

OPTIMASI METODE ANALISIS ZINC PYRITHIONE DENGAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

Syarif Hamdani, Adang Firmansyah, Yuanita Permana

Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia

Abstrak

Zinc Pyrithione (ZnPT) dapat dianalisis kadarnya dengan berbagai metode, salah satunya dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Peneliti terdahulu telah mengembangkan metode analisis ZnPT dengan KCKT fase terbalik sebagai kompleks *copper pyrithione* (CuPT), tetapi setelah diaplikasikan di laboratorium, metode ini tidak memenuhi syarat kesesuaian sistem karena koefisien variasi area lebih dari 2%. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum untuk menentukan kadar ZnPT dalam sediaan sampo dengan metode KCKT melalui variasi perbandingan komposisi dan pH fase gerak, variasi laju alir, dan variasi suhu kolom. Dari hasil penelitian diperoleh bahwa kondisi optimum untuk analisis ZnPT dilakukan pada panjang gelombang 240 nm, menggunakan kolom Licrocart Lichrospher RP-18, fase gerak campuran larutan dapar fosfat 0,2 M pH 6,0 : asetonitril (60 : 40), laju alir 1,0 mL/menit, suhu kolom 25°C dan volume injeksi 10 µL. Hasil validasi metode analisis pada kondisi optimum mempunyai selektivitas yang baik dan menunjukkan hubungan yang linear antara luas area dibawah kurva dengan konsentrasi pada rentang 3,08-24,62 µg/mL dan koefisien korelasi (r^2) sebesar 0,995. Perolehan kembali hasil uji akurasi sebesar 99-101% pada konsentrasi CuPT diatas 12,31 µg/mL dan simpangan baku relatif hasil uji presisi sebesar 0,65%. Kondisi optimum ini efektif digunakan untuk analisis ZnPT dalam sediaan sampo dengan konsentrasi diatas 12,31 µg/mL..

Kata kunci: *zinc pyrithione*, *copper pyrithione*, kromatografi cair kinerja tinggi, sampo anti ketombe

Abstract

Zinc pyrithione (ZnPT) levels can be analyzed by various methods, one of common method is using high performance liquid chromatography (HPLC). Previous researchers had developed a method of ZnPT analysis by reverse phase HPLC as *copper pyrithione* complex (CuPT), but when applied in the laboratory, this method did not qualified because coefficient variation of the system suitability of an area more than 2%. The aims of this study was to determine optimum conditions for determining dosage levels in shampoo ZnPT by HPLC through a variety of comparison methods and pH of mobile phase composition, flow rate variations, and column temperature variations. Result shown that optimum conditions for ZnPT analysis performed at a wavelength of 240 nm, used Licrocart LiChrospher RP-18 column, mixture of 0.2 M phosphate buffer pH 6.0: acetonitrile (60 : 40) as a mobile phase, flow rate at 1.0 mL/min, column temperature 25°C and injection volume 10 mL. Validation analysis at optimum conditions has a good selectivity and shown a linear relationship between area under curve with a concentration at range of 3.08-24.62 µg/mL and correlation coefficient (r^2) of 0.995. Retrieval of test results accuracy of 99-101% at concentrations above CuPT 12.31 µg/mL and a standard deviation of the relative precision of test results by 0.65%. The optimum condition was effectively used for analysed shampoo contented ZnPT at concentration above 12.31 µg/mL.

Keywords: *zinc pyrithione*, *copper pyrithione*, high performance liquid chromatography, anti-dandruff shampoo

PENDAHULUAN

Sampo adalah sediaan kosmetika yang digunakan untuk maksud keramas rambut, sehingga setelah itu kulit kepala dan rambut menjadi bersih, dan sedapat mungkin rambut menjadi lembut, mudah diatur dan berkilau. Sampo anti ketombe merupakan sampo yang memiliki zat aktif dan mempunyai sifat kereaktifan bakterisida, fungisida dan kontra iritan, mengurangi atau menghalangi sekresi kelenjar minyak secara berlebihan (BSN, 1992).

Berbagai zat anti ketombe seperti selenium sulfida (SeS_2), *zinc pyrithione*, asam salisilat, sulfur, dan pirokton olamin telah digunakan sebagai zat tambahan dalam sediaan sampo yang mengandung sabun atau deterjen sebagai zat utama. Tetapi zat anti ketombe yang paling banyak digunakan secara komersil adalah *zinc pyrithione* (BPOM, 2009; Lodewyk, 2003).

Zinc pyrithione (bis(1-hydroxy-2(H)-pyridethionato-O,S)-T-4 Zinc, ZnPT) merupakan koordinasi kompleks seng, yang berwujud cairan putih dan berbau khas yang hampir tidak larut dalam air. ZnPT sering digunakan sebagai zat aktif anti ketombe karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan fungi pada infeksi kulit. Selain sebagai anti bakteri dan anti fungi, ZnPT terbukti sebagai *cytostatic agent*, yang mengurangi laju pergantian epidermis, sehingga mengurangi timbulnya ketombe (Martindle, 1982; Yamaguchi, 2006).

Saat ini penggunaan ZnPT dalam formulasi sediaan sampo menurut Peraturan Kepala Badan POM No. HK.00.05.42.1018 tidak boleh lebih dari 2 %. Karena penggunaan ZnPT secara berlebihan dapat menyebabkan dermatitis pada kulit kepala dan kerusakan pada rambut seperti rambut rontok, berubah warna dan patah-patah. Oleh sebab itu, diperlukan suatu metode analisis untuk mengontrol kandungan ZnPT pada produk sampo untuk menjamin keamanan produk (BPOM, 2009; BSN 1992).

Metode standar untuk penetapan kadar ZnPT dalam sediaan sampo tidak tercantum dalam buku-buku resmi, seperti Farmakope Indonesia, *British Pharmacopoeia* (BP), *United State Pharmacopoeia* (USP), dan *Japanese Pharmacopoeia*, tetapi hanya terdapat pada jurnal-jurnal ilmiah.

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk menganalisis ZnPT diantaranya dengan metode spektrofotometri, kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dan kromatografi cair kinerja tinggi-mass spektrofotometri (KCKT-MS).

Pengembangan metoda analisis untuk penetapan kadar ZnPT dengan metode spektrofotometri telah dilakukan oleh *Revlon Research Center-Bronx*, tetapi mempunyai tahapan preparasi yang rumit dan memerlukan waktu analisis yang lama, sehingga kurang efektif dan efisien untuk diterapkan, terutama di dunia industri.

Pengembangan metode analisis untuk penetapan kadar ZnPT dengan metode KCKT-MS telah dilakukan oleh beberapa peneliti di *National Maritime Reseach Institute-Osaka City Institute Japan*, mempunyai proses analisis yang relatif mudah tetapi memerlukan sistem instrumen yang canggih dan biaya yang tinggi untuk penyediaan alat, sehingga hanya pihak tertentu yang dapat menerapkannya.

Pengembangan metode analisis untuk penetapan kadar ZnPT dengan metode KCKT telah dilakukan oleh beberapa peneliti di *Dipartimento di Scienze Farmaceutiche-Universita di Modena Italy*. Dengan cara mengubah ZnPT menjadi kompleks yang lebih stabil, yaitu kompleks *copper pyrithione* (CuPT) sebelum disuntikkan dalam KCKT. Metode ini berpotensi untuk diadopsi karena biaya yang diperlukan untuk penyediaan alat KCKT relatif lebih murah dibandingkan dengan penyediaan alat KCKT-MS, dan mempunyai tahapan preparasi yang lebih sederhana dibandingkan dengan metode spektrofotometri.

Departemen Quality Control-CHC PT. Rohto Laboratories Indonesia mengadopsi metode analisis ini untuk menentukan kadar ZnPT dalam sediaan sampo yang mereka produksi, tetapi hasil uji kesesuaian sistem KCKT tidak memenuhi syarat, karena nilai koefisien variasi areanya lebih dari 2%, sehingga pada penelitian ini akan diteliti kondisi

optimum KCKT untuk menetapkan kadar ZnPT yang terkandung dalam sediaan sampo melalui variasi perbandingan komposisi dan pH fasa gerak, variasi laju alir, dan variasi suhu kolom, sehingga diperoleh hasil kesesuaian sistem yang memenuhi persyaratan, pemisahan puncak yang baik dan waktu analisis yang relatif singkat.

METODOLOGI

Alat

Alat yang digunakan antara lain Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Hitachi LC-2010), timbangan analitik (Mettler Toledo, ketelitian $d=0,1$ mg), sentrifuge (Hettich), *syringe*, spatel, kertas timbang, penyaring *miliphore whatman* ($d=0,2$ dan $0,45$ μm), penyaring *buchner*, ultrasonik (Branson), alat-alat gelas laboratorium

Bahan

Bahan yang digunakan untuk proses penelitian ini adalah *zinc pyrithione* (ZnPT) 49,18 % *aqueous dispersion cosmetic grade* (ARCH), *copper sulfate pentahydrat* ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) GR for analysis (merck), *potassium dihydrogen phosphate* (KH_2PO_4) GR for analysis (merck), *sodium hidroksida* (NaOH) GR for analysis (merck), *phosphoric acid* (H_3PO_4) 85% GR for analysis (merck), aqua DM, asetonitril grade for liquid chromatography (merck), diklorometan grade for liquid chromatography (merck), dan plasebo sampo.

Pemilihan Kondisi Optimum KCKT

a. Pembuatan larutan standar

Tahap pertama yang dilakukan sebelum menentukan kondisi pengukuran yang optimum adalah membuat larutan standar dispersi ZnPT 2% dan *Copper Pyrithione* (CuPT). Larutan standar dispersi ZnPT dibuat dengan menimbang sebanyak 2000,00 mg ZnPT 49,18% dalam labu ukur 100 mL. Ditambahkan air sedikit demi sedikit sampai tanda batas, kemudian dikocok sampai homogen. Larutan standar *Copper Pyrithione* (CuPT) dibuat dengan mencampurkan larutan dispersi ZnPT 2% standar sebanyak 500,00 mg dalam labu ukur 50 mL, ditambahkan aqua DM sampai tanda batas kemudian dikocok hingga homogen. Dipipet 1,00 mL larutan ke dalam tabung sentrifuge, kemudian tambahkan 2,00 mL larutan CuSO₄ 13 mM, divortex selama 5 menit. Ditambahkan diklorometan sebanyak 10,00 mL ke dalam

campuran, kemudian divortex selama 5 menit dan disentrifuge selama 15 menit pada kecepatan 3000 rpm. Kemudian, fasa diklorometan disaring dengan membran filter 0,45 µm (konsentrasi CuPT 15.38 µg/mL).

b. Variasi Perbandingan Komposisi dan pH Fase Gerak

Fasa gerak terdiri dari campuran larutan dapar fosfat 0,2 M dan asetonitril yang dibuat dengan variasi perbandingan komposisi dan pH seperti tercantum dalam tabel 1. Kemudian dilakukan uji kesesuaian sistem dengan cara menyuntikkan larutan standar CuPT 15,38 µg/mL sebanyak 5 kali pada kondisi pengukuran KCKT yang tercantum dalam tabel 2. Hasil kesesuaian sistem memenuhi syarat, jika memenuhi kriteria parameter uji kesesuaian sistem seperti yang tercantum pada tabel 3.

Tabel 1. Tabel Variasi Perbandingan Komposisi dan pH Fase Gerak (Larutan Dapar Fosfat : Asetonitril)

FG pH	A (45 : 55)	B (50 : 50)	C (55 : 45)	D (60 : 40)	E (65 : 35)
1 (pH 4)	A1	B1	C1	D1	E1
2 (pH 5)	A2	B2	C2	D2	E2
3 (pH 6)	A3	B3	C3	D3	E3
4 (pH 7)	A4	B4	C4	D4	E4

Tabel 2. Kondisi Pengukuran KCKT

No	Parameter	Spesifikasi
1	Fase Diam (Kolom)	Licrocart Lichrospher 100 RP 18 (250 x 4,6 mm), oktadesil (C18), ukuran partikel isi 5µm. (Merck)
2	Fase Gerak	Campuran larutan dapar fosfat : acetonitril sesuai tabel III.1
3	Laju Alir	1 mL/menit
4	Detektor	UV-Vis ($\lambda = 240$ nm)
5	Volume Injeksi	10 µL

Tabel 3. Parameter Uji Kesesuaian Sistem

No	Parameter	Kriteria Penerimaan
1	Retention Time	< 20 menit
2	Area	RSD < 2 %
3	Asimetri	0,8–1,5
4	Resolusi	>1,5
5	Teoritical plate	>1000

c. Variasi Laju Alir

Larutan standar CuPT 15,38 µg/mL, disuntikan pada sistem KCKT dengan variasi laju alir 0,6 mL; 0,8 mL; 1,0 mL dan 1,2 mL, kemudian dicatat hasil yang diperoleh, meliputi *retention time*, area, asimetri, resolusi, dan *teoritical plate*.

d. Variasi Suhu Kolom

Larutan standar CuPT 15,38 µg/mL, disuntikan pada sistem KCKT dengan variasi suhu kolom 25°C; 30°C; 35°C dan 40°C kemudian dicatat hasil yang diperoleh, meliputi *retention time*, area, asimetri, resolusi, dan *teoritical plate*.

Validasi Metode Analisis

Parameter validasi metode analisis yang dilakukan meliputi, uji selektivitas (spesifisitas), uji linearitas, uji akurasi (kecermatan), presisi (keseksamaan), dan uji *robustness* (ketegaran).

a. Uji Selektivitas (Spesifisitas)

Plasebo sampo ditimbang sebanyak 500,00 mg dalam labu ukur, kemudian ditambah air sampai tanda batas, kemudian dikocok sampai homogen. Dipipet 1,00 mL larutan ke dalam tabung sentrifuge, kemudian tambahkan 2,00 mL larutan CuSO₄ 13 mM, divortex selama 5 menit. Ditambahkan diklorometan sebanyak 10,00 mL ke dalam campuran, kemudian divortex selama 5 menit dan disentrifuge selama 15 menit pada kecepatan 3000 rpm. Kemudian, fasa diklorometan disaring dengan membran filter 0,45 µm. Larutan disuntikkan pada kondisi optimum KCKT. Dilakukan pula penyuntikan terhadap larutan sampel dan pelarut diklorometan yang digunakan. Kriteria penerimaan : Larutan plasebo dan diklorometan tidak memberikan nilai waktu retensi yang sama dengan CuPT. Larutan sampel harus memiliki keterpisahan yang baik.

b. Uji Linearitas

Dispersi ZnPT 2% standar ditimbang sebanyak 100,00 mg; 200,00 mg; 300,00 mg; 400,00 mg; 500,00 mg; 600,00 mg; 700,00 mg; 800,00 mg dalam labu ukur 50,00 mL. Ditambahkan 500,00 mg plasebo sampo, kemudian ditambah air sampai tanda batas, kemudian kocok sampai homogen. Dipipet 1,00 mL larutan ke dalam tabung sentrifuge, kemudian tambahkan 2,00 mL larutan CuSO₄ 13 mM, divortex selama 5 menit. Ditambahkan diklorometan sebanyak 10,00 mL ke dalam campuran, kemudian divortex selama 5 menit dan disentrifuge selama 15 menit pada kecepatan 3000 rpm. Kemudian, fasa diklorometan disaring dengan membran filter 0,45 µm (diperoleh sampel dengan konsentrasi CuPT 3,08; 6,15; 9,23; 12,31; 15,38; 18,46; 21,54; 24,62 µg/ml). Masing-masing konsentrasi disuntikkan pada kondisi optimum KCKT, dan dicatat luas area yang diperoleh. Kriteria penerimaan : Hubungan yang linear antara luas area dengan konsentrasi, dan koefisien korelasi (r^2) kurva $\geq 0,98$.

c. Uji Akurasi (Kecermatan)

Dispersi ZnPT 2% standar ditimbang sebanyak masing-masing 400,00 mg; 500,00 mg; dan 600,00 mg dalam labu ukur 50,00 mL (3 replikasi). Ditambahkan 500,00 mg plasebo sampo, kemudian ditambah air sampai tanda batas, kemudian kocok sampai homogen. Dipipet 1,00 mL larutan ke dalam tabung sentrifuge,

kemudian tambahkan 2,00 mL larutan CuSO₄ 13 mM, divortex selama 5 menit. Ditambahkan diklorometan sebanyak 10,00 mL ke dalam campuran, kemudian divortex selama 5 menit dan disentrifuge selama 15 menit pada kecepatan 3000 rpm. Kemudian, fasa diklorometan disaring dengan membran filter 0,45 µm (diperoleh sampel dengan konsentrasi CuPT 12,31; 15,38; 18,46 µg/mL). Masing-masing konsentrasi disuntikkan pada kondisi optimum KCKT, dan dicatat luas area yang diperoleh. Kriteria penerimaan : Persen perolehan kembali berada dalam rentang 98-102% .

d. Uji Presisi (Keseksamaan)

Dispersi ZnPT 2% standar ditimbang sebanyak 500,00 mg dalam labu ukur 50,00 mL (6 replikasi). Ditambahkan 500,00 mg plasebo sampo, kemudian ditambah air sampai tanda batas, kemudian kocok sampai homogen. Dipipet 1,00 mL larutan ke dalam tabung sentrifuge, kemudian tambahkan 2,00 mL larutan CuSO₄ 13 mM, divortex selama 5 menit. Ditambahkan diklorometan sebanyak 10,00 mL ke dalam campuran, kemudian divortex selama 5 menit dan disentrifuge selama 15 menit pada kecepatan 3000 rpm. Kemudian, fasa diklorometan disaring dengan membran filter 0,45 µm (diperoleh sampel dengan konsentrasi CuPT 15,38 µg/ml). Masing-masing konsentrasi disuntikkan pada kondisi optimum KCKT, dan dicatat luas area yang diperoleh. Kriteria penerimaan : RSD dari semua konsentrasi maksimal 2%.

e. Uji Robustness (Ketegaran)

Dispersi ZnPT 2% standar ditimbang sebanyak 500,00 mg dalam labu ukur 50,00 mL. Ditambahkan 500,00 mg plasebo sampo, kemudian ditambah air sampai tanda batas, kemudian kocok. Dipipet 1,00 mL larutan ke dalam tabung sentrifuge, kemudian tambahkan 2,00 mL larutan CuSO₄ 13 mM, divortex selama 5 menit. Ditambahkan diklorometan sebanyak 10,00 mL, kemudian divortex selama 5 menit dan disentrifuge selama 15 menit pada kecepatan 3000 rp, fasa diklorometan disaring dengan membran filter 0,45 µm (diperoleh sampel dengan konsentrasi CuPT 15,38 µg/ml),

disimpan selama 24 jam pada suhu ruang, kemudian disuntikkan pada kondisi optimum KCKT. Kriteria penerimaan : waktu penyimpanan tidak mempengaruhi perolehan kembali hasil uji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pemilihan Kondisi Optimum KCKT

Berdasarkan percobaan yang telah dilakukan terhadap variasi fase gerak, diperoleh data rata-rata hasil uji kesesuaian sistem dalam tabel 4.

Tabel 4. Data Hasil Uji Kesesuaian Sistem

Fase Gerak	Parameter					Hasil
	Retention Time	RSD Area	Asimetri	Resolusi	Teoritical Plate	
A1	5,138	1,789	0,856	1,611	885	System is not suitable
A2	5,269	2,043	0,843	1,923	963	System is not suitable
A3	4,874	0,690	1,075	2,444	1379	System is suitable
A4	4,715	0,884	1,307	1,908	1256	System is suitable
B1	5,571	1,475	1,167	2,113	1023	System is suitable
B2	5,622	1,545	1,463	2,351	1341	System is not suitable
B3	5,682	0,688	1,464	2,676	1430	System is suitable
B4	5,765	2,536	1,045	3,048	1819	System is suitable
C1	7,263	1,331	1,058	3,064	1313	System is suitable
C2	7,324	0,800	1,205	3,020	1209	System is suitable
C3	7,193	1,676	1,629	3,583	1738	System is not suitable
C4	7,823	0,992	1,218	4,161	2205	System is suitable
D1	10,070	2,921	1,124	4,195	1297	System is not suitable
D2	10,809	5,844	1,014	5,211	2003	System is not suitable
D3	10,205	1,200	1,061	4,607	1523	System is suitable
D4	9,663	2,865	1,020	4,180	1406	System is not suitable
E1	14,268	12,460	1,022	6,617	1733	System is not suitable
E2	16,735	7,788	1,138	1,138	1996	System is not suitable
E3	16,499	2,101	1,094	8,134	2474	System is not suitable
E4	14,359	3,872	1,048	7,598	2907	System is not suitable

Fase gerak D3 memberikan hasil resolusi (pemisahan puncak) yang paling optimal, sehingga fase gerak D3 akan digunakan untuk proses analisis selanjutnya.

Variasi terhadap laju alir dilakukan untuk mendapatkan waktu analisis yang paling efektif dan pemisahan yang baik, Data hasil percobaan tercantum pada tabel 5.

Laju alir yang paling efektif yaitu 1,0 mL/menit, karena mempunyai waktu retensi yang tidak terlalu lama yaitu 9,9 menit, resolusi baik, dan volume fase gerak yang masuk pada kolom tidak terlalu banyak, dibandingkan .Laju alur 0,6

mL/menit dan 0,8 mL/menit. Keduanya memberikan nilai resolusi, *teoritical plate* dan area yang paling besar, tetapi mempunyai waktu retensi yang lama, yaitu 16,7 menit dan 12,5 menit, sehingga kurang efektif jika digunakan untuk proses analisis. Laju alir 1,2 ml/menit memberikan waktu retensi yang cepat, yaitu 8,4 menit dan mempunyai resolusi yang baik, tetapi laju alir yang tinggi, menyebabkan pompa KCKT bekerja lebih keras, menyebabkan peningkatan pada tekanan pompa, dan volume fase gerak yang masuk ke kolom semakin banyak, hal ini dapat menyebabkan masa pakai kolom berkurang

Tabel 5. Data Hasil Uji Variasi Laju Alir

Laju Alir (mL/menit)	Parameter				
	Retention Time	Area	Asimetri	Resolusi	Teoritical Plate
0,6	16,707	536920	1,31200	5,93396	2528
0,8	12,540	438369	1,28175	5,72393	2284
1,0	9,927	356066	1,29021	5,56645	2127
1,2	8,353	315325	1,26862	5,59300	2112

Untuk mendapatkan pemisahan yang lebih efisien, maka dilakukan variasi

terhadap suhu kolom KCKT. Data hasil percobaan tercantum pada tabel 6.

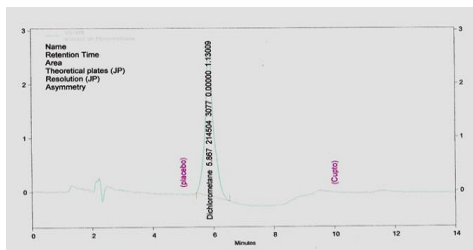
Tabel 6. Data Hasil Uji Variasi Suhu Kolom

Suhu Kolom (°C)	Parameter				
	Retention Time	Area	Asimetri	Resolusi	Teoritical Plate
25,0	9,807	296315	1,28449	5,68565	2327
30,0	9,113	320188	1,38547	5,03435	2261
35,0	8,507	328390	1,61314	4,98231	2286
45,0	7,967	306369	1,65428	4,44498	2249

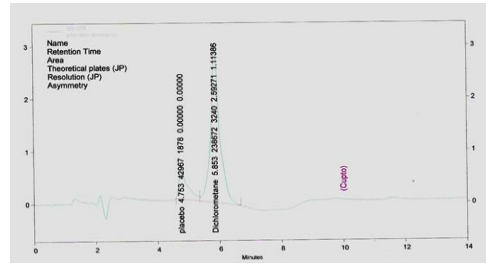
Pada suhu kolom 35°C dan 40°C, waktu retensi analit cepat, tetapi terjadi pengekoran pada puncak dan resolusi analit rendah, sedangkan pada suhu kolom 25°C dan 30°C, memberikan waktu retensi yang lebih lama, tapi tidak terjadi pengekoran pada puncak dan resolusi lebih jauh, sehingga untuk mendapatkan puncak yang baik dan memudahkan dalam proses analisis (tidak memerlukan kolom oven), maka analisis dilakukan pada suhu 25°C (suhu ruang).

Hasil Validasi Metode Analisis

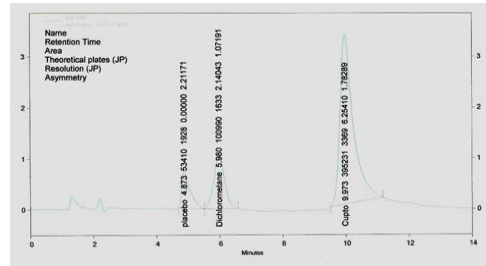
Parameter validasi metode analisis yang dilakukan pada percobaan ini meliputi, uji selektivitas, uji linearitas, uji akurasi, uji presisi dan uji *robustness* (ketegaran). Pada percobaan ini uji selektivitas dilakukan dengan cara menyuntikkan pelarut sampel yang digunakan yaitu diklorometan, plasebo sampo (terdiri dari *acasia, sodium lauryl ether sulfate, aculyn, oil compound, bacteriostat, ethylene glycol monostearate, glyceryl monoricinoleat, comperland*) serta plasebo sampo yang mengandung ZnPT. Gambar kromatogram setiap penyuntikan dapat dilihat pada gambar 1, gambar 2 dan gambar 3.



Gambar 1. Kromatogram Diklorometan

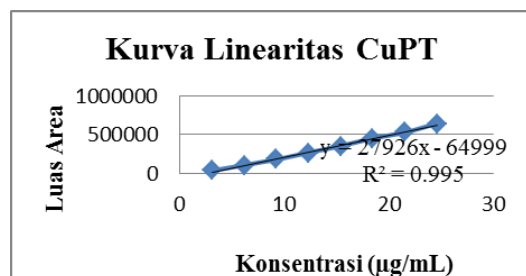


Gambar 2. Kromatogram Plasebo Sampo



Gambar 3. Gambar Plasebo Sampo dan ZnPT

Metode analisis ZnPT memenuhi parameter uji selektivitas, karena hasil kromatogram diklorometan dan plasebo sampo tidak memberikan puncak pada waktu retensi CuPT (memberikan hasil negatif CuPT), dan pada kromatogram plasebo yang mengandung zat aktif ZnPT, muncul puncak CuPT pada waktu retensinya (memberikan hasil positif CuPT) dan puncak mempunyai resolusi yang baik. Hal ini mengindikasikan bahwa diklorometan maupun plasebo sampo tidak mengintervensi pemisahan kompleks CuPT.



Gambar 4. Kurva Hasil Uji Linearitas

Uji linearitas dilakukan pada rentang konsentrasi CuPT 3,08 sampai 24,62 µg/mL. Data hasil percobaan uji linearitas tercantum pada tabel 7. Hasil pengujian menunjukkan bahwa metode analisis ZnPT

memenuhi syarat uji linearitas dari rentang konsentrasi 3,08-24,62 µg/mL karena menghasilkan koefisien korelasi (r^2) sebesar 0,995. Kurva hasil uji linearitas pada gambar 4.

Tabel 7. Data Hasil Uji Linearitas

Konsentrasi CuPT (µg/mL)	Massa (mg)	Luas Area
3,08	115,60	47047
6,15	210,80	110949
9,23	312,10	193330
12,31	406,50	271839
15,38	504,70	353912
18,46	601,70	451966
21,54	708,00	534878
24,62	809,90	651960

Uji akurasi menunjukkan derajat hasil kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Uji akurasi dilakukan dengan cara menguji 3 larutan dengan konsentrasi 12,31 µg/mL, 15,38 µg/mL

dan 18,46 µg/mL sebanyak 3 replikasi, kemudian dihitung hasil perolehan kembalinya (*recovery*). Data hasil uji akurasi tercantum pada tabel 8, 9, dan 10 .

Tabel 8. Data Hasil Uji Akurasi Konsentrasi 12,31 µg/mL

Konsentrasi CuPT (µg/mL)	Massa (mg)	Luas Area	Perolehan Kembali/PK (%)	Rata-rata PK (%)
12,31	404,60	129840	88,32	95,26 ± 6,62
	406,00	148464	100,64	
	404,50	142297	96,82	

Luas Area Standar = 226217, massa = 506,4 mg, kadar = 49,18%

Tabel 9. Data Hasil Uji Akurasi Konsentrasi 15,38 µg/mL

Konsentrasi CuPT (µg/mL)	Massa (mg)	Luas Area	Perolehan Kembali/PK (%)	Rata-rata PK (%)
15,38	513,80	272577	99,28	100,2 ± 0,82
	523,50	281018	100,46	
	501,00	270025	100,86	

Luas Area Standar = 267108, massa = 508,2 mg, kadar = 49,18%

Tabel 10. Data Hasil Uji Akurasi Konsentrasi 18,46 µg/mL

Konsentrasi CuPT (µg/mL)	Massa (mg)	Luas Area	Perolehan Kembali/PK (%)	Rata-rata PK (%)
18,46	625,60	453782	100,45	99,18 ± 1,23
	624,60	446848	99,08	
	600,60	426689	98,01	

Luas Area Standar = 299000, massa = 505,2 mg, kadar = 49,18%

Berdasarkan tabel diatas, hasil uji akurasi konsentrasi CuPT 12,31 µg/mL, mempunyai rata-rata perolehan kembali 95,26 ± 6,62, konsentrasi CuPT 15,38 µg/mL mempunyai rata-rata perolehan kembali 100,2 ± 0,82, konsentrasi CuPT 18,46 µg/mL mempunyai rata-rata perolehan kembali 99,18 ± 1,23.

Metode analisis ZnPT tidak memenuhi parameter akurasi karena pada konsentrasi 12,31 µg/mL, hasil perolehan kembali tidak berada pada rentang 98%–120 %, hal ini bisa disebabkan batas kuantisasi metode analisis hanya dapat dilakukan pada konsentrasi CuPT diatas CuPT 12,31 µg/mL, sehingga metode analisis tidak bisa digunakan untuk sampel sampo dengan konsentrasi CuPT dibawah 12,31 µg/mL, meskipun pada uji linearitas metode analisis masih dapat mendeteksi sampel dengan konsentrasi CuPT 3,08 µg/mL.

Uji presisi (keseksamaan) menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, jika metode analisis dilakukan berulang terhadap sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Uji presisi dilakukan dengan cara menguji larutan sampel dengan konsentrasi CuPT

15,38 µg/mL, sebanyak 6 replikasi. Metode dianggap presisi jika simpangan baru relatif (SBR) perolehan kembali < 2%. Berdasarkan percobaan, metode analisis ZnPT memenuhi syarat uji presisi karena diperoleh nilai SBR perolehan kembali sebesar 0.65%.

Uji *robustness* (ketegaran) menunjukkan kapasitas prosedur analitik untuk tidak terpengaruh oleh variasi kecil dalam parameter metode. Pada percobaan ini, uji ketegaran dilakukan dengan cara menyimpan larutan sampel dengan konsentrasi CuPT 15,38 µg/mL selama 24 jam sebelum disuntikkan pada KCKT, prosedur dianggap handal jika waktu penyimpanan tidak mempengaruhi perolehan kembali hasil uji. Hasil percobaan menunjukkan nilai perolehan kembali hanya sebesar 85,98% dengan SBR 4,74%, hal ini mengindikasikan bahwa metode analisis tidak handal dan terpengaruh oleh waktu penyimpanan. Berkurangnya hasil perolehan kembali sebesar ± 15%, dapat disebabkan kompleks CuPT bereaksi dengan plasebo sambo yang masih terbawa dalam larutan sampel selama penyimpanan membentuk *pyrithione* terionisasi. Oleh sebab itu, agar diperoleh

hasil yang optimal, sebaiknya analisis dilakukan segera setelah sampel dipreparasi.

SIMPULAN

Zinc pyrithione (ZnPT) dalam sediaan sampo dapat dianalisis menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) fase terbalik sebagai kompleks *copper pyrithione* (CuPT). Kondisi optimum metode analisis ZnPT dilakukan pada panjang gelombang 240 nm, menggunakan fase diam (kolom) Licrocart Lichrospher 100 RP 18 (250 x 4,6 mm) oktadesil (C18), ukuran partikel isi 5 μ m (Merck), fase gerak variasi D3 yaitu campuran larutan dapar fosfat 0,2 M pH 6,0 : asetonitril (60 : 40), laju alir 1 ml/menit, suhu 25°C dan volume injeksi 10 μ L.

Hasil validasi metode analisis pada kondisi optimum, memenuhi uji selektivitas, uji linearitas pada rentang konsentrasi CuPT 3,08 sampai 24,62 μ g/mL dengan koefisien korelasi (r^2) sebesar 0,995, dan uji presisi (keseksamaan) dengan nilai koefisien variasi 0,65%. Pada uji akurasi (kecermatan) perolehan kembali sampel dengan konsentrasi CuPT 12,31-15,38 μ g/mL berada pada rentang 99–101%, sedangkan perolehan kembali pada konsentrasi 12,31 μ g/ml berada diluar rentang 98-102%. Hasil uji *robustness* (ketegaran) memberikan rata-rata perolehan kembali sebesar 85,98 % dengan nilai koefisien variasi 4,74%.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2009, “Anti Ketombe”, *Natura Kos*, IV (11) : 2-4.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Jakarta : 7-8, 487-488.
- Feroli, V, et al, 1995, “Analysis of Pyrithione by Reserved Phased High Performance Liquid Chromatography”, *Chromatographia*, 40 (11/12) : 669-673.
- Gandjar, Ibnu Gholib dan Abdul Rohman, 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta, Pustaka Pelajar : 325-346, 378-406.
- Gritter R.J., et al, 1991, *Pengantar Kromatografi*, Edisi kedua, Terjemahan K. Padmawinata, Bandung, ITB : 186-230.
- Ibrahim, S., 1995, “Pengembangan dan Validasi Metode Analisis Kimia dalam Bidang Farmasi “, *Seminar kimia analitik*, Bandung, Dept. Farmasi FMIPA ITB.
- Johnson, E. L. dan R, Stevenson, 1991, *Dasar Kromatografi Cair*, Terjemahan Padmawinata, Bandung, ITB : 1-54, 230-255, 300-301.
- Kabacoff, B.L. dan C.M Fairchild, 1975, “Determination of zinc Pyrithione by Chelate Exchange”, *Journal Soc. Cosmet. Chem*, 26 : 453-459.

- Lodewyk, 2003, *Uji Daya Anti Fungi Beberapa Sampo Anti Ketombe yang Beredar di Kotamadya Bandung*, Skripsi. Universitas Padjadjaran, Bandung
- Martindle, 1982, *Text Book of The Axtro Pharmacopoeia*, Edisi 28, London, Pharmaceutical Press : 500.
- Menteri Kesehatan, 1988, *SK Menkes RI No. 43/MENKES/SK/II/1988 tentang Cara Pembuatan Obat yang Baik*, Jakarta.
- Mulja. M dan Suharman, 1995, *Analisis Instrumental*, Surabaya, Airlangga University Press : 236-259, 279-285.
- Munson, W. James, 1981, *Analisis Farmasi Metode Modern*, Parwa B, Terjemahan Sarjono Kisman dan Slamet Ibrahim, Surabaya, Airlangga University Press : 17-57.
- Permanasari, Anna, 2005, *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)*, Bandung, Laboratorium Kimia Instrumen UPI.
- Okamura, Hideo, et al., 2006, "Toxicity Reduction of Metal Pyrithione by Near Ultraviolet Irradiation", *Journal Environmental Toxicology*, 21(4) : 305-309.
- Rengganingati, Sekarsari, 2004, *Pengembangan Formula Sabun Cair Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L., piperaceae) dan Uji Aktivitas Antimikrobanya*, Skripsi, Dept. Farmasi FMIPA ITB, Bandung : 5-7.
- Snyder, L. R., et al, 1988. *Practical HPLC Method Development*, New York, John Willey & Sons : 15-49.
- Society of Japanese Pharmacopoeia, 1994, *The Japanese Pharmaceutical Codex (JPC) 1993*, Part I, Jepang, Yakugyo Jiho, Co., Ltd : 1246.
- Skoog, D.A., et al, 1985, *Principle of Instrumental Analysis*, 5th ed., Philadelphia, Saunders College Publishing : 334-345.
- The British Pharmacopoeia Commission, 2008, *British Pharmacopoeia 2008*, Vol IV, London, The Stationery Office : A142, A166
- The European Pharmacopoeia Commission, 2005, *European Pharmacopoeia*, 5th ed, Strasbourg, 71-72.
- The Scientific Committee on Cosmetic Product and Non Products Intended for Consumers (SNCCNFP), 2002, "Zinc Pyrithione", *Plenary Meeting Colipa P 81*.
- Tranggono, Rewtno Iswan dan Fatma Latifah, 2007, *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*, Jakarta, Gramedia Pustaka Utama : 68-74.