

Penetapan Kadar Metilparaben dan Propilparaben dalam *Hand and Body Lotion* secara *High Performance Liquid Chromatography*

Determination of Methylparaben and Propylparaben in Hand and Body Lotion by High Performance Liquid Chromatography

Crescentiana Emy Dhurhanian^{*)}

^{*)}Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma

Intisari

Metilparaben dan Propilparaben merupakan bahan antibakteri dan antifungi yang efektif. Banyak produk kosmetik menggunakan metilparaben dan propilparaben sebagai bahan pengawet, salah satunya adalah *hand and body lotion*. Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan (POM) Republik Indonesia No.HK.00.05.1745, tanggal 5 Mei 2003 tentang kosmetik menyebutkan bahwa batas maksimum kadar metilparaben dan propilparaben adalah 0,4 % sebagai pengawet tunggal dan 0,8 % sebagai pengawet campuran. Namun berdasarkan pengamatan penulis, produsen *hand and body lotion* tidak mencantumkan kadar metilparaben dan propilparaben pada labelnya. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar metilparaben dan propilparaben yang digunakan dalam *hand and body lotion* dan untuk mengetahui apakah kadar tersebut memenuhi persyaratan yang ditentukan.

Penelitian ini merupakan penelitian non eksperimental deskriptif, menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) fase terbalik dengan kolom *Water Novopac C18*, fase gerak metanol : akuabides (4:6), kecepatan alir 1,2 ml/menit, dan detektor UV 257 nm. Parameter yang digunakan untuk menyatakan validitas metode analisis adalah selektivitas, akurasi, presisi, linieritas, batas deteksi dan batas kuantitasi. Hasil validasi metode analisis menunjukkan bahwa metode HPLC dapat dinyatakan valid untuk analisis metilparaben dan propilparaben dalam *hand and body lotion*.

Berdasarkan analisis hasil yang dilakukan pada taraf kepercayaan 95 %, diperoleh bahwa ketiga *hand and body lotion* yang digunakan pada penelitian ini mengandung metilparaben dan propilparaben dengan kadar rata-rata sebagai berikut : sampel merk "A" adalah $(0,24 \pm 0,003)\%$; merk "B" adalah $(0,19 \pm 0,004)\%$; dan merk "C" adalah $(0,08 \pm 0,001) \%$ untuk propilparaben. Dengan demikian kadar metilparaben dan propilparaben dalam ketiga merk *hand and body lotion*, baik dinyatakan sebagai kadar masing-masing maupun kadar jumlah, masih memenuhi persyaratan yang telah ditentukan oleh Badan POM.

Kata kunci: metilparaben, propilparaben, *hand and body lotion*, *high performance liquid chromatography*

Abstract

Methylparaben and propylparaben were effective antibacterial and antifungal agents. There were many kinds of cosmetic products in our community which used methylparaben and propylparaben as preservatives, which one was hand and body lotion. The decision of the foreman of supervisor drug and food comitee (Badan Pengawas Obat dan Makanan) The Republic of Indonesia No.HK.00.05.4.1745, May 5th 2003 about cosmetic mentioned that maximum limit of methylparaben and propylparaben concentration was 0,4 % as single preservative and 0,8 % as mixed preservative. Based on writer inspection, producer hand and body lotion did not state the concentration of methylparaben and propylparaben in their products. This research was done to find out the methylparaben and propylparaben concentration and to know wheter the concentration obey the regulation which was decided.

This research was a non eksperimental descriptive research, used reversed phase High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method with Water Novopac C18 column, methanol : aquabidest (4:6) as mobile phase, flow rate 1,2 ml/minute, and detector UV 257 nm. The parameters used to express the validation of this method were selectivity, accuracy, precision, linearity, Limit of Detection (LOD), and Limit of Quantitation (LOQ) Based on the result of validation, it can be concluded that HPLC method was valid enough to analysis methylparaben and propylparaben in hand and body lotion.

From the analysis result on significant level of 95 %, it was found that the three of hand and body lotions which were studied contain methylparaben and propylparaben with concentration average were as follow: sample "A" (0,24 ± 0,003) %; sample "B" (0,19 ± 0,004) %; sample "C" (0,11 ± 0,002) % for methylparaben, and sample "A" (0,09 ± 0,000) %; sample "B" (0,09 ± 0,001) %; and sample "C" (0,08 ± 0,001) % for propylparaben. It can be concluded that methylparaben and propylparaben concentration, as single or mixed preservative in the sample studied obeyed the regulation which was decided.

Keywords: **methylparaben,propylparaben, hand and body lotion, high performance liquid chromatography**

Pendahuluan

Hand and body lotion merupakan salah satu sediaan kosmetik yang tidak pernah ditinggalkan masyarakat, khususnya kaum wanita sebagai konsumen utama. Hal tersebut didukung pula oleh semakin banyaknya produk *hand and body lotion* dari berbagai merk yang beredar, yang disertai dengan berbagai manfaat yang ditawarkan, antara lain: menjaga kelembaban kulit sehingga kulit tidak kering dan menjadi lebih halus, kulit menjadi kencang, kenyal, dan awet muda, melindungi kulit dari radiasi sinar ultraviolet, membuat warna kulit menjadi lebih cerah. Adapula produsen yang membuat formula khusus untuk jenis kulit yang berbeda, seperti

hand and body lotion untuk kulit normal dan untuk kulit kering. Bahkan formula untuk kulit bayi dan balita pun telah banyak dikembangkan.

Berbagai formula yang dibuat untuk *hand and body lotion* selalu tidak luput dari pengawet. Hal tersebut bertujuan untuk mencegah kerusakan sediaan yang disebabkan oleh mikroorganisme. Pengawet yang banyak digunakan dalam *hand and body lotion* adalah metilparaben dan propilparaben, yang diketahui sebagai antibakteri dan antifungsi yang efektif. Kombinasi antara keduanya paling banyak ditemukan karena mampu memberikan efek sinergis untuk meningkatkan

Penetapan Kadar Metilparaben dan Propilparaben dalam *Hand and Body Lotion*

aktivitasnya, sehingga hasilnya lebih efektif (Hajkova *et al.*, 2003).

Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan (POM) Republik Indonesia No. HK.00.05.4.1745, tanggal 5 Mei 2003 tentang kosmetik menyebutkan bahwa batas maksimum kadar metilparaben dan propilparaben adalah 0,4 % sebagai pengawet tunggal dan 0,8 % sebagai pengawet campuran. Namun berdasarkan hasil pengamatan, diketahui bahwa semua produsen *hand and body lotion* tidak mencantumkan kadar metilparaben dan propilparaben pada labelnya. Dengan demikian, tidak dapat diketahui apakah kadar metilparaben dan propilparaben yang digunakan telah memenuhi persyaratan yang ditentukan oleh Badan POM RI. Untuk mencapai tujuan tersebut, diperlukan metode analisis yang selektif sekaligus sensitif, akurat, teliti, dan cepat.

Ada beberapa metode yang dapat digunakan pada penetapan kadar metilparaben dan propilparaben, antara lain volumetri, spektrofotometri, dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Volumetri merupakan metode yang paling sederhana dan baik bila digunakan pada penetapan kadar metilparaben dan propilparaben secara tunggal, sehingga pemisahan metilparaben dan propilparaben harus dilakukan terlebih dahulu. Namun metode volumetri memiliki sensitivitas yang rendah dibanding metode spektrofotometri dan HPLC, sehingga kurang tepat bila digunakan pada analisis senyawa dengan kadar kecil dalam matriks sampel yang kompleks. Metode spektrofotometri memiliki sensitivitas yang lebih baik dibanding volumetri, namun seperti halnya dengan volumetri, hanya dapat mengukur senyawa tunggal, sehingga pemisahan metilparaben dan propilparaben harus dilakukan terlebih dahulu. Metode analisis metilparaben dan propilparaben dalam *hand and body lotion* yang telah dikembangkan oleh Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan adalah spektrofotometri UV (Anonim, 2001). Pada metode tersebut, pemisahan

dilakukan secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) preparatif dengan fase diam silika gel GF254, tebal 0,25 mm, dan fase gerak toluen : asam asetat glasial (8 : 2).

Metode HPLC memiliki sensitivitas dan selektivitas yang baik dibanding volumetri dan spektrofotometri. Selain itu, metode HPLC dapat digunakan pada analisis senyawa multikomponen karena mampu melakukan pemisahan sekaligus mengidentifikasi senyawa dalam sampel yang berupa campuran. Dengan demikian, metode HPLC merupakan pilihan metode yang paling tepat pada penetapan kadar metilparaben dan propilparaben dalam *hand and body lotion*. Namun belum diketahui apakah metode HPLC memiliki validitas yang baik bila digunakan pada penetapan kadar metilparaben dan propilparaben dalam *hand and body lotion*. Oleh karena itu, melalui penelitian ini dapat diketahui validitas metode HPLC pada penetapan kadar metilparaben dan propilparaben dalam *hand and body lotion*.

Metode Penelitian

Bahan yang digunakan: zat baku metilparaben dan propilparaben, metanol, HCl (semuanya berderajat *p.a.*, E.Merck), akuabides (Otsuka), dan 3 merk sampel *hand and body lotion*.

Alat yang digunakan: spektrofotometer UV/Vis Perkin-Elmer Lambda 20, HPLC Shimadzu LC-10AD No. C20293309457 J2, dengan detektor UV/Vis SPD-10AV No. 20343502697 KG, kolom C₁₈ Water Novopac 5x150 mm (5-10 µm), degassing ultrasonic Restch tipe T460 No. V935922013 EY, mikropipet Nichiryo 5000DG, neraca analitik Scaltec (max 60/210 g, d=0,01/0,1 mg, e = 1 mg), penyaring vakum dengan membran filter Whatman 0,45 µm, penyaring millipore.

A. Cara Kerja

1. Penyiapan sampel

Lima miliLiter sampel ditambah 1 mL HCl 5 N kemudian diaduk kuat. Tuang ke dalam erlemeyer tertutup, tambahkan 30 mL metanol kemudian gojog kuat-kuat. Tuang ke dalam labu

ukur 50,0 mL kemudian ecerkan dengan metanol hingga tanda. Saring menggunakan kapas kemudian kertas saring, hingga diperoleh larutan sampel yang jernih.

2. Pembuatan fase gerak

Fase gerak dibuat dari campuran 4 bagian metanol dan 6 bagian akuabides. Campuran tersebut disaring menggunakan penyaring vakum serta membran berpori 0,45 μm , kemudian *didegassing* 15 menit.

3. Pembuatan larutan baku

a. **Larutan baku induk** dibuat dengan menimbang seksama metilparaben dan propilparaben, kemudian masing-masing dilarutkan dengan metanol hingga diperoleh konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

b. **Larutan baku kerja** dibuat dengan memipet sejumlah tertentu larutan baku induk kemudian diencerkan dengan metanol hingga diperoleh konsentrasi seperti yang dikehendaki.

4. Optimasi metode

a. **Penentuan panjang gelombang pengukuran** dilakukan dengan *scanning* serapan larutan baku kerja metilparaben dan propilparaben 1,5 dan 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, pada panjang gelombang 220 – 300 nm.

b. **Pengamatan waktu retensi metilparaben dan propilparaben** dilakukan dengan menginjektikan 40 μL larutan baku metilparaben dan propilparaben 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang dipersiapkan secara terpisah, telah disaring menggunakan millipore dan *didegassing* 15 menit dengan kecepatan alir fase gerak 1,2 mL/menit.

c. **Pengamatan pemisahan baku metiparaben dan propilparaben.** Larutan baku yang berisi campuran metilparaben 14 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan propiparaben 13 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dalam metanol yang telah disaring dengan millipore dan *didegassing* 15 menit, diinjeksikan sebanyak 40 μL dengan kecepatan alir fase gerak 1,2 mL/menit.

5. **Pembuatan kurva baku** dilakukan dengan 7 seri larutan baku campuran

yang mengandung metilparaben 4, 6, 8, 10, 12, 14, dan 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan propilparaben 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dalam metanol. Setelah disaring dengan millipore dan *didegassing* 15 menit, diinjeksikan sebanyak 40 μL dengan kecepatan alir fase gerak 1,2 mL/menit.

6. Penetapan kadar.

Pipet 0,5 mL larutan hasil penyiapan sampel, kemudian diencerkan dengan metanol dalam labu 10,0 mL. Setelah disaring dengan millipore dan *didegassing* 15 menit, diinjeksikan sebanyak 40 μL dengan kecepatan alir fase gerak 1,2 mL/menit.

7. Validasi metode

a. **Selektivitas** dilakukan dengan melihat pemisahan metilparaben dan propilparaben dan tidak ada puncak yang saling tumpang tindih.

b. **Akurasi** dilakukan dengan menambahkan baku metilparaben dan propilparaben ke dalam sampel sebelum dipreparasi hingga diperoleh konsentrasi akhir dalam sampel 4 dan 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

c. **Presisi** dinyatakan sebagai koefisien variasi (KV), yaitu kedekatan hasil analisis satu dengan hasil analisis lain dari suatu seri pengukuran yang berulang-ulang pada saat penetapan kadar.

d. **Linieritas** dinyatakan dengan nilai koefisien korelasi dari persamaan regresi linier.

e. **Batas deteksi dan batas kuantitasi.** Batas deteksi merupakan kadar terkecil analit yang mampu memberikan respon detektor minimal 2 – 3 kali respon blangko, atau dinyatakan lain sebagai *signal-to-noise ratio* 3 : 1 yang secara matematis dinyatakan dengan persamaan: $Y - Y_B = 3S_B$. Batas kuantitasi merupakan kadar terkecil analit yang mampu memberikan respon detektor 10 – 20 kali respon blangko atau dinyatakan lain sebagai *signal-to-noise ratio* 10 : 1 yang secara matematis dinyatakan dengan persamaan: $Y - Y_B = 10S_B$. Penentuan nilai batas deteksi dan batas kuantitasi

- f. didasarkan pada *slope* kurva baku dan simpangan baku respon blanko yang dihitung menggunakan persamaan regresi linier.

B. Analisis Hasil

Analisis hasil pada penelitian ini meliputi analisis kualitatif dan kuantitatif metilparaben dan propilparaben yang diperoleh, serta analisis validasi metode yang digunakan. Analisis kualitatif dilakukan dengan pengamatan waktu retensi metilparaben dan propilparaben yang diperoleh dari tiap sampel yang dibandingkan dengan waktu retensi senyawa baku metilparaben dan propilparaben. Analisis kuantitatif dilakukan dengan menghitung kadar metilparaben dan propilparaben dalam ketiga merk *hand and body lotion*. Kemudian kadar yang diperoleh dibandingkan secara deskriptif dengan batas maksimum kadar metilparaben dan propilparaben dalam kosmetik yang ditentukan Badan POM, yaitu 0,4 % sebagai pengawet tunggal dan 0,8 % sebagai pengawet campuran. Analisis validasi metode dinyatakan dengan selektivitas, akurasi, presisi, batas deteksi dan batas kuantitasi, pada taraf kepercayaan 95%.

Hasil dan Pembahasan

A. Penyiapan Sampel

Hand and body lotion merupakan sediaan emulsi, oleh karena itu langkah awal yang dilakukan pada penyiapan sampel adalah menambahkan HCl untuk memecah sistem emulsi, dengan demikian penyarian metilparaben dan propilparaben akan menjadi lebih mudah. Selain itu, penambahan ion H⁺ yang berasal dari HCl juga dapat menggeser reaksi disosiasi metilparaben dan propilparaben ke arah pembentukan metilparaben dan propilparaben utuh / tak terdisosiasi, sehingga pada proses penyarian dapat memberikan hasil yang optimal. Proses penyarian dilakukan dengan metanol karena keduanya mudah larut dalam metanol.

B. Optimasi Metode

1. Penentuan panjang gelombang pengukuran

Pada tahap ini, panjang gelombang maksimum masing-masing senyawa ditentukan terlebih dulu. Dari data tersebut kemudian ditentukan panjang gelombang *overlapping*, yaitu panjang gelombang saat spektrum kedua senyawa saling bertumpang tindih. Analisis tidak dilakukan pada panjang gelombang maksimum salah satu senyawa karena hanya sensitif terhadap perubahan konsentrasi senyawa yang bersangkutan.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa serapan maksimum metilparaben dan propilparaben dalam metanol dicapai pada panjang gelombang yang hampir sama yaitu 256,5 nm untuk metilparaben dan 256,8 nm untuk propilparaben. Dengan demikian tidak diperoleh panjang gelombang *overlapping* antara keduanya. Oleh karena itu, detektor ultraviolet (UV) pada HPLC diatur pada panjang gelombang 257 nm, yang merupakan pembulatan ke atas dari panjang gelombang maksimum metilparaben dan propilparaben dalam metanol, karena pada panjang gelombang tersebut perubahan konsentrasi kedua senyawa yang mengakibatkan perubahan serapan dapat dideteksi secara sensitif.

2. Optimasi fase gerak

Sistem kromatografi yang digunakan dalam penelitian ini merupakan kromatografi partisi dengan fase diam kolom *reversed phase* C₁₈ berukuran 15 x 0,5 cm, sehingga fase gerak yang digunakan bersifat polar. Oleh karena itu, fase gerak yang digunakan pada langkah awal optimasi adalah metanol : akuabides (2:8) dengan kecepatan alir 1 ml/menit. Pemilihan kolom berukuran 15 x 0,5 cm dilakukan untuk mencapai waktu analisis yang relatif singkat, yaitu 10 menit. Selain itu, pemakaian kolom yang lebih pendek dapat menghemat fase gerak yang digunakan. Kedua hal tersebut, yaitu pencapaian waktu analisis yang singkat dan penghematan fase gerak yang digunakan, sangat bermanfaat apabila diaplikasikan pada analisis rutin.

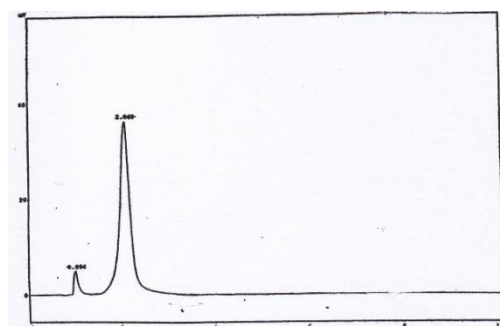
Waktu retensi senyawa baku metilparaben dalam metanol yang diinjeksikan pada kondisi fase gerak metanol : akuabides (2:8) dengan kecepatan alir 1 ml/menit dicapai pada 7,613 menit, sedangkan puncak senyawa baku propilparaben dalam metanol tidak muncul pada batas waktu analisis 10 menit. Hal tersebut disebabkan karena fase gerak yang digunakan terlalu polar sehingga interaksi metilparaben dan propilparaben terhadap fase gerak terlalu lemah, sedangkan interaksinya terhadap fase diam terlalu kuat. Dengan demikian, metilparaben dan propilparaben tidak terelusi dalam waktu singkat.

Campuran fase gerak yang digunakan harus memiliki kepolaran yang sesuai, sehingga dapat memberikan pemisahan puncak metilparaben dan propilparaben dalam sampel dengan baik dari puncak senyawa-senyawa lain dengan waktu analisis yang relatif singkat. Oleh karena itu, pada langkah optimasi berikutnya digunakan fase gerak metanol : akuabides (4:6). Peningkatan proporsi metanol dimaksudkan untuk mengurangi kepolaran fase gerak hingga dicapai tingkat kepolaran yang sesuai untuk mengelusi metilparaben dan propilparaben pada batas waktu analisis 10 menit. Selain itu, peningkatan proporsi metanol dapat meningkatkan kekuatan elusi karena interaksi metilparaben dan propilparaben terhadap fase gerak dapat diperbesar, sehingga waktu retensi akan lebih pendek.

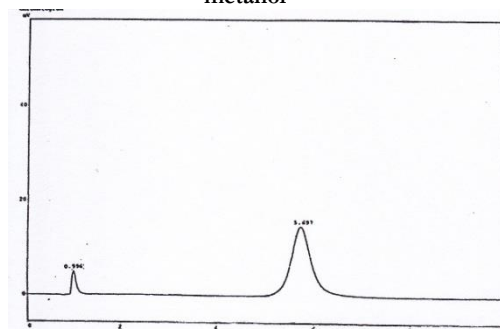
Pelebaran puncak yang disebabkan oleh proses difusi solut dalam fase gerak dapat dikurangi dengan mengurangi waktu tinggal solut dalam kolom, yaitu dengan meningkatkan kecepatan alir fase gerak. Oleh karena itu, kecepatan alir fase gerak ditingkatkan menjadi 1,2 ml/menit. Pada kondisi tersebut dapat diperoleh puncak yang lebih sempit dan simetris dengan waktu retensi kurang dari 10 menit. Dengan demikian, fase gerak yang digunakan pada penelitian ini adalah metanol : akuabides (4:6) dengan kecepatan alir 1,2 ml/menit.

3. Pengamatan waktu retensi metilparaben dan propilparaben

Waktu retensi masing-masing senyawa bersifat spesifik, sehingga dapat digunakan untuk analisis kualitatif dengan cara membandingkan waktu retensi senyawa dalam sampel dengan waktu retensi senyawa baku yang telah diketahui identitasnya. Hasil pengamatan waktu retensi senyawa baku metilparaben dan propilparaben dalam metanol dapat dilihat pada gambar 1 dan 2.

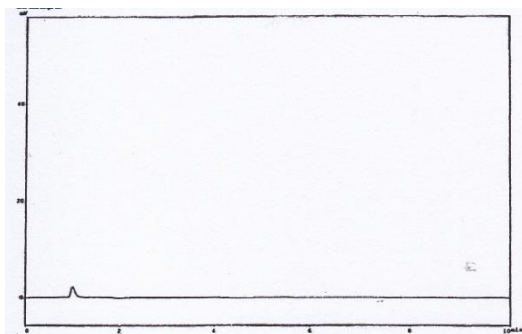


Gambar 1. Kromatogram senyawa baku metilparaben ($T_R = 2,069$ menit) dalam metanol



Gambar 2. Kromatogram senyawa baku propilparaben ($T_R = 5,697$ menit) dalam metanol

Kromatogram pada gambar 1 dan 2 menunjukkan bahwa selain terdapat puncak metilparaben dan propilparaben, diperoleh pula puncak lain dengan waktu retensi 0,996 menit. Puncak tersebut merupakan puncak pelarut metanol yang dibuktikan dengan menginjeksikan metanol, dengan kromatogram seperti tersaji pada gambar 3.



Gambar 3. Kromatogram metanol

Pengecekan terhadap fase gerak juga dilakukan dengan menginjeksikan fase gerak, untuk meyakinkan bahwa tidak ada puncak senyawa pengotor dalam fase gerak. Hasil yang diperoleh terpapar pada gambar 4.



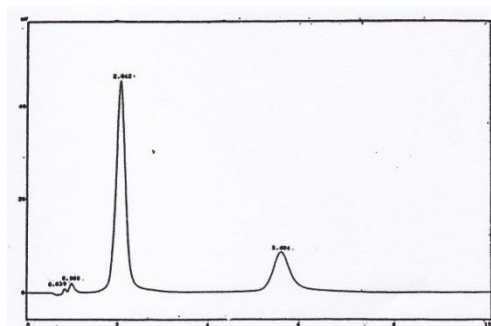
Gambar 4. Kromatogram fase gerak metanol ; akuabides (4 : 6)

4. Optimasi pemisahan metilparaben dan propilparaben

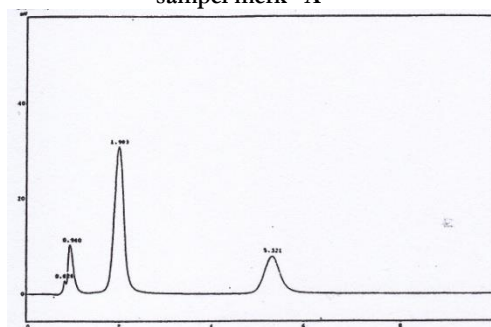
Analisis kuantitatif dapat dilakukan apabila puncak senyawa yang akan dianalisis telah memisah sempurna dari puncak senyawa-senyawa lain. Parameter yang dapat digunakan untuk mengukur pemisahan 2 puncak yang berdekatan adalah faktor resolusi (R). Namun daya pisah lebih sering diperkirakan hanya dengan melihat bentuk puncak saja, kecuali untuk puncak-puncak yang sangat berdekatan.

Selain pada campuran senyawa baku metilparaben dan propilparaben dalam metanol, optimasi pemisahan metilparaben dan propilparaben dalam sampel juga perlu dilakukan pada kondisi percobaan yang sama. Hal tersebut

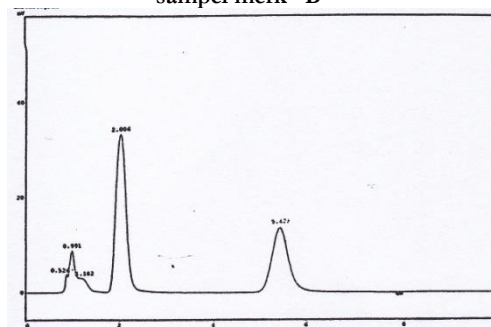
bertujuan untuk memastikan bahwa kondisi tersebut juga dapat diaplikasikan untuk pemisahan metilparaben dan propilparaben dalam sampel. Kromatogram pada gambar 5, 6, dan 7 menunjukkan bahwa kondisi percobaan tersebut ternyata dapat diaplikasikan untuk memisahkan metilparaben dan propilparaben dari senyawa-senyawa lain dalam ketiga merk *hand and body lotion* yang digunakan pada penelitian ini.



Gambar 5. Kromatogram pemisahan metilparaben ($T_R = 2,042$ menit) dan propilparaben ($T_R = 5,604$ menit) dalam sampel merk "A"



Gambar 6. Kromatogram pemisahan metilparaben ($T_R = 1,983$ menit) dan propilparaben ($T_R = 5,321$ menit) dalam sampel merk "B"



Gambar 7. Kromatogram pemisahan metilparaben ($T_R = 2,006$ menit) dan propilparaben ($T_R = 5,423$ menit) dalam sampel merk "C"

C. Pembuatan Kurva Baku

Kurva baku dibuat untuk mendapatkan persamaan regresi linier yang selanjutnya digunakan untuk menghitung kadar metilparaben dan propilparaben dalam sampel. Persamaan regresi linier yang diperoleh merupakan hubungan antara konsentrasi *vs* AUC (*Area Under Curve*) / 500.000. Hal tersebut bertujuan untuk memperoleh kurva baku yang lebih layak saji dengan sensitivitas yang lebih baik. Hasilnya dapat dilihat pada tabel I dan II.

Persamaan yang dipilih untuk menetapkan kadar metilparaben dan propilparaben adalah persamaan kurva baku yang memiliki linieritas terbaik, yaitu kurva baku dengan nilai *r* paling mendekati 1. Metilparaben ditetapkan kadarnya menggunakan persamaan kurva baku replikasi II, sedangkan propilparaben ditetapkan kadarnya menggunakan persamaan kurva baku replikasi I.

Penetapan Kadar Metilparaben dan Propilparaben

Penetapan kadar metilparaben dan propilparaben dalam *hand and body lotion* secara HPLC ini menggunakan kondisi yang sama dengan hasil optimasi pemisahan. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kadar metilparaben untuk sampel merk "A" adalah $(0,2435 \pm 0,0029)$ %; merk "B" adalah $(0,1942 \pm 0,0037)$ %; dan merk "C" adalah $(0,1081 \pm 0,0017)$ %, sedangkan kadar propilparaben untuk sampel merk "A" adalah $(0,0923 \pm 0,0003)$ %; merk "B" adalah $(0,0924 \pm 0,0012)$ %; dan merk "C" adalah $(0,0840 \pm 0,0008)$ %. Jumlah kadar metilparaben dan propilparaben yang diperoleh untuk sampel merk "A" adalah 0,3358 %; merk "B" adalah 0,2866 %; dan merk "C" adalah 0,1921 %. Dengan demikian kadar metilparaben dan propilparaben dalam ketiga merk *hand and body lotion* yang digunakan pada penelitian ini, baik dinyatakan sebagai kadar masing-masing maupun kadar jumlah, masih memenuhi persyaratan yang telah ditentukan oleh Badan POM.

E. Validasi Metode

1. Selektivitas

Selektivitas dilakukan dengan melihat pemisahan metilparaben dan propilparaben dan tidak ada puncak yang saling tumpang tindih. Pada gambar 6, 7, dan 8 dapat dilihat bahwa pada ketiga sampel yang digunakan, metilparaben mampu memisah sempurna dari propilparaben. Selain itu, puncak metilparaben dan propilparaben juga memisah sempurna dari puncak-puncak minor fase gerak ataupun matrik sampel. Dengan demikian, dapat dinyatakan bahwa metode HPLC yang digunakan memiliki selektivitas yang baik.

2. Akurasi

Akurasi metode analisis ditetapkan untuk mengetahui kedekatan antara nilai hasil penetapan kadar dengan nilai analit sebenarnya dalam sampel, yang dinyatakan dengan % *recovery*, yaitu dengan membandingkan kadar terukur dari sejumlah tertentu senyawa baku yang sengaja ditambahkan ke dalam sampel pada jumlah tertentu pula. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa % *recovery* metilparaben untuk sampel merk "A" adalah $(97,14 \pm 0,46)$ %; merk "B" adalah $(98,10 \pm 0,64)$ %; dan merk "C" adalah $(101,68 \pm 2,04)$ %, sedangkan % *recovery* propilparaben untuk sampel merk "A" adalah $(99,07 \pm 1,72)$ %; merk "B" adalah $(99,24 \pm 0,82)$ %; dan merk "C" adalah $(96,83 \pm 2,41)$ %. Nilai % *recovery* tersebut masih berada pada rentang *recovery* yang baik yaitu 90 – 110 % (Mulja dan Hanwar, 2003), sehingga dapat dinyatakan bahwa metode HPLC memiliki akurasi yang baik bila digunakan untuk menetapkan kadar metilparaben dan propilparaben dalam ketiga merk *hand and body lotion*.

3. Presisi

Presisi metode analisis ditetapkan untuk mengetahui kedekatan hasil analisis satu dengan hasil analisis lain dari suatu seri pengukuran yang berulang-ulang pada saat penetapan kadar, yang dinyatakan sebagai koefisien variasi (KV). Hasil yang

diperoleh menunjukkan bahwa nilai KV pada penetapan kadar metilparaben dalam sampel merk "A" adalah 1,44 %; merk "B" adalah 1,32 %; dan merk "C" adalah 1,15 %, sedangkan pada penetapan kadar propilparaben dalam sampel merk "A" adalah 1,84 %; merk "B" adalah 1,34 %; dan merk "C" adalah 1,18 %. Nilai CV tersebut masih berada pada batasan CV yang baik yaitu $< 2\%$ (Mulja dan Hanwar, 2003), sehingga dapat dinyatakan bahwa metode HPLC memiliki presisi yang baik bila digunakan untuk menetapkan kadar metilparaben dan propilparaben dalam ketiga merk *hand and body lotion*.

4. Linieritas

Uji linieritas dilakukan untuk mengetahui linieritas hubungan antara konsentrasi metilparaben dan propilparaben terhadap respon. Linieritas dinyatakan dengan nilai koefisien korelasi (r) dari persamaan regresi linier. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai r kurva baku, baik metilparaben maupun propilparaben, pada ketiga replikasi berturut-turut adalah 0,9958; 0,9989; 0,9984 untuk metilparaben dan 0,9989; 0,9985; 0,9975 untuk propilparaben. Hal tersebut berarti nilai r kurva baku baik metilparaben maupun propilparaben, pada ketiga replikasi lebih besar dari nilai $r = 0,755$ pada taraf kepercayaan 95 % dan $df = 5$. Dengan demikian, dapat dinyatakan bahwa metode HPLC memiliki linieritas yang baik bila digunakan untuk menetapkan kadar metilparaben pada rentang 4 – 16 $\mu\text{g/mL}$ dan propilparaben pada rentang 1 – 13 $\mu\text{g/mL}$ dalam ketiga merk *hand and body lotion*.

5. Batas deteksi dan batas kuantitasi

Batas deteksi ditetapkan untuk mengetahui kadar terkecil analit dalam sampel yang masih dapat dideteksi, sedangkan batas kuantitasi untuk mengetahui kadar terkecil analit dalam sampel yang masih dapat ditetapkan secara kuantitatif dengan nilai akurasi dan presisi yang dapat diterima. Pada penelitian ini, penentuan nilai LOD dan LOQ didasarkan pada *slope* kurva baku dan simpangan baku respon blangko yang dihitung menggunakan persamaan regresi

linier (Harmita, 2006) yang mempunyai koefisien korelasi (r) terbaik. Nilai LOD dan LOQ yang diperoleh secara berturut-turut adalah 0,671 $\mu\text{g/mL}$ dan 2,237 $\mu\text{g/mL}$ untuk metilparaben, sedangkan 0,655 $\mu\text{g/mL}$ dan 2,183 $\mu\text{g/mL}$ untuk propilparaben.

Kesimpulan dan Saran

A. Kesimpulan

1. Kadar metilparaben dan propilparaben dalam ketiga merk *hand and body lotion* yang digunakan pada penelitian ini, baik dinyatakan sebagai kadar masing-masing maupun kadar jumlah, masih memenuhi persyaratan yang telah ditentukan oleh Badan POM.
2. Metode HPLC yang digunakan dalam penelitian ini memiliki validitas yang baik bila digunakan pada penetapan kadar metilparaben dan propilparaben dalam *hand and body lotion*.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian tentang penetapan kadar metilparaben dan propilparaben dalam *hand and body lotion* yang tidak memiliki nomor register, dengan tujuan untuk mengetahui apakah kadar tersebut memenuhi persyaratan yang ditentukan Badan POM.

Daftar Pustaka

- Anonim, 1995 a, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, 551, 713, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Anonim, 1995 b, *Metode Analisis*, Pusat Pemeriksaan Obat dan Makanan, WHO Collaborating Centre for Quality Assurance of Essential Drugs, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 155-158, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Anonim, 2001, *Metode Analisis*, Pusat Pemeriksaan Obat dan Makanan, WHO Collaborating Centre for Quality Assurance of Essential Drugs, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 178-179, Departemen

- Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Anonim, 2000, *Standard Operating Procedure Validation of Analytical Methods*, Operating Manual for Implementation of Good Manufacturing Practice, 386.
- Anonim, 1995 c, *The United States Pharmacopeia* 23, Jilid 2, 1982-1984, United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville.
- Davis, H.M., 1977, Analytical of Creams and Lotion, in Senzel, A.J., Wenninger, J.A., Wisneski, H.H., Yates, R.L., and Davis, H.M., (Eds.), *Newburger's Manual of Cosmetic Analysis*, Second (2nd) Ed., 32, Association of Official Analytical Chemist, Inc., Washington D.C.
- Gritter, R.J., Bobbitt, J.M., and Schwarting, A.E., 1985, *Introduction to Chromatography*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Edisi II, 4-5, 15, 93, 213, 219, ITB, Bandung.
- Hajkova, R., Solich, P., Dvorak, J., and Sicha, J., 2003, Simultaneous Determination of Methylparaben, Propylparaben, Hydrocortizone Acetate and Its Degradation Products in a Topical Cream by RP-HPLC, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **32**, 921-927.
- Kellner, R., Mermet, J.M., Otto, M., and Widmer, H.M., 1998, *Analytical Chemistry*, 194-195, Wiley-VCH, Weinheim.
- Miller, J.C. and Miller, J.N., 1988, *Statistics for Analytical Chemistry*, Second (2nd) Ed., 110, 115-117, Ellis Horwood Limited, England.
- Mulja, M. dan Hanwar, D., 2003, Prinsip-prinsip Cara Berlaboratorium yang Baik, *Majalah Farmasi Airlangga*, Vol III, No. 2.
- Mulja, M. dan Surahman, 1995, *Analisis Instrumental*, 6,8, 10, Airlangga University Press, Surabaya.
- Munson, J.W., 1984, *Pharmaceutical Analysis Modern Methods*, diterjemahkan oleh Harjana Parwa B, Bagian B, 15-16, 23, 32, 44, 46, 53-54, Airlangga University Press, Surabaya.
- Sevilla, L.G., Ochave, J.A., Punsalon, T.G., Regala, B.P., and Uriarte, G.G., 1993, *Pengantar Metode Penelitian*, diterjemahkan oleh Tuwu, A., Edisi I, 163, UI Press, Jakarta.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., and Nieman, T.A., 1998, *Principles of Instrumental Analysis*, Fifth (5th) Ed., 329-351, Harcourt Bace College, Philadelphia.
- Smolinske, S.C., 1992, *Handbook of Food, Drug, and Cosmetic Excipients*, 251, CRC Press, New York.
- Snyder, L.R., Kirkland, J.J., and Glajch, J.L., 1997, *Practical HPLC Method development*, Second (2nd) Ed., 208-210, Wiley & Sons, Inc., New York.
- Wilkinson, J.B. and Moore, R.J., 1982, *Harry's Cosmeticology*, Seventh (7th) Ed., 50-51, 69, 675, 690-691, Chemical Publishing Company Inc., New York.
- Willard, H.H., Merritt Jr., Dean, J.A., and Settle Jr, F.a., 1988, *Instrumental Methods of Analysis*, Seventh (7th) Ed., 592, 600, Wadsworth Publishing Company, California.
- Wilson, C.H., 1977, Determination of Preservatives in Cosmetics, in Senzel, A.J., Wenninger, J.A., Wisneski, H.H., Yates, R.L., and Davis, H.M., (Eds.), *Newburger's Manual of Cosmetic Analysis*, Second (2nd) Ed., 114, Association of Official Analytical Chemists, Inc., Washington D.C.
- Wilson, C.O. and Gisvold, O., 1982, *Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*, diterjemahkan oleh Achmad Mustofa Fatah, edisi VIII, Bagian I, 43-44, Penerbit IKIP Semarang, Semarang.