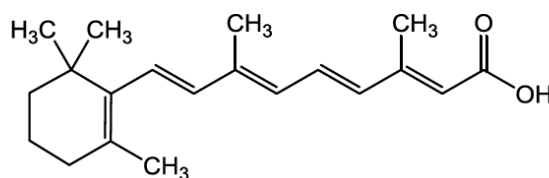


disertai pemantauan sangat penting untuk menjamin agar konsumen memperoleh produk yang memenuhi persyaratan mutu yang ditetapkan. Mutu produk tergantung dari bahan awal, proses produksi dan pengawasan mutu, bangunan, peralatan, dan personalia yang menangani. Hal ini berkaitan dengan seluruh aspek produksi dan pemeriksaan mutu (BPOM, 2003).

Sampel *in-used* Reticor Lotion berbentuk serum merupakan produk kosmetik yang masih tahap riset. Kosmetik yang akan dibuat langkah pertama yaitu dibuat oleh divisi RnD (*Research and Development*) PT. Genero Pharmaceuticals, produk yang sudah dibuat kemudian dilakukan *scale up* (sampling). Langkah kedua memasuki tahap *filling* (produksi skala kecil), hasil dari tahap *filling* ini dinamakan produk *in-used*. Kemudian produk *in-used* memasuki tahap analisa (sesuai kriteria yang dibutuhkan), dilakukan analisa mulai dari hari ke-0 sampai hari ke-60. Langkah berikutnya memasuki tahap stabilitas dari bulan ke-1 sampai bulan ke-6 untuk memenuhi registrasi ke Badan POM sebelum diproduksi secara massal. Fungsi ini bertujuan untuk memenuhi registrasi yang dipersyaratkan oleh Badan POM.

### 2.3 *Tretinoin*

*Tretinoin* yaitu senyawa asam yang merupakan salah satu dari kelompok retinoid yang merupakan kelompok besar derivat dari vitamin A (retinol), retinoid diklasifikasikan menjadi 3 kelas. Pada klasifikasi ini, *tretinoin* menempati senyawa jenis kelas pertama. Dalam perkembangannya, *tretinoin* sudah berhasil disintesis melalui oksidasi retinal untuk digunakan dalam industri farmasi sebagai obat maupun perawatan kulit (Kroshinsky dan Shalita R, 2007)



Gambar 2.1. Struktur kimia *tretinoin* (Sigma-Aldrich, 2018).

Berikut merupakan sifat fisika kimia dari *tretinoin* (Kroshinsky dan Shalita R, 2007) :

Nama IUPAC	: (2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> ,6 <i>E</i> ,8 <i>E</i> )-3,7-dimethyl-9-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)nona-2,4,6,8-tetraenoic acid
Nama lain	: Asam trans retinoat
Rumus molekul	: C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>
Pemerian	: Serbuk Kristal, kuning hingga orange muda
Berat molekul	: 300.4
Kelarutan	: Praktis tidak larut dalam air, larut dalam metilen klorida, sedikit larut dalam alcohol
Titik lebur	: 182°C

*Tretinoin* dapat digunakan melewati penghantar topical maupun peroral. Secara topikal, *tretinoin* sudah digunakan dalam sediaan krim, gel dan solutio untuk membantu penyembuhan jerawat, komedo terbuka dan tertutup serta kerusakan kulit akibat paparan sinar matahari (*photodamaging*) (Kroshinsky dan Shalita R, 2007). Sedangkan penghantar secara peroral, *tretinoin* telah dimanfaatkan untuk terapi kanker dan *leukemia promyelocytic acute* (LPA) (J.Iverson riddle Development Center, n.d).

Pemakaian secara topikal, *tretinoin* bekerja dengan cara mengeliminasi peningkatan keratinisasi dan penebalan epitel folikel dengan cara mempercepat pergantian sel. Sedangkan yang lain, *tretinoin* juga bisa meningkatkan produksi kolagen pada dermis yang secara langsung dapat menurunkan jumlah keriput atau kerutan (Rahardja dan Tjay, 2002). Data risiko bahaya penggunaan asam retinoat (*Tretinoin*) bagi pemakainya menurut BPOM (2011) antara lain:

1) Potensi sebagai iritan

Pada kulit normal, *tretinoin* yang dioleskan akan menimbulkan peradangan pada kulit. Gejala yang sering muncul adalah terasa agak panas, menyengat, kemerahan, eritema sampai pengerasan kulit. Gejala tersebut dapat pulih tergantung dari tingkat keparahan. Selain itu, hipopigmentasi maupun hiperpigmentasi, akantosis (hyperplasia dan penebalan abnormal lapisan tanduk) dan parakeratosis (persistensi nuclei keratinoasit pada lapisan tanduk). Pada dosis yang lebih tinggi dari dosis terapi, efek terapinya tidak akan meningkat dan dalam jangka waktu yang lama, dan dapat menyebabkan menurunnya keratinisasi dan produksi sebum sehingga kulit semakin kering dan tipis.

2) Potensi sebagai zat karsinogen ( penyebab kanker)

Penggunaan *tretinoin* pada mencit albino dan mencit berpigmen terbukti dapat meningkatkan potensi karsinogen akibat radiasi sinar UV-B dan UV-A.

3) Potensi sebagai zat teratogen (penyebab cacat janin)

Penggunaan *tretinoin* berlebih pada ibu hamil trimester pertama bersifat ireversibel. Senyawa ini mudah melintasi plasenta masuk sirkulasi janin dan dapat menyebabkan kegagalan kehamilan, kelainan organ dalam, kelainan kongenital ringan, berat, hingga kematian (Puspitadewi dan Retno, 2008).

Efektifitas kerja asam retinoat (*Tretinoin*) membuat para produsen kosmetik yang tidak bertanggung jawab menambahkannya pada produk kosmetik terutama pada krim wajah (BPOM, 2011).

## **2.4 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)**

### **2.4.1 Prinsip dasar HPLC (High Performance Liquid Chromatography)**

Kromatografi merupakan istilah umum untuk berbagai cara pemisahan berdasarkan partisi cuplikan antara dua fase, yaitu fase gerak, dapat berupa gas atau zat cair, dan fase diam, dapat berupa zat cair atau zat padat. Kromatografi cair kinerja tinggi yaitu suatu teknik pemisahan sampel dalam fase diam berupa zat padat dan fase gerak berupa zat cair dimana pompa Kromatografi Cair Kinerja

Tinggi (KCKT) dilengkapi dengan suatu tekanan tinggi yang lebih dari 6000 psi (400 bar) untuk menghantarkan eluen pada kecepatan optimal (Johnson dan Stevenson, 2002). Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan dengan menggunakan fasa diam (*stationary phase*) dan fasa gerak (*mobile phase*). Kromatografi yaitu teknik pemisahan solut dan zat-zat terlarut dalam suatu campuran komponen melalui suatu kolom dengan adanya perbedaan kecepatan elusi. Pemisahan dengan kromatografi berkaitan dengan adanya perbedaan dalam distribusi oleh komponen-komponen sampel di antara dua fasa yang berbeda yaitu fasa diam dan fasa gerak. Kromatografi terbagi menjadi 2 jenis jika ditinjau dari fasa gerak yang digunakan, yakni kromatografi gas (GC) dan kromatografi cairan atau yang dikenal dengan HPLC. Kromatografi gas, fasa gerak yang digunakan berupa gas, sedangkan kromatografi cairan fasa gerak yang digunakan berupa cairan (Gandjar dan Rohman, 2014).

Menurut Sari (2010), kromatografi sering digunakan untuk memisahkan suatu analit untuk analisa kualitatif maupun kuantitatif. Berdasarkan peralatannya HPLC yaitu suatu jenis kromatografi kolom karena fase diam yang dipakai berisi atau *terpacking* di dalam kolom. Namun, jika dilihat dari proses pemisahannya HPLC termasuk ke dalam kromatografi adsorbs atau partisi tergantung jenis kolom yang dipakai dan analit yang akan dipisahkan. Proses pemisahan dengan HPLC berdasarkan adsorbs dari partisi ke arah yang lebih luas yaitu pemisahan dengan perbedaan afinitas, filtrasi gel dan ion yang berpasangan serta pemisahannya berlangsung di dalam kolom menggunakan suatu larutan tertentu sebagai fasa gerak dengan tekanan tinggi.

Kekuatan dari masing-masing senyawa berbeda-beda sehingga akan menyebabkan senyawa-senyawa tersebut akan terpisah dan menjadi puncak-puncak tersendiri. Hasil dari pemisahan senyawa tadi akan di monitor oleh sebuah detektor yang sesuai dan terletak diujung kolom. Detektor akan memunculkan hasil proses pemisahan tadi dalam bentuk suatu kromatogram yang berbentuk *peak* atau puncak-puncak dari masing-masing senyawa yang telah terpisah. Pemisahan senyawa dengan HPLC diatur oleh distribusi senyawa dalam dua fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak (Harvey, 2000).

Instrumen HPLC hampir bisa memisahkan seluruh jenis campuran komponen analit, karena banyaknya fasa diam yang tersedia dan selektivitas yang baik dapat ditingkatkan melalui fasa gerak yang digunakan. Instrumentasi HPLC pada umumnya menggunakan dua jenis berdasarkan perbedaan fasa gerak dan fasa diam yang digunakan yaitu fase. Fase normal dimana keadaan fasa diam lebih polar daripada fasa gerak, kemampuan elusi meningkat dengan meningkatnya polaritas pelarut. Sementara untuk fase terbalik dimana keadaan fasa diam kurang polar daripada fasa gerak, kemampuan elusi menurun dengan meningkatnya polaritas pelarut (Gandjar dan Rohiman, 2007 : Harmita, 2006).

Keuntungan dari pemisahan menggunakan instrumentasi HPLC yaitu memiliki sensitivitas dan selektivitas yang baik, dapat menganalisis senyawa *nonvolatile* atau senyawa termolabil, penguraian sampel lebih kecil jika dibandingkan dengan kromatografi gas (GC), diatomisasi mudah dilakukan, presisi kuantitatif terjamin baik dikarenakan mudahnya dalam memasukkan sampel dengan tepat sehingga mudah dikendalikan, banyaknya variasi kolom serta detektor yang ada menunjukkan bahwa selektivitas HPLC dapat disesuaikan dengan mudah, umumnya waktu analisa lebih singkat, dapat dilakukan pada suhu kamar dan mudah dioperasikan secara otomatis (Sari, 2010).

#### 1) Fasa Diam Pada HPLC

HPLC pada umumnya menggunakan fasa diam yang berisikan silika yang dimodifikasi secara kimiawi, silika yang tidak dimodifikasi atau polimer-polimer stiren dan divinil benzene. Permukaan silika memiliki sifat polar dan sedikit asam dikarenakan terdapat residu gugus (Si-OH). Salah satu jenis silika yang dimodifikasi adalah oktadesil silika (ODS atau C18) yang merupakan fasa diam yang paling banyak digunakan karena mampu memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran yang rendah, sedang maupun tinggi (Gandjar dan Rohman, 2014).

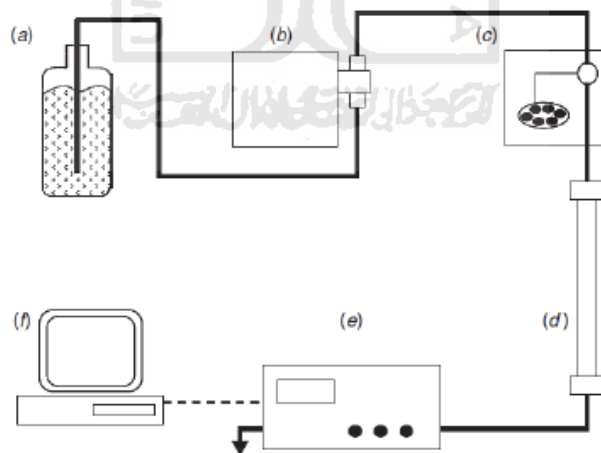
#### 2) Fasa Gerak Pada HPLC

Fasa gerak pada sistem HPLC merupakan suatu perubah yang dapat mempengaruhi proses pemisahan. Fasa gerak atau eluen umumnya terdiri atas campuran pelarut yang dapat bercampur dimana secara keseluruhan berperan

dalam daya elusi atau resolusi. Daya elusi dan resolusi ini ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fasa diam, dan sifat komponen-komponen sampel. Bagian yang perlu diperhatikan dalam pemilihan fasa gerak yaitu fasa gerak harus mampu berinteraksi dengan fasa diam yang sesuai untuk memisahkan senyawa dari suatu campuran secepat dan seefisien mungkin. Umumnya, pemilihan fasa gerak dalam pengujian harus memenuhi kriteria viskositas, transparansi UV, titik didih, kemurnian, sifat inert dan toksisitas (Sherri, 2008).

Fasa gerak dalam proses pembuatannya sangat dianjurkan menggunakan reagen-reagen dengan kemurnian yang tinggi serta menggunakan reagen yang khusus untuk digunakan analisa dengan HPLC (*grade HPLC*). Penggunaan fasa gerak harus benar-benar bersih dari pengotor. Jika terdapat suatu partikel-partikel kecil pada fasa gerak dapat menyebabkan berkumpulnya partikel tersebut di dalam kolom atau tabung yang sempit, sehingga dapat mengakibatkan suatu kekosongan pada kolom. Fase gerak sebelum digunakan pada HPLC harus disaring terlebih dahulu (Gandjar dan Rohman, 2007).

#### 2.4.2 Komponen utama pada HPLC



**Gambar 2.2** Komponen utama pada instrument HPLC (Snyder dkk,2010)

HPLC memiliki komponen utama dapat dilihat pada Gambar 2.2. Gambar 2.2 juga menjelaskan diagram dalam sistem HPLC yaitu dengan (a) wadah fasa gerak, (b) pompa, (c) autosampler atau injektor, (d) kolom, (e) detektor dan (f) recorder.

#### 1) Wadah Fasa Gerak

Wadah fasa gerak yang akan digunakan harus bersih dan lembam (inert). Wadah pelarut kosong atau labu laboratorium dapat digunakan sebagai wadah fasa gerak. Wadah ini umumnya dapat menampung fasa gerak antara 1 sampai 2 liter pelarut. Sebelum dipakai, fasa gerak harus dilakukan tahap *degassing* (penghilangan gas), jika terdapat gas pada fasa gerak akan terkumpul dengan komponen lain terutama di pompa dan detektor sehingga dapat mengganggu proses analisis. Selain itu, adanya partikel yang kecil dapat terkumpul dalam kolom atau dalam tabung yang sempit, sehingga dapat menyebabkan suatu kekosongan pada kolom atau tabung tersebut. Oleh karena itu, sebelum digunakan fasa gerak harus disaring terlebih dahulu untuk menghindari partikel-partikel kecil tersebut (Gandjar dan Rohman, 2007).

#### 2) Pompa

Pompa pada HPLC bertujuan untuk menjamin berlangsungnya proses penghantaran fasa gerak secara cepat, reproduibel, konstan dan bebas dari gangguan. Pompa yang di pakai pada HPLC harus memenuhi syarat sebagaimana syarat wadah pelarut, yaitu pompa harus inert terhadap fasa gerak. Bahan pompa yang di pakai harus terbuat dari bahan yang tahan terhadap eluen, seperti gelas, baja tahan karat, Teflon dan batu nilam (Gandjar dan Rohman, 2007).

Jenis pompa yang biasa digunakan pada HPLC yaitu pompa yang menggunakan mekanisme resiprok. Pompa yang biasa digunakan untuk analisa adalah pompa yang mampu mengalirkan dengan kecepatan alir 0,001-10 mL/menit. Perbedaan pompa pada HPLC berdasarkan pada rentang kecepatan alir, mekanisme kerjanya, atau berdasarkan metode pencampurannya. Berdasarkan pada metode pencampurannya (pencampuran salven) biasanya pompa yang digunakan yaitu pompa dengan menggunakan tekanan rendah atau tekanan tinggi (Ahuja dan Dong, 2005). Pompa bertekanan tinggi digunakan ketika fasa gerak dicampurkan dengan menggunakan pompa-pompa bertekanan tinggi dari masing-masing botol eluen dan kemudiandielusikan ke dalam kolom. Sedangkan pompa bertekanan rendah dilakukan untuk pencampuran solven, pada pencampuran

bertekanan rendah untuk masing-masing botol kemudian setelah tercampur dielusikan oleh pompa bertekanan tinggi ke dalam kolom (Skoog dkk, 2007).

### 3) Injektor

Injeksi sampel untuk suatu analisis dengan metode HPLC merupakan tahap yang penting. Karena meskipun kolom telah memadai, hasil kromatogram yang ditampilkan tidak akan baik jika proses injeksi sampel tidak dilakukan dengan tepat. Kondisi ini akan menjadi suatu keharusan jika yang dilakukan adalah analisis kuantitatif dengan HPLC (Susanti, 2017).

Terdapat tiga jenis dasar injektor yang biasa digunakan dalam HPLC yaitu (Susanti dan Dachriyanusus,2017) :

#### 1. Injektor septum

Penyuntikan cuplikan dengan memasukkan cuplikan tersebut ke dalam syringe dan menusukkan jarum syringe melalui septum elastomer merupakan cara penyuntikan pada kolom yang paling sederhana. Injektor septum pada kromatografi cair merupakan injektor paling murah, tetapi memerlukan focus yang lebih. Septum berkontak dengan pelarut bertekanan tinggi, harus memilih bahan septum yang tidak termakan oleh pelarut.

#### 2. Penyuntikan aliran henti

Penyuntikan pada bagian atas kolom menghasilkan kromatografi yang sangat efisien. Injektor aliran henti dirancang untuk memungkinkan penempatan cuplikan langsung pada bagian atas (ujung) kolom. Volume penyuntikan harus kecil untuk mencegah proses kromatografi tidak dimulai dengan pita yang lebar.

#### 3. Katup kitar atau pipa dosis (*loop valve*)

Prinsip kerja katup kitar yaitu pada saat awal sampel masuk memenuhi volume loop terlebih dahulu, kemudian masuk menuju kolom pemisahan dengan volume yang tidak berkurang sedikitpun. Sampel saat diinjeksikan maka sampel tidak langsung masuk ke dalam kolom, tetapi akan memenuhi pipa dosis terlebih dahulu. Pipa dosis ini memiliki variasi



volume yang bermacam-macam dari 5 $\mu$ L-2mL. volume sampel yang diinjeksikan sebaiknya lima kali dari volume pipa dosisnya.

Autoinjektor memiliki cara kerja yang hampir sama dengan cara kerja sistem injeksi menggunakan pipa dosis. Keuntungan dari sistem ini adalah volume yang diinjeksikan tidak akan berkurang selama proses injeksi dan mampu memisahkan sampel dalam jumlah yang banyak dan waktu yang singkat (Susanti dan Dachriyanusus, 2017).

#### 4) Kolom

Kolom merupakan salah satu bagian terpenting dari kromatografi yang berfungsi untuk memisahkan masing-masing komponen. Kolom terbuat dari bahan yang kokoh seperti stainless steel atau campuran logam dengan gelas untuk menahan tekanan tinggi (Gandjar dan Rohman, 2007). Kolom berisikan fasa diam, fasa diam pada HPLC merupakan suatu lapisan film cair yang terikat pada basis partikel silika. Lapisan film ini terikat bertujuan untuk mencegah terjadinya kemungkinan kebocoran cairan pada fasa diam di dalam kolom. Panjang kolom pada HPLC biasanya 5-25cm dengan diameter bagian dalam sebesar 4,6 mm, ukuran partikel 5  $\mu$ m dan mengandung 40.000 sampai 70.000 plat/meter. Terdapat kolom penjaga (*guard column*) pada HPLC yang berfungsi untuk memperpanjang waktu penggunaan kolom dengan cara mencegah ikatan kuat yang terjadi secara irreversible antara partikel, kontaminan dari pelarut serta komponen pada sampel dengan fasa diam (Skoog dkk, 2007).

Kolom terdiri dari ikatan siloksan (Si-O-Si) dengan struktur tiga dimensi yang kaku, mengandung pori yang saling berhubungan. Konsentrasi dan ukuran pori pada gugus silanol (Si-OH) dapat diatur pada saat produksi kolom. Kelompok silanol dapat menghasilkan sifat polar pada permukaan silika yang akan mempengaruhi proses adsorpsi pada kromatografi dengan menggunakan eluen organik. Ikatan Si-O-Si-R pada permukaan silika dapat diperoleh dengan cara mereaksikan silika dengan organoklorosilan atau organoalkiloksisilan. Silika pada permukaannya juga dapat bersifat non polar dengan cara menambahkan hidrokarbon sehingga dapat digunakan fasa terbalik. Oktadesilsilika (ODS) sering digunakan sebagai bahan pada fasa diam dan mengandung rantai C<sub>18</sub>.

Oktadesilsilan (ODS atau C<sub>18</sub>) adalah fasa diam yang sering digunakan karena dapat memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran rendah, sedang hingga tinggi (Skoog dkk, 2007). Pemilihan kolom berdasarkan jenis fasa gerak dan sifat-sifat sampel dapat dilihat pada tabel 2.3 (Mangisi,2009).

**Tabel 2.1 Modifikasi Silika pada Kolom dan Aplikasinya (Mangisi, 2009)**

Kolom	Fasa	Pelarut	Aplikasi
C18	Octydecyl	AN, MeOH, H <sub>2</sub> O	Non-polar umum
C8	Octyl	AN, MeOH, H <sub>2</sub> O	Non-polar umum
Phenyl	Styryl	AN, MeOH, H <sub>2</sub> O	Asam lemak, ikatan rangkap
Cyano	Cyanopropil	AN, MeOH, H <sub>2</sub> O, THF	Keton, Aldehyd
Amino	Aminopropyl	AN, MeOH, H <sub>2</sub> O, THF, CHCl <sub>3</sub> , DCM	Gula, Anion
Diol	Dihydroxyhexyl	AN, MeOH, H <sub>2</sub> O, THF, Garam	Protein
SAX	Aromatic Quaternaryamine	buffer, AN, MeOH, H <sub>2</sub> O	Anion

#### 5) Detektor

Detektor memiliki fungsi untuk mendeteksi atau mengidentifikasi adanya komponen cuplikan yang ada pada eluat dan mengukur jumlahnya. Detektor pada HPLC dibedakan menjadi 2 jenis yaitu detektor universal (mampu mendeteksi zat secara umum, tidak bersifat spesifik dan selektif) seperti detektor indeks bias dan detektor spektrometri massa, dan golongan detektor spesifik yang hanya akan mendeteksi analit secara spesifik dan selektif, seperti UV-Vis, detektor fluoresensi dan elektrokimia (Gandjar dan Rohman, 2007 : Harmita, 2006). Umumnya detektor dalam penggunaannya dapat dilihat pada tabel 2.2 (Snyder dkk, 2010).

**Tabel 2.2 Jenis-jenis Detektor yang Tersedia Secara Umum dan Penggunaannya (Snyder dkk, 2010)**

<b>Jenis Detektor</b>	<b>Penggunaan</b>
<i>UV-Visible</i>	Digunakan pada senyawa yang terserap pada UV
<i>Fluoresence</i>	Digunakan pada senyawa yang mampu terflouresensi (terutama hidrokarbon poliaromatik)
<i>Refractive Index (RI)</i>	Digunakan untuk menganalisis alcohol, gula, sakarida, asam lemak dan analisis polimer dengan indeks bias yang berbeda dari pelarut
Elektrokimia	Digunakan untuk menganalisis berbagai senyawa dengan reduksi oksidasi
Konduktivitas	Digunakan untuk menganalisa ion anorganik
<i>Evaporative Light Scattering (ELS)</i>	Digunakan untuk menganalisa berbagai macam senyawa yang kekurangan gugus kromofor, termasuk trigliserida, gula dan produk alami
<i>Fourier Transfer Infrared</i>	Digunakan untuk senyawa dengan gugus fungsi vibrasional
<i>Mass Spektrofotometry</i>	Detektor universal

Detektor UV-Vis yaitu detektor yang sering digunakan, dikarenakan sering digunakan tersebut maka akan suatu kecenderungan puncak-puncak kromatogram yang tidak terdeteksi dan juga terjadi pergeseran puncak-puncak kromatogram. Prinsip dasar detektor UV-Vis yaitu dengan penyerapan radiasi ultraviolet (UV) dan sinar tampak (Vis) yang berkisar pada panjang gelombang 190-800 nm dengan spesies solute yang memiliki struktur atau gugus-gugus kromoforik (Kar, 2005).

#### 6) Rekorder

Rekorder berfungsi sebagai perekam atau penyimpan hasil dari pembacaan detektor. Rekorder dihubungkan langsung dengan detektor dan rekorder menangkap sinyal elektronik yang dihasilkan detektor dan hasilnya dalam bentuk kromatogram.

### 2.4.3 Parameter pada Kromatografi

Umumnya setiap kromatogram pada HPLC yang dihasilkan merupakan suatu garis tegak lurus bagi masing-masing analit. Sedangkan kebanyakan

keadaan kromatogram yang dihasilkan tidak selalu tegak lurus. Ketika proses dimulainya injeksi sampel menuju kolom, molekul sampel tidak akan berkumpul pada satu titik secara serentak dalam waktu yang sama, karena setiap molekul analit akan mengalami hambatan di dalam fasa diam dan akan keluar dari kolom dengan waktu yang berbeda-beda. Kualitas yang dihasilkan dari suatu kromatogram dapat dipengaruhi oleh beberapa hal, diantaranya yaitu waktu retensi atau waktu tambat, factor kapasitas, jarak setara plat teori, resolusi dan factor simetri (Sari, 2010).

1) Waktu Tambat atau Waktu Retensi

Waktu tambat atau waktu retensi (*retention time*) merupakan jarak waktu yang diperlukan oleh analit mulai dari injeksi sampai keluar dari kolom dan sinyal secara maksimal akan ditangkap oleh detektor disebut sebagai waktu tambat atau waktu retensi (*retention time*). Waktu retensi analit yang tertahan di fasa diam dinyatakan sebagai  $t_R$ , sedangkan waktu retensi analit yang tidak tertahan di fasa diam atau sering disebut sebagai waktu retensi fasa gerak dinyatakan sebagai  $t_M$ . nilai  $t_M$  akan lebih kecil dari harga  $t_R$ , karena yang akan menuju kolom terlebih dahulu yaitu fasa geraknya (Sari, 2010). Waktu analit dapat dinyatakan pada persamaan berikut (Mulja dan Suharman, 1995) :

$$t_R = \left( \frac{V_s}{V_m} Kd + 1 \right) t_M$$

Keterangan :  $t_R$  = Waktu retensi analit

$t_M$  = Waktu retensi fasa gerak

$Kd$  = Koefisien distribusi

$V_m$  = Volume fasa gerak

$V_s$  = Volume fasa diam

Berdasarkan persamaan tersebut, bahwa nilai  $t_M$ ,  $V_m$  dan  $V_s$  dapat diatur. Maka dari itu, nilai  $t_R$  akan menjadi lebih spesifik untuk masing-masing analit. Campuran zat yang akan diinjeksikan dan dianalisis dengan HPLC akan memiliki nilai  $t_R$  yang berbeda, karena setiap analit memiliki nilai  $Kd$  yang spesifik (Sari, 2010).

## 2) Faktor Kapasitas atau Faktor Retensi ( $k$ )

Faktor retensi yaitu waktu yang diperlukan untuk membawa keluar suatu analit dari dalam kolom kromatografi. Suatu analit dalam kondisi tertentu pada komposisi fasa gerak, suhu dan jenis kolom (panjang kolom, diameter, dan ketebalan lapisan film) tertentu, akan memiliki ciri khas masing-masing inilah yang disebut faktor kapasitas. Identifikasi suatu puncak kromatogram tidak hanya dilihat dengan waktu retensi namun juga dapat dengan menggunakan faktor kapasitas, karena waktu retensi dapat berubah sesuai dengan kondisi yang digunakan seperti panjang kolom dan kecepatan alir fasa geraknya (Sari,2010).

Puncak-puncak analit terelusi secara relative terhadap puncak fasa geraknya dapat dilihat lokasinya berdasarkan nilai dari faktor kapasitasnya. Faktor kapasitas dapat dinyatakan sebagai persamaan berikut :

$$k' = \frac{(t_R - t_M)}{t_M}$$

$(t_R - t_M)$  yaitu waktu tambat terkoreksi dan  $t_M$  merupakan waktu tambat fasa gerak. Nilai faktor kapasitas ( $k'$ ) yang baik yaitu berkisar antara 1 dan 10. Jika nilai  $k'$  kecil maka puncak-puncak analit belum saling berhimpitan (*overlapping*) dengan puncak fasa geraknya. Sedangkan nilai  $k'$  yang besar menunjukkan bahwa waktu pemisahan yang dilakukann terlalu lama. Faktor kapasitas hanya menjamin pemisahan dua puncak kromatogram pada bagian atasnya saja (Sari, 2010).

## 3) Resolusi ( $R_s$ ) dan Faktor Selektivitas ( $\alpha$ )

Metode HPLC dalam analisisnya diharapkan menghasilkan pemisahan yang baik. Maka dari itu, untuk menggambarkan hasil pemisahan kromatogram yang terjadi telah baik maka diperlukan suatu parameter yang dapat menyatakan bahwa suatu pemisahan telah baik. Parameter tersebut yaitu resolusi ( $R_s$ ) dan faktor pemisahan atau faktor selektivitas yang dinyatakan sebagai  $\alpha$ . Faktor pemisahan ( $\alpha$ ) merupakan penggambaran dari pemisahan antara dua puncak relative terhadap satu sama lain. Resolusi ( $R_s$ ) merupakan perbandingan antara waktu retensi yang berbeda  $t_1$  dan  $t_2$  dari dua puncak dan rata-rata area  $W_1$  dan  $W_2$  dari dua puncak pada garis dasarnya. Nilai  $R_s$  dapat dikatakan baik jika nilainya mendekati atau lebih dari 1,5 dan apabila nilai  $R_s = 1$  maka dapat dikatakan bahwa terdapat sekitar 4% dua puncak yang berdekatan *overlap* dan mampu untuk analisa

kromatogram. Nilai faktor selektivitas dapat dikatakan baik jika nilainya lebih dari 2. Resolusi ( $R_s$ ) sebenarnya hampir sama dengan faktor pemisahan ( $\alpha$ ), yang membedakan dari keduanya yaitu jika pada resolusi melibatkan waktu dan lebar dasar puncak, sedangkan pada faktor pemisahan hanya melibatkan waktu tambat saja (pemisahan bagian atas kromatogram) (Sari, 2010).

#### 4) Puncak Asimetri atau *Tailing factor*

Puncak asimetri atau *tailing factor* yaitu kromatogram yang dihasilkan tidak simetris akibat pengekoran (*tailing*) pada kromatogram. Nilai *tailing factor* yang ideal yaitu rentang 0,95-1,15. Kromatogram yang dihasilkan memberikan nilai *tailing factor* (TF) = 1 maka hasil kromatogram simetris. Apabila nilai TF > 1 maka kromatogram tersebut mengekor (*tailing*), makin besar nilai TF maka kolom yang digunakan makin efisien. Jika nilai TF < 1 maka kromatogram yang dihasilkan mengandung (*fronting*), namun dapat diatasi dengan mengurangi volume injeksi awal. Maka dari itu, nilai TF merupakan suatu pedoman yang digunakan untuk melihat efisiensi suatu kolom kromatografi (Sari, 2010).

#### 5) Efisiensi

Melihat efisiensi pada kolom kromatografi dapat dilihat nilai dari jumlah plat teori (N) yaitu suatu distribusi dari keseimbangan dinamis yang terjadi di dalam suatu kolom. Proses pemisahannya diharapkan dengan mendapatkan nilai N yang sebesar-besarnya. Semakin kecil ukuran partikel di dalam kolom akan menyebabkan efisiensi kolom pada HPLC semakin meningkat. Nilai N diperoleh dengan persamaan berikut (sari, 2010) :

$$N = 16 \left( \frac{t_R}{W} \right)^2$$

$$N = 5,54 \left( \frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2$$

Keterangan :  $t_R$  = waktu retensi analit

$W$  = lebar pada dasar puncak

$W_{1/2}$  = lebar pada setengah tinggi puncak

### 2.4.4 Penetapan Kadar Sediaan

Penetapan kadar memiliki tujuan untuk mengetahui apakah zat aktif yang terkandung dalam sediaan sesuai dengan spesifikasi yang diinginkan dan

memenuhi syarat seperti yang tertera pada masing-masing monografi. Jika zat aktif tidak memenuhi syarat maka kosmetik tersebut tidak akan memberikan efek terapi dan juga tidak layak konsumsi.

*High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) paling sering digunakan dalam penetapan kadar senyawa-senyawa tertentu seperti asam-asam amino, asam-asam nukleat, dan protein-protein dalam cairan fisiologis, menentukan kadar pada senyawa-senyawa aktif obat dan kosmetik, produk hasil samping proses sintesis atau produk-produk degradasi dalam sediaan farmasi, memantau sampel-sampel yang berasal dari lingkungan, memurnikan senyawa dari suatu campuran, memisahkan polimer dan menentukan distribusi berat molekulnya dalam suatu campuran, serta control kualitas dan mengikuti jalannya reaksi sintesis.

Penetapan kadar zat aktif *tretinoin* pada Reticor Lotion dapat dilakukan dengan metode analisa menggunakan Riset *Tretinoin* dalam Reticor Lotion No: RMA.FG.11.A.19 , inhouse metode.

#### **2.4.5 Pengoperasian Instrumen HPLC**

Instrumen HPLC sebelum dipersiapkan untuk dilakukan suatu analisa harus dilakukan pengkondisian terlebih dahulu. Tujuan dari dilakukan pengkondisian ini yaitu supaya kolom HPLC yang akan digunakan dalam keadaan baik serta siap digunakan serta akan menghasilkan kromatogram yang baik dan sesuai dengan apa yang seharusnya. Pengoperasian HPLC dilakukan dengan melakukan langkah-langkah sebagai berikut:

1) *Prime all solvent*

*Prime all solvent* yaitu tahapan pertama yang harus dilakukan. Prosedur yang dilakukan yaitu dengan menggunakan larutan methanol 100%, acetonitrile 100%, aquadem dan fasa geraknya ( $H_3PO_4$  0,1%) pada semua *channel* yang terdapat pada alat HPLC tersebut. Sebelum digunakan semua larutan harus dilakukan penyaringan dengan membrane filter ukuran 0,2  $\mu m$  untuk memisahkan kemungkinan terdapat pengotor pada larutan. Kemudian dilakukan proses *degassing* atau sonikasi yang bertujuan untuk menghilangkan gelembung gas pada

larutan yang akan digunakan. Larutan yang digunakan ditempatkan sesuai dengan tata letaknya, seperti *channel A* diletakkan untuk *buffer* atau fasa gerak, *channel B* untuk acetonitrile 100%, *channel C* untuk aquadem dan *channel D* untuk methanol 100%.

Tujuan dilakukan *prime all solvent* tersebut yaitu untuk mengalirkan semua selang *channel* dengan menggunakan masing-masing larutan agar selang *channel* tersebut tidak terdapat gelembung udara yang dapat menyebabkan terganggunya proses *conditioning coloumn* yang nantinya akan dilakukan. Larutan acetonitril digunakan apabila fasa gerak yang digunakan mengandung acetonitril. Apabila fasa gerak yang digunakan tidak mengandung acetonitrile maka pada pengkondisian HPLC tersebut dapat diganti dengan fasa gerak yang digunakan, misalnya seperti menggunakan methanol.

### 2) *Prime seal wash*

*Prime seal wash* dilakukan dengan penggunaan larutan methanol 10%. Memiliki *channel* tersendiri pada pencucian *seal wash* ini. Tujuan dilakukan *prime seal wash* ini yaitu untuk mengalirkan larutan methanol 10% tersebut ke selang *seal wash* tersebut supaya tidak terdapat gelembung udara pada selang yang nanti dapat mengganggu ketika proses pencucian injektor saat setelah selesai analisa. *Seal wash* sendiri berfungsi sebagai pencuci injektor setiap selesai penyuntikan sampel. Jika terdapat gelembung udara pada selang *seal wash* tersebut maka nantinya dapat mengakibatkan adanya gangguan ketika pembersihan injektor sehingga menyebabkan proses analisa yang dilakukan tidak menghasilkan data (kromatogram) yang baik.

### 3) *Purge injector*

*Purge injector* dilakukan untuk membilas *syringe* injektor dari sisa sampel hasil analisa sebelumnya, sehingga *syringe* injektor diharapkan bersih dari sampel dan pengotor ketika akan digunakan. Maka dari itu, hasil analisa yang didapatkan nantinya terbebas dari pengotor. *Purge injector* dilakukan dengan menggunakan fasa geraknya, *purge injector* dapat dilakukan dengan langsung mengatur ke alat HPLC atau melalui computer.



#### 4) *Conditioning coloumn*

*Conditioning coloumn* dilakukan dengan tujuan untuk mengkondisikan kolom HPLC yang akan dipakai supaya kondisinya siap untuk dilakukan analisa. Pengkondisian kolom ini dilakukan dengan menggunakan larutan organik 10% dan 90% air. Urutannya yaitu dengan mengalirkan air 90% terlebih dahulu yang kemudian disusul dengan larutan organik 10%. Tujuan pengkondisian dengan air ini adalah untuk membersihkan kolom semisal kolom tersebut masih terdapat *buffer*, karena *buffer* sendiri pelarutnya air maka menggunakan air untuk menghilangkan *buffer* pada kolom. Larutan organik 10% untuk mengaktifkan kembali kolom akibat pengaruh penyimpanan, sehingga nanti kolom yang digunakan tersebut telah aktif dan siap untuk digunakan. Setelah kolom aktif, tahap selanjutnya yaitu dengan mengalirkan fasa gerak ke dalam kolom. Tujuannya yaitu untuk mengkondisikan kolom atau membiasakan kolom dari fasa gerak, sehingga ketika analisa berlangsung kolom tersebut sudah terbiasa dengan fasa geraknya.

#### 5) Proses analisa sampel

Tahapan ini yaitu tahapan yang dilakukan untuk menginjeksikan sampel yang akan dianalisa. Tahapan awal injeksi biasanya dimulai dari standar uji kesesuaian sistem. Apabila uji kesesuaian sistem telah memenuhi syarat yang telah ditentukan maka tahap selanjutnya yaitu injeksi standar. Tujuan injeksi standar yaitu sebagai pembanding dari hasil injeksi sampel apakah hasil dari injeksi sampel masih masuk dari kriteria standar atau tidak. Tahap selanjutnya yaitu injeksi sampel, hasil injeksi sampel disesuaikan hasil kromatogramnya yang diperoleh masih sama dengan standar atau tidak.

#### 6) Cuci akhir

Cuci akhir dilakukan dengan menggunakan 90% organik dan 10% air. Urutannya adalah dengan mengalirkan terlebih dahulu 20% organik dan 80% air, yang mana dilakukan secara gradien dengan komposisi akhir 90% organik dan 10% air. Cuci akhir ini bertujuan untuk membersihkan kolom dari sisa sampel yang telah dilakukan, sehingga kolom yang telah selesai digunakan dalam keadaan bersih untuk dilakukan penyimpanan. Penggunaan larutan organik ketika

cuci akhir supaya kolom tersebut ketika proses penyimpanan tidak terlalu kering dan kolom sendiri harus tersimpan dalam kondisi organik, Karena kolom sendiri berisikan silika gel organik.

#### **2.4.6 Penerapan uji HPLC pada sampel *tretinoin***

Tahap pertama yang dilakukan yaitu menyalakan instrumen HPLC, kemudian membuat fasa geraknya yaitu H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,1% : Asetonitril (3:97) sebanyak 1 liter dan dimasukkan ke *channel* A lalu dilakukan *prime all solvent*. Langkah kedua yaitu dilakukan *prime seal wash* yang bertujuan untuk mengalirkan larutan metanol 10% ke selang *seal wash* supaya tidak terdapat gelembung udara pada selang saat proses pencucian injektor dan dilakukan *purge injector* untuk membilas *syringe* injektor dari sisa sampel sebelumnya. Langkah ketiga yaitu pengkondisian kolom yang bertujuan untuk membiasakan kolom dengan fasa gerak yang akan digunakan, selagi menunggu pengkondisian kolom maka dilakukan preparasi standar *tretinoin*, kemudian dilakukan injeksi standar ke instrumen ketika pengkondisian kolom sudah selesai dan ketika hasil injeksi standar menghasilkan kromatogram yang baik, maka dilakukan uji kesesuaian sistem untuk mengetahui performa instrumen, jika hasil yang didapatkan telah memenuhi syarat maka dapat dilanjutkan untuk analisa sampel. Injeksi standar telah selesai, tahap berikutnya yaitu injeksi sampel yang telah dipreparasi. Hasil kromatogram sampel kemudian dibandingkan dengan standarnya untuk mengetahui masuk kriteria atau tidaknya. Selanjutnya yaitu pencucian akhir kolom yang bertujuan untuk membersihkan kolom dari sisa sampel yang telah digunakan.

#### **2.5 Estimasi Ketidakpastian Pengukuran**

Estimasi ketidakpastian pengukuran yaitu suatu parameter yang menetapkan rentang nilai yang didalamnya memiliki nilai benar. Ketidakpastian juga menunjukkan bahwa suatu laboratorium telah memperhitungkan faktor-faktor kesalahan dalam penentuan nilai benar. Ketidakpastian mengkombinasikan berbagai kesalahan dalam pengujian yang dijadikan suatu kesatuan dalam rentang tunggal. Pengukuran rentang ketidakpastian dikenal sebagai pengukuran ketidakpastian (Pramono, 2014).

Kesalahan umumnya terjadi pada proses pengujian yaitu kesalahan sistematis yang merupakan kesalahan yang berkaitan dengan alat-alat yang digunakan dalam pengujian dan cara pengujian dalam pengujian. Sumber-sumber ketidakpastian berasal dari sampling, peralatan, instrumen, preparasi sampel, personil serta adanya kesalahan baik acak maupun sistematis. Ketidakpastian pengukuran ditentukan menggunakan diagram tulang ikan atau *fish bone* (Pramono, 2014).



## **BAB III METODOLOGI**

### **3.1 Bahan**

Bahan yang digunakan untuk menentukan kadar *tretinoin* pada sampel *in-used* sediaan cairan (serum) adalah standar *tretinoin*, asetonitril, metanol, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 85% p.a, Akuademin.

### **3.2 Alat**

Alat-alat yang digunakan untuk menentukan kadar *tretinoin* pada sediaan sampel *in-used* kosmetik adalah *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) (waters e2695), neraca analitik (Sartorius), sonikator, pipet volume (Iwaki) 2 ± 0,010 mL, pipet ukur (Iwaki) 1 ± 0,1 mL; 5 ± 0,03 mL, labu ukur gelap (Iwaki) 50 mL; 100 mL, membran filter PVDF 0,4µm, vial, vortex, spatula, kertas timbang, pipet tetes, pro pipet, gelas beaker (Iwaki) 500 mL, gelas ukur (Iwaki) 1000 mL, botol duran dan lemari asam.

### **3.3 Cara Kerja**

#### **3.3.1 Pembuatan Larutan dan Preparasi Sampel**

##### 1) Pembuatan Fasa Gerak

Fase gerak diperoleh dengan pembuatan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,1% terlebih dahulu dengan memipet 0,6 mL H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> pekat di lemari asam, kemudian dimasukkan ke gelas beker 500 mL dan ditambahkan aquadem hingga tanda batas. Fasa gerak diperoleh dengan mencampurkan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,1% : Asetonitril (3:97) sebanyak 1 liter kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan membran filter PVDF 0,2 µm dan disonikasi selama 10 menit.

##### 2) Pembuatan Larutan Standar *Tretinoin*

Standar *Tretinoin* ditimbang secara seksama 40,0 mg di ruangan gelap (cahaya minimal) kemudian dimasukkan ke labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan ±25 mL metanol p.a, selanjutnya disonikasi selama 5 menit dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas, kemudian di pipet 5 mL larutan dimasukkan ke labu ukur 100 mL dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda

batas, selanjutnya disaring menggunakan membran filter PVDF 0,4 µm ke vial HPLC.

### 3) Preparasi Sampel

Sampel dipipet secara seksama sebanyak 2,0 mL dimasukkan ke labu ukur 50 ml, ditambahkan ±25 mL metanol p.a dan divorteks selama 2 menit, kemudian disonikasi selama 10 menit dan ditambahkan metanol p.a hingga tanda batas, selanjutnya disaring menggunakan membran filter PVDF 0,4 µm ke vial HPLC.

### 4) Kondisi Instrumen HPLC

**Tabel 3.1 Kondisi HPLC Pada Analisa *Tretinoin***

Parameter	Spesifikasi
Kolom	Xbridge C8 5µm 4,6 x 150 mm
Detektor	UV 355 nm
Temperatur kolom	- °C
Temperatur sampel	- °C
Kecepatan aliran	1 mL/mnt (isokratik)
Volume injeksi	10 µL
Run time	4 menit

### 3.3.2 Uji Kesesuaian Sistem

#### 1) Langkah Uji Kesesuaian Sistem

Uji kesesuaian sistem dilakukan menggunakan larutan standar tunggal *tretinoin* dengan cara diinjeksikan sebanyak 6 kali ke dalam sistem HPLC. apabila uji kesesuaian sistem tercapai maka dapat dilanjutkan untuk analisa selanjutnya.

#### 2) Keberulangan Sistem

keberulangan sistem dilakukan dengan menggunakan larutan standar *Tretinoin*. Larutan standar *tretinoin* dibuat sebanyak 6 kali dan diinjeksikan masing-masing larutan standar *Tretinoin* ke sistem HPLC.

### 3.3.3 Penentuan *Tretinoin* Pada Sampel

#### 1) Penentuan Kadar

Sampel yang telah dipreparasi kemudian diinjeksikan ke dalam HPLC. Dihasilkan suatu kromatogram yang terdapat puncak-puncak analit dan terdapat nilai waktu retensi serta luas area sampel. Luas area sampel yang telah didapat kemudian di olah data untuk menentukan kadarnya.

#### 2) Keberulangan Sampel

Keberulangan metode dilakukan dengan menggunakan larutan sampel yang sudah dipreparasi. Larutan sampel dibuat sebanyak 2 kali yang selanjutnya akan diinjeksikan ke sistem HPLC.

#### 3) Estimasi Ketidakpastian

Informasi yang didapat mengenai ketertelusuran alat yang dipakai seluruhnya dicatat untuk mencari nilai ketidakpastian pengukuran. Penentuan rumus matematika yang digunakan dalam pengujian ditentukan, selanjutnya dilakukan perhitungan ketidakpastian baku hingga ketidakpastian pengukuran dalam pengujian.

### 3.3.4 Analisis Data

#### 1) Presisi

##### 1. Keberulangan Sistem

Penetapan presisi untuk keberulangan sistem dilakukan dengan menggunakan larutan standar *Tretinoin*. Larutan standar *tretinoin* dibuat sebanyak 6 kali dan diinjeksikan masing-masing larutan standar *Tretinoin* ke sistem HPLC.

##### 2. Keberulangan Sampel

Penetapan presisi keberulangan metode dilakukan dengan menggunakan larutan sampel yang sudah dipreparasi. Larutan sampel dibuat sebanyak 2 kali yang selanjutnya akan diinjeksikan ke sistem HPLC.

2) Kriteria Syarat Keberterimaan

**Tabel 3.2 Kriteria Penerimaan Hasil Kadar *Tretinoin***

<b>Parameter Uji</b>	<b>Batas Penerimaan</b>
Uji Kesesuaian Sistem	-RSD dari 6 injeksi standar berurutan < 2,0% -Tailing Factor injeksi standar < 2 -Resolusi injeksi standar > 2 -Plate count injeksi standar > 2000
Kadar	99,20% ± 10%
Presisi	RSD ≤ 2%



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan kesesuaian kadar *tretinoin* dengan klaim zat aktif pada sediaan sampel kosmetik analit *in-used* bertujuan untuk mengetahui bahwa metode analisa untuk pemeriksaan kadar *tretinoin* menggunakan metode HPLC menunjukkan hasil yang valid dan juga untuk membuktikan bahwa metode analisa menggunakan HPLC dapat menunjukkan hasil yang selektif dan dapat digunakan sebagai pengujian rutin penentuan kesesuaian kadar *tretinoin* dengan klaim zat aktif. Parameter yang diukur dalam penentuan ini meliputi uji kesesuaian sistem, presisi (%RSD), kadar, serta estimasi ketidakpastian.

### 4.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel dilakukan dengan hati-hati, dijaga seminimal mungkin dengan interaksi cahaya agar tidak mengalami oksidasi. *Tretinoin* dikatakan tidak murni ketika didalamnya mengandung satu atau dua lebih isomer senyawa tersebut. Isomer yang dimaksud yaitu asam 13-cis-retinoat (*isotretinoin*), asam 9-cis-retinoat (*alitretinoin*), asam 9,13-di-cis-retinoat dan asam 11,13-di-cis-retinoat. Isomer-isomer tersebut dapat muncul pada *tretinoin* maupun sediaan yang mengandung *tretinoin* jika penyimpanannya tidak sesuai. Ketidaksesuaian penyimpanan bisa disebabkan oleh paparan cahaya dan suhu penyimpanan yang cukup tinggi. Pelarut yang digunakan untuk melarutkan *tretinoin* dan memisahkannya dari senyawa lain yaitu dengan pelarut metanol. *Tretinoin* bersifat polar dan metanol juga bersifat polar sesuai dengan prinsip *like dissolve like* yaitu suatu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat yang sama. Proses vortex dilakukan agar sampel dapat homogen secara sempurna. Penggunaan sonikator bertujuan untuk memecah senyawa agar homogen semakin sempurna. Prinsip dari sonikator yaitu mengubah sinyal listrik menjadi getaran fisik yang dapat diarahkan untuk suatu bahan dengan bantuan generator listrik ultrasonik, alat ini kemudian mengirimkan getaran ke larutan yang disonikasi sehingga molekul menjadi pecah dan homogen. Penggunaan membran filter PVDF 0,4 µm



bertujuan untuk menyaring sampel dengan ukuran diameter pori tertentu, hal ini berkaitan dengan ukuran pori yang akan masuk kedalam kolom HPLC.

#### 4.2 Uji Kesesuaian Sistem

Uji kesesuaian sistem merupakan langkah utama yang dilakukan sebelum menganalisa sampel untuk mengetahui kondisi instrumen dalam kondisi baik atau tidak. Berikut hasil uji kesesuaian sistem dari hari ke-0 sampai 60 :

**Tabel 4.1 Hasil Uji Kesesuaian Sistem Analisa *Tretinoin* dengan HPLC dari Hari ke-0 sampai 60**

Hari ke-	$t_R$ (min)		W (AU)		N rata-rata	$T_f$ rata-rata
	Rata-rata	%RSD	Rata-rata	%RSD		
0	2,4206	0,8252	1796270	0,2491	$6,6 \cdot 10^3$	1,2
3	2,3746	0,0947	1753351	0,3001	$7 \cdot 10^3$	1,2
7	3,001	0,0421	1755834	0,4539	$6,6 \cdot 10^3$	1,2
14	2,9596	0,0275	1841124	0,2064	$4,2 \cdot 10^3$	1,1
21	2,4931	1,6854	1726564	0,4031	$5,6 \cdot 10^3$	1,3
28	2,4435	0,0620	1741793	0,6506	$6,3 \cdot 10^3$	1,3
41	2,8246	0,0428	1782740	0,1643	$6,2 \cdot 10^3$	1,2
60	2,8713	0,0524	1723442	0,2551	$6,4 \cdot 10^3$	1,1

Berdasarkan tabel 4.1 menunjukkan bahwa hasil yang didapatkan sesuai dengan kriteria yang telah ditentukan pada tabel 3.2. hasil ini juga menunjukkan bahwa instrumen HPLC masih dalam keadaan baik dan siap digunakan untuk proses analisa. Fungsi dari uji kesesuaian sistem yaitu untuk mengetahui apakah instrumen yang akan digunakan beroperasi dengan baik atau tidak.

Syarat keberterimaan uji kesesuaian sistem yaitu %RSD <2%, *Plate Count* (N) >2000, dan *Tailing factor* ( $T_f$ ) <2. %RSD nilainya harus kurang dari 2% yaitu untuk mengetahui selisih antara nilai injeksi satu dengan yang lainnya, apakah terjadi selisih yang signifikan atau tidak. Jika selisih satu sama lain sedikit nilainya bahkan tidak ada nilai selisih maka nilai %RSD dikatakan baik. Nilai *Plate Count* (N) >2000, dalam proses pemisahan diharapkan untuk menghasilkan harga N yang sebesar-besarnya. Hal ini berfungsi untuk meningkatkan efisiensi

kolom HPLC dengan semakin kecilnya ukuran partikel yang ada didalam kolom. Nilai *Tailing factor* ( $T_f$ )  $< 2$ , nilai  $T_f = 1$  berarti kromatogram tersebut benar-benar simetris, harga  $T_f > 1$  berarti kromatogram tersebut mengekor (tailing), semakin besar harga  $T_f$  maka makin efisien kolom yang dipakai dengan nilai tidak lebih dari 2. Harga  $T_f$  dapat digunakan sebagai pedoman untuk melihat efisiensi kolom kromatografi.

### 4.3 Penetapan Kadar

Penetapan kadar dilakukan dengan cara membandingkan hasil luas area standar dengan hasil luas area sampel yang didapatkan yang kemudian dihitung dengan dengan rumus perbandingan yang sudah ditetapkan. Penetapan kadar bertujuan untuk menjamin efikasi, keamanan dan kualitas kosmetik yang beredar. Penetapan kadar ini menggunakan metode Riset *Tretinoin* dalam Reticor Lotion No: RMA.FG.11.A.19 , inhouse metode. Berdasarkan inhouse metode yaitu, serum *tretinoin* yang mengandung tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110% dari jumlah yang tertera pada etiket dan %RSD tidak lebih dari 2% merupakan nilai keberterimaan standar spesifikasi persyaratan. Hasil penentuan kadar *tretinoin* dapat dilihat pada tabel 4.2.

**Tabel 4.2 Hasil penentuan kadar *tretinoin***

No	Analisa Hari Ke-	Kadar (%)		
		Sampel 1	Sampel 2	Rerata
1	0	100,2210	100,4545	100,3377
2	3	103,7787	103,0298	103,4042
3	7	105,8220	106,4415	106,1317
4	14	104,0379	104,5003	104,2691
5	21	106,5524	106,4572	106,5048
6	28	105,1382	105,3010	105,2196
7	41	103,4992	103,4338	103,4665
8	60	106,9453	107,1113	107,0283

Berdasarkan Tabel 4.2, menyimpulkan bahwa kadar sampel dari hari ke-0 sampai hari ke-60 dalam serum berkisar antara 100,3% sampai 107% dimana kadar terendah diperoleh pada serum *tretinoin* di hari ke-0 dan kadar tertinggi pada hari ke-60. Hasil yang didapatkan telah memenuhi spesifikasi persyaratan, tetapi jika dilihat hasilnya secara seksama menunjukkan bahwa kadar yang diperoleh mengalami peningkatan dan penurunan. Kondisi ini terjadi karena penggunaan alat HPLC yang berbeda-beda meskipun tipenya sama, karena setiap alat HPLC kondisi performanya berbeda-beda.

#### 4.4 Penentuan Presisi

Presisi yaitu suatu parameter yang menunjukkan kedekatan atau kesesuaian hasil uji dengan lainnya pada rangkaian pengukuran yang diperoleh dari sampel yang homogen. Presisi dinyatakan dalam macam cara antara lain dengan simpangan baku, simpangan rata-rata atau kisaran yang merupakan selisih hasil pengukuran terkecil dan terbesar. Nilai presisi didapatkan dengan cara menghitung nilai standar deviasi (SD) yang kemudian dapat dihiung *Relative Standard Deviation* (RSD). Nilai keberterimaan %RSD yaitu <2% yang menunjukkan bahwa hasil pengulangan yang dilakukan memberikan presisi yang baik (Harmita, 2014). Penentuan presisi pada analisa *Tretinoin* dilakukan dengan menggunakan presisi keberulangan sistem. Presisi keberulangan sistem yaitu keberulangan yang dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bahwa sistem pada HPLC yang digunakan masih memberikan hasil yang baik sehingga sistem yang dipakai masih dalam kondisi konsisten. Nilai presisi yang baik dan dapat diterima dapat dilihat berdasarkan nilai dari %RSD waktu retensi dan %RSD luas area.

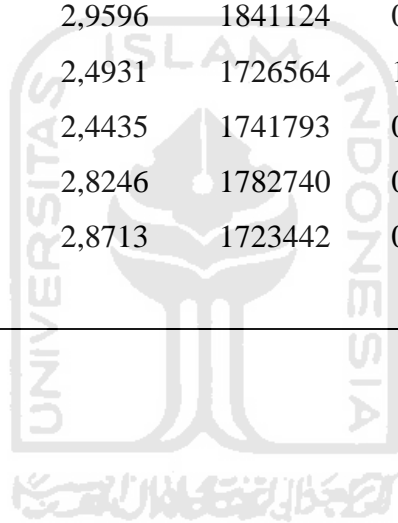
Nilai keberterimaan %RPD yaitu <10% yang menunjukkan bahwa hasil pengulangan yang dilakukan memberikan nilai presisi yang baik. Nilai %RPD kadar dapat ditentukan dengan cara analisa sampel secara duplo, jika nilainya kurang dari 10% maka hasilnya dapat diterima.

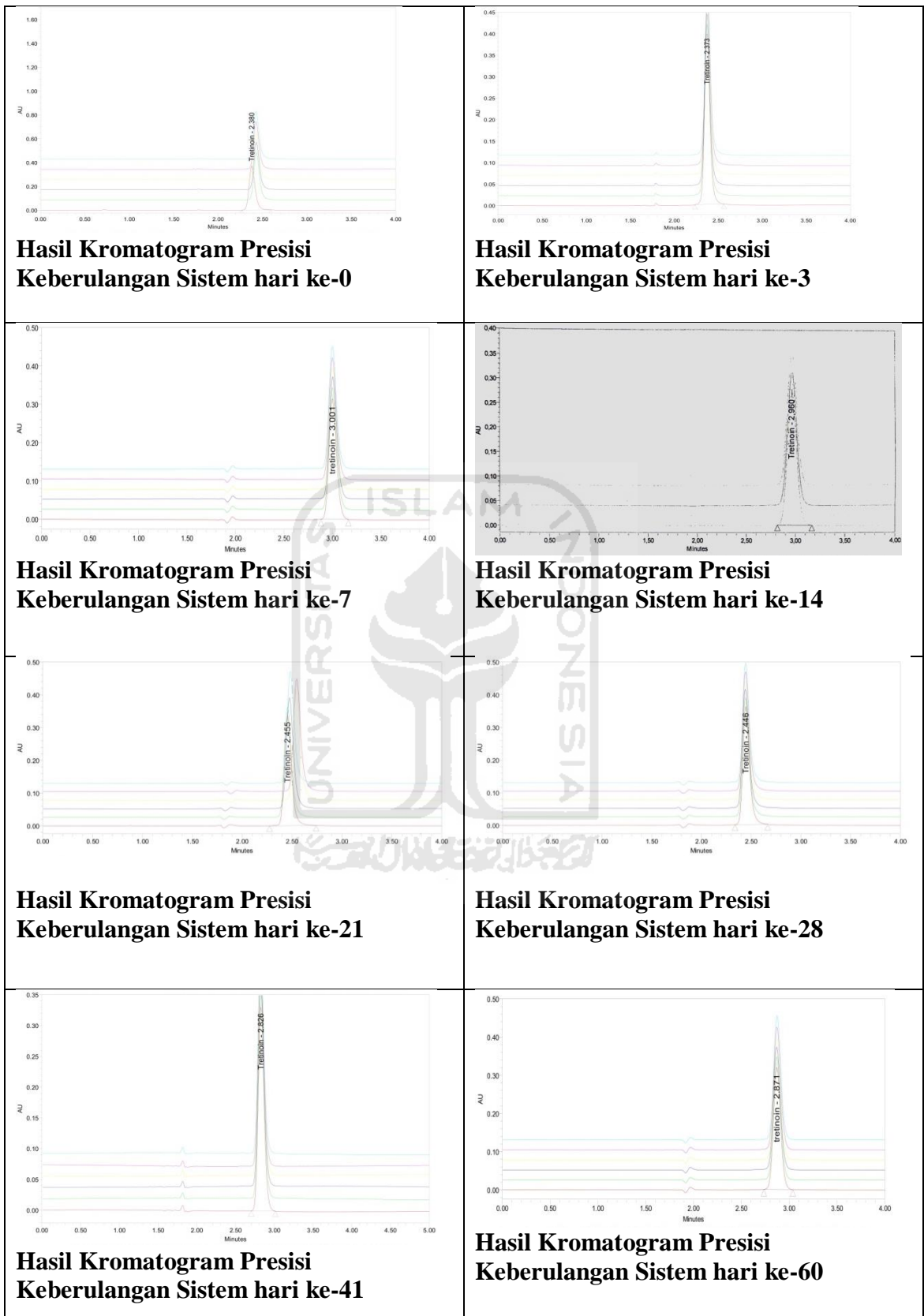
Presisi keberulangan sistem dilakukan dengan menggunakan larutan standar *Tretinoin* dengan replikasi sebanyak 6 kali. Hasil pengujian presisi keberulangan sistem dapat dilihat berdasarkan Gambar 4.1. Berdasarkan hasil kromatogram tiap masing-masing hari, didapatkan hasil presisi keberulangan sistem dapat dilihat

pada tabel 4.3. Hasil yang telah didapatkan keseluruhan telah memenuhi persyaratan keberterimaan sesuai tabel 3.2.

**Tabel 4.3 Hasil Penentuan Presisi Keberulangan Sistem**

No	Larutan Standar <i>Tretinoin</i> Hari ke-	Waktu Retensi Rerata (menit)	Luas Area Rerata (AU)	%RSD Waktu Retensi	%RSD Luas Area
1	0	2,4206	1796270	0,8252	0,2491
2	3	2,3746	1753351	0,0947	0,3001
3	7	3,0010	1755834	0,0421	0,4539
4	14	2,9596	1841124	0,0275	0,2064
5	21	2,4931	1726564	1,6854	0,4031
6	28	2,4435	1741793	0,0620	0,6506
7	41	2,8246	1782740	0,0428	0,1643
8	60	2,8713	1723442	0,0524	0,2551





**Gambar 4.1 Kromatogram Uji Kesesuaian Sistem dari Hari ke-0 sampai 60**

Berdasarkan hasil presisi kadar dari hari ke-0 sampai hari ke-60 didapatkan hasil presisi kadar dapat dilihat pada Tabel 4.4. Hasil yang telah didapatkan keseluruhan telah memenuhi persyaratan keberterimaan sesuai Tabel 3.2.

**Tabel 4.4 Hasil Presisi Kadar dari Hari Ke-0 sampai Hari Ke-60**

No	Kadar Hari Ke-	Kadar Rerata	%RPD
1	0	100,3377	0,2326
2	3	103,4042	0,7242
3	7	106,1317	0,5836
4	14	104,2691	0,4434
5	21	106,5048	0,0894
6	28	105,2198	0,1547
7	41	103,4665	0,0632
8	60	107,0283	0,1551

#### 4.5 Estimasi Ketidakpastian Pengukuran

Ketidakpastian pengukuran yaitu suatu parameter yang terkait dengan hasil pengukuran yang mencirikan disperse dari nilai-nilai yang didapatkan kemudian dikaitkan dengan hasil pengukuran sebenarnya. Ketidakpastian pengukuran umumnya beberapa komponen yang dapat dievaluasi dari distribusi statistic dan serangkaian hasil pengukuran standar deviasi. Tujuan dari penentuan ketidakpastian pengukuran yaitu untuk mengetahui faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil pengukuran dan menentukan seberapa besar nilai yang dapat dilaporkan dengan data yang valid.

Langkah awal untuk menentukan estimasi ketidakpastian pengukuran adalah menyusun suatu model dari langkah pengerjaan dan menentukan persamaan yang digunakan dalam perhitungan hasil pengukuran. Penentuan ketidakpastian dalam pengukuran kadar pada serum Reticor Lotion menghasilkan suatu persamaan, yaitu penentuan kesesuaian kadar *tretinoin* dengan klaim zat aktif yang digunakan untuk menjamin efikasi kualitas *tretinoin*.

$$\text{Kadar } \textit{tretinoin} (\%) = \frac{\text{Area spl} \times w \text{ std} \times fp \text{ spl} \times \% \text{std} \times 1}{\text{Area std} \times w \text{ spl} \times fp \text{ std} \times \text{klaim zat aktif}}$$

Keterangan :

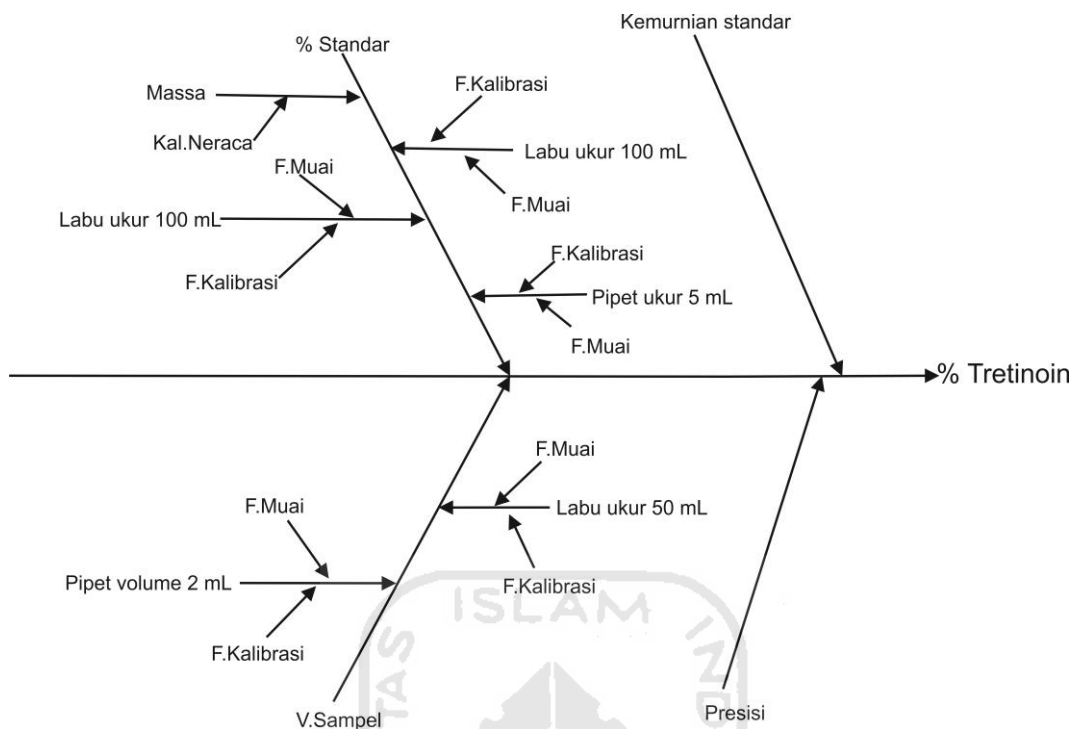
- Area spl : Luas area sampel  
Area std : Luas area standar  
W std : Masaa standar (mg)  
W spl : Volume sampel (mL)  
Fp spl : Faktor pengenceran sampel  
Fp std : Faktor pengenceran standar  
%Std : Kemurnian standar

Faktor yang berkontribusi dalam ketidakpastian dari persamaan matematika yang telah diketahui dicari data penyumbanganya terkait ketertelusuran alat yang digunakan. Data faktor penyumbang yang berkontribusi dapat dilihat pada Tabel 4.5.

**Tabel 4.5 Data Ketertelusuran Alat Pengujian**

Nama	Nilai Ketidakpastian	Keterangan
Pipet volume 2 mL	0,010 mL	Kalibrasi pabrik tanpa informasi tingkat signifikasi
Pipet ukur 5 mL	0,03 mL	Kalibrasi pabrik tanpa informasi tingkat signifikasi
Labu ukur 50 mL	0,06 mL	Kalibrasi pabrik tanpa informasi tingkat signifikasi
Labu ukur 100 mL	0,10 mL	Kalibrasi pabrik tanpa informasi tingkat signifikasi
Neraca Analitik	0,01 mg	Kalibrasi pabrik tanpa informasi tingkat signifikasi
Kemurnian standar	0,8 %	Sertifikat (CRM)
Suhu	Pengujian: 25°C	Kalibrasi alat : 20 °C

Berdasarkan Tabel 4.5 faktor yang berkontribusi pada ketidakpastian asal dari penentuan parameter kadar *retinoin* dapat dibuat menjadi skema diagram tulang ikan. Diagram tulang ikan ini bertujuan untuk mengetahui penyumbang dari setiap ketidakpastian asal yang kemudian dapat diakumulasikan menjadi ketidakpastian gabungan berdasarkan faktor-faktor yang mempengaruhinya.



**Gambar 4.2 Diagram Tulang Ikan Pengukuran Ketidakpastian**

Ketidakpastian asal dari pengujian kadar *tretinoin* yang telah diketahui, dihitung dan dilakukan identifikasi masing-masing komponen ketidakpastian pengukuran. Kategori komponen ketidakpastian dibedakan menjadi 2 tipe, yaitu tipe A dan tipe B. Tipe A yaitu komponen ketidakpastian yang berasal dari data percobaan dan dihitung dari serangkaian pengamatan, sedangkan tipe B yaitu komponen ketidakpastian yang diperoleh berdasarkan informasi terpercaya (data sekunder), misalnya spesifikasi pabrik, jurnal, data pustaka dan data validasi metode. Perhitungan ketidakpastian gabungan merupakan hasil dari pengukuran ketidakpastian asal. Perhitungan ketidakpastian baku dan ketidakpastian gabungan disajikan pada Tabel 4.6



**Tabel 4.6 Perhitungan Ketidakpastian Baku**

Kp asal	Faktor penyumbang	Nilai (x)	Satuan	$\mu(x)$	$\mu(x)/x$	$(\mu(x)/x)^2$
%Standar	Massa std kadar	40	mg	0,005774	0,000144	$2,08 \cdot 10^{-8}$
	Labu ukur	100	mL	0,0731	0,000731	$5,34 \cdot 10^{-7}$
	Pipet ukur	5	mL	0,0125	0,0025	$6,25 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	100	mL	0,0731	0,000731	$5,34 \cdot 10^{-7}$
V.Sampel	Pipet Volume	2	mL	0,004259	0,002129	$4,53 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	50	mL	0,039	0,00078	$6,08 \cdot 10^{-7}$
Kemurnian standar		99,2	%	0,4618	0,004655	$2,17 \cdot 10^{-5}$
Presisi		10	%	0,001096	0,00011	$1,2 \cdot 10^{-8}$
$\sum(\mu(x)/x)^2$						$3,42 \cdot 10^{-5}$

Ketidakpastian baku asal alat ukur adalah ketidakpastian gabungan dari kalibrasi alat ukur dan faktor muai dari alat ukur. Perhitungan ketidakpastian alat ukur tidak disertai dengan selang kepercayaan sehingga masuk kategori tipe B dengan asumsi distribusi triangular. Persamaan yang digunakan pada penentuan ketidakpastian sebagai berikut

$$\mu(K) = \frac{s}{k} = \frac{\text{Nilai ketidakpastian}}{\sqrt{6}} = \text{Faktor kalibrasi}$$

$$\mu(T) = \frac{V \times \beta \times \Delta T}{\sqrt{3}} = \text{Faktor muai}$$

Persamaan diatas yaitu persamaan yang digunakan untuk mencari nilai ketidakpastian alat ukur yang digunakan dalam penentuan kadar *tretinoin*. Hasil perhitungan nilai ketidakpastian faktor kalibrasi dan faktor muai lebih terperinci dapat dilihat pada lampiran estimasi ketidakpastian pengukuran.

Ketidakpastian massa penimbangan standar merupakan ketidakpastian yang dapat ditentukan berdasarkan persamaan ketidakpastian instrumentasi. Nilai ketidakpastian asal massa standar ditentukan dengan persamaan sebagai berikut

$$\mu \text{ Kalibrasi neraca} = \frac{s}{k} = \frac{s}{\sqrt{3}}$$

Ketidakpastian gabungan adalah akar dari jumlah komponen penyumbang ketidakpastian asal yang kemudian dikuadratkan masing-masing komponen penyumbang ketidakpastian asalnya. Ketidakpastian gabungan dapat ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

$$\mu C = \text{Kadar} \times C_s$$

Keterangan :

$\mu C$  : Ketidakpastian gabungan

Kadar : Kadar sampel *tretinoin*

$C_s$  :  $\sqrt{\sum(\mu(x)/x)^2}$

Berdasarkan ketidakpastian baku yang dihasilkan dapat ditentukan nilai ketidakpastian diperluas yang selanjutnya akan dijadikan sebagai laporan ketidakpastian perhitungan. Ketidakpastian diperluas dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut:


$$U = K \times \mu C$$

Keterangan:

U : Ketidakpastian diperluas

K : Faktor cakupan pada selang kepercayaan 95%

$\mu C$  : Ketidakpastian gabungan

Berdasarkan hasil yang telah didapatkan pada pengukuran ketidakpastian dapat dilakukan pelaporan hasil ketidakpastian dari penentuan kadar *tretinoin*, sehingga ketidakpastiannya dapat diketahui. Ketidakpastian hasil pengukuran umumnya dipengaruhi oleh 2 faktor, yaitu faktor individual dan faktor perlakuan. Faktor individual berhubungan dengan ketelitian seorang analis dalam melakukan pengujian yang mana setiap individu dengan yang lainnya tentu berbeda dalam hal keakuratan dan ketelitian. Faktor perlakuan berhubungan erat dengan prosedur

yang kurang tepat sehingga menyebabkan hasil yang kurang akurat. Hasil perhitungan ketidakpastian sampel Reticor Lotion ditunjukkan pada Tabel 4.7:

**Tabel 4.7 Hasil Pelaporan Ketidakpastian Penentuan Kadar *Tretinoin***

<b>Analisa Hari Ke-</b>	<b>Hasil Ketidakpastian Penentuan Kadar <i>Tretinoin</i> (%)</b>
0	100,3377 ± 1,1755
3	103,4042 ± 1,2156
7	106,1317 ± 1,2460
14	104,2691 ± 1,2204
21	106,5048 ± 1,2449
28	105,2196 ± 1,2300
41	103,4665 ± 1,2118
60	107,0283 ± 1,2511

Berdasarkan Tabel 4.7, menunjukkan bahwa hasil penentuan ketidakpastian kadar *tretinoin* mempunyai nilai penyumbang yang sangat kecil. Kontribusi terbesar penyumbang ketidakpastian juga dihitung untuk mengetahui faktor apa saja yang terbesar dalam pengujian. Hasil ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi hasil pengukuran pada setiap nilai akhir yang didapatkan. Penyumbang ketidakpastian pada penentuan kadar *tretinoin* dapat dilihat pada Tabel 4.8:

**Tabel 4.8 Urutan Penyumbang Ketidakpastian**

<b>No</b>	<b>Penyumbang Ketidakpastian</b>	<b>Nilai (%)</b>
1	Kemurnian standar	63,32
2	%Standar	21,63
3	V.Sampel	15,03
4	Presisi	0,02
	Total	100

Berdasarkan Tabel 4.8, dapat disimpulkan nilai pada kemurnian standar menjadi kontribusi terbesar dalam penyumbang ketidakpastian pada pengujian kadar *tretinoin*. Hasil besar yang lain juga terjadi karena beberapa faktor seperti kalibrasi alat, pencucian yang kurang sempurna dan faktor muai yang kurang sempurna.

## BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil uji kesesuaian sistem dari hari ke-0 sampai 60 didapatkan nilai %RPD luas area dari rentang 0,1643% sampai 0,6506%, nilai %RPD waktu retensi dari rentang 0,0275% sampai 1,6854%, nilai *Plate Count* dari rentang 4,2. 10<sup>3</sup> sampai 7.10<sup>3</sup>, nilai *Tailing Factor* dari rentang 1,1 sampai 1,3. Hasil yang didapatkan telah memenuhi syarat keberterimaan, sehingga metode ini bisa digunakan untuk analisa rutin penentuan kadar *tretinoin*.
2. Hasil penentuan kesesuaian kadar *tretinoin* dari hari ke-0 sampai 60 didapatkan rentang sebesar 100,3377% sampai 107,0283%. Hasil yang didapatkan memenuhi syarat keberterimaan yaitu 99,20% ± 10% yang telah ditetapkan oleh perusahaan.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, perlu dilakukan adanya penggunaan metode lain selain metode HPLC, yaitu menggunakan metode Spektrofotometer Uv-Vis

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahuja, S. dan Dony, W.M.Eds. 2005. *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC. 1<sup>st</sup> Ed*, United Kingdom: Elsevier, inc., p.191-217, 401-412.
- Andriyani, Vina Budi. 2011. *Identifikasi Asam Retinoat Dalam Krim Pemutih Wajah Secara Kromatografi Lapis Tipis*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Badan POM RI. 2008. *Bahan Berbahaya Dalam Kosmetik*. Jakarta: BPOM.
- Badan POM RI. 2011. *Mewaspada Asam Retinoat dalam Kosmetik*. Jakarta: BPOM.
- Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2014. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar, hal.323-417.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytical Chemistry*. USA: The Mc Graw-Hill Companies, inc,p. 110-584.
- J. Iverson riddle Development Center. *Patient Education Monograph : Tretinoin-Oral*. [www.jirdc.org/Files/Monographs/pem8116.pdf](http://www.jirdc.org/Files/Monographs/pem8116.pdf), diakses pada tanggal 20 Mei 2020 pkl 20.00
- Johnson, E.C. dan R, Stevenson. 2002. *Dasar Kromatografi Cair (Penerjemah: Kosasih Padmawinata)*. Bandung: ITB.
- Kar, A. 2005. *Pharmaceutical Drug Analysis*. India: New Age Publication, p.454-462.
- Kroshinsky, D. dan Shalita, R.A. 2007. *Topical Tretinoids in Acne and its Therapy*. New York: Informa Health Care Inc.
- Mangisi, R. 2009. *Optimasi dan Validasi Metode Penetapan Melamin dalam Pakan Ternak dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC)*. Skripsi UI. Depok: Departemen Kimia FMIPA UI.
- Menaldi. 2003. *Analisis Asam Retinoat pada Kosmetik Krim Pemutih yang Beredar Dipasaran Kota Medan*. Medan: Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi.
- Mulja, M. dan Suharman. 1995. *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press, p.718-757.
- Pozo, D.A. dan Viscasillas, A. 2007. *Efficacy Evaluation in Analysis of Cosmetic Products*, Amsterdam: Elsevier.B.V.
- Pramono, Ujang. 2014. *Estimasi Ketidakpastian Pengukuran*. BMD Street Consulting : Tangerang.
- Puspitadewi dan Retno. 2008. *Efek Asam Retinoat yang Diberikan Pada Induk Mencit (Mus Musculus) Umur Bebuntingan 10 Hari Terhadap Hasil Reproduksi dan Kelainan Bawaan Ekternal Janin*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Sari, Ni Ketut. 2010. *Analisa Instrumentasi Edisi Pertama*, Klaten: Yayasan Humaniora.
- Sherri, T. 2008. *Determination of Melamine and Cyanuric Acid Residues in Infant Formula Using LC-MS/MS*, Laboratory Information Bulletin (LIB) no.4421. vol.24. U.S Food and Drug Administration.
- Sigma-Aldrich, 2018

- Skoog, D.A., Holler, F.J., dan Crouch, S.P. 2007. *Principles of Instrumental Analysis. 6<sup>th</sup> Ed*, Canada: Thomson Brooks/Cole, p.816-851.
- Snyder, L., Kirkland, J., dan Dolan, J. 2010. *Introduction to Modern Liquid Chromatography. Third Edition*, New Jersey: John Wiley and Sons. Inc, p.307.
- Susanti, Meri dan Dachriyanusus. 2017. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Padang: LPTIK Universitas Andalas.
- Tan, H.T. dan Rahardja, K. 2002. *Vitamin dan Mineral dalam Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Jakarta: Elex Media Komputindo.
- Thomfeldt, C. dan Boume, K., 2010, *The New Ideal in Skin Health Separating Fact From Fiction*, USA: Allured Business Media.
- Wasitaatmadja, S.M. 1997. *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*. Jakarta: UI Press.



# LAMPIRAN



Lampiran 1. Penentuan pada hari ke-0

A. Penentuan Presisi Keberulangan Sistem dan Hasil Kromatogram

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

**Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram**

Pengulangan SST <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	2,38	0,001653778	1790111	37929175
2	2,431	0,000106778	1792959	10960514
3	2,43	$8,71111 \cdot 10^{-5}$	1796676	165106,78
4	2,428	$5,37778 \cdot 10^{-5}$	1795318	905669,44
5	2,427	$4,01111 \cdot 10^{-5}$	1801459	26929180
6	2,428	$5,37778 \cdot 10^{-5}$	1801095	23283842
$\bar{Y}$	2,420666667	-	1796270	-
$\sum$		0,001995333		100173487
SD		0,0199767		4476,014
%RSD		0,8252542		0,249184

1. Presisi waktu retensi

$$SD = \sqrt{\frac{0,001995333 \text{ min}}{6-1}} = 0,0199767 \text{ min}$$

$$\%RSD = \frac{0,0199767 \text{ min}}{2,4206 \text{ min}} \times 100\% = 0,8252 \%$$

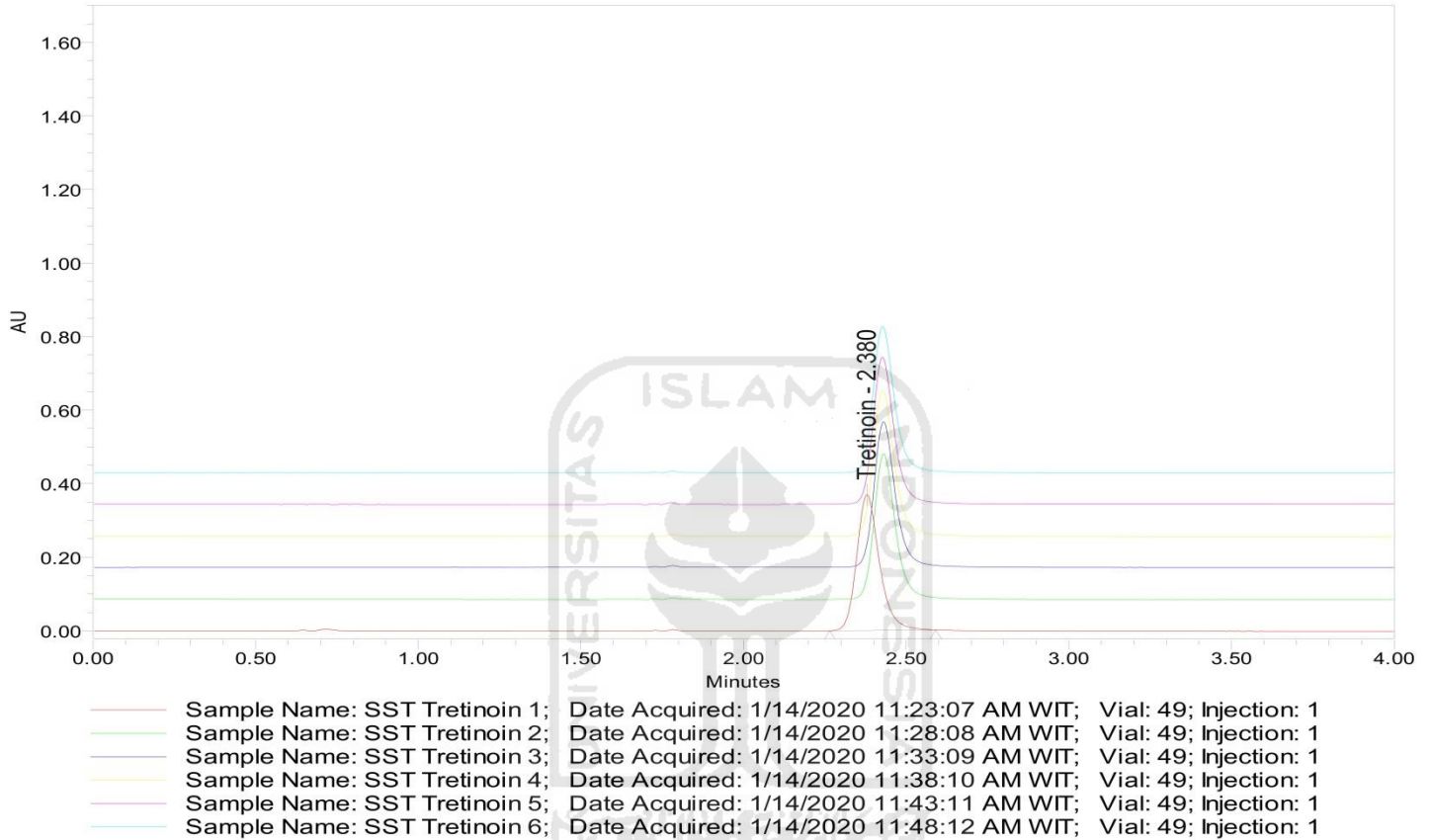
2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{100173487 \text{ AU}}{6-1}} = 4476,014 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{4476,014 \text{ AU}}{1796270 \text{ AU}} \times 100\% = 0,2491 \%$$







**Peak Summary with Statistics**  
**Name: Tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	% Area	Height	USP Plate Count	USP Tailing
1	SST Tretinoin 1	49	10.00	Tretinoin	2.380	1790111	100.00	368975	5.780323e+003	1.231393e+000
2	SST Tretinoin 2	49	10.00	Tretinoin	2.431	1792959	100.00	393764	6.838456e+003	1.229183e+000
3	SST Tretinoin 6	49	10.00	Tretinoin	2.428	1801095	100.00	395562	6.800619e+003	1.230351e+000
4	SST Tretinoin 4	49	10.00	Tretinoin	2.428	1795318	100.00	393365	6.783031e+003	1.228676e+000
5	SST Tretinoin 5	49	10.00	Tretinoin	2.427	1801459	100.00	397982	6.871863e+003	1.225656e+000
6	SST Tretinoin 3	49	10.00	Tretinoin	2.430	1796676	100.00	394257	6.818103e+003	1.227828e+000
Mean					2.421	1796269.8			6.6e+003	1.2e+000
Std. Dev.					0.020	4476.0			4.3e+002	2.0e-003
% RSD					0.83	0.2			6.4e+000	1.6e-001

B. Penentuan Presisi Standar *Tretinoin* Hari Ke-0

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram

Pengulangan STD <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	2,426	0	1808635	2699449
2	2,426	0	1805349	2699449
$\bar{Y}$	2,426	-	1806992	-
$\sum$		0		5398898
SD		0		2323,553
%RSD		0		0,128587

1. Presisi waktu retensi

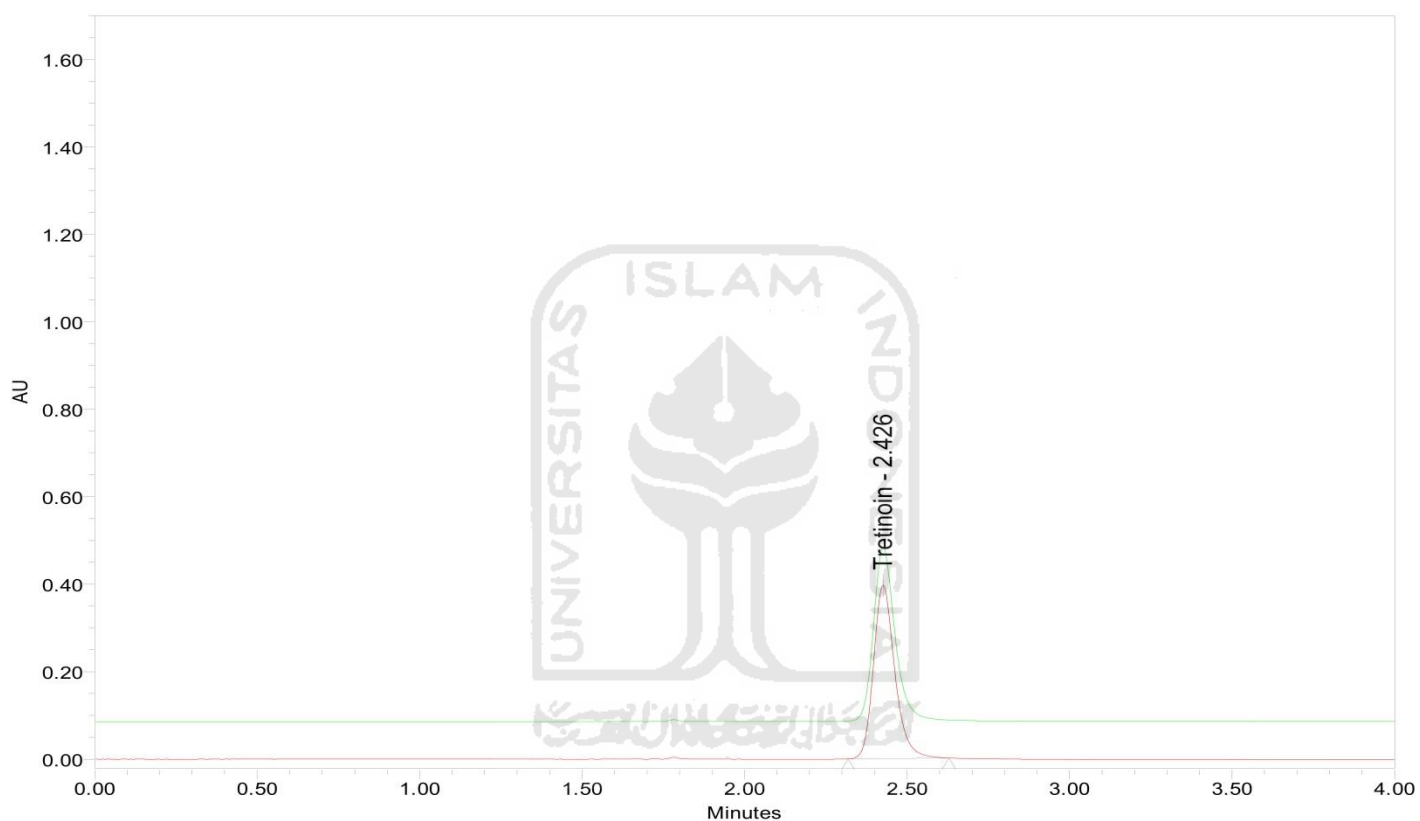
$$SD = \sqrt{\frac{0 \text{ min}}{2-1}} = 0 \text{ min}$$

$$\%RSD = \frac{0 \text{ min}}{2,426 \text{ min}} \times 100\% = 0 \%$$

2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{5398898 \text{ AU}}{2-1}} = 2323,553 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{2323,553 \text{ AU}}{1806992 \text{ AU}} \times 100\% = 0,1285 \%$$



— Sample Name: STD Tretinoin 1; Date Acquired: 1/14/2020 11:53:13 AM WIT; Vial: 49; Injection: 1  
 — Sample Name: STD Tretinoin 2; Date Acquired: 1/14/2020 11:58:16 AM WIT; Vial: 49; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
**Name: Tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	% Area	Height	USP Plate Count	USP Tailing
1	STD Tretinoin 2	49	10.00	Tretinoin	2.426	1805349	100.00	395964	6.774921e+003	1.227957e+000
2	STD Tretinoin 1	49	10.00	Tretinoin	2.426	1808635	100.00	396389	6.773864e+003	1.228121e+000
Mean					2.426	1806991.9			6.8e+003	1.2e+000
Std. Dev.					0.000	2323.5			7.5e-001	1.2e-004
% RSD					0.00	0.1			1.1e-002	9.4e-003

C. Penentuan Kadar *Tretinoin* dan Presisi Pada Hari Ke-0

No	Massa sampel (mL)	Luas Area Sampel	Luas Area Std	Kadar (%)
1	2,0	1825590	1806992	100,2210
2	2,0	1829843		100,4545
<b>Rerata</b>				100,3377
<b>%RPD</b>				0,2326

Contoh perhitungan :

1. Kadar

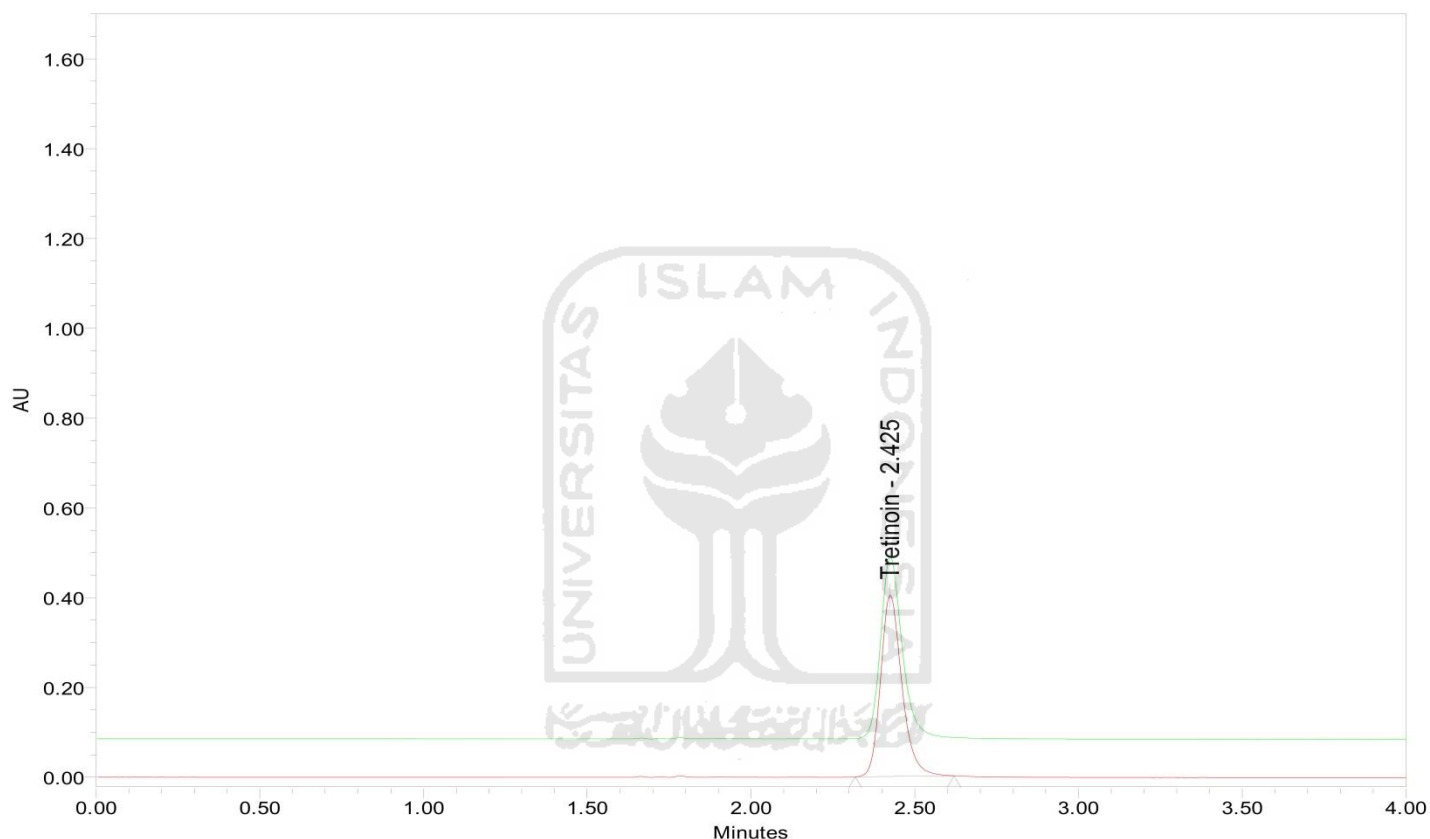
$$\begin{aligned} \%Tretinoin &= \frac{\text{Area spl} \times w \text{ std} \times fp \text{ spl} \times \%std \times 1}{\text{Area std} \times w \text{ spl} \times fp \text{ std} \times klaim \text{ zat aktif}} \\ &= \frac{1825590 \times 20,0 \times 50 \times 98,19\% \times 1}{1806992 \times 2,0 \times 1000 \times 0,5} \\ &= 100,2210 \% \end{aligned}$$

Keterangan :

Area spl : Luas area sampel  
 Area std : Luas area standar  
 W std : Masaa standar (20,0 mg)  
 W spl : Massa sampel (mL)  
 Fp spl : 50  
 Fp std : 1000  
 Klaim zat : 0,5  
 % Std : Potensial standar

2. Presisi

$$\begin{aligned} \%RPD &= \frac{|Y1-Y2|}{\bar{Y}} \times 100\% \\ \%RPD &= \frac{|100,221\% - 100,4545\%|}{100,3377\%} \times 100\% \\ &= 0,2326\% \end{aligned}$$



— Sample Name: Sampel X\_Day 0\_1; Date Acquired: 1/14/2020 12:03:17 PM WIT; Vial: 50; Injection: 1  
 — Sample Name: Sampel X\_Day 0\_2; Date Acquired: 1/14/2020 12:08:18 PM WIT; Vial: 51; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
**Name: Tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	% Area	Height	USP Plate Count	USP Tailing
1	Sampel X_Day 0_1	50	10.00	Tretinoin	2.425	1825590	100.00	403630	6.856207e+003	1.230647e+000
2	Sampel X_Day 0_2	51	10.00	Tretinoin	2.425	1829843	100.00	404004	6.827047e+003	1.222987e+000
Mean					2.425	1827716.5			6.8e+003	1.2e+000
Std. Dev.					0.000	3006.8			2.1e+001	5.4e-003
% RSD					0.01	0.2			3.0e-001	4.4e-001

Lampiran 2. Penentuan pada hari ke-3

A. Penentuan Presisi Keberulangan Sistem dan Hasil Kromatogram

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

**Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram**

Pengulangan SST <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	2,373	$2,77778 \cdot 10^{-6}$	1750655	7266619
2	2,372	$7,11111 \cdot 10^{-6}$	1756381	9182920
3	2,373	$2,77778 \cdot 10^{-6}$	1752997	125080,1
4	2,376	$1,77778 \cdot 10^{-6}$	1747642	32588875
5	2,377	$5,44444 \cdot 10^{-6}$	1750176	10078508
6	2,377	$5,44444 \cdot 10^{-6}$	1762253	79251539
$\bar{Y}$	2,3746	-	1753351	-
$\Sigma$		$2,53333 \cdot 10^{-5}$		$1,38 \cdot 10^8$
SD		0,002251		5262,956
%RSD		0,0947		0,300166

1. Presisi waktu retensi

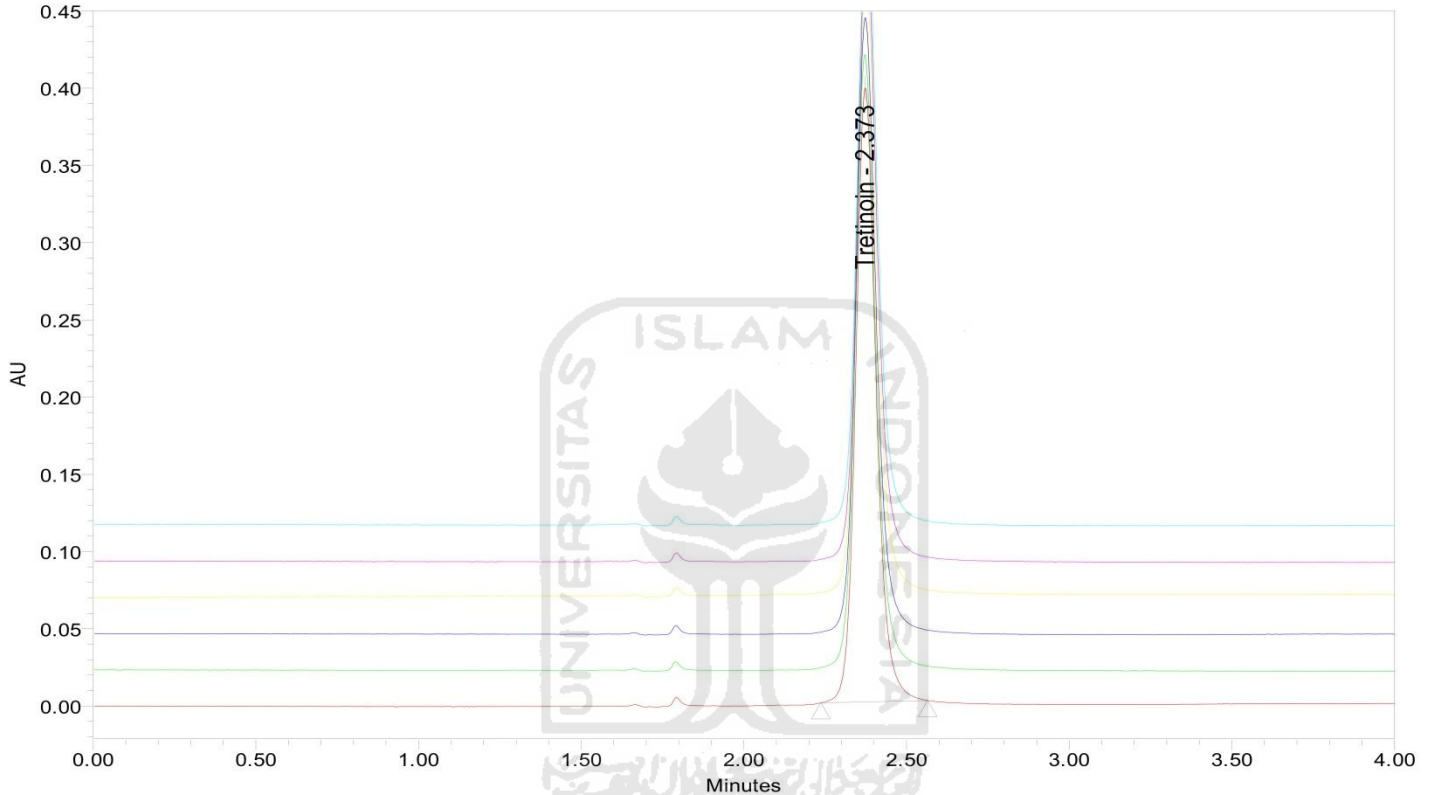
$$SD = \sqrt{\frac{2,53333 \cdot 10^{-5} \text{ min}}{6-1}} = 0,002251 \text{ min}$$

$$\%RSD = \frac{0,002251 \text{ min}}{2,3746 \text{ min}} \times 100\% = 0,0947 \%$$

2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{1,38 \cdot 10^8 \text{ AU}}{6-1}} = 5262,956 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{5262,956 \text{ AU}}{1753351 \text{ AU}} \times 100\% = 0,300166 \%$$



- Sample Name: SST Tretinoin 1; Date Acquired: 1/17/2020 1:29:17 PM WIT; Vial: 9; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 2; Date Acquired: 1/17/2020 1:34:20 PM WIT; Vial: 9; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 3; Date Acquired: 1/17/2020 1:39:23 PM WIT; Vial: 9; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 4; Date Acquired: 1/17/2020 1:44:26 PM WIT; Vial: 9; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 5; Date Acquired: 1/17/2020 1:49:29 PM WIT; Vial: 9; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 6; Date Acquired: 1/17/2020 1:54:32 PM WIT; Vial: 9; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
**Name: Tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	% Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	SST Tretinoin 1	9	10.00	Tretinoin	2.373	1750655	100.00	397505	100.0	%	7.025963e+003	1.163111e+000
2	SST Tretinoin 2	9	10.00	Tretinoin	2.372	1756381	100.00	396699	100.0	%	6.953554e+003	1.163416e+000
3	SST Tretinoin 6	9	10.00	Tretinoin	2.377	1762253	100.00	397200	100.0	%	6.940657e+003	1.164309e+000
4	SST Tretinoin 4	9	10.00	Tretinoin	2.376	1747642	100.00	396417	100.0	%	6.977454e+003	1.168890e+000
5	SST Tretinoin 5	9	10.00	Tretinoin	2.377	1750176	100.00	396349	100.0	%	6.963932e+003	1.170097e+000
6	SST Tretinoin 3	9	10.00	Tretinoin	2.373	1752997	100.00	397018	100.0	%	6.957124e+003	1.166840e+000
Mean					2.375	1753350.7					7.0e+003	1.2e+000
Std. Dev.					0.002	5262.8					3.0e+001	3.0e-003
% RSD					0.09	0.3					4.3e-001	2.5e-001



B. Penentuan Presisi Standar *Tretinoin* Hari Ke-3

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

**Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram**

Pengulangan STD <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	2,377	$2,5 \cdot 10^{-7}$	1752342	3853369
2	2,378	$2,5 \cdot 10^{-7}$	1748416	3853369
$\bar{Y}$	2,3775	-	1750379	-
$\sum$		$5 \cdot 10^{-7}$		7706738
SD		0,000707		2776,101
%RSD		0,029742		0,1586

1. Presisi waktu retensi

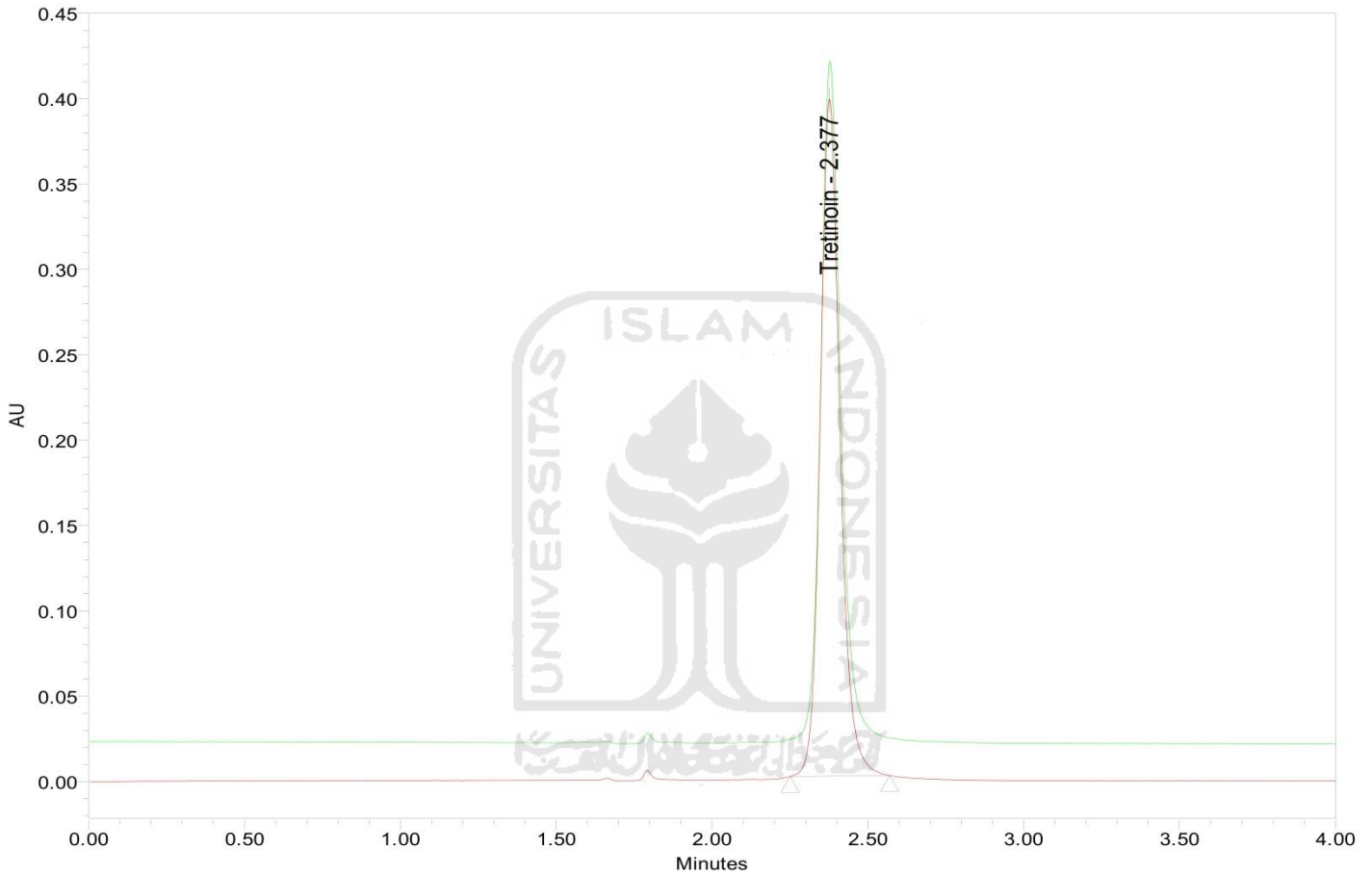
$$SD = \sqrt{\frac{5 \cdot 10^{-7} \text{ min}}{2-1}} = 0,000707 \text{ min}$$

$$\%RSD = \frac{0,000707 \text{ min}}{2,3775 \text{ min}} \times 100\% = 0,029742 \%$$

2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{7706738 \text{ AU}}{2-1}} = 2776,101 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{2776,101 \text{ AU}}{1750379 \text{ AU}} \times 100\% = 0,1586 \%$$



— Sample Name: STD Tretinoin 1; Date Acquired: 1/17/2020 1:59:35 PM WIT; Vial: 9; Injection: 1  
 — Sample Name: STD Tretinoin 2; Date Acquired: 1/17/2020 2:04:38 PM WIT; Vial: 9; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
Name: Tretinoin

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	% Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	STD Tretinoin 2	9	10.00	Tretinoin	2.378	1748416	100.00	396379	100.0	%	6.966006e+003	1.172652e+000
2	STD Tretinoin 1	9	10.00	Tretinoin	2.377	1752342	100.00	396563	100.0	%	6.933231e+003	1.172472e+000
Mean					2.378	1750379.0					6.9e+003	1.2e+000
Std. Dev.					0.001	2775.6					2.3e+001	1.3e-004
% RSD					0.05	0.2					3.3e-001	1.1e-002

C. Penentuan Kadar *Tretinoin* dan Presisi Pada Hari Ke-3

- Kadar

No	Massa sampel (mL)	Luas Area Sampel	Luas Area Std	Kadar (%)
1	2,0	1831170	1750379	103,7787
2	2,0	1817955		103,0298
<b>Rerata</b>				103,4042
<b>%RPD</b>				0,7242

Contoh perhitungan :

1. Kadar

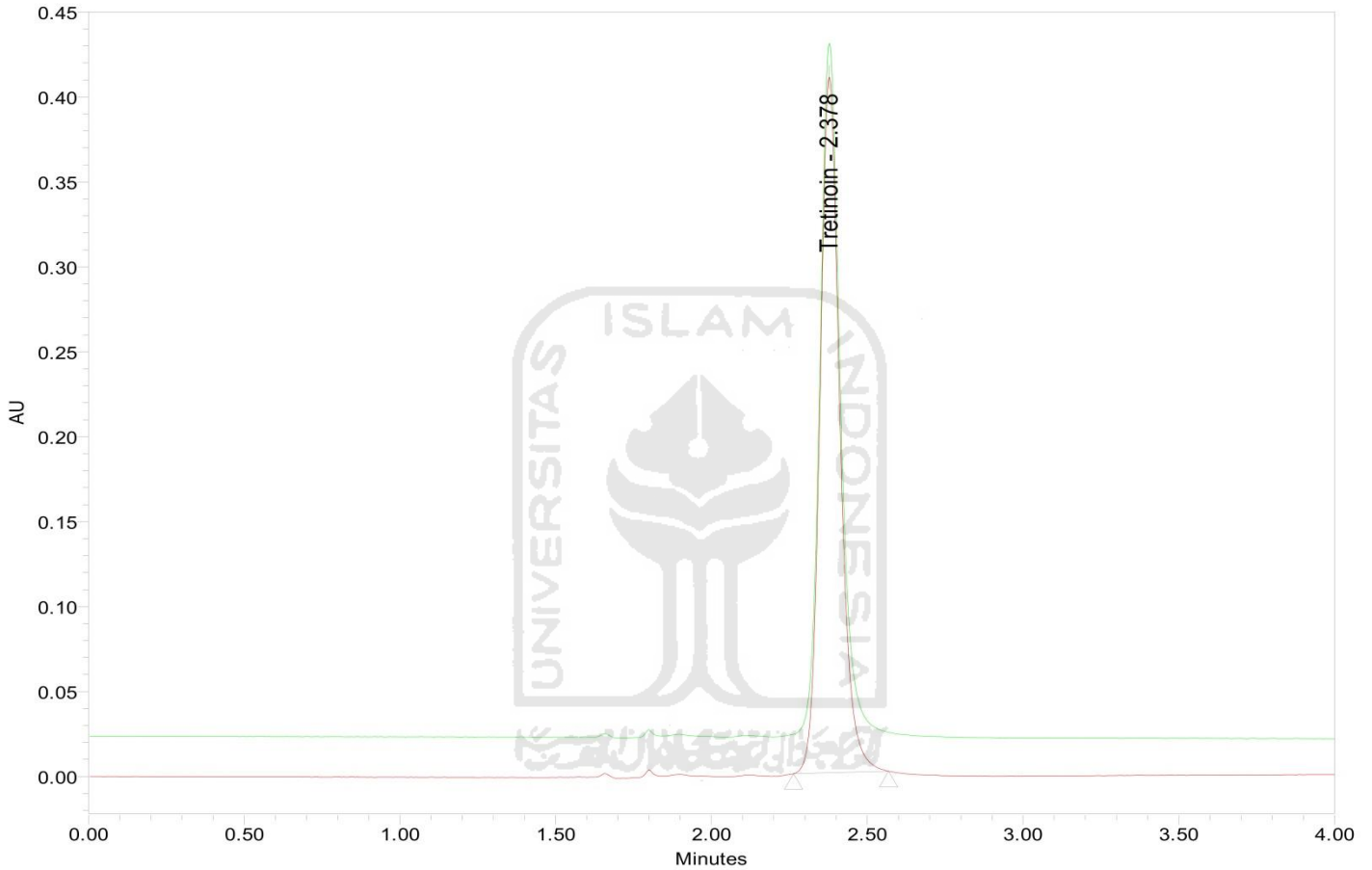
$$\begin{aligned} \%Tretinoin &= \frac{\text{Area spl} \times w \text{ std} \times fp \text{ spl} \times \%std \times 1}{\text{Area std} \times w \text{ spl} \times fp \text{ std} \times klaim \text{ zat aktif}} \\ &= \frac{1831170 \times 20,0 \times 50 \times 99,20\% \times 1}{1750379 \times 2,0 \times 1000 \times 0,5} \\ &= 103,7787 \% \end{aligned}$$

Keterangan :

Area spl : Luas area sampel  
 Area std : Luas area standar  
 W std : Masaa standar (20,0 mg)  
 W spl : Massa sampel (mL)  
 Fp spl : 50  
 Fp std : 1000  
 Klaim zat : 0,5  
 % Std : Potensial standar

2. Presisi

$$\begin{aligned} \%RPD &= \frac{|Y_1 - Y_2|}{\bar{y}} \times 100\% \\ \%RPD &= \frac{|103,7787\% - 103,0298\%|}{103,4042\%} \times 100\% \\ &= 0,7242\% \end{aligned}$$



— Sample Name: Sampel X\_Day 3\_1; Date Acquired: 1/17/2020 2:09:59 PM WIT; Vial: 63; Injection: 1  
 — Sample Name: Sampel X\_Day 3\_2; Date Acquired: 1/17/2020 2:15:02 PM WIT; Vial: 64; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
Name: Tretinoin

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	% Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	Sampel X_Day 3_1	63	10.00	Tretinoin	2.378	1831170	100.00	409538	104.5	%	6.769633e+003	1.176052e+000
2	Sampel X_Day 3_2	64	10.00	Tretinoin	2.378	1817955	100.00	406458	103.7	%	6.796104e+003	1.176578e+000
Mean					2.378	1824562.3					6.8e+003	1.2e+000
Std. Dev.					0.000	9344.8					1.9e+001	3.7e-000
% RSD					0.01	0.5					2.8e-001	3.2e-000

Lampiran 3. Penentuan pada hari ke-7

A. Penentuan presisi Keberulangan Sistem dan Hasil Kromatogram

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram

Pengulangan SST <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	3,001	0	1741321	$2,11 \cdot 10^8$
2	3,002	$1 \cdot 10^{-6}$	1761555	32726027
3	3,003	$4 \cdot 10^{-6}$	1756407	327947,1
4	3,000	$1 \cdot 10^{-6}$	1755067	588800,4
5	3,000	$1 \cdot 10^{-6}$	1756270	189805,4
6	3,000	$1 \cdot 10^{-6}$	1764386	73131003
$\bar{Y}$	3,001	-	1755834	-
$\sum$		$8 \cdot 10^{-6}$		$3,18 \cdot 10^8$
SD		0,001264		7969,949
%RSD		0,0421		0,4539

1. Presisi waktu retensi

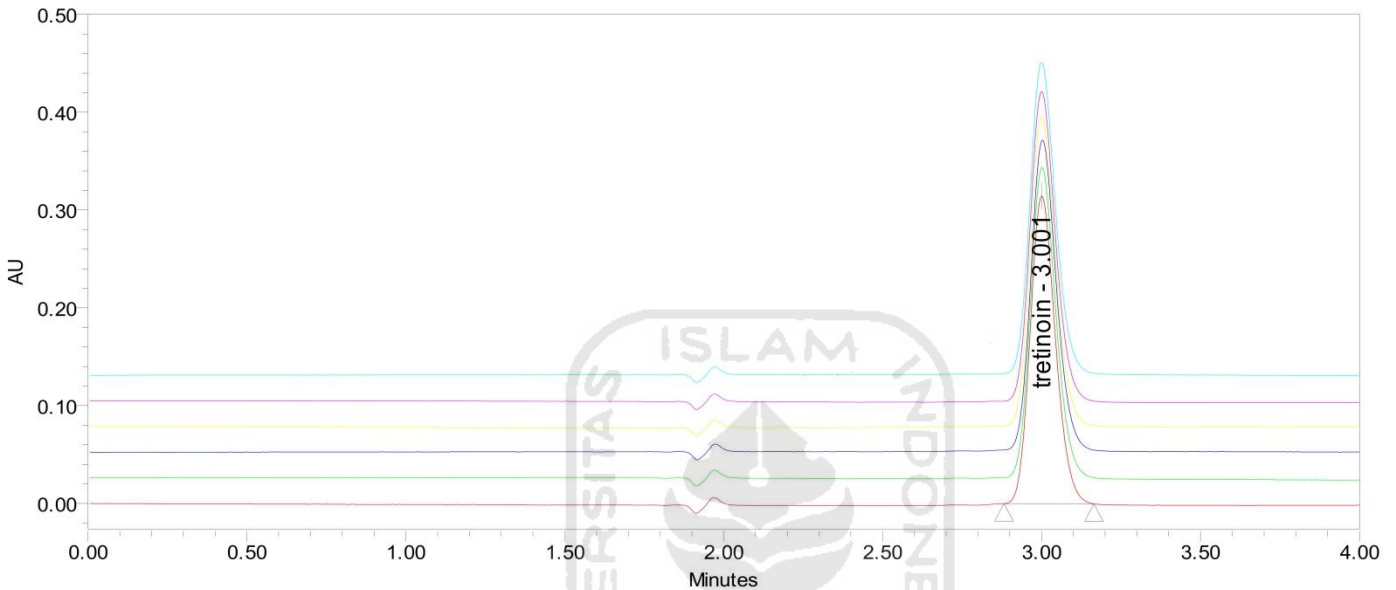
$$SD = \sqrt{\frac{8 \cdot 10^{-6} \text{ min}}{6-1}} = 0,001264 \text{ min}$$

$$\%RSD = \frac{0,001264 \text{ min}}{3,001 \text{ min}} \times 100\% = 0,0421 \%$$

2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{3,18^8 \text{ AU}}{6-1}} = 7969,949 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{7969,949 \text{ AU}}{1755834 \text{ AU}} \times 100\% = 0,4539 \%$$



- Sample Name: SST Tretinoin 1; Date Acquired: 1/21/2020 11:21:36 AM WIT; Vial: 73; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 2; Date Acquired: 1/21/2020 11:26:16 AM WIT; Vial: 73; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 3; Date Acquired: 1/21/2020 11:30:56 AM WIT; Vial: 73; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 4; Date Acquired: 1/21/2020 11:35:37 AM WIT; Vial: 73; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 5; Date Acquired: 1/21/2020 11:40:18 AM WIT; Vial: 73; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 6; Date Acquired: 1/21/2020 11:44:59 AM WIT; Vial: 73; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
Name: tretinoin

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	SST Tretinoin 1	73	10.00	tretinoin	3.001	1741321	314513	100.000	%	6.614964e+003	1.169001e+000
2	SST Tretinoin 2	73	10.00	tretinoin	3.002	1761555	317402	100.000	%	6.585014e+003	1.170473e+000
3	SST Tretinoin 6	73	10.00	tretinoin	3.000	1764386	318008	100.000	%	6.590633e+003	1.171207e+000
4	SST Tretinoin 4	73	10.00	tretinoin	3.000	1755067	316404	100.000	%	6.603733e+003	1.173086e+000
5	SST Tretinoin 5	73	10.00	tretinoin	3.000	1756270	316512	100.000	%	6.599645e+003	1.169865e+000
6	SST Tretinoin 3	73	10.00	tretinoin	3.003	1756407	316903	100.000	%	6.604126e+003	1.169805e+000
Mean					3.00	1755834.24				6.6e+003	1.2e+000
Std. Dev.					0.00	7969.90				1.1e+001	1.4e-003
% RSD					0.04	0.45				1.6e-001	1.2e-001

B. Penentuan Presisi Standar *Tretinoin* Hari Ke-7

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

**Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram**

Pengulangan STD <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	2,999	$1.10^{-6}$	1764935	1684804
2	3,001	$1.10^{-6}$	1762339	1684804
$\bar{Y}$	3,000	-	1763637	-
$\sum$		$2.10^{-6}$		3369608
SD		0,001414		1835,649
%RSD		0,0471		0,1040

1. Presisi waktu retensi

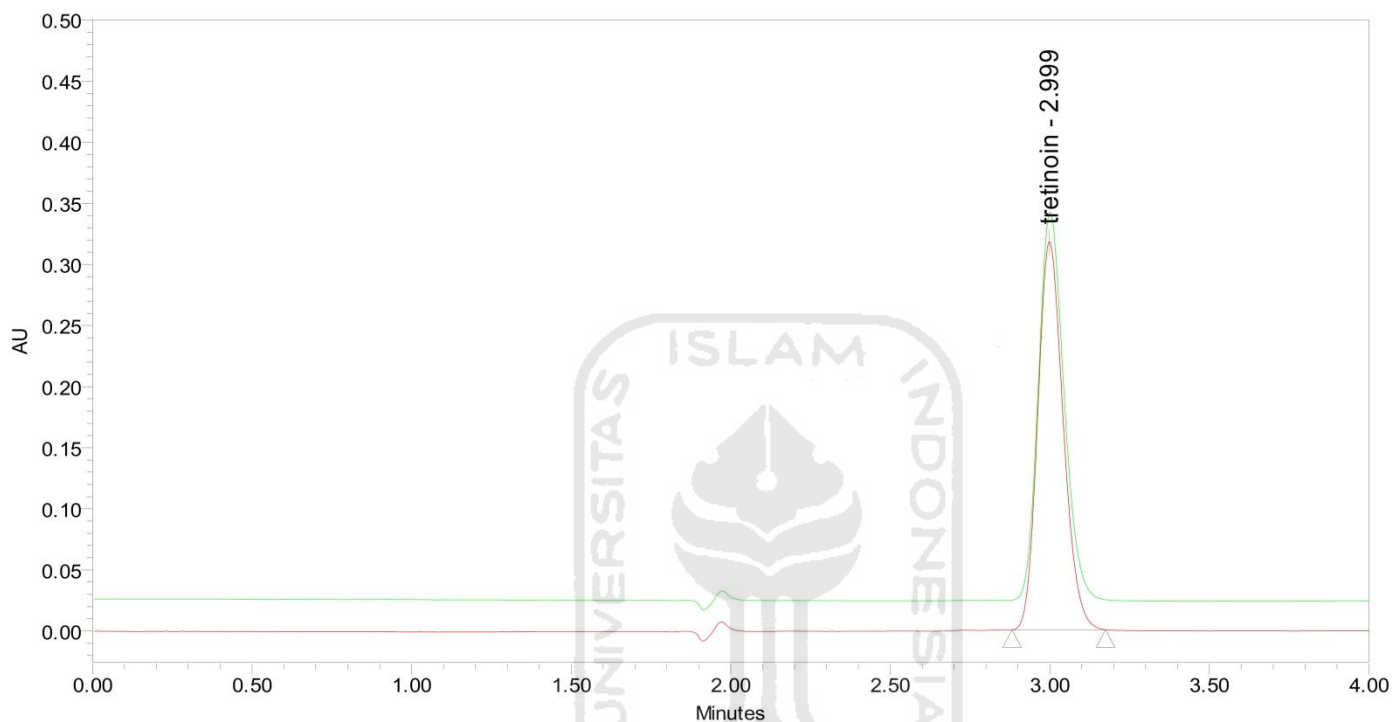
$$SD = \sqrt{\frac{2.10^{-6} \text{ min}}{2-1}} = 0,001414 \text{ min}$$

$$\%RSD = \frac{0,001414 \text{ min}}{3,000 \text{ min}} \times 100\% = 0,0471 \%$$

2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{3369608 \text{ AU}}{2-1}} = 1835,649 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{1835,649 \text{ AU}}{1763637 \text{ AU}} \times 100\% = 0,1040 \%$$



— Sample Name: STD Tretinoin 1; Date Acquired: 1/21/2020 11:49:40 AM WIT; Vial: 73; Injection: 1  
 — Sample Name: STD Tretinoin 2; Date Acquired: 1/21/2020 11:54:21 AM WIT; Vial: 73; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
**Name: tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	STD Tretinoin 2	73	10.00	tretinoin	3.001	1762339	317131	100.000	%	6.597088e+003	1.170986e+000
2	STD Tretinoin 1	73	10.00	tretinoin	2.999	1764935	317457	100.000	%	6.586751e+003	1.175955e+000
Mean					3.00	1763637.22				6.6e+003	1.2e+000
Std. Dev.					0.00	1835.76				7.3e+000	3.5e-003
% RSD					0.05	0.10				1.1e-001	3.0e-001



C. Penentuan Kadar *Tretinoin* dan Presisi Pada Hari Ke-7

- Kadar

No	Massa sampel (mL)	Luas Area Sampel	Luas Area Std	Kadar (%)
1	2,0	1881367	1763637	105,8220
2	2,0	1892380		106,4415
<b>Rerata</b>				106,1317
<b>%RPD</b>				0,5836

Contoh perhitungan :

1. Kadar

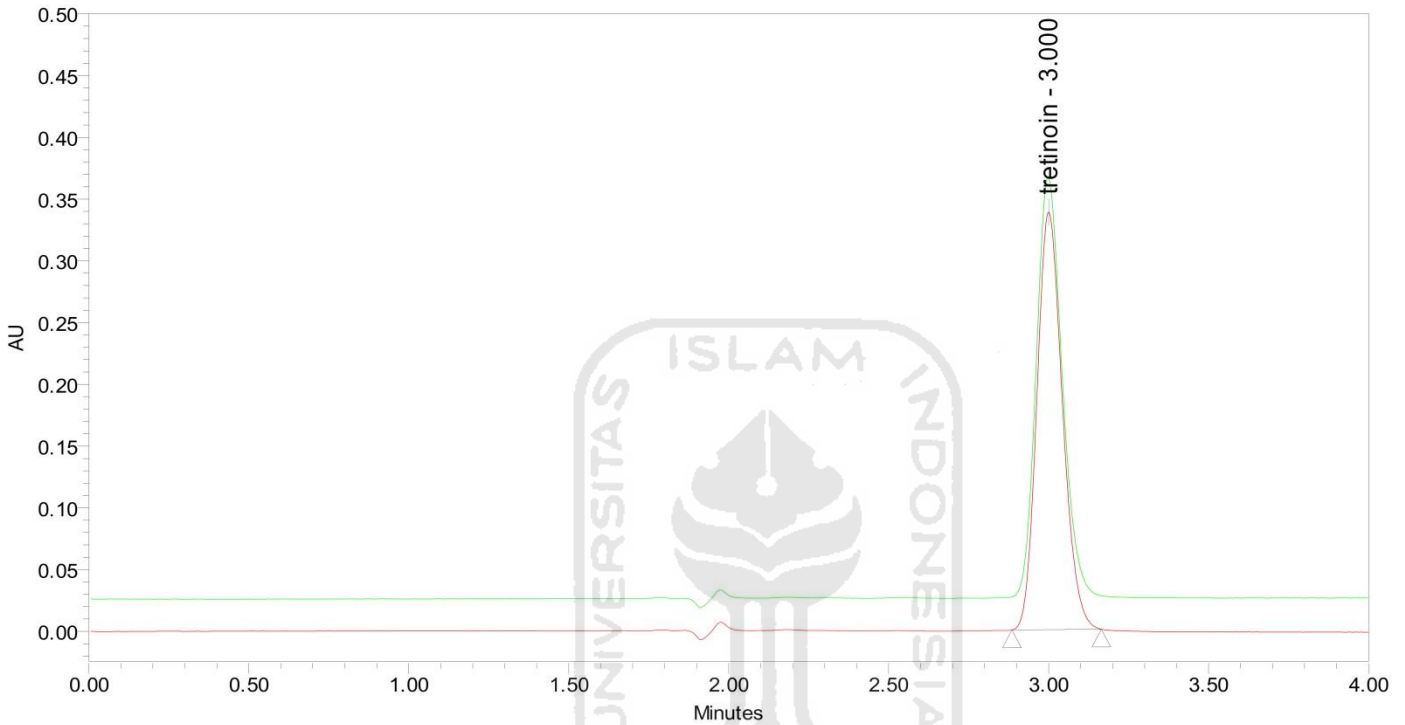
$$\begin{aligned} \%Tretinoin &= \frac{\text{Area spl} \times w \text{ std} \times fp \text{ spl} \times \%std \times 1}{\text{Area std} \times w \text{ spl} \times fp \text{ std} \times klaim \text{ zat aktif}} \\ &= \frac{1881367 \times 20,0 \times 50 \times 99,20\% \times 1}{1763637 \times 2,0 \times 1000 \times 0,5} \\ &= 105,8220 \% \end{aligned}$$

Keterangan :

Area spl : Luas area sampel  
 Area std : Luas area standar  
 W std : Masaa standar (20,0 mg)  
 W spl : Massa sampel (mL)  
 Fp spl : 50  
 Fp std : 1000  
 Klaim zat : 0,5  
 % Std : Potensial standar

2. Presisi pada kadar

$$\begin{aligned} \%RPD &= \frac{|Y_1 - Y_2|}{\bar{Y}} \times 100\% \\ \%RPD &= \frac{|105,822\% - 106,4415\%|}{106,1317\%} \times 100\% \\ &= 0,5836\% \end{aligned}$$



— Sample Name: Sampel X\_Day 7\_1; Date Acquired: 1/21/2020 11:59:01 AM WIT; Vial: 74; Injection: 1  
 — Sample Name: Sampel X\_Day 7\_2; Date Acquired: 1/21/2020 12:03:42 PM WIT; Vial: 75; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
**Name: tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	Sampel X_Day 7_1	74	10.00	tretinoin	3.000	1881367	338171	105.319	%	6.560167e+003	1.172559e+000
2	Sampel X_Day 7_2	75	10.00	tretinoin	2.998	1892380	339799	105.935	%	6.540602e+003	1.171743e+000
Mean					3.00	1886873.40				6.6e+003	1.2e+000
Std. Dev.					0.00	7787.00				1.4e+001	5.8e-004
% RSD					0.04	0.41				2.1e-001	4.9e-002

Lampiran 4. Penentuan pada hari ke-14

A. Penentuan presisi Keberulangan Sistem dan Hasil Kromatogram

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

**Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram**

Pengulangan SST <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	2,960	$1,11 \cdot 10^{-7}$	1836839	18356940
2	2,960	$1,11 \cdot 10^{-7}$	1841577	205662,3
3	2,960	$1,11 \cdot 10^{-7}$	1842807	2834172
4	2,960	$1,11 \cdot 10^{-7}$	1843424	5292300
5	2,960	$1,11 \cdot 10^{-7}$	1836275	23507952
6	2,958	$2,78 \cdot 10^{-6}$	1845819	22047720
$\bar{Y}$	2,9596	-	1841124	-
$\sum$		$3,33 \cdot 10^{-6}$		72244748
SD		0,000816		3801,177
%RSD		0,0275		0,20646

1. Presisi waktu retensi

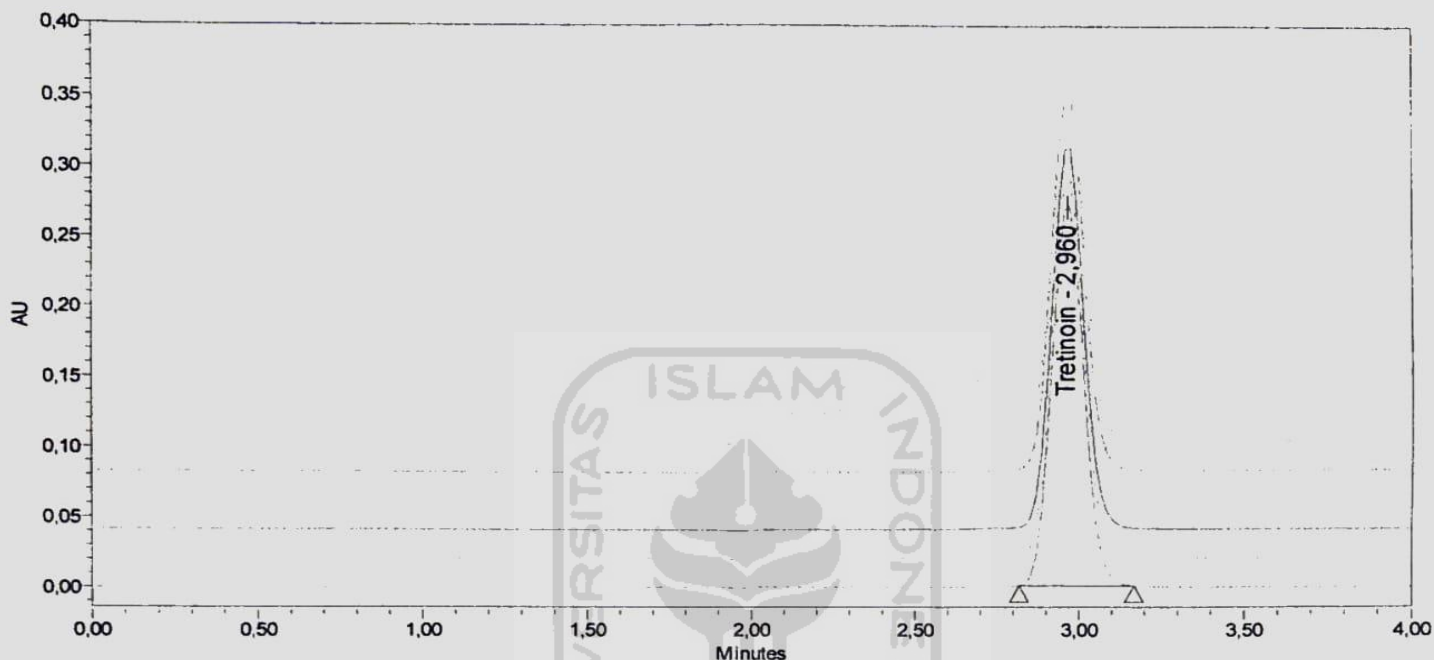
$$SD = \sqrt{\frac{3,33 \cdot 10^{-6} \text{ min}}{6-1}} = 0,000816 \text{ min}$$

$$\%RSD = \frac{0,000816 \text{ min}}{2,9596 \text{ min}} \times 100\% = 0,0275\%$$

2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{72244748 \text{ AU}}{6-1}} = 3801,177 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{3801,177 \text{ AU}}{1841124 \text{ AU}} \times 100\% = 0,20646 \%$$



Sample Name: SST Tretinoin 1; Date Acquired: 28/01/2020 12:26:37 WIT; Vial: 73; Injection: 1  
 Sample Name: SST Tretinoin 3; Date Acquired: 28/01/2020 12:31:17 WIT; Vial: 73; Injection: 1  
 Sample Name: SST Tretinoin 4; Date Acquired: 28/01/2020 12:35:57 WIT; Vial: 73; Injection: 1  
 Sample Name: SST Tretinoin 5; Date Acquired: 28/01/2020 12:40:35 WIT; Vial: 73; Injection: 1  
 Sample Name: SST Tretinoin 6; Date Acquired: 28/01/2020 12:45:14 WIT; Vial: 73; Injection: 1  
 Sample Name: SST Tretinoin 2; Date Acquired: 28/01/2020 12:49:57 WIT; Vial: 73; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
Name: Tretinoin

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	% Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	SST Tretinoin 1	73	10,00	Tretinoin	2,960	1836839	100,00	272760	100,0	%	4,153632e+003	1,090048e+000
2	SST Tretinoin 3	73	10,00	Tretinoin	2,960	1842807	100,00	273390	100,0	%	4,152768e+003	1,087016e+000
3	SST Tretinoin 2	73	10,00	Tretinoin	2,960	1841577	100,00	273270	100,0	%	4,153763e+003	1,088650e+000
4	SST Tretinoin 5	73	10,00	Tretinoin	2,960	1836275	100,00	272376	100,0	%	4,152301e+003	1,087473e+000
5	SST Tretinoin 6	73	10,00	Tretinoin	2,958	1845819	100,00	274227	100,0	%	4,142869e+003	1,097475e+000
6	SST Tretinoin 4	73	10,00	Tretinoin	2,960	1843424	100,00	273259	100,0	%	4,146890e+003	1,088641e+000
Mean					2,960	1841123,4					4,2e+003	1,1e+000
Std. Dev.					0,001	3801,2					4,5e+000	3,9e-003
% RSD					0,03	0,2					1,1e-001	3,5e-001

B. Penentuan Presisi Standar *Tretinoin*

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram

Pengulangan STD <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	2,960	$2,25 \cdot 10^{-6}$	1842742	1142761
2	2,957	$2,25 \cdot 10^{-6}$	1840604	1142761
$\bar{Y}$	2,9585	-	1841673	-
$\sum$		$4,5 \cdot 10^{-6}$		2285522
SD		0,002121		1511,794
%RSD		0,071703		0,082088

1. Presisi waktu retensi

$$SD = \sqrt{\frac{4,5 \cdot 10^{-6} \text{ min}}{2-1}} = 0,002121 \text{ min}$$

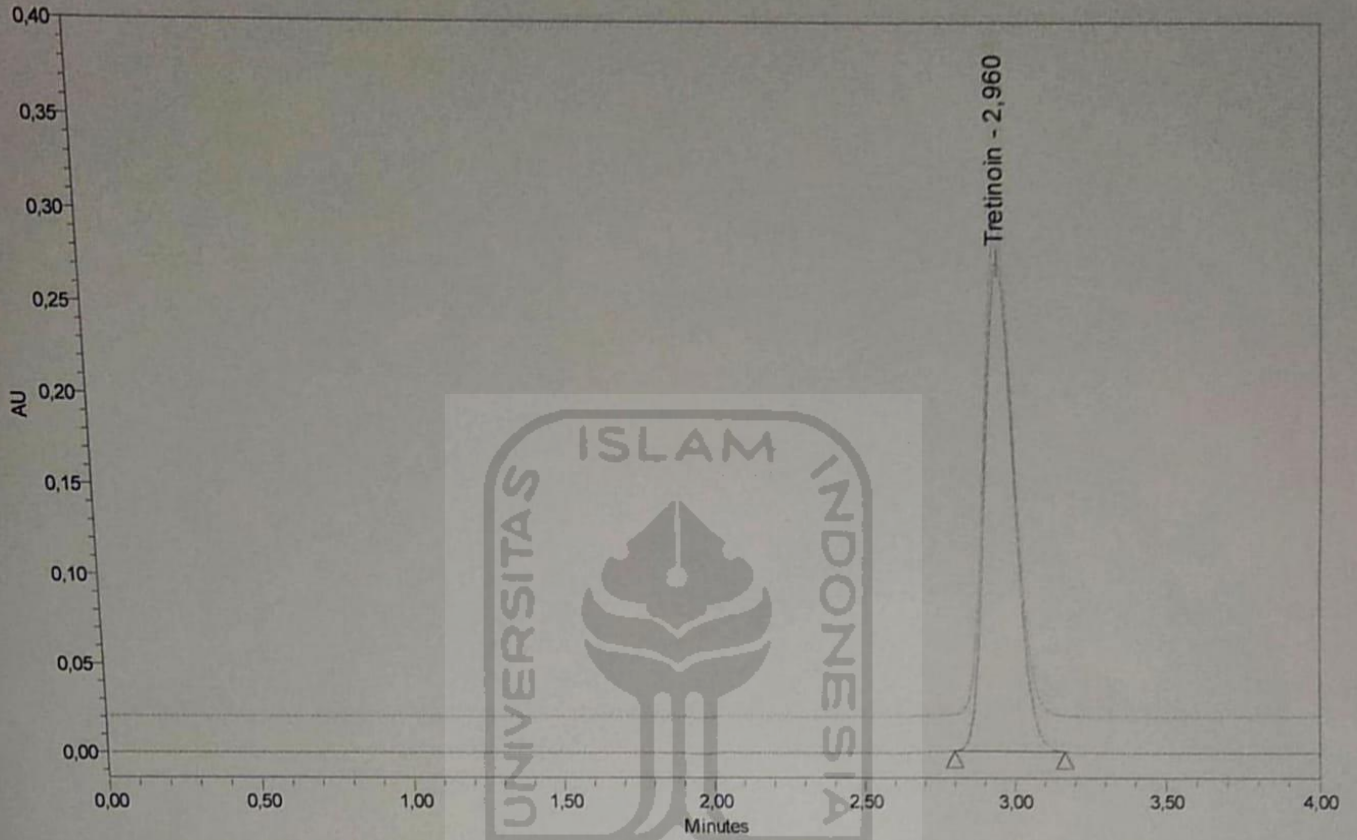
$$\%RSD = \frac{0,002121 \text{ min}}{2,9585 \text{ min}} \times 100\% = 0,071703 \%$$

2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{2285522 \text{ AU}}{2-1}} = 1511,794 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{1511,794 \text{ AU}}{1841673 \text{ AU}} \times 100\% = 0,082088 \%$$





Sample Name: STD Tretinoin 1; Date Acquired: 28/01/2020 12:54:36 WIT; Vial: 73; Injection: 1  
 Sample Name: STD Tretinoin 2; Date Acquired: 28/01/2020 12:59:15 WIT; Vial: 73; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
**Name: Tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	% Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	STD Tretinoin 2	73	10,00	Tretinoin	2,957	1840604	100,00	274385	100,0	%	4,154100e+003	1,096687e+000
2	STD Tretinoin 1	73	10,00	Tretinoin	2,960	1842742	100,00	273312	100,0	%	4,151698e+003	1,089091e+000
Mean					2,958	1841673,2					4,2e+003	1,1e+000
Std. Dev.					0,002	1511,8					1,7e+000	5,4e-003
% RSD					0,06	0,1					4,1e-002	4,9e-001

C. Penentuan Kadar *Tretinoin* dan Presisi Pada Hari Ke-14

- Kadar

No	Massa sampel (mL)	Luas Area Sampel	Luas Area Std	Kadar (%)
1	2,0	1931489	1841673	104,0379
2	2,0	1940074		104,5003
<b>Rerata</b>				104,2691
<b>%RPD</b>				0,4434

Contoh perhitungan :

1. Kadar

$$\begin{aligned} \%Tretinoin &= \frac{\text{Area spl} \times w \text{ std} \times fp \text{ spl} \times \%std \times 1}{\text{Area std} \times w \text{ spl} \times fp \text{ std} \times klaim \text{ zat aktif}} \\ &= \frac{1931489 \times 40,00 \times 50 \times 99,20\% \times 1}{1841673 \times 2,0 \times 2000 \times 0,5} \\ &= 104,0379 \% \end{aligned}$$

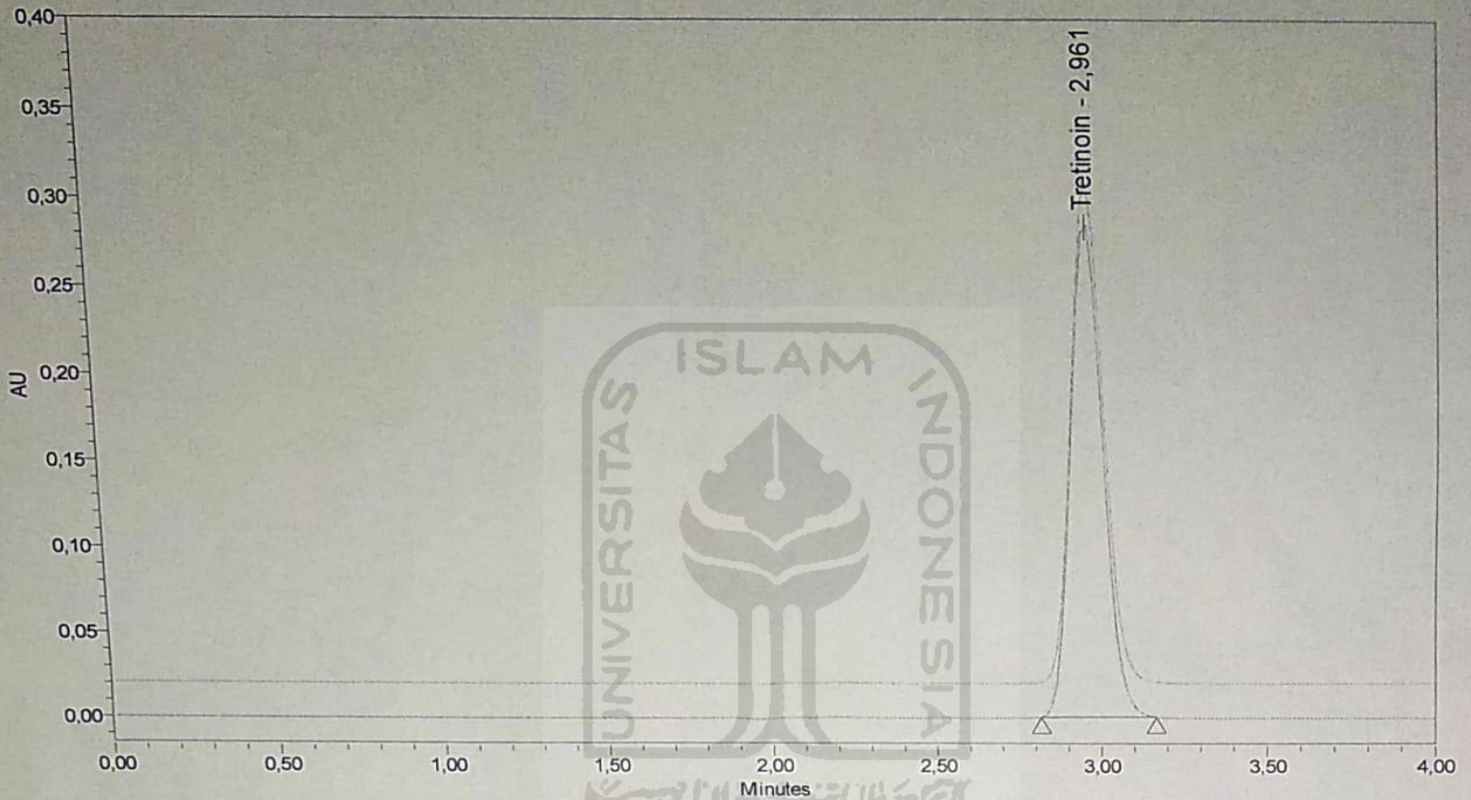
Keterangan :

Area spl : Luas area sampel  
 Area std : Luas area standar  
 W std : Masaa standar (40,00 mg)  
 W spl : Massa sampel (mL)  
 Fp spl : 50  
 Fp std : 2000  
 Klaim zat : 0,5  
 % Std : Potensial standar

2. Presisi pada kadar

$$\begin{aligned} \%RPD &= \frac{|Y_1 - Y_2|}{\bar{y}} \times 100\% \\ \%RPD &= \frac{|104,0379\% - 104,5003\%|}{104,2691\%} \times 100\% \\ &= 0,4434\% \end{aligned}$$





Sample Name: Sampel X\_Day 14\_1; Date Acquired: 28/01/2020 13:43:33 WIT; Vial: 82; Injection: 1  
 Sample Name: Sampel X\_Day 14\_2; Date Acquired: 28/01/2020 13:48:12 WIT; Vial: 83; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
**Name: Tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	% Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	Sampel X_Day 14_1	82	10,00	Tretinoin	2,961	1931489	100,00	285807	104,9	%	4,131112e+000	1,090397e+000
2	Sampel X_Day 14_2	83	10,00	Tretinoin	2,963	1940074	100,00	287577	105,4	%	4,163790e+003	1,089602e+000
Mean					2,962	1935781,9					4,1e+003	1,1e+000
Std. Dev.					0,001	6070,4					2,3e+001	5,6e-004
% RSD					0,04	0,3					5,6e-001	5,2e-002



Lampiran 5. Penentuan pada hari ke-21

A. Penentuan presisi Keberulangan Sistem dan Hasil Kromatogram

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

**Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram**

Pengulangan SST <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	2,455	0,001456694	1727185	385434
2	2,455	0,001456694	1713007	$1,84 \cdot 10^8$
3	2,475	0,000330028	1728747	4764761
4	2,544	0,002584028	1730533	15751638
5	2,547	0,002898028	1727257	480018
6	2,483	0,000103361	1732656	37110433
$\bar{Y}$	2,4931	-	1726564	-
$\sum$		0,008828833		$2,42 \cdot 10^8$
SD		0,0420		6961,164
%RSD		1,6854		0,40318

1. Presisi waktu retensi

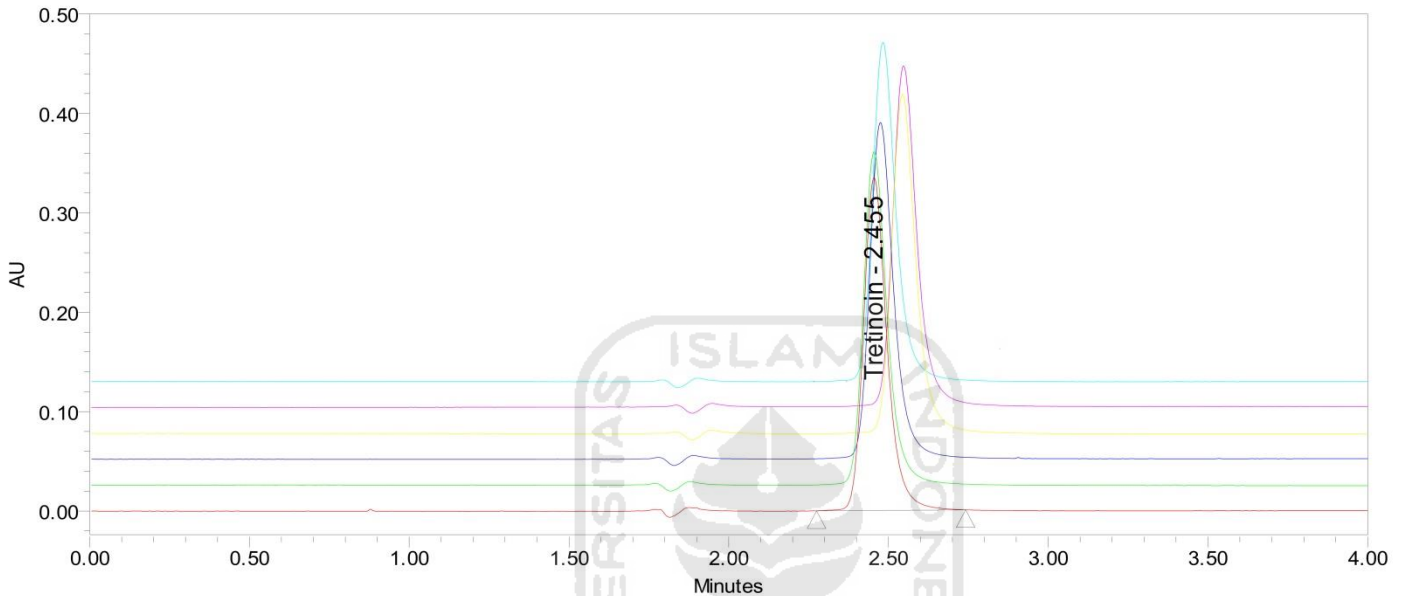
$$SD = \sqrt{\frac{0,008828833 \text{ min}}{6-1}} = 0,0420 \text{ min}$$

$$\%RSD = \frac{0,0420 \text{ min}}{2,4931 \text{ min}} \times 100\% = 1,6854 \%$$

2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{2,42 \cdot 10^8 \text{ AU}}{6-1}} = 6961,164 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{6961,164 \text{ AU}}{1726564 \text{ AU}} \times 100\% = 0,40318 \%$$



- Sample Name: SST Tretinoin 1; Date Acquired: 2/4/2020 5:01:51 PM WIT; Vial: 20; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 2; Date Acquired: 2/4/2020 5:06:31 PM WIT; Vial: 20; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 3; Date Acquired: 2/4/2020 5:11:12 PM WIT; Vial: 20; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 4; Date Acquired: 2/4/2020 5:15:52 PM WIT; Vial: 20; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 5; Date Acquired: 2/4/2020 5:20:33 PM WIT; Vial: 20; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 6; Date Acquired: 2/4/2020 5:25:13 PM WIT; Vial: 20; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
**Name: Tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	SST Tretinoin 1	20	10.00	Tretinoin	2.455	1727185	335035	100.000	%	5.496546e+003	1.268805e+000
2	SST Tretinoin 2	20	10.00	Tretinoin	2.455	1713007	333849	100.000	%	5.451061e+003	1.275088e+000
3	SST Tretinoin 6	20	10.00	Tretinoin	2.483	1732656	339692	100.000	%	5.709892e+003	1.291908e+000
4	SST Tretinoin 4	20	10.00	Tretinoin	2.544	1730533	337187	100.000	%	5.697884e+003	1.248946e+000
5	SST Tretinoin 5	20	10.00	Tretinoin	2.547	1727257	338241	100.000	%	5.782871e+003	1.254527e+000
6	SST Tretinoin 3	20	10.00	Tretinoin	2.475	1728747	336151	100.000	%	5.524300e+003	1.269600e+000
	Mean				2.49	1726564.36				5.6e+003	1.3e+000
	Std. Dev.				0.04	6961.19				1.4e+002	1.5e-002
	% RSD				1.69	0.40				2.4e+000	1.2e+000

B. Penentuan Presisi Standar *Tretinoin*

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

**Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram**

Pengulangan STD <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	2,479	$8,1 \cdot 10^{-5}$	1724970	32761
2	2,461	$8,1 \cdot 10^{-5}$	1725332	32761
$\bar{Y}$	2,470	-	1725151	-
$\sum$		$16,2 \cdot 10^{-5}$		65522
SD		0,01272		255,9727
%RSD		0,5153		0,0148

1. Presisi waktu retensi

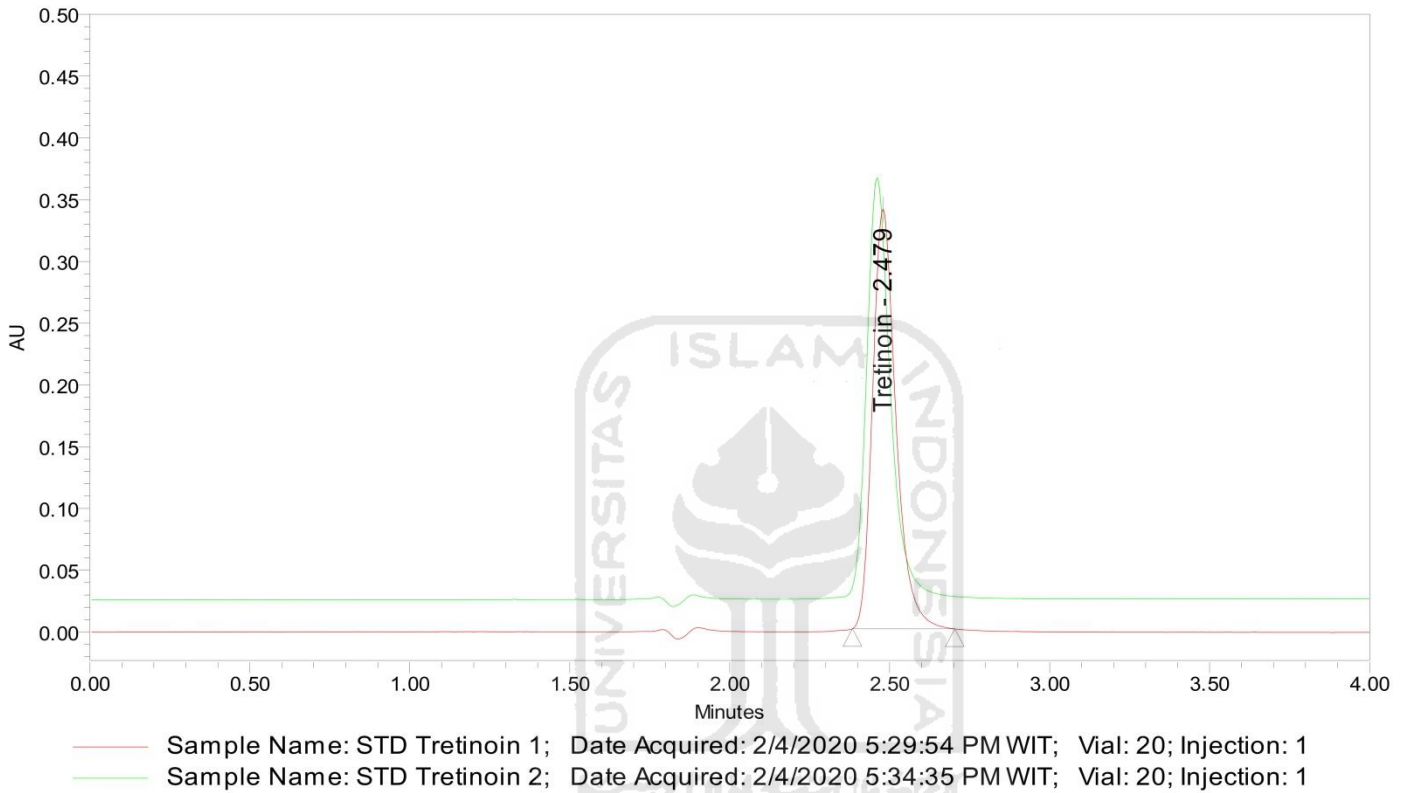
$$SD = \sqrt{\frac{16,2 \cdot 10^{-5} \text{ min}}{2-1}} = 0,01272 \text{ min}$$

$$\%RSD = \frac{0,01272 \text{ min}}{2,470 \text{ min}} \times 100\% = 0,5153 \%$$

2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{65522 \text{ AU}}{2-1}} = 255,9727 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{255,9727 \text{ AU}}{1725151 \text{ AU}} \times 100\% = 0,0148 \%$$



**Peak Summary with Statistics**  
**Name: Tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	STD Tretinoin 2	20	10.00	Tretinoin	2.461	1725332	339081	100.000	%	5.596666e+003	1.291089e+000
2	STD Tretinoin 1	20	10.00	Tretinoin	2.479	1724970	339579	100.000	%	5.659372e+003	1.293242e+000
Mean					2.47	1725151.00				5.6e+003	1.3e+000
Std. Dev.					0.01	256.11				4.4e+001	1.5e-003
% RSD					0.52	0.01				7.9e-001	1.2e-001

C. Penentuan Kadar *Tretinoin* dan Presisi Pada Hari Ke-21

- Kadar

No	Massa sampel (mL)	Luas Area Sampel	Luas Area Std	Kadar (%)
1	2,0	1839677	1725151	106,5524
2	2,0	1838033		106,4572
<b>Rerata</b>				106,5048
<b>%RPD</b>				0,0894

Contoh perhitungan :

1. Kadar

$$\begin{aligned} \%Tretinoin &= \frac{\text{Area spl} \times w \text{ std} \times fp \text{ spl} \times \%std \times 1}{\text{Area std} \times w \text{ spl} \times fp \text{ std} \times klaim \text{ zat aktif}} \\ &= \frac{1839677 \times 40,29 \times 50 \times 99,20\% \times 1}{1725151 \times 2,0 \times 2000 \times 0,5} \\ &= 106,5524 \% \end{aligned}$$

Keterangan :

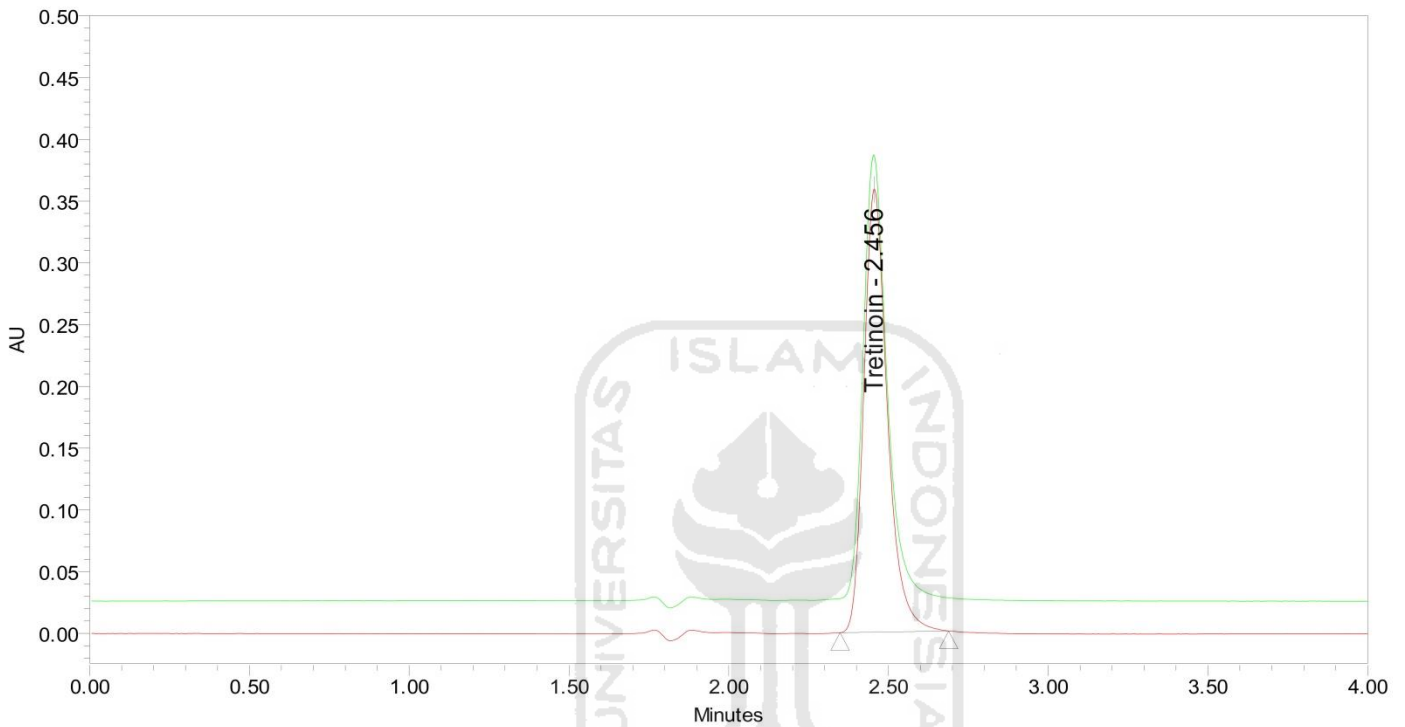
Area spl : Luas area sampel  
 Area std : Luas area standar  
 W std : Masaa standar (40,29 mg)  
 W spl : Massa sampel (mL)  
 Fp spl : 50  
 Fp std : 2000  
 Klaim zat : 0,5  
 % Std : Potensial standar

2. Presisi pada kadar

$$\%RPD = \frac{|Y_1 - Y_2|}{\bar{Y}} \times 100\%$$

$$\%RPD = \frac{|106,5524\% - 106,4572\%|}{106,5048\%} \times 100\%$$

$$= 0,0894\%$$



— Sample Name: Sampel X\_Day 21\_1; Date Acquired: 2/4/2020 5:39:15 PM WIT; Vial: 21; Injection: 1  
 — Sample Name: Sampel X\_Day 21\_2; Date Acquired: 2/4/2020 5:43:56 PM WIT; Vial: 22; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
**Name: Tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	Sampel X_Day 21_1	21	10.00	Tretinoin	2.456	1839677	358625	104.873	%	5.514394e+003	1.298234e+000
2	Sampel X_Day 21_2	22	10.00	Tretinoin	2.454	1838033	359172	104.780	%	5.515413e+003	1.293738e+000
	Mean				2.45	1838855.21				5.5e+003	1.3e+000
	Std. Dev.				0.00	1162.18				7.2e-001	3.2e-003
	% RSD				0.06	0.06				1.3e-002	2.5e-001

Lampiran 6. Penentuan pada hari ke-28

A. Penentuan presisi Keberulangan Sistem dan Hasil Kromatogram

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

**Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram**

Pengulangan SST <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	2,446	$6,25 \cdot 10^{-6}$	1726048	$2,48 \cdot 10^8$
2	2,444	$2,5 \cdot 10^{-7}$	1731853	98810227
3	2,442	$2,25 \cdot 10^{-6}$	1740003	3205293
4	2,442	$2,25 \cdot 10^{-6}$	1746856	25630594
5	2,443	$2,5 \cdot 10^{-7}$	1750226	71109867
6	2,444	$2,5 \cdot 10^{-7}$	1755774	$1,95 \cdot 10^8$
$\bar{Y}$	2,4435	-	1741793	-
$\sum$		$1,15 \cdot 10^{-5}$		$6,42 \cdot 10^8$
SD		0,001517		11332,52
%RSD		0,0620		0,650624

1. Presisi waktu retensi

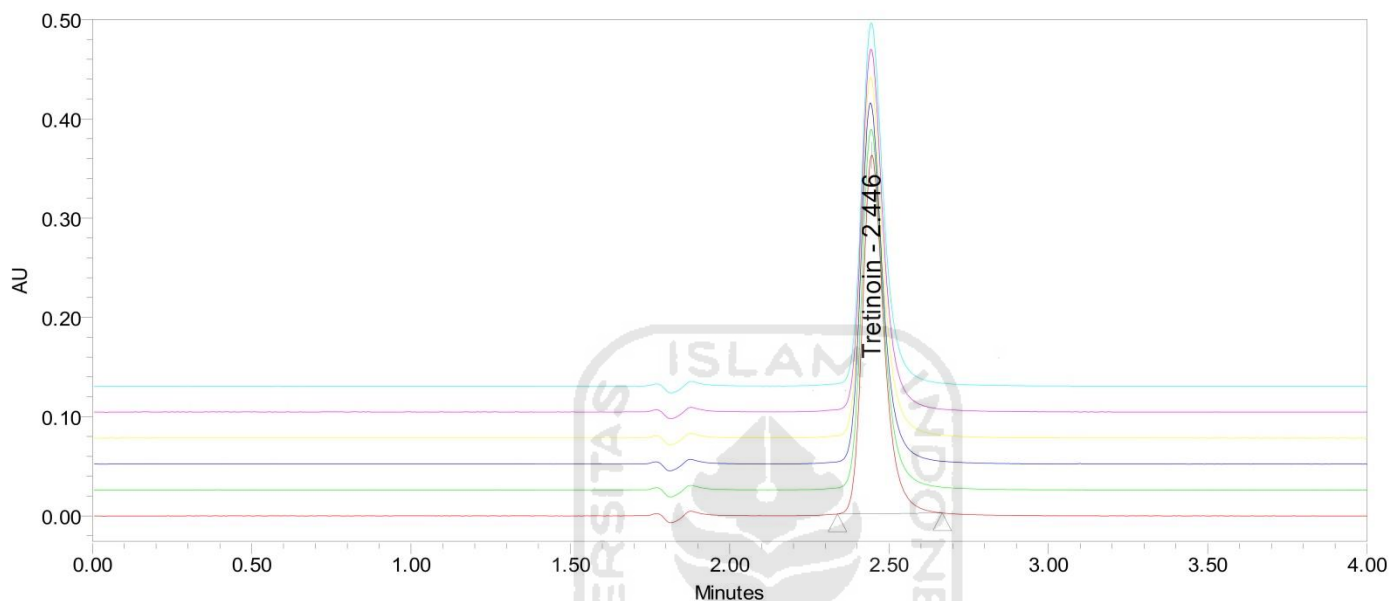
$$SD = \sqrt{\frac{1,15 \cdot 10^{-5} \text{ min}}{6-1}} = 0,001517 \text{ min}$$

$$\%RSD = \frac{0,001517 \text{ min}}{2,4931 \text{ min}} \times 100\% = 0,0620 \%$$

2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{6,42 \cdot 10^8 \text{ AU}}{6-1}} = 11332,52 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{11332,52 \text{ AU}}{1741793 \text{ AU}} \times 100\% = 0,650624 \%$$



- Sample Name: SST Tretinoin 1; Date Acquired: 2/11/2020 12:43:09 PM WIT; Vial: 10; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 2; Date Acquired: 2/11/2020 12:48:03 PM WIT; Vial: 10; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 3; Date Acquired: 2/11/2020 12:52:42 PM WIT; Vial: 10; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 4; Date Acquired: 2/11/2020 12:57:23 PM WIT; Vial: 10; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 5; Date Acquired: 2/11/2020 1:02:03 PM WIT; Vial: 10; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 6; Date Acquired: 2/11/2020 1:06:44 PM WIT; Vial: 10; Injection: 1

### Peak Summary with Statistics Name: Tretinoin

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	SST Tretinoin 1	10	10.00	Tretinoin	2.446	1726048	361118	100.000	%	6.406368e+003	1.317696e+000
2	SST Tretinoin 2	10	10.00	Tretinoin	2.444	1731853	361134	100.000	%	6.342804e+003	1.313366e+000
3	SST Tretinoin 6	10	10.00	Tretinoin	2.444	1755774	363382	100.000	%	6.233145e+003	1.311358e+000
4	SST Tretinoin 4	10	10.00	Tretinoin	2.442	1746856	361365	100.000	%	6.205580e+003	1.312145e+000
5	SST Tretinoin 5	10	10.00	Tretinoin	2.443	1750226	362979	100.000	%	6.252883e+003	1.308510e+000
6	SST Tretinoin 3	10	10.00	Tretinoin	2.442	1740003	361485	100.000	%	6.242832e+003	1.310087e+000
Mean					2.44	1741793.45				6.3e+003	1.3e+000
Std. Dev.					0.00	11332.83				7.7e+001	3.2e-003
% RSD					0.06	0.65				1.2e+000	2.4e-001



B. Penentuan Presisi Standar *Tretinoin*

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram

Pengulangan STD <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	2,443	$2,5 \cdot 10^{-7}$	1750226	7695076
2	2,444	$2,5 \cdot 10^{-7}$	1755774	7695076
$\bar{Y}$	2,4435	-	1753000	-
$\sum$		$5 \cdot 10^{-7}$		15390152
SD		0,000707		3923,028
%RSD		0,0289		0,2237

1. Presisi waktu retensi

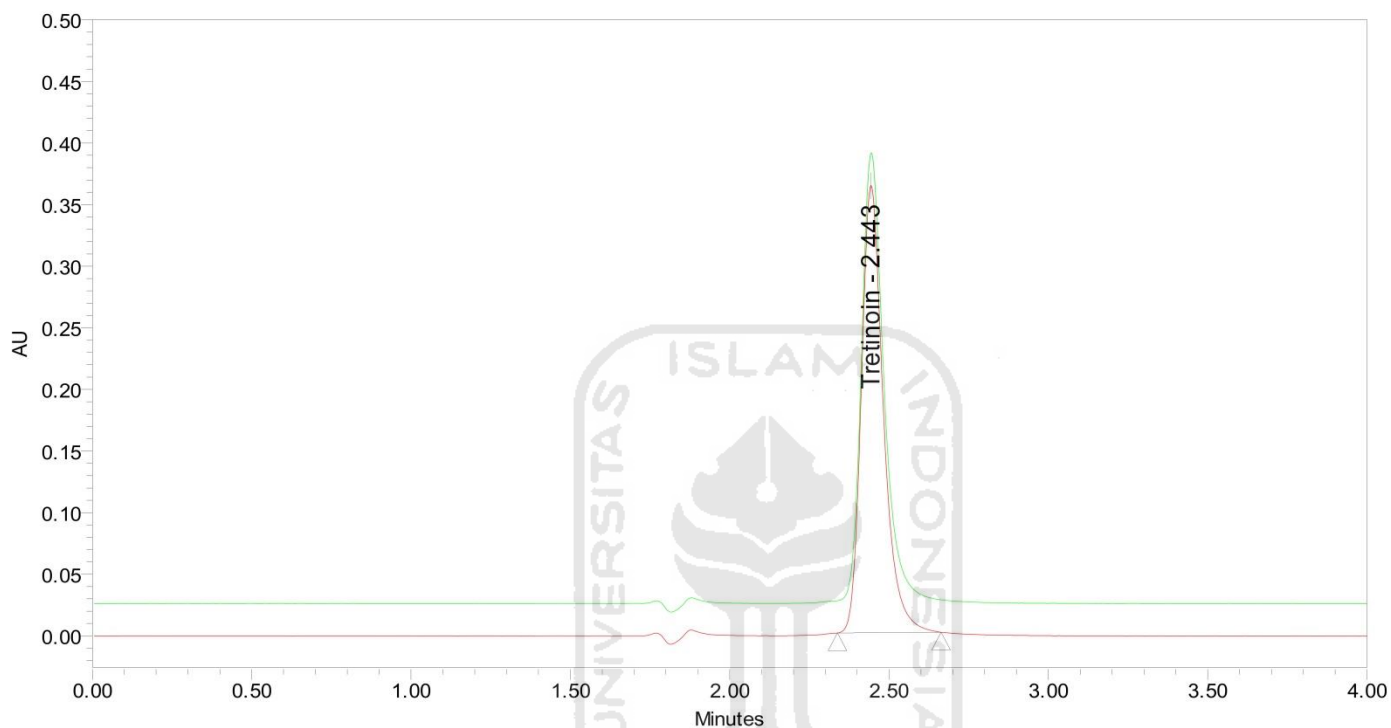
$$SD = \sqrt{\frac{5 \cdot 10^{-7} \text{ min}}{2-1}} = 0,000707 \text{ min}$$

$$\%RSD = \frac{0,000707 \text{ min}}{2,4435 \text{ min}} \times 100\% = 0,0289 \%$$

2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{15390152 \text{ AU}}{2-1}} = 3923,028 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{3923,028 \text{ AU}}{1753000 \text{ AU}} \times 100\% = 0,2237 \%$$



— Sample Name: STD Tretinoin 1; Date Acquired: 2/11/2020 1:02:03 PM WIT; Vial: 10; Injection: 1  
 — Sample Name: STD Tretinoin 2; Date Acquired: 2/11/2020 1:06:44 PM WIT; Vial: 10; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
**Name: Tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	STD Tretinoin 2	10	10.00	Tretinoin	2.444	1755774	363382	100.000	%	6.233145e+003	1.311358e+000
2	STD Tretinoin 1	10	10.00	Tretinoin	2.443	1750226	362979	100.000	%	6.252883e+003	1.308510e+000
Mean					2.44	1753000.37				6.2e+003	1.3e+000
Std. Dev.					0.00	3922.91				1.4e+001	2.0e-003
% RSD					0.02	0.22				2.2e-001	1.5e-001

C. Penentuan Kadar *Tretinoin* dan Presisi Pada Hari Ke-28

Kadar				
No	Massa sampel (mL)	Luas Area Sampel	Luas Area Std	Kadar (%)
1	2,0	1848693	1753000	105,1382
2	2,0	1851556		105,3010
<b>Rerata</b>				105,2196
<b>%RPD</b>				0,1547

Contoh perhitungan :

1. Kadar

$$\begin{aligned} \%Tretinoin &= \frac{\text{Area spl} \times w \text{ std} \times fp \text{ spl} \times \%std \times 1}{\text{Area std} \times w \text{ spl} \times fp \text{ std} \times klaim \text{ zat aktif}} \\ &= \frac{1848693 \times 40,20 \times 50 \times 99,20\% \times 1}{1753000 \times 2,0 \times 2000 \times 0,5} \\ &= 105,1382 \% \end{aligned}$$

Keterangan :

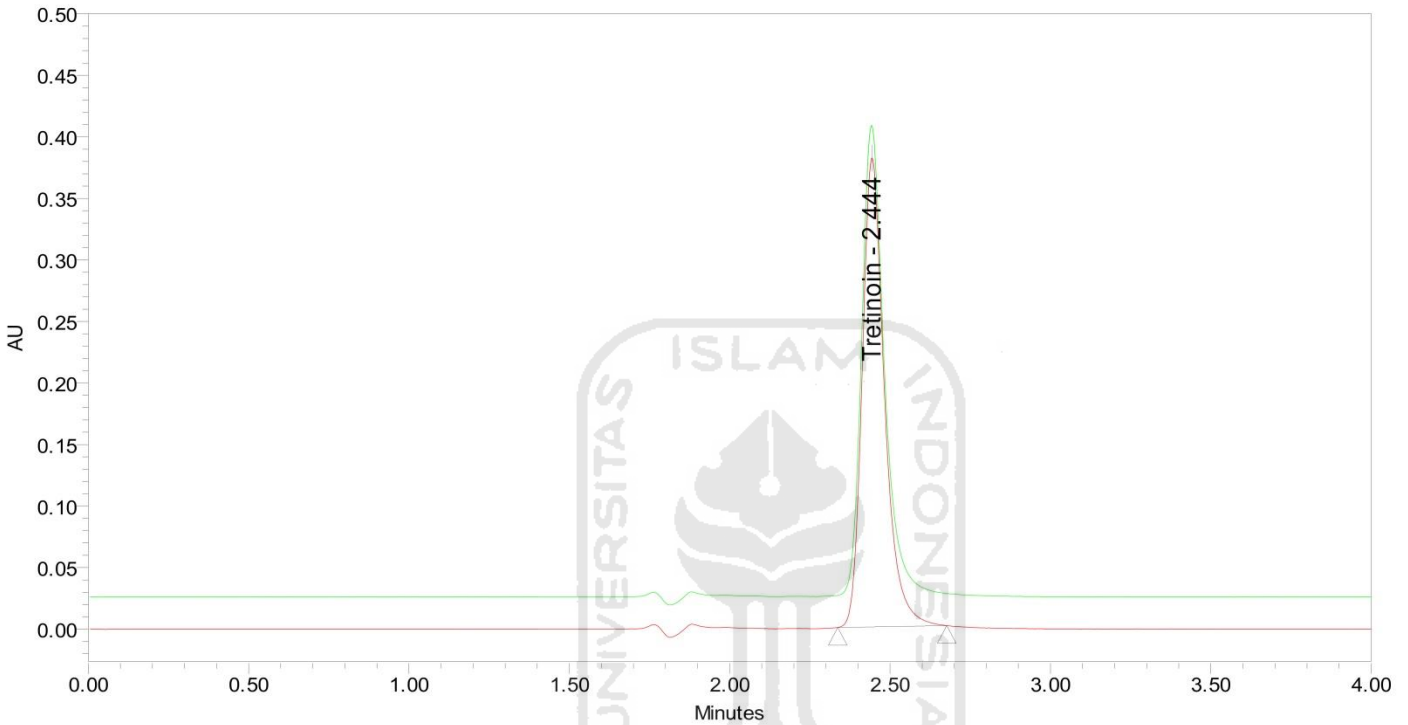
Area spl : Luas area sampel  
 Area std : Luas area standar  
 W std : Masaa standar (40,20 mg)  
 W spl : Massa sampel (mL)  
 Fp spl : 50  
 Fp std : 2000  
 Klaim zat : 0,5  
 % Std : Potensial standar

2. Presisi

$$\%RPD = \frac{|Y_1 - Y_2|}{\bar{Y}} \times 100\%$$

$$\%RPD = \frac{|105,1382\% - 105,301\%|}{105,2196\%} \times 100\%$$

$$= 0,1547\%$$



— Sample Name: Sampel X\_Day 28\_1; Date Acquired: 2/11/2020 1:11:25 PM WIT; Vial: 11; Injection: 1  
 — Sample Name: Sampel X\_Day 28\_2; Date Acquired: 2/11/2020 1:16:05 PM WIT; Vial: 12; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
**Name: Tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	Sampel X_Day 28_1	11	10.00	Tretinoin	2.444	1848693	381063	104.435	%	6.218010e+003	1.311451e+000
2	Sampel X_Day 28_2	12	10.00	Tretinoin	2.442	1851556	381515	104.597	%	6.218489e+003	1.313087e+000
	Mean				2.44	1850124.53				6.2e+003	1.3e+000
	Std. Dev.				0.00	2024.63				3.4e-001	1.2e-003
	% RSD				0.04	0.11				5.4e-003	8.8e-002

Lampiran 7. Penentuan pada hari ke-41

A. Penentuan presisi Keberulangan Sistem dan Hasil Kromatogram

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

**Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram**

Pengulangan SST <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	2,826	$1,7778 \cdot 10^{-6}$	1779680	9364620
2	2,826	$1,7778 \cdot 10^{-6}$	1788047	28162480
3	2,825	$1,1111 \cdot 10^{-7}$	1781846	799534
4	2,823	$2,7778 \cdot 10^{-6}$	1783258	268151,4
5	2,824	$4,4444 \cdot 10^{-7}$	1782939	39534,69
6	2,824	$4,4444 \cdot 10^{-7}$	1780671	4281451
$\bar{Y}$	2,8246	-	1782740	-
$\sum$		$7,3333 \cdot 10^{-6}$		42915771
SD		0,001211		2929,702
%RSD		0,0428		0,1643

1. Presisi waktu retensi

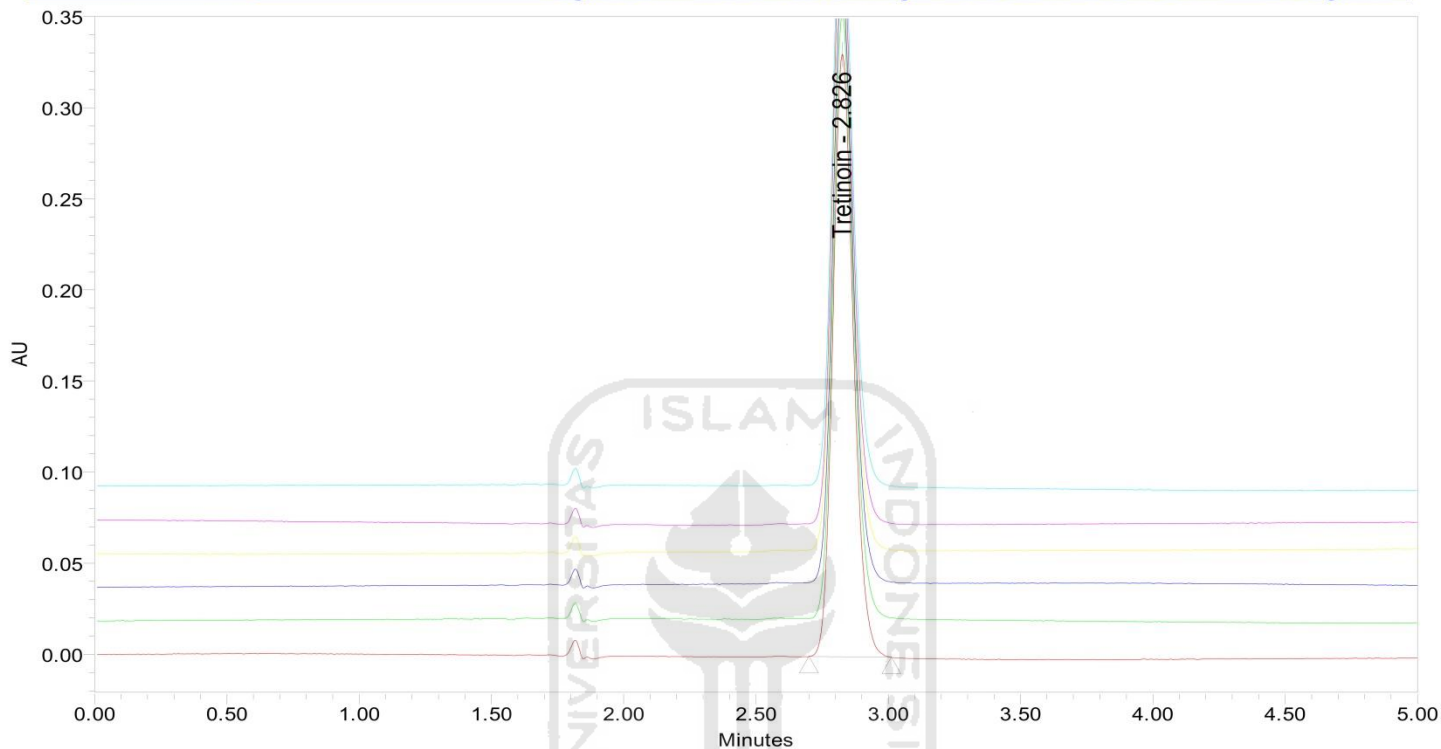
$$SD = \sqrt{\frac{7,3333 \cdot 10^{-6} \text{ min}}{6-1}} = 0,001211 \text{ min}$$

$$\%RSD = \frac{0,001211 \text{ min}}{2,8246 \text{ min}} \times 100\% = 0,0428 \%$$

2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{42915771 \text{ AU}}{6-1}} = 2929,702 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{2929,702 \text{ AU}}{1782740 \text{ AU}} \times 100\% = 0,1643 \%$$



- Sample Name: SST Tretinoin 1; Date Acquired: 2/26/2020 11:42:21 PM WIT; Vial: 38; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 2; Date Acquired: 2/26/2020 11:48:21 PM WIT; Vial: 38; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 3; Date Acquired: 2/26/2020 11:54:21 PM WIT; Vial: 38; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 4; Date Acquired: 2/27/2020 12:00:21 AM WIT; Vial: 38; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 5; Date Acquired: 2/27/2020 12:06:23 AM WIT; Vial: 38; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 6; Date Acquired: 2/27/2020 12:12:23 AM WIT; Vial: 38; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
**Name: Tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	% Area	Height	Amount	Units	USP Tailing	USP Plate Count
1	SST Tretinoin 1	38	1	Tretinoin	2.826	1779680	100.00	330508	100.0	%	1.170317e+000	6.250538e+003
2	SST Tretinoin 2	38	1	Tretinoin	2.826	1788047	100.00	331141	100.0	%	1.170368e+000	6.232246e+003
3	SST Tretinoin 6	38	1	Tretinoin	2.824	1780671	100.00	330292	100.0	%	1.181744e+000	6.233764e+003
4	SST Tretinoin 4	38	1	Tretinoin	2.823	1783258	100.00	331386	100.0	%	1.178321e+000	6.235642e+003
5	SST Tretinoin 5	38	1	Tretinoin	2.824	1782939	100.00	330533	100.0	%	1.182691e+000	6.225889e+003
6	SST Tretinoin 3	38	1	Tretinoin	2.825	1781846	100.00	330366	100.0	%	1.177769e+000	6.240287e+003
Mean					2.825	1782740.0					1.2e+000	6.2e+003
Std. Dev.					0.001	2929.6					5.4e-003	8.4e+000
% RSD					0.05	0.2					4.6e-001	1.3e-001

B. Penentuan Presisi Standar *Tretinoin*

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram

Pengulangan STD <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	2,823	$2,5 \cdot 10^{-7}$	1784106	2,25
2	2,824	$2,5 \cdot 10^{-7}$	1784109	2,25
$\bar{Y}$	2,8235	-	1784108	-
$\sum$		$5 \cdot 10^{-7}$		4,5
SD		0,000707		2,12132
%RSD		0,0250		0,000119

1. Presisi waktu retensi

$$SD = \sqrt{\frac{5 \cdot 10^{-7} \text{ min}}{2-1}} = 0,000707 \text{ min}$$

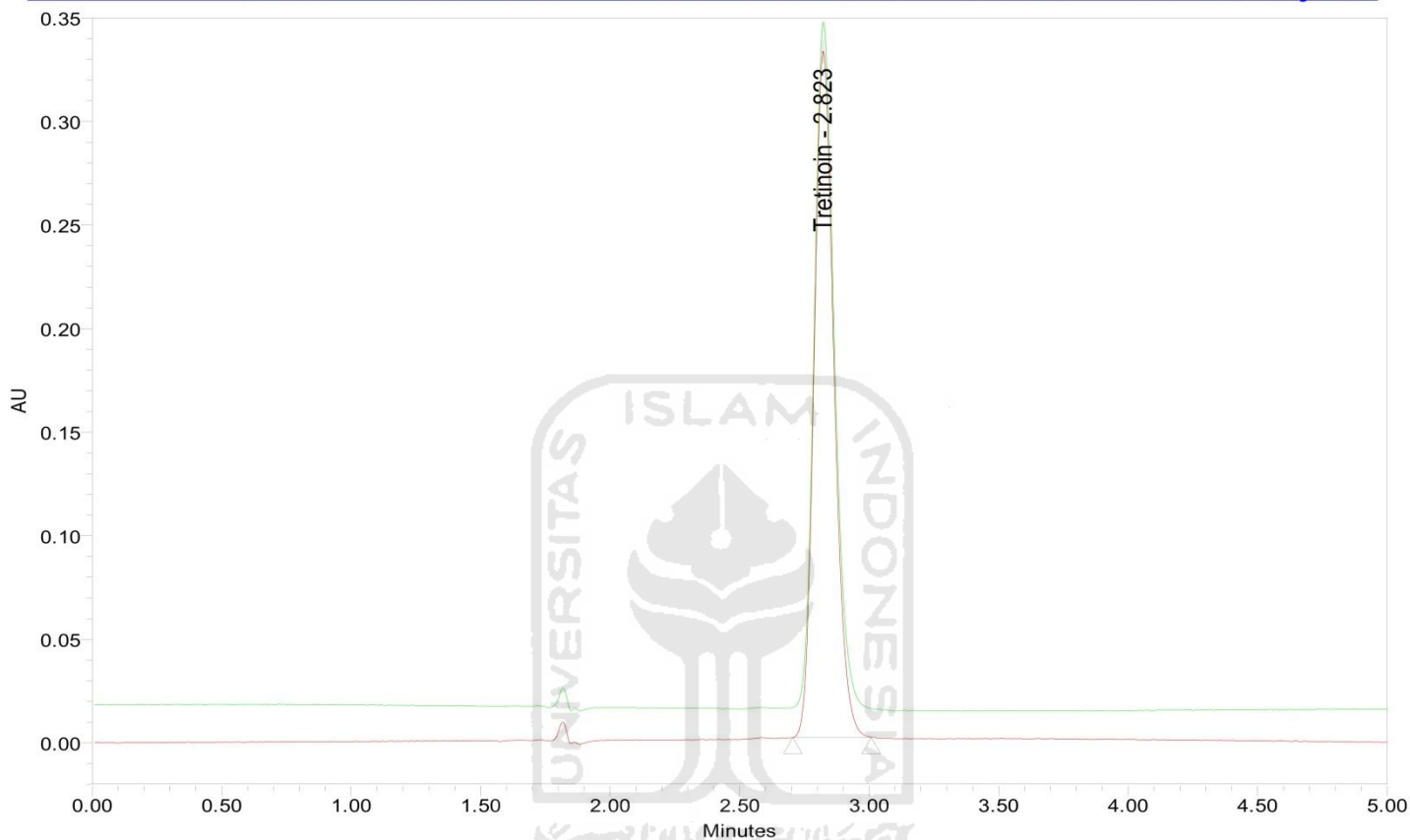
$$\%RSD = \frac{0,000707 \text{ min}}{2,8235 \text{ min}} \times 100\% = 0,0250 \%$$

2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{4,5 \text{ AU}}{2-1}} = 2,12132 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{2,12132 \text{ AU}}{1784108 \text{ AU}} \times 100\%$$

$$= 0,000119 \%$$



— Sample Name: STD Tretinoin 1; Date Acquired: 2/27/2020 12:18:23 AM WIT; Vial: 38; Injection: 1  
 — Sample Name: STD Tretinoin 2; Date Acquired: 2/27/2020 12:30:22 AM WIT; Vial: 38; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
**Name: Tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	% Area	Height	Amount	Units	USP Tailing	USP Plate Count
1	STD Tretinoin 2	38	1	Tretinoin	2.824	1784109	100.00	331077	100.0	%	1.186039e+000	6.225026e+003
2	STD Tretinoin 1	38	1	Tretinoin	2.823	1784106	100.00	331421	100.0	%	1.181957e+000	6.236389e+003
Mean					2.823	1784107.4					1.2e+000	6.2e+003
Std. Dev.					0.000	2.4					2.9e-003	8.0e+000
% RSD					0.01	0.0					2.4e-001	1.3e-001



C. Penentuan Kadar *Tretinoin* dan Presisi Pada Hari Ke-41

Kadar

No	Massa sampel (mL)	Luas Area Sampel	Luas Area Std	Kadar (%)
1	2,0	1870782	1784108	103,4992
2	2,0	1869600		103,4338
<b>Rerata</b>				103,4665
<b>%RPD</b>				0,0632

Contoh perhitungan :

1. Kadar

$$\begin{aligned} \%Tretinoin &= \frac{\text{Area spl} \times w \text{ std} \times fp \text{ spl} \times \%std \times 1}{\text{Area std} \times w \text{ spl} \times fp \text{ std} \times klaim \text{ zat aktif}} \\ &= \frac{1870782 \times 19,90 \times 50 \times 99,20\% \times 1}{1784108 \times 2,0 \times 1000 \times 0,5} \\ &= 103,4993 \% \end{aligned}$$

Keterangan :

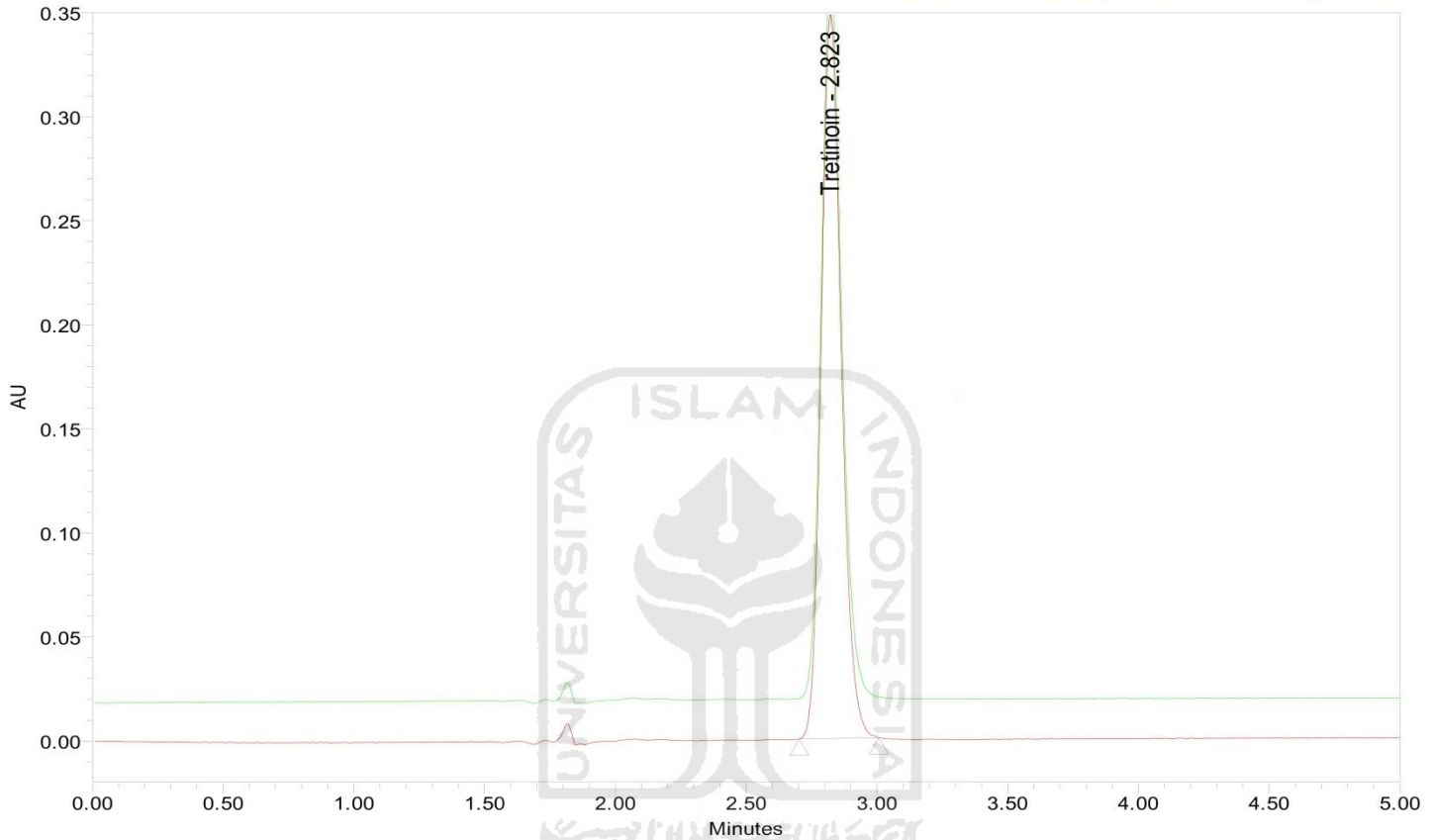
Area spl : Luas area sampel  
 Area std : Luas area standar  
 W std : Masaa standar (19,90 mg)  
 W spl : Massa sampel (mL)  
 Fp spl : 50  
 Fp std : 1000  
 Klaim zat : 0,5  
 % Std : Potensial standar

2. Presisi

$$\%RPD = \frac{|Y_1 - Y_2|}{\bar{Y}} \times 100\%$$

$$\%RPD = \frac{|103,4992\% - 103,4338\%|}{103,4665\%} \times 100\%$$

$$= 0,0632\%$$



— Sample Name: Sampel X\_Day 41\_1; Date Acquired: 2/27/2020 12:42:23 AM WIT; Vial: 39; Injection: 1  
 — Sample Name: Sampel X\_Day 41\_2; Date Acquired: 2/27/2020 12:54:22 AM WIT; Vial: 40; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
**Name: Tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	% Area	Height	Amount	Units	USP Tailing	USP Plate Count
1	Sampel X_Day 41_1	39	1	Tretinoin	2.823	1870782	100.00	348233	104.5	%	1.176413e+000	6.289855e+003
2	Sampel X_Day 41_2	40	1	Tretinoin	2.822	1869600	100.00	347004	104.4	%	1.177408e+000	6.253940e+003
Mean					2.823	1870191.0					1.2e+000	6.3e+003
Std. Dev.					0.000	836.3					7.0e-004	2.5e+001
% RSD					0.01	0.0					6.0e-002	4.0e-001

Lampiran 8. Penentuan pada hari ke-60

A. Penentuan presisi Keberulangan Sistem dan Hasil Kromatogram

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

**Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram**

Pengulangan SST <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	2,874	$7,1111 \cdot 10^{-6}$	1731695	68120262
2	2,871	$1,1111 \cdot 10^{-7}$	1718832	21247490
3	2,870	$1,7777 \cdot 10^{-6}$	1721142	5287700
4	2,870	$1,7777 \cdot 10^{-6}$	1722779	438906,3
5	2,871	$1,1111 \cdot 10^{-7}$	1722277	1356060
6	2,872	$4,4444 \cdot 10^{-7}$	1723924	232806,3
$\bar{Y}$	2,8713	-	1723442	-
$\sum$		$1,1333 \cdot 10^{-5}$		96683226
SD		0,001506		4397,345
%RSD		0,0524		0,2551

1. Presisi waktu retensi

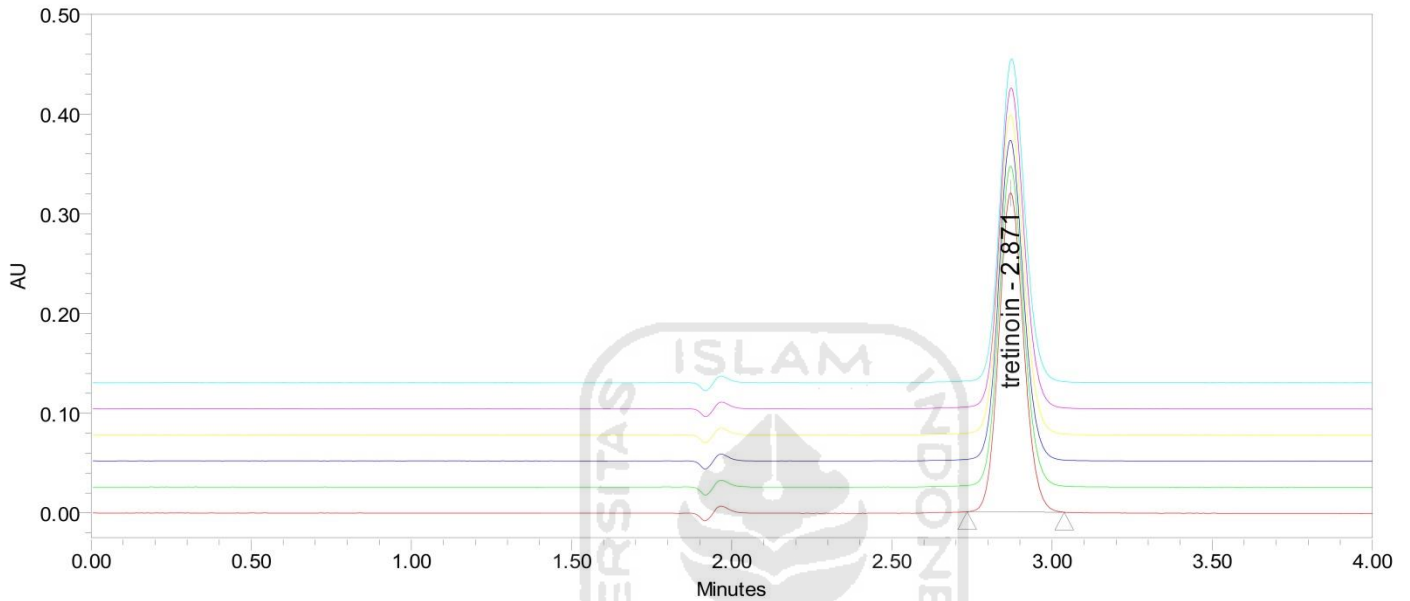
$$SD = \sqrt{\frac{1,1333 \cdot 10^{-5} \text{ min}}{6-1}} = 0,001506 \text{ min}$$

$$\%RSD = \frac{0,001506 \text{ min}}{2,8713 \text{ min}} \times 100\% = 0,0524\%$$

2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{96683226 \text{ AU}}{6-1}} = 4397,345 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{4397,345 \text{ AU}}{1723442 \text{ AU}} \times 100\% = 0,2551 \%$$



- Sample Name: SST Tretinoin 2; Date Acquired: 3/16/2020 1:49:15 PM WIT; Vial: 1; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 4; Date Acquired: 3/16/2020 1:53:56 PM WIT; Vial: 1; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 3; Date Acquired: 3/16/2020 1:59:06 PM WIT; Vial: 1; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 5; Date Acquired: 3/16/2020 2:03:46 PM WIT; Vial: 1; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 6; Date Acquired: 3/16/2020 2:08:27 PM WIT; Vial: 1; Injection: 1
- Sample Name: SST Tretinoin 1; Date Acquired: 3/16/2020 2:27:40 PM WIT; Vial: 1; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
**Name: tretinoin**

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	SST Tretinoin 1	1	10.00	tretinoin	2.874	1731695	323199	100.000	%	6.492499e+003	1.101697e+000
2	SST Tretinoin 2	1	10.00	tretinoin	2.871	1718832	319848	100.000	%	6.452035e+003	1.102817e+000
3	SST Tretinoin 6	1	10.00	tretinoin	2.872	1723924	320212	100.000	%	6.436791e+003	1.104350e+000
4	SST Tretinoin 4	1	10.00	tretinoin	2.870	1722779	320506	100.000	%	6.434328e+003	1.105136e+000
5	SST Tretinoin 5	1	10.00	tretinoin	2.871	1722277	319865	100.000	%	6.412481e+003	1.103709e+000
6	SST Tretinoin 3	1	10.00	tretinoin	2.870	1721142	320331	100.000	%	6.443838e+003	1.101188e+000
Mean					2.87	1723441.26				6.4e+003	1.1e+000
Std. Dev.					0.00	4397.27				2.7e+001	1.5e-003
% RSD					0.05	0.26				4.1e-001	1.4e-001

B. Penentuan Presisi Standar *Tretinoin*

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Y-\bar{Y})^2}{n-1}} \rightarrow \%RSD = \frac{SD}{\bar{Y}} \times 100\%$$

Tabel Data Pembacaan Luas Area dari Kromatogram

Pengulangan STD <i>Tretinoin</i>	Waktu retensi (Y) (min)	$(Y - \bar{Y})^2$	Luas Area (Y) (AU)	$(Y - \bar{Y})^2$
1	2,874	0	1725103	372100
2	2,874	0	1726323	372100
$\bar{Y}$	2,874	-	1725713	-
$\sum$		0		744200
SD		0		862,6703
%RSD		0		0,0499

1. Presisi waktu retensi

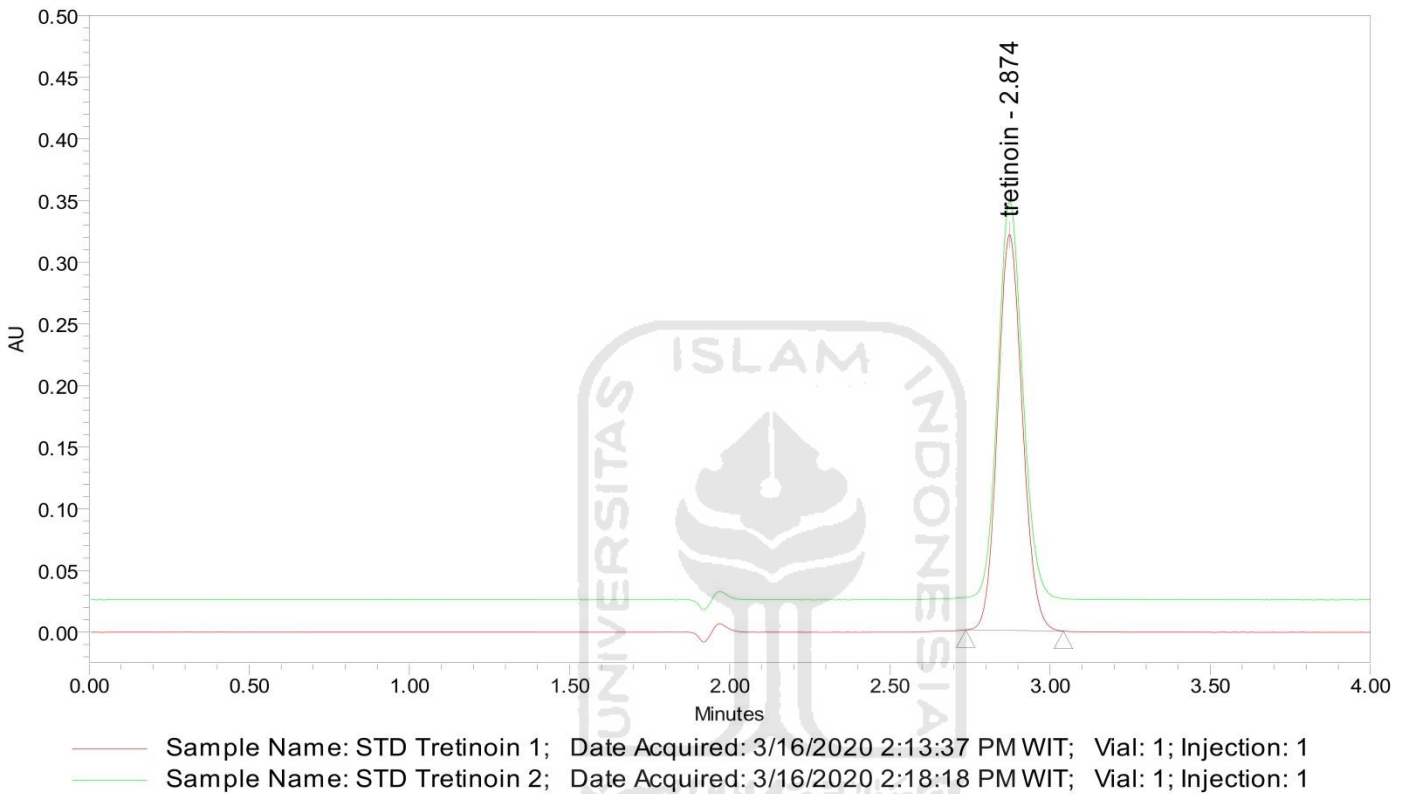
$$SD = \sqrt{\frac{0 \text{ min}}{2-1}} = 0 \text{ min}$$

$$\%RSD = \frac{0 \text{ min}}{2,874 \text{ min}} \times 100\% = 0 \%$$

2. Presisi luas area

$$SD = \sqrt{\frac{744200 \text{ AU}}{2-1}} = 862,6703 \text{ AU}$$

$$\%RSD = \frac{862,6703 \text{ AU}}{1725713 \text{ AU}} \times 100\% = 0,0499 \%$$



**Peak Summary with Statistics**  
Name: tretinoin

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	STD Tretinoin 2	1	10.00	tretinoin	2.874	1726323	321778	100.000	%	6.484327e+003	1.103274e+000
2	STD Tretinoin 1	1	10.00	tretinoin	2.874	1725103	320940	100.000	%	6.452564e+003	1.102719e+000
Mean					2.87	1725713.17				6.5e+003	1.1e+000
Std. Dev.					0.00	862.32				2.2e+001	3.9e-004
% RSD					0.01	0.05				3.5e-001	3.6e-002

C. Penentuan Kadar *Tretinoin* dan Presisi Pada Hari Ke-60

Kadar

No	Massa sampel (mL)	Luas Area Sampel	Luas Area Std	Kadar (%)
1	2,0	1860452	1725713	106,9453
2	2,0	1863340		107,1113
<b>Rerata</b>				107,0283
<b>%RPD</b>				0,1551

Contoh perhitungan :

1. Kadar

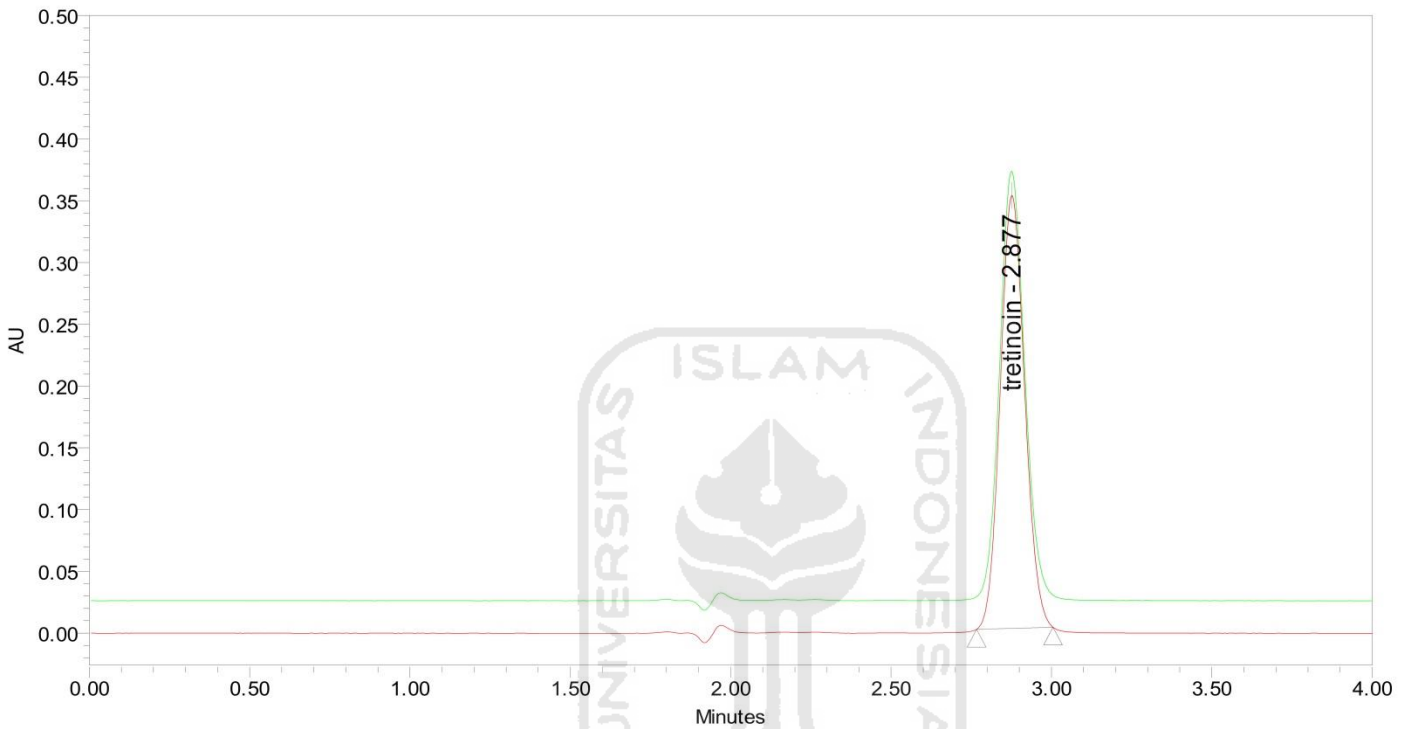
$$\begin{aligned} \%Tretinoin &= \frac{\text{Area spl} \times w \text{ std} \times fp \text{ spl} \times \%std \times 1}{\text{Area std} \times w \text{ spl} \times fp \text{ std} \times klaim \text{ zat aktif}} \\ &= \frac{1860452 \times 40,00 \times 50 \times 99,20\% \times 1}{1725713 \times 2,0 \times 2000 \times 0,5} \\ &= 106,9453 \% \end{aligned}$$

Keterangan :

Area spl : Luas area sampel  
 Area std : Luas area standar  
 W std : Masaa standar (40,00 mg)  
 W spl : Massa sampel (mL)  
 Fp spl : 50  
 Fp std : 2000  
 Klaim zat : 0,5  
 % Std : Potensial standar

2. Presisi

$$\begin{aligned} \%RPD &= \frac{|Y_1 - Y_2|}{\bar{y}} \times 100\% \\ \%RPD &= \frac{|106,9453\% - 107,1113\%|}{107,0283\%} \times 100\% \\ &= 0,1551\% \end{aligned}$$



— Sample Name: Sampel X\_Day 60\_1; Date Acquired: 3/16/2020 2:32:22 PM WIT; Vial: 2; Injection: 1  
 — Sample Name: Sampel X\_Day 60\_2; Date Acquired: 3/16/2020 2:37:16 PM WIT; Vial: 3; Injection: 1

**Peak Summary with Statistics**  
Name: tretinoin

	Sample Name	Vial	Inj Vol (uL)	Name	Retention Time (min)	Area	Height	Amount	Units	USP Plate Count	USP Tailing
1	Sampel X_Day 60_1	2	10.00	tretinoin	2.877	1860452	350589	103.690	%	6.534403e+003	1.091220e+000
2	Sampel X_Day 60_2	3	10.00	tretinoin	2.876	1863340	346338	103.851	%	6.466922e+003	1.100265e+000
Mean					2.88	1861895.90				6.5e+003	1.1e+000
Std. Dev.					0.00	2041.66				4.8e+001	6.4e-003
% RSD					0.03	0.11				7.3e-001	5.8e-001



## Lampiran 9. Estimasi Ketidakpastian Pengukuran

### 1. Ketidakpastian pipet volume 2 mL

#### a. ketidakpastian kalibrasi ( $\mu(k)$ )

$$\begin{aligned}\mu(K) &= \frac{V}{k} \\ &= \frac{0,010 \text{ mL}}{\sqrt{6}} \\ &= 4,0824 \times 10^{-3} \text{ mL}\end{aligned}$$

#### b. Ketidakpastian faktor muai ( $\mu(T)$ )

$$\begin{aligned}\mu(T) &= \frac{V \times \beta \times \Delta T}{\sqrt{3}} \\ &= \frac{2 \text{ mL} \times 0,00021 \times 5^\circ\text{C}}{\sqrt{3}} \\ &= 1,2124 \times 10^{-3} \text{ mL}\end{aligned}$$

Ketidakpastian volume contoh ( $\mu(V_c)$ )

$$\begin{aligned}\mu(V_c) &= \sqrt{\mu(K)^2 + \mu(T)^2} \\ &= \sqrt{(4,0824 \times 10^{-3})^2 + (1,2124 \times 10^{-3})^2} \\ &= 4,2586 \times 10^{-3} \text{ mL}\end{aligned}$$

### 2. Ketidakpastian Pipet ukur 5 mL

#### a. ketidakpastian kalibrasi ( $\mu(k)$ )

$$\begin{aligned}\mu(K) &= \frac{V}{k} \\ &= \frac{0,03 \text{ mL}}{\sqrt{6}} \\ &= 0,0122 \text{ mL}\end{aligned}$$

#### b. Ketidakpastian faktor muai ( $\mu(T)$ )

$$\begin{aligned}\mu(T) &= \frac{V \times \beta \times \Delta T}{\sqrt{3}} \\ &= \frac{5 \text{ mL} \times 0,00021 \times 5^\circ\text{C}}{\sqrt{3}} \\ &= 3,031 \times 10^{-3} \text{ mL}\end{aligned}$$

Ketidakpastian volume contoh ( $\mu(V_c)$ )

$$\begin{aligned}\mu(V_c) &= \sqrt{\mu(K)^2 + \mu(T)^2} \\ &= \sqrt{(0,0122)^2 + (3,031 \times 10^{-3})^2} \\ &= 0,0125 \text{ mL}\end{aligned}$$

### 3. Ketidakpastian Labu ukur 50 mL

#### a. ketidakpastian kalibrasi ( $\mu(k)$ )

$$\begin{aligned}\mu(K) &= \frac{V}{k} \\ &= \frac{0,06 \text{ mL}}{\sqrt{6}} \\ &= 0,0245 \text{ mL}\end{aligned}$$

- b. Ketidakpastian faktor muai ( $\mu(T)$ )

$$\begin{aligned}\mu(T) &= \frac{V \times \beta \times \Delta T}{\sqrt{3}} \\ &= \frac{50 \text{ mL} \times 0,00021 \times 5^\circ\text{C}}{\sqrt{3}} \\ &= 0,0303 \text{ mL}\end{aligned}$$

Ketidakpastian volume contoh ( $\mu(V_c)$ )

$$\begin{aligned}\mu(V_c) &= \sqrt{\mu(K)^2 + \mu(T)^2} \\ &= \sqrt{(0,0245)^2 + (0,0303)^2} \\ &= 0,0390 \text{ mL}\end{aligned}$$

4. Ketidakpastian Labu ukur 100 mL

- a. ketidakpastian kalibrasi ( $\mu(k)$ )

$$\begin{aligned}\mu(K) &= \frac{V}{k} \\ &= \frac{0,10 \text{ mL}}{\sqrt{6}} \\ &= 0,0408 \text{ mL}\end{aligned}$$

- b. Ketidakpastian faktor muai ( $\mu(T)$ )

$$\begin{aligned}\mu(T) &= \frac{V \times \beta \times \Delta T}{\sqrt{3}} \\ &= \frac{100 \text{ mL} \times 0,00021 \times 5^\circ\text{C}}{\sqrt{3}} \\ &= 0,0606 \text{ mL}\end{aligned}$$

Ketidakpastian volume contoh ( $\mu(V_c)$ )

$$\begin{aligned}\mu(V_c) &= \sqrt{\mu(K)^2 + \mu(T)^2} \\ &= \sqrt{(0,0408)^2 + (0,0606)^2} \\ &= 0,0731 \text{ mL}\end{aligned}$$

5. Ketidakpastian massa standar

- a. Faktor kalibrasi neraca

$$\begin{aligned}\mu \text{ kal} &= \frac{s}{K} \\ &= \frac{0,01 \text{ mg}}{\sqrt{3}} \\ &= 5,7735 \times 10^{-3} \text{ mg} \\ \mu(m) &= \sqrt{1 \times (\mu \text{ kal})^2} \\ &= \sqrt{1 \times (5,7735 \times 10^{-3})^2} \\ &= 5,7735 \times 10^{-3} \text{ mg}\end{aligned}$$

b. Kemurnian Standar

$$\mu_U = 100\% - 99,20\%$$

$$= 0,8\%$$

$$\mu(x) = \frac{0,8\%}{\sqrt{3}}$$

$$= 0,4618\%$$

6. Ketidakpastian pengulangan (RPD)

a. Day-0

$$\mu_p = \frac{RPD\%}{\sqrt{n}}$$

$$= \frac{0,2326\%}{\sqrt{2}}$$

$$= 0,1644 \%$$

$$\mu_R = \frac{\mu_p}{100\%}$$

$$= \frac{0,1644\%}{100\%}$$

$$= 1,644 \times 10^{-3}$$

b. Day-3

$$\mu_p = \frac{RPD\%}{\sqrt{n}}$$

$$= \frac{0,7242\%}{\sqrt{2}}$$

$$= 0,5120 \%$$

$$\mu_R = \frac{\mu_p}{100\%}$$

$$= \frac{0,5120\%}{100\%}$$

$$= 5,12 \times 10^{-3}$$

c. Day-7

$$\mu_p = \frac{RPD\%}{\sqrt{n}}$$

$$= \frac{0,5836\%}{\sqrt{2}}$$

$$= 0,4126 \%$$

$$\mu_R = \frac{\mu_p}{100\%}$$

$$= \frac{0,4126\%}{100\%}$$

$$= 4,126 \times 10^{-3}$$

d. Day-14

$$\mu_p = \frac{RPD\%}{\sqrt{n}}$$

$$= \frac{0,4434\%}{\sqrt{2}}$$

$$= 0,3135 \%$$

$$\mu_R = \frac{\mu_p}{100\%}$$

$$= \frac{0,3135\%}{100\%}$$



$$= 3,135 \times 10^{-3}$$

e. Day-21

$$\mu p = \frac{RPD\%}{\sqrt{n}}$$

$$= \frac{0,0894\%}{\sqrt{2}}$$

$$= 0,0632 \%$$

$$\mu R = \frac{\mu p}{100\%}$$

$$= \frac{0,0632\%}{100\%}$$

$$= 6,32 \times 10^{-4}$$

f. Day-28

$$\mu p = \frac{RPD\%}{\sqrt{n}}$$

$$= \frac{0,1547\%}{\sqrt{2}}$$

$$= 0,1093 \%$$

$$\mu R = \frac{\mu p}{100\%}$$

$$= \frac{0,1093\%}{100\%}$$

$$= 1,093 \times 10^{-3}$$

g. Day-41

$$\mu p = \frac{RPD\%}{\sqrt{n}}$$

$$= \frac{0,0632\%}{\sqrt{2}}$$

$$= 0,0446 \%$$

$$\mu R = \frac{\mu p}{100\%}$$

$$= \frac{0,0446\%}{100\%}$$

$$= 4,46 \times 10^{-4}$$

h. Day-60

$$\mu p = \frac{RPD\%}{\sqrt{n}}$$

$$= \frac{0,1551\%}{\sqrt{2}}$$

$$= 0,1096 \%$$

$$\mu R = \frac{\mu p}{100\%}$$

$$= \frac{0,1096\%}{100\%}$$

$$= 1,096 \times 10^{-3}$$



7. Estimasi Ketidakpastian Gabungan dari Faktor Penyumbang Ketidakpastian

a. Penentuan pada hari ke-0

Kp asal	Faktor penyumbang	Nilai (x)	Satuan	$\mu(x)$	$\mu(x)/x$	$(\mu(x)/x)^2$
%Standar	Massa std kadar	20	mg	0,005774	0,000289	$8,33 \cdot 10^{-8}$
	Labu ukur	50	mL	0,039	0,00078	$6,08 \cdot 10^{-7}$
	Pipet ukur	5	mL	0,0125	0,0025	$6,25 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	100	mL	0,0731	0,000731	$5,34 \cdot 10^{-7}$
V.Sampel	Pipet Volume	2	mL	0,004259	0,002129	$4,53 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	50	mL	0,039	0,00078	$6,08 \cdot 10^{-7}$
Kemurnian standar		99,2	%	0,4618	0,004655	$2,17 \cdot 10^{-5}$
Presisi		10	%	0,001644	0,000164	$2,7 \cdot 10^{-8}$
$\sum(\mu(x)/x)^2$						$3,43 \cdot 10^{-5}$
Akar						0,0059
<b>Estimasi ketidakpastian gabungan</b>						0,5877
<b>Estimasi ketidakpastian diperluas</b>						1,1755

b. Penentuan pada hari ke-3

Kp asal	Faktor penyumbang	Nilai (x)	Satuan	$\mu(x)$	$\mu(x)/x$	$(\mu(x)/x)^2$
%Standar	Massa std kadar	20	mg	0,005774	0,000289	$8,33 \cdot 10^{-8}$
	Labu ukur	50	mL	0,039	0,00078	$6,08 \cdot 10^{-7}$
	Pipet ukur	5	mL	0,0125	0,0025	$6,25 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	100	mL	0,0731	0,000731	$5,34 \cdot 10^{-7}$
V.Sampel	Pipet Volume	2	mL	0,004259	0,002129	$4,53 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	50	mL	0,039	0,00078	$6,08 \cdot 10^{-7}$
Kemurnian standar		99,2	%	0,4618	0,004655	$2,17 \cdot 10^{-5}$
Presisi		10	%	0,00512	0,000512	$2,6 \cdot 10^{-7}$
$\sum(\mu(x)/x)^2$						$3,46 \cdot 10^{-5}$
Akar						0,0059
<b>Estimasi ketidakpastian gabungan</b>						0,6078
<b>Estimasi ketidakpastian diperluas</b>						1,2156

c. Penentuan pada hari ke-7

Kp asal	Faktor penyumbang	Nilai (x)	Satuan	$\mu(x)$	$\mu(x)/x$	$(\mu(x)/x)^2$
%Standar	Massa std kadar	20	mg	0,005774	0,000289	$8,33 \cdot 10^{-8}$
	Labu ukur	50	mL	0,039	0,00078	$6,08 \cdot 10^{-7}$
	Pipet ukur	5	mL	0,0125	0,0025	$6,25 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	100	mL	0,0731	0,000731	$5,34 \cdot 10^{-7}$
V.Sampel	Pipet Volume	2	mL	0,004259	0,002129	$4,53 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	50	mL	0,039	0,00078	$6,08 \cdot 10^{-7}$
Kemurnian standar		99,2	%	0,4618	0,004655	$2,17 \cdot 10^{-5}$
Presisi		10	%	0,004126	0,000413	$1,7 \cdot 10^{-7}$
$\sum(\mu(x)/x)^2$						$3,45 \cdot 10^{-5}$
Akar						0,0059
<b>Estimasi ketidakpastian gabungan</b>						0,6230
<b>Estimasi ketidakpastian diperluas</b>						1,2460

d. Penentuan pada hari ke-14

Kp asal	Faktor penyumbang	Nilai (x)	Satuan	$\mu(x)$	$\mu(x)/x$	$(\mu(x)/x)^2$
%Standar	Massa std kadar	40	mg	0,005774	0,000144	$2,08 \cdot 10^{-8}$
	Labu ukur	100	mL	0,0731	0,000731	$5,34 \cdot 10^{-7}$
	Pipet ukur	5	mL	0,0125	0,0025	$6,25 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	100	mL	0,0731	0,000731	$5,34 \cdot 10^{-7}$
V.Sampel	Pipet Volume	2	mL	0,004259	0,002129	$4,53 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	50	mL	0,039	0,00078	$6,08 \cdot 10^{-7}$
Kemurnian standar		99,2	%	0,4618	0,004655	$2,17 \cdot 10^{-5}$
Presisi		10	%	0,003135	0,000314	$9,83 \cdot 10^{-8}$
$\sum(\mu(x)/x)^2$						$3,43 \cdot 10^{-5}$
Akar						0,0059
<b>Estimasi ketidakpastian gabungan</b>						0,6102
<b>Estimasi ketidakpastian diperluas</b>						1,2204

e. Penentuan pada hari ke-21

Kp asal	Faktor penyumbang	Nilai (x)	Satuan	$\mu(x)$	$\mu(x)/x$	$(\mu(x)/x)^2$
%Standar	Massa std kadar	40	mg	0,005774	0,000144	$2,08 \cdot 10^{-8}$
	Labu ukur	100	mL	0,0731	0,000731	$5,34 \cdot 10^{-7}$
	Pipet ukur	5	mL	0,0125	0,0025	$6,25 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	100	mL	0,0731	0,000731	$5,34 \cdot 10^{-7}$
V.Sampel	Pipet Volume	2	mL	0,004259	0,002129	$4,53 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	50	mL	0,039	0,00078	$6,08 \cdot 10^{-7}$
Kemurnian standar		99,2	%	0,4618	0,004655	$2,17 \cdot 10^{-5}$
Presisi		10	%	0,000632	$6,32 \cdot 10^{-5}$	$3,99 \cdot 10^{-9}$
$\sum(\mu(x)/x)^2$						$3,42 \cdot 10^{-5}$
Akar						0,0058
<b>Estimasi ketidakpastian gabungan</b>						0,6224
<b>Estimasi ketidakpastian diperluas</b>						1,2449

f. Penentuan pada hari ke-28

Kp asal	Faktor penyumbang	Nilai (x)	Satuan	$\mu(x)$	$\mu(x)/x$	$(\mu(x)/x)^2$
%Standar	Massa std kadar	40	mg	0,005774	0,000144	$2,08 \cdot 10^{-8}$
	Labu ukur	100	mL	0,0731	0,000731	$5,34 \cdot 10^{-7}$
	Pipet ukur	5	mL	0,0125	0,0025	$6,25 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	100	mL	0,0731	0,000731	$5,34 \cdot 10^{-7}$
V.Sampel	Pipet Volume	2	mL	0,004259	0,002129	$4,53 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	50	mL	0,039	0,00078	$6,08 \cdot 10^{-7}$
Kemurnian standar		99,2	%	0,4618	0,004655	$2,17 \cdot 10^{-5}$
Presisi		10	%	0,001093	0,000109	$1,19 \cdot 10^{-8}$
$\sum(\mu(x)/x)^2$						$3,42 \cdot 10^{-5}$
Akar						0,0058
<b>Estimasi ketidakpastian gabungan</b>						0,6150
<b>Estimasi ketidakpastian diperluas</b>						1,2300

g. Penentuan pada hari ke-41

Kp asal	Faktor penyumbang	Nilai (x)	Satuan	$\mu(x)$	$\mu(x)/x$	$(\mu(x)/x)^2$
%Standar	Massa std kadar	20	mg	0,005774	0,000289	$8,33 \cdot 10^{-8}$
	Labu ukur	50	mL	0,039	0,00078	$6,08 \cdot 10^{-7}$
	Pipet ukur	5	mL	0,0125	0,0025	$6,25 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	100	mL	0,0731	0,000731	$5,34 \cdot 10^{-7}$
V.Sampel	Pipet Volume	2	mL	0,004259	0,002129	$4,53 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	50	mL	0,039	0,00078	$6,08 \cdot 10^{-7}$
Kemurnian standar		99,2	%	0,4618	0,004655	$2,17 \cdot 10^{-5}$
Presisi		10	%	0,004126	0,000413	$1,7 \cdot 10^{-7}$
$\sum(\mu(x)/x)^2$						$3,43 \cdot 10^{-5}$
Akar						0,0059
<b>Estimasi ketidakpastian gabungan</b>						0,6058
<b>Estimasi ketidakpastian diperluas</b>						1,2118

h. Penentuan pada hari ke-60

Kp asal	Faktor penyumbang	Nilai (x)	Satuan	$\mu(x)$	$\mu(x)/x$	$(\mu(x)/x)^2$
%Standar	Massa std kadar	40	mg	0,005774	0,000144	$2,08 \cdot 10^{-8}$
	Labu ukur	100	mL	0,0731	0,000731	$5,34 \cdot 10^{-7}$
	Pipet ukur	5	mL	0,0125	0,0025	$6,25 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	100	mL	0,0731	0,000731	$5,34 \cdot 10^{-7}$
V.Sampel	Pipet Volume	2	mL	0,004259	0,002129	$4,53 \cdot 10^{-6}$
	Labu ukur	50	mL	0,039	0,00078	$6,08 \cdot 10^{-7}$
Kemurnian standar		99,2	%	0,4618	0,004655	$2,17 \cdot 10^{-5}$
Presisi		10	%	0,001096	0,00011	$1,2 \cdot 10^{-8}$
$\sum(\mu(x)/x)^2$						$3,42 \cdot 10^{-5}$
Akar						0,0058
<b>Estimasi ketidakpastian gabungan</b>						0,6255
<b>Estimasi ketidakpastian diperluas</b>						1,2511



### Hasil Pelaporan Ketidakpastian Penentuan Kadar *Tretinoin*

Analisa Hari Ke-	Hasil Ketidakpastian Penentuan Kadar <i>Tretinoin</i> (%)
0	100,3377 ± 1,1755
3	103,4042 ± 1,2156
7	106,1317 ± 1,2460
14	104,2691 ± 1,2204
21	106,5048 ± 1,2449
28	105,2196 ± 1,2300
41	103,4665 ± 1,2118
60	107,0283 ± 1,2511

### Urutan Penyumbang Ketidakpastian

No	Penyumbang Ketidakpastian	Nilai (%)
1	Kemurnian standar	63,32
2	%Standar	21,63
3	V.Sampel	15,03
4	Presisi	0,02
	Total	100

Lampiran 10. Konsentrasi standar  
Konsentrasi larutan standar

Penimbangan 40 mg

$$\text{Cons (mg/L)} = \frac{\text{Massa std}}{V \text{ larutan}} = \frac{40,0 \text{ mg}}{100 \text{ mL} : 1000} = \frac{40,0 \text{ mg}}{0,1 \text{ L}} = 400 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{Cons (mg/L)} &= \text{Konsentrasi} \times \frac{V_p}{V_t} \\ &= 400 \text{ ppm} \times \frac{5 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = 20 \text{ ppm} \end{aligned}$$

