

Verifikasi Metode Analisis Larutan Alpha Arbutin Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis *Shimadzu UV-2450*

Yuannisa Syahriana, Rise Desnita, Sri Luliana
Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak
Email : yuannisasyahriana@gmail.com

ABSTRAK

Kadar *alpha arbutin* yang digunakan pada sediaan kosmetik umumnya sangat kecil yaitu 0,2–2%, sehingga memerlukan metode analisis yang selektif, akurat, dan sensitif. Verifikasi metode analisis dilakukan untuk mengetahui keabsahan metode dan alat yang digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk memverifikasi metode analisis yang digunakan. Parameter metode analisis meliputi linearitas, akurasi, presisi, nilai LOD dan LOQ. Penetapan kadar menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil verifikasi metode analisis menunjukkan seluruh parameter memenuhi persyaratan. Uji linearitas didapat hasil koefisien korelasi (r) = 0,99989; akurasi dengan hasil % *recovery* antara 98,91–100,62%; presisi dengan nilai % RSD masing-masing 0,33; 0,52; dan 0,919% serta LOD dan LOQ masing-masing sebesar 1,00671 dan 3,35570 ppm.

Kata kunci: *alpha arbutin*, verifikasi metode analisis, spektrofotometri ultraviolet

ABSTRACT

Content of *alpha arbutin* who used in cosmetic preparations are very small which is 0.2–2%, so it requires a selective, accurate, and sensitive analysis method. Verification of analysis method is carried out to determine validity of methods and tools used. This study aims to verify the analytical method used. Analysis of the studied parameter of linearity, accuracy, precision, LOD and LOQ value. Determination of content used spectrophotometer UV-Vis. The results of verification of the analysis method showed all parameters met the requirements. Linearity parameter obtained results of the correlation coefficient (r) = 0,99989; accuracy parameter of the result obtained between 98,91–100,62%; precision parameters obtained % RSD are 0,33; 0,52; and 0,919%; LOD and LOQ values respectively 1,00671 and 3,35570 ppm.

Keywords: *alpha arbutin*, verification of analysis method, ultraviolet spectrophotometer

PENDAHULUAN

Alpha arbutin merupakan salah satu turunan hidrokuinon yang sering digunakan sebagai agen pencerah kulit dengan kadar berada pada rentang 0,2-2% dalam produk kosmetik.^(1,2) Kandungan kadar yang sangat kecil tersebut memerlukan metode analisis valid sehingga memberikan hasil analisis yang selektif, akurat, dan sensitif. Verifikasi metode analisis bertujuan untuk memastikan bahwa analisis dapat menerapkan metode analisis dengan baik dan menjamin mutu hasil pengujian. Verifikasi metode diperlukan jika terjadi pergantian instrumen yang digunakan untuk analisis sebelumnya ataupun metode telah digunakan dalam waktu cukup lama.⁽³⁾ Penelitian ini bertujuan untuk memverifikasi metode analisis yang digunakan pada larutan *alpha arbutin* menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu UV-2450*), kuvet, mikropipet (*CAPP*), timbangan analitik (*Ohaus*), serta seperangkat alat gelas (*Iwaki Pyrex®*).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *alpha arbutin analytical standard (sigma aldrich)* dan aquabidest (*Wida*).

Tahapan Penelitian

Pembuatan Larutan Stok *Alpha Arbutin*

Larutan stok *alpha arbutin* dibuat dengan melarutkan 10 mg *alpha arbutin* ke dalam 10 mL aquabidest ke dalam labu ukur, kemudian dikocok ad homogen hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan *Alpha Arbutin*

Larutan stok *alpha arbutin* dipipet sebanyak 0,2 mL lalu diencerkan hingga didapat konsentrasi 40 ppm. Larutan selanjutnya *discanning* pada panjang gelombang daerah UV (250-300 nm) untuk menentukan λ_{maks} *alpha arbutin*.

Pembuatan Kurva Baku Larutan *Alpha Arbutin*

Sejumlah larutan stok *alpha arbutin* masing-masing 0,2; 0,25; 0,3; 0,35; 0,4; 0,45; dan 0,5 ml diencerkan dengan aquabidest ad 5 mL menjadi beberapa

seri konsentrasi, antara lain 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm. Langkah selanjutnya dilakukan pembacaan absorbansi masing-masing larutan seri konsentrasi pada panjang gelombang maksimum yang didapat. Kurva baku diperoleh dengan memplot absorbansi terhadap masing-masing seri konsentrasi dan dihitung persamaan regresi linear.

Verifikasi Metode Analisis *Alpha Arbutin*

Uji Linearitas

Larutan seri konsentrasi 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 282 nm. Pengukuran dilakukan 3 kali replikasi. Uji linearitas dikatakan baik jika nilai koefisien korelasi (r) = $0,995 \leq r \leq 1$.⁽⁴⁾ Persamaan regresi linier yang diperoleh dinyatakan dengan persamaan berikut⁽⁵⁾:

$$y = a + bx$$

Keterangan:

a : Intersep yang menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan

b : Nilai *slope*

x : Serapan

Uji Presisi

Larutan seri konsentrasi 60, 70, dan 80 ppm diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 282 nm. Pengukuran dilakukan 3 kali replikasi. Langkah selanjutnya dihitung nilai % *Relative Standard Deviation* (%RSD). Suatu metode dikatakan presisi jika nilai persen RSD sebesar $\leq 2\%$.⁽³⁾ Cara menghitung nilai RSD dapat diperoleh dari persamaan berikut⁽⁵⁾:

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

Keterangan:

RSD : Standar deviasi relatif

SD : Standar deviasi

\bar{x} : Kadar rata-rata zat aktif

Uji Akurasi

Larutan seri konsentrasi 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 282 nm. Hasil absorbansi

yang didapat kemudian dihitung untuk memperoleh nilai kadar sampel terukur. Kadar sampel terukur yang didapat kemudian dibandingkan dengan kadar sampel sesungguhnya untuk dihitung nilai persen perolehan kembali (%*recovery*). Suatu metode dikatakan akurat apabila nilai akurasi berada pada rentang 98–102%.⁽³⁾ Nilai persen akurasi didapat melalui persamaan berikut⁽⁵⁾:

$$PK = \frac{K_t}{K_s} \times 100\%$$

Keterangan:

PK : Perolehan kembali

K_t : Konsentrasi sampel yang terukur dari pengukuran

K_s : Konsentrasi sampel sebenarnya

Uji LOD dan LOQ

Larutan seri konsentrasi 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm diukur absorbansinya pada panjang gelombang 282 nm. Hasil absorbansi yang didapat kemudian dihitung untuk memperoleh nilai LOD dan LOQ menggunakan metode standar deviasi dari respon dengan persamaan berikut⁽⁵⁾:

$$LOD = \frac{3 \times SD}{SI}$$

$$LOQ = \frac{10 \times SD}{SI}$$

Keterangan:

LOD : Batas deteksi

LOQ : Batas kuantifikasi

SD : Standar deviasi

SI : *Slope* (b pada persamaan garis $y = a+bx$)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum *Alpha Arbutin*

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui benar atau tidaknya sampel yang digunakan merupakan *alpha arbutin*. Rentang panjang gelombang yang digunakan antara 250–300 nm. Hasil *scanning* menunjukkan larutan *alpha arbutin* memiliki panjang gelombang maksimum sebesar 282,00 nm. *Alpha arbutin* secara teori memiliki panjang gelombang maksimum sebesar 280 nm.⁽²⁾ Hasil dapat diterima karena tidak melebihi rentang

toleransi yang diperbolehkan menurut *Farmakope Indonesia Edisi IV* yaitu ± 2 nm dari panjang gelombang secara teoritis.⁽⁶⁾

Verifikasi Metode Analisis *Alpha Arbutin*

Uji Linearitas

Uji linearitas dilakukan untuk melihat antara variabel satu dengan variabel lainnya mempunyai hubungan yang linear atau tidak.⁽³⁾ Hasil pengukuran linearitas dengan 3 kali replikasi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Linearitas Larutan *Alpha Arbutin*

| Replikasi | Persamaan Regresi Linear |
|-----------|---------------------------------------|
| I | $y = 0,00745x + 0,01825; r = 0,99989$ |
| II | $y = 0,00793x + 0,00032; r = 0,99948$ |
| III | $y = 0,00776x - 0,00593; r = 0,99973$ |

Persamaan regresi linear larutan *alpha arbutin* diperoleh $y = 0,00745x + 0,01825$ dengan nilai $r = 0,99989$. Hasil uji linearitas dapat diterima karena termasuk dalam kriteria koefisien korelasi yang baik dimana $r = 0,995 \leq r \leq 1$.⁽⁴⁾

Uji Akurasi

Akurasi merupakan ukuran yang menunjukkan kedekatan antara hasil kadar terukur dengan kadar sebenarnya dinyatakan dengan persen perolehan kembali (% *recovery*). Hasil perhitungan uji akurasi dapat dilihat pada tabel 2. Nilai % *recovery* yang didapat berada pada rentang 98,91–100,62%. Hasil dapat diterima karena % *recovery* berada pada rentang yang diperbolehkan yaitu 98–102%.⁽³⁾ Hal ini menunjukkan metode yang digunakan memiliki akurasi baik.

Tabel 2. Hasil Data Uji Akurasi

| Absorbansi | Kadar (ppm) | | % <i>Recovery</i> |
|------------|-------------|---------|-------------------|
| | Sebenarnya | Terukur | |
| 0,313 | 40 | 39,564 | 98,909 |
| 0,391 | 50 | 50,034 | 100,067 |
| 0,468 | 60 | 60,369 | 100,615 |
| 0,543 | 70 | 70,436 | 100,623 |
| 0,615 | 80 | 80,101 | 100,126 |
| 0,689 | 90 | 90,034 | 100,037 |
| 0,761 | 100 | 99,698 | 99,698 |

Uji LOD dan LOQ

Uji LOD menunjukkan konsentrasi terendah yang masih dapat terdeteksi, sedangkan uji LOQ menunjukkan jumlah terkecil analit dalam sampel yang masih dapat diukur dan memenuhi kriteria cermat dan seksama.⁽³⁾ Hasil menunjukkan nilai LOD sebesar 1,00671 ppm, sedangkan nilai LOQ sebesar 3,35570 ppm.

Uji Presisi

Uji presisi bertujuan untuk melihat kedekatan serangkaian pengukuran yang dilakukan berulang pada sampel. Presisi dinyatakan dalam persen simpangan baku relatif (% RSD).^(3,7) Pengujian presisi dilakukan sebanyak 3 replikasi. Hasil uji presisi menunjukkan nilai % RSD masing-masing 0,33; 0,52; dan 0,919%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa uji presisi dikatakan baik karena nilai % RSD < 2%. Hasil uji presisi dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Data Uji Presisi

| Konsentrasi (ppm) | Replikasi | | | SD | %RSD |
|-------------------|-----------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| 60 | 0,468 | 0,482 | 0,463 | 0,200 | 0,330 |
| 70 | 0,543 | 0,556 | 0,535 | 0,364 | 0,520 |
| 80 | 0,615 | 0,624 | 0,611 | 0,730 | 0,919 |

KESIMPULAN

Verifikasi metode analisis yang dilakukan pada parameter uji linearitas, akurasi, presisi, LOD dan LOQ yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis telah memenuhi syarat. Nilai verifikasi metode analisis hasil linearitas dengan nilai $r = 0,99989$; akurasi dengan hasil % *recovery* antara 98,91–100,62%; presisi dengan nilai % RSD masing-masing 0,33; 0,52; dan 0,919%; nilai LOD sebesar 1,00671 ppm dan LOQ sebesar 3,35570 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sugimoto K, Nishimura T, Nomura K, Sugimoto K, Kuriki T. Syntheses of Arbutin- α -glycosides and A Comparison of Their Inhibitory Effects with Those of α -Arbutin and Arbutin on Human Tyrosinase. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2003; 51(7): 798-801.
2. Bernauer U, Chaudhry Q, Coenraads P, Degen G, Dusinska M, Lilienblum W, et al. Scientific Committee On Consumer Safety: Opinion On Alpha-Arbutin. *Europe Union*. 2015. 6-39.

3. Harmita. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2004; 1(3): 117-35.
4. Gandjar IG, Rohman A. *Kimia Farmasi Analisis*. Edisi XI. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2013.
5. Utami AR. Verifikasi Metode Pengujian Sulfat dalam Air dan Air Limbah Sesuai SNI 6989.20 : 2009. *Jurnal Teknologi Proses dan Inovasi Industri*. 2017; 2(1): 19-25.
6. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Farmakope Indonesia*. Edisi Keempat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995.
7. Gandjar IG, Rohman A. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2007.