

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Pengertian Kosmetik

Kosmetika berasal dari kata Yunani “*kosmetikos*” yang berarti berhias. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1176/Menkes/Per/VIII/2010, kosmetika adalah bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia (epidermis, rambut, kuku, bibir dan organ genital bagian luar) atau gigi dan mukosa mulut terutama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan dan/atau memperbaiki bau badan atau melindungi atau memelihara tubuh pada kondisi baik.

Kosmetik merupakan bahan yang dipakai dalam usaha untuk mempercantik diri, dahulu diramu dari bahan-bahan alami yang terdapat di sekitarnya. Kosmetik saat ini tidak hanya dari bahan alami tetapi juga bahan buatan untuk maksud meningkatkan kecantikan (Wasitaatmadja, 1997).

B. Penggolongan Kosmetik

Penggolongan kosmetik terbagi menjadi tiga yaitu menurut bahan penggunaannya, sifat dan cara pembuatannya, dan kegunaannya bagi kulit.

1. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia, kosmetik dibagi ke dalam 13 kelompok (Tranggono dan Latifah, 2007:7) sebagai berikut:
 - a. Preparat untuk bayi, misalnya minyak bayi, bedak bayi.
 - b. Preparat untuk mandi, misalnya sabun mandi, *bath capsule*.
 - c. Preparat untuk mata, misalnya maskara, *eye-shadow*.
 - d. Preparat wangi-wangian, misalnya parfum, *toilet water*.
 - e. Preparat untuk rambut, misalnya cat rambut, *hair spray*.
 - f. Preparat pewarna rambut, misalnya cat rambut.
 - g. Preparat *makeup* (kecuali mata), misalnya bedak, *lipstick*.
 - h. Preparat untuk kebersihan mulut, misalnya pasta gigi, *mouth washes*.
 - i. Preparat untuk kebersihan badan, misalnya *deodorant*.
 - j. Preparat kuku, misalnya cat kuku, losion kuku.

- k. Preparat perawatan kulit, misalnya pembersih, pelembab, pelindung
 - l. Preparat cukur, misalnya sabun cukur.
 - m. Preparat untuk *suntan* dan *sunscreen*, misalnya *foundation sunscreen*.
2. Penggolongan menurut sifat dan cara pembuatannya (Tranggono dan Latifah, 2007:8) sebagai berikut:
- a. Kosmetik modern, diramu dari bahan kimia dan diolah secara modern (termasuk antaranya adalah *cosmedics*).
 - b. Kosmetik tradisional:
 - 1) Betul-betul tradisional, misalnya mangir, lulur, yang dibuat dari bahan alam dan diolah menurut resep dan cara yang turun-temurun.
 - 2) Semi tradisional, diolah secara modern dan diberi bahan pengawet agar tahan lama.
 - 3) Hanya namanya yang tradisional, tanpa komponen yang benar-benar tradisional dan diberi zat warna yang menyerupai bahan tradisional.
3. Penggolongan menurut kegunaannya bagi kulit (Tranggono dan Latifah, 2007:8) sebagai berikut:
- a. Kosmetik perawatan kulit (*Skin-care cosmetics*), untuk merawat kebersihan dan kesehatan kulit. Termasuk di dalamnya:
 - 1) Kosmetik untuk membersihkan kulit (*cleanser*): sabun, *cleansing cream*, *cleansing milk*, dan penyegar kulit.
 - 2) Kosmetik untuk melembabkan kulit (*moisturizer*), misalnya *moisturizing cream*, *night cream*, *anti wrinkle cream*.
 - 3) Kosmetik pelindung kulit, misalnya *sunscreen cream* dan *sunscreen foundation*, *sun block cream/lotion*.
 - 4) Kosmetik untuk menipiskan atau mengampelas kulit (*peeling*), misalnya *scrub cream* yang berisi butiran-butiran halus yang berfungsi sebagai pengampelas (*abrasiver*).
 - b. Kosmetik riasan (dekoratif atau *make-up*)

Merupakan jenis kosmetik yang diperlukan untuk merias dan menutup cacat pada kulit sehingga menimbulkan efek psikologis yang baik, seperti percaya diri (*self confidence*).

Adapun syarat dari kosmetik dekoratif antara lain adalah warna yang menarik, yang harum menyenangkan, tidak lengket, tidak menyebabkan kulit tampak berkilau, dan sudah tentu tidak merusak atau mengganggu kulit, rambut, bibir, kuku. Kosmetik dekoratif dibagi menjadi dalam dua golongan besar yaitu:

- 1) Kosmetik dekoratif yang hanya menimbulkan efek pada permukaan dan pemakaiannya hanya sebentar, misalnya bedak, lipstik, pemerah pipi, *eyeshadow*, dan lain-lain.
- 2) Kosmetik dekoratif yang efeknya mendalam dan biasanya dalam waktu lama baru luntur, misalnya kosmetik pemutih kulit, rambut kucing, pengeriting rambut, dan persiapan penghilang rambut (Tranggono dan Latifah, 2007:90).

C. Manfaat Kosmetik

Kosmetik dapat dimanfaatkan sebagai pembersih, pelembab, pelindung, penipisan, rias atau dekoratif, wangi-wangian (*Parfum*), dan kosmetik medik.

1. Pembersih

Terdapat berbagai bahan dasar yang digunakan dalam kosmetik pembersih, antara lain:

- a. Bahan dasar air, misalnya air mawar.
- b. Bahan dasar air dan alkohol, misalnya astringen.
- c. Bahan dasar air, alkali, dan minyak, misalnya sabun.
- d. Bahan dasar minyak, misalnya *cleansing oil*.
- e. Bahan dasar air dan minyak, misalnya *cleansing cream*.

2. Pelembab

Kosmetik pelembab digunakan untuk menutupi kulit kering, bahan yang digunakan merupakan minyak nabati/hewani.

3. Pelindung

- a. Perlindungan terhadap polusi yang bersifat iritan sangat kuat, misalnya di dalam lingkungan kerja pabrik kimia. Perlindungan dengan menggunakan kosmetik dasar (*foundation cream*).

b. Perlindungan terhadap pajanan sinar matahari yang mengandung sinar UV secara langsung dan lama. Perlindungan dengan menggunakan tabir surya.

4. Penipisan

Penipisan kadang perlu dilakukan pada keadaan kulit menebal dan agak kasar, misal pada gangguan keratinisasi kulit, kulit kotor, dan berminyak sehingga lapisan tanduk tidak mudah terlepas. Digunakan kosmetik yang mengandung zat dengan partikel kasar (*Scrub*).

5. Rias atau Dekoratif

Untuk memperbaiki penampilan seseorang, perubahan warna kulit, perubahan warna kuku, perubahan bentuk bagian wajah (hidung atau mata).

6. Wangi-wangian (*Parfum*)

Untuk menambah penampilan dan menutupi bau badan yang mungkin kurang sedap untuk orang lain.

7. Kosmetik Medik

Kadangkala kosmetik juga digunakan untuk pengobatan, misalnya Sulfur, Heksaklorofen (Widana, 2014:53-54).

D. Efek Samping Kosmetik

Beberapa efek samping yang diketahui setelah menggunakan kosmetik (Widana, 2014:58) antara lain:

1. Pada Kulit

- a. Dermatitis terbagi menjadi dermatitis kontak alergik dan dermatitis kontak iritan. Zat-zat yang dapat menyebabkan dermatitis diantaranya adalah *Paraphenyl diamine* (PPDA) pada cat rambut, Natrium laurilsulfat/heksaklorofen pada sabun, Hidrokuinon pada pemutih kulit.
- b. *Acne* kosmetika, zat-zat yang dapat menyebabkan *acne* kosmetika diantaranya adalah Lanolin pada bedak padat atau masker penipis (*peeling mask*), Petrolatum pada minyak rambut atau maskara, Alkohol laurat pada pelembab.
- c. Fotosensitivitas yaitu fotoalergik dalam kosmetika. Zat-zat yang dapat menyebabkan fotosensitivitas diantaranya adalah PPDA dalam pewarna

rambut, Klomerkaptodilkarboksimid dalam sampo antiketombe, PABA dan betakaroten pada tabir surya.

2. Pada Rambut dan Kuku

Akibat yang ditimbulkan adalah kerontokan rambut dan kerusakan kuku. Zat yang sering menimbulkan efek samping antara lain: Formaldehida dalam cat kuku, Natrium/kalium hidroksida pada pelepas kutikula kuku (*cuticle remover*), Tioglikolat pada kosmetika pengeriting rambut (*permanent wave*).

3. Pada Mata

Jenis kosmetik seperti *eye liner*, *mascara*, *eyeshadow* dapat menimbulkan efek samping antara lain; Rasa tersengat (*stinging*) dan rasa terbakar (*burning*) akibat iritasi oleh zat yang masuk ke mata, misalnya isoparafin, alkohol, propilen glikol atau sabun; Konjungtivitis alergi dengan atau tanpa dermatitis akibat masuknya partikel *mascara*, *eyeshadow* atau *eye liner*; Infeksi mata (ringan-berat) karena kosmetika tercemar *Pseudomonas aeruginosa*.

4. Pada Saluran Nafas

Kosmetik jenis aerosol (*hair spray* atau *deodorant spray*) dapat menyebabkan keluhan yang timbul bila digunakan dalam ruangan dengan ventilasi buruk.

E. Registrasi Kosmetik

Registrasi kosmetik disini yaitu mengetahui tentang nomor registrasi dan cara mengecek nomor registrasi di BPOM.

1. Nomor Registrasi

Cara Pembuatan Kosmetika yang Baik, selanjutnya disingkat CPKB, adalah seluruh aspek kegiatan pembuatan kosmetika yang bertujuan untuk menjamin agar produk yang dihasilkan senantiasa memenuhi persyaratan mutu yang ditetapkan sesuai dengan tujuan penggunaannya. Setiap kosmetika hanya dapat diedarkan setelah mendapat izin edar dari Menteri. Izin edar sebagaimana dimaksud berupa notifikasi.² Kosmetika yang akan diedarkan di wilayah Indonesia harus dilakukan notifikasi kepada Kepala Badan. Kosmetika yang diedarkan di wilayah Indonesia harus memenuhi kriteria:

- a. Keamanan yang dinilai dari bahan kosmetika yang digunakan sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan dan kosmetika yang dihasilkan tidak mengganggu atau membahayakan kesehatan manusia, baik digunakan secara normal maupun pada kondisi penggunaan yang telah diperkirakan;
- b. Kemanfaatan yang dinilai dari kesesuaian dengan tujuan penggunaan dan klaim yang dicantumkan;
- c. Mutu yang dinilai dari pemenuhan persyaratan sesuai CPKB dan bahan kosmetika yang digunakan sesuai dengan Kodeks Kosmetika Indonesia, standar lain yang diakui, dan ketentuan peraturan perundang-undangan; dan
- d. Penandaan yang berisi informasi lengkap, obyektif, dan tidak menyesatkan (Kepala BPOM, 2010)

Registrasi adalah prosedur pendaftaran dan evaluasi terhadap dokumen produk untuk mendapatkan izin edar. Izin edar merupakan bentuk persetujuan registrasi produk agar dapat diedarkan di wilayah Indonesia. Tujuan pemberian nomor registrasi dari BPOM kepada industri yang mendaftarkan merk dagang mereka yaitu untuk memberikan status kelayakan dan keamanan pada suatu produk yang dibuat oleh industri obat atau kosmetik yang sudah di daftarkan nomor registrasinya dan untuk bisa membedakan mana barang yang asli dengan yang palsu dengan pemberian nomor izin edar atau nomor registrasi, juga bisa melihat kebenaran produk ini legal atau ilegal berada di Indonesia. Negara-negara ASEAN sepakat untuk mengupayakan adanya harmonisasi standar dan persyaratan teknis di bidang kosmetika. Sebelum produk diedarkan, pemohon mengajukan notifikasi ke Kepala BPOM. Notifikasi inilah yang nantinya menjadi alat pengawasan pasca peredaran produk (*post market surveillance*). Nomor registrasi kosmetika di Indonesia terdiri dari 2 digit huruf dan 11 digit angka.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----

Keterangan

Digit ke 1 dan 2: menunjukkan kode benua

NA = Produk Asia

NB = Produk Australia

NC = Produk Eropa

ND = Produk Afrika

NE = Produk Amerika

Digit ke 3 dan 4 : merupakan kode negara tempat produksi kosmetika

Digit ke 5 dan 6 : merupakan tahun notifikasi

Digit ke 7 dan 8 : merupakan jenis produk

Digit ke 9 – 13 : merupakan nomor urut notifikasi

(<http://klikfarmasi.com/artikel-ilmiah/undang-undang-dan-izin-edar-kosmetika-di-indonesia/>).

2. Cara mengecek nomor registrasi di BPOM

- a. Kunjungi website resmi BPOM pada URL <https://cekbpom.pom.go.id/>
- b. Masukkan nomor registrasi produk yang ingin di cek yang tertera pada kemasan produk, lalu klik tombol “cari”
- c. Maka akan masuk ke halaman khusus yang berisi keterangan produk, kemudian sesuaikan nomor registrasi dengan nama dan jenis kosmetik, di halaman tersebut juga bisa melihat kemasan hingga nama produsen yang memproduksi produk tersebut
- d. Jika nomor registrasi yang dimasukkan ke dalam situs tidak terdaftar maka kemungkinan produk yang dimiliki belum lulus uji dari BPOM.

F. Krim Pemutih



Sumber: <https://www.viva.co.id/gaya-hidup/gaya/1049433-tiba-tiba-berhenti-pakai-krim-wajah-ini-bahayanya>.

Gambar 2.1 Krim Pemutih.

Krim adalah bentuk sediaan setengah padat mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Istilah ini secara tradisional telah digunakan untuk sediaan setengah padat yang

mempunyai konsistensi relatif cair diformulasi sebagai emulsi air dalam minyak (a/m) atau minyak dalam air (m/a) (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995:6).

Formulasi dalam krim terdiri dari bahan berkhasiat, minyak, air, zat pengemulsi, zat pengawet, dan zat antioksidan. Formulasi dasar krim terbagi menjadi dua yaitu:

1. Fase Minyak

Bahan obat yang larut dalam minyak, yaitu bahan obat yang bersifat asam. Contohnya adalah asam stearat, *adepts lanae*, *paraffin liquidum*, *cetaceum*, *vaselin*, setil alkohol, stearil alkohol, dan sebagainya.

2. Fase Air

Bahan obat yang larut dalam air, yaitu bahan obat yang bersifat basa. Contohnya adalah Polietilenglikol, propilenglikol, Surfaktan (Tween, Span, Natrium Lauril Sulfat), Gliserin, dan sebagainya.

Pemilihan Zat Tambahan/eksiipien dalam krim terbagi menjadi dua yaitu:

1. Zat Pengemulsi

Zat pengemulsi pada krim umumnya berupa surfaktan anion, kation atau nonion. Pemilihan zat pengemulsi harus disesuaikan dengan jenis dan sifat krim yang dikehendaki. Untuk tipe krim minyak dalam air (m/a) digunakan zat pengemulsi seperti trietanolaminil stearat dan golongan sorbitan, polisorbitat, poliglikol, sabun. Untuk membuat tipe emulsi air dalam minyak (a/m), digunakan zat pengemulsi seperti *adepts lanae*, setil alkohol, stearil alkohol, *cetaceum* dan emulgida.

2. Zat Pengawet

Metil paraben 0,12 % hingga 0,18 % atau propil paraben 0,02 % hingga 0,05% yang umumnya digunakan sebagai zat pengawet dalam krim (Haerani, 2017).

Krim pemutih merupakan krim yang ditujukan untuk memutihkan kulit dan terkadang digunakan pula untuk memutihkan daerah yang terkena sinar matahari, ataupun sebagai perawatan dari bintik-bintik hitam di kulit. Menurut definisi medis, krim pemutih dapat menghambat pembentukan melanin sehingga kulit akan tampak lebih cerah, bersih dan segar. Seseorang yang berkulit gelap

memiliki melanin yang lebih banyak dibandingkan dengan seseorang yang memiliki kulit kuning kecoklatan. Melanin ini berfungsi membuat kulit menjadi berwarna coklat dan bahan aktif krim pemutih ini bekerja mengurangi sel melanosit yang memproduksi melanin. Dalam melakukan usaha untuk memutihkan wajah, berbagai produk digunakan agar keinginan tersebut tercapai. Namun, seringkali konsumen melupakan bahan apa saja yang terkandung dalam krim pemutih. Terutama zat aktif yang digunakan dalam memenuhi keinginan konsumen agar kulit wajah menjadi putih. Zat aktif krim pemutih yang aman digunakan antara lain vitamin B3, sari daun murbei, provitamin B3, dan sari bengkoang (Wisesa dalam Handayana, 2019).

Senyawa lain yang sering digunakan adalah asam kojik, arbutin dan asam azelaik. Arbutin adalah bentuk glikosilasi dari hidrokuinon yang terdapat dalam ekstrak *bearberry* tetapi juga dapat disintesis dari hidrokuinon dengan glukosidasi. Diantara ekstrak alami, *mulberry* dan *licorice* adalah komponen populer yang ditambahkan ke pemutih kulit karena isolasi komponen aktifnya dan pengaruhnya terhadap inhibisi tirosinase dan pengurangan pigmen (Smit, Vicanova, Pavel, 2009).

Bahan berbahaya dalam krim pemutih sebagai berikut:

1. Hidroquinon

Hidroquinon (HQ) merupakan zat aktif yang sering digunakan dalam berbagai krim pemutih kulit. Penggunaan hidrokuinon pada krim pemutih dalam jangka waktu lama secara terus-menerus dapat terjadi leukoderma kontak dan okronosis eksogen. Hidrokuinon saat ini hanya boleh diaplikasikan untuk kuku artifisial dengan kadar maksimum 0,02% setelah pencampuran sebelum digunakan (Kepala BPOM, 2015)

2. Merkuri

Merkuri (Hg)/Air Raksa termasuk logam berat berbahaya, yang dalam konsentrasi kecilpun dapat bersifat racun. Pemakaian Merkuri dapat menimbulkan perubahan warna kulit, yang akhirnya dapat menyebabkan bintik-bintik hitam pada kulit, alergi, iritasi kulit, kerusakan permanen pada susunan syaraf, otak, ginjal dan gangguan perkembangan janin bahkan paparan jangka pendek dalam dosis tinggi dapat menyebabkan muntah-muntah, diare dan

kerusakan ginjal serta merupakan zat karsinogenik (menyebabkan kanker) pada manusia (Kepala BPOM, 2009).

Berdasarkan Siaran Pers yang dikeluarkan oleh BPOM RI tentang Temuan Kosmetik Ilegal dan Mengandung Bahan Dilarang/Bahan Berbahaya serta Obat Tradisional Ilegal dan Mengandung Bahan Kimia Obat didapatkan bahwa kosmetik didominasi oleh produk kosmetik yang mengandung merkuri, hidrokuinon dan tretinoin. Berdasarkan lampiran *public warning* No. B-HM.01.01.1.44.11.18.5410 tentang kosmetika yang mengandung bahan berbahaya salah satunya hidrokuinon yang terkandung dalam kosmetik krim pemutih.

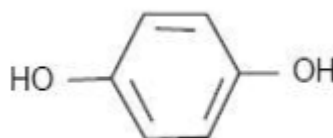
Tabel 2.1 Lampiran *public warning*

No.	Nama Produk	Kandungan Zat Berbahaya	Keterangan
1.	<i>Fairy Skin Derma Facial Set – Brightening Cream</i>	Hidrokuinon	Tidak ternotifikasi
2.	<i>Speaks G Skin Essential Brightening Rejuvenating Cream 10g</i>	Hidrokuinon dan Tretinoin	Tidak ternotifikasi
3.	<i>Deeja Cosmetic Keyuan Semula Jadi Set 5 dalam 1 – Star Cream</i>	Hidrokuinon	Tidak ternotifikasi
4.	<i>Deeja Keayuan Semula Jadi - Day Cream</i>	Hidrokuinon	Tidak ternotifikasi
5.	Mewangi Putih Krim Penaik Seri 7 Bunga – <i>Night Cream</i>	Hidrokuinon	Tidak ternotifikasi

Sumber: Kepala BPOM, 2018

G. Hidrokuinon

1. Identitas



Sumber: (Nurfitrani, 2015)

Gambar 2.2 Struktur Hidrokuinon.

Rumus kimia : $C_6H_6O_2$

Nama kimia : 1,4-benzenediol

Nama Dagang	: Alpha-hydroquinone; Hydroquinol; Quinol; Benzoquinol; Dihydroquinone; Pyrogentic acid; Quinnone; Aida; Arctuvin; Eldoquin; Eldopaque; Phiaquin; Tecquinol; Tenox HQ; Tequinol.
Berat molekul	: 110,1 g/mol
Rumus molekul	: C ₆ H ₆ O ₂
Pemerian	: Bentuk padat, kristal berbentuk seperti jarum atau serbuk, tidak berwarna hingga putih, bila terpapar cahaya dan udara dapat mengalami perubahan warna menjadi lebih gelap, tidak berbau, berasa manis.
Kelarutan	: Larut dalam alkohol, eter, aseton, dimetil sulfoksida, karbon tetraklorida; Sedikit larut dalam benzen.
Titik didih	: 285–287 °C (545-549 °F)
Titik leleh	: 173-174 °C (343-345 °F)
Penggunaan	: Digunakan pada produk kosmetik karena sifatnya sebagai <i>depigmenting agent</i> (zat yang mengurangi warna gelap pada kulit). Dalam kosmetik, selain sebagai pemutih/pencerah kulit, hidrokuinon digunakan sebagai bahan pengoksidasi pewarna rambut dan penghambat polimerisasi dalam lem untuk kuku artifisial (kuku palsu).
Toksikologi	: LD ₅₀ oral-tikus 320 mg/kg; LD ₅₀ intraperitoneal-tikus 170 mg/kg; LD ₅₀ intravena-tikus 115 mg/kg; LD ₅₀ oral-mencit 245 mg/kg; LD ₅₀ intraperitoneal-mencit 100 mg/kg; LD ₅₀ subkutan-mencit 182 mg/kg; LD ₅₀ oral-anjing 200 gm/kg; LD ₅₀ oral-kelinci 200 mg/kg; LD ₅₀ intraperitoneal-kelinci 125 mg/kg; LD ₅₀ oral-marmot 550 mg/kg; LD ₅₀ oral-mamalia 480 mg/kg; LD ₅₀ kulit-mamalia 5970 mg/kg (Sentra Informasi Keracunan Nasional, 2011).

2. Mekanisme Kerja

Melanin diproduksi oleh proses enzimatik berurutan dalam melanosom, organel yang berada di melanosit, dan kemudian ditransfer ke keratinosit terdekat untuk fotoproteksi. Tirosinase adalah enzim oksidase glikosilasi membran yang multifungsi dan mengandung tembaga yang mengintervensi tahap awal melanogenesis dengan hidroksilasi tirosin menjadi 3,4-dihidroksifenilalanin (DOPA) dan selanjutnya mengoksidasi DOPA menjadi dopaquinone. Karena tirosinase adalah enzim yang membatasi laju, sangat penting untuk sintesis melanin dan mengontrol pigmentasi di kulit (Alves, *et all*, 2020). Penghambatan tirosinase yang reversibel (enzim utama yang terlibat dalam konversi tirosin menjadi melanin) dan kerusakan selektif melanosom dan melanosit. Oleh karena itu, mekanisme kerja hidrokuinon topikal adalah melalui pencegahan produksi melanin baru. Saat sel-sel kulit matang, keratinosit yang mengandung melanin di dalam epidermis ditumpahkan dan keratinosit baru terbentuk dengan lebih sedikit melanosom yang berpigmen (Chandra, Levitt, Pensabene, 2012).

3. Dampak Penggunaan Hidrokuinon

Efek samping yang umum terjadi setelah paparan hidrokuinon pada kulit adalah iritasi, kulit menjadi merah (eritema), dan rasa terbakar. Efek ini terjadi segera setelah pemakaian hidrokuinon konsentrasi tinggi yaitu di atas 4%. Sedangkan untuk pemakaian hidrokuinon di bawah 2% dalam jangka waktu lama secara terus-menerus dapat terjadi leukoderma kontak dan okronosis eksogen.

a. Leukoderma kontak/Vitiligo

Vitiligo atau leukoderma adalah penyakit kulit yang dicirikan dengan hilangnya pigmen kulit akibat disfungsi atau matinya melanosit. Leukoderma kontak dapat terjadi jika kulit terpapar senyawa kimia dengan struktur mirip tirosin. Leukoderma akibat hidrokuinon paling sering terjadi setelah bersentuhan dengan cairan untuk cuci cetak foto. Pada satu kasus, dampak ini terjadi pada seorang pria kulit hitam yang terpapar larutan hidrokuinon 0,06% setelah 8-9 bulan.

b. Okronosis Eksogen

Okronosis merupakan diskolorisasi kulit berwarna biru kehitaman yang biasanya disebabkan penyakit alkaptonuria (penumpukan *Homogentisic Acid/HGA*). Alkaptonuria juga berhubungan dengan efek sistemik lainnya seperti gejala osteoarthritis dini, urin yang berwarna gelap dan warna kehitaman yang tampak pada sklera dan telinga. Okronosis eksogen akibat hidrokuinon terjadi setelah pajanan terhadap hidrokuinon secara terus-menerus dan dalam waktu yang panjang (kronik). Pada beberapa kasus, pasien mengalami okronosis setelah menggunakan hidrokuinon dalam konsentrasi rendah sekitar 2% selama 10-20 tahun. Pada kasus lain, pasien yang menggunakan hidrokuinon dengan konsentrasi tinggi (6%) mulai mengalami okronosis setelah pemakaian beberapa tahun. Karena hidrokuinon menyerap sinar ultraviolet, adanya sinar matahari akan memperburuk dan mempercepat terjadinya okronosis oksigen (<http://ik.pom.go.id/v2016/artikel/artikel-Hidrokinon-dalam-Kosmetik.pdf>).

4. Patofisiologi Hiperpigmentasi Pasca Inflamasi

Pada kulit normal, melanosit (sel dendritik khusus yang terletak di persimpangan dermal-epidermal) mengubah tirosin menjadi melanin melalui enzim tirosinase. Proses ini terjadi dalam vesikel intraseluler khusus yang disebut melanosom, yang kemudian ditransfer ke keratinosit dan dikirim ke permukaan epidermis. Jumlah, kandungan melanin, dan distribusi melanosom ini menentukan berbagai rona warna kulit manusia. Gangguan hiperpigmentasi biasanya diakibatkan oleh peningkatan produksi melanin dan lebih jarang dari peningkatan jumlah melanosit aktif. Faktor risiko terpenting dalam perkembangan semua kondisi hipermelanosis adalah iradiasi ultraviolet (UV) dari paparan sinar matahari. Bahkan sinar matahari minimal menopang aktivitas melanositik. karena paparan sinar UVA dan UVB menyebabkan pertumbuhan melanositik dan peningkatan transfer melanosom ke keratinosit. Perubahan warna kulit hiperpigmentasi pasca inflamasi, yang disebabkan oleh kelebihan melanin di dalam epidermis dan/atau dermis, berkisar dalam warna dari coklat ke coklat tua (melanin epidermis) atau abu-abu-biru hingga abu-abu-coklat

(melanin dermal). Hasil hiperpigmentasi epidermis dari peningkatan produksi melanin dan/atau transfer melanosom ke keratinosit (Chandra, Levitt, Pensabene, 2012).

H. Metode Untuk Analisis Hidrokuinon

Metode dalam menganalisis hidrokuinon terbagi menjadi dua yaitu analisis kualitatif dan analisis kuantitatif.

1. Analisis Kualitatif

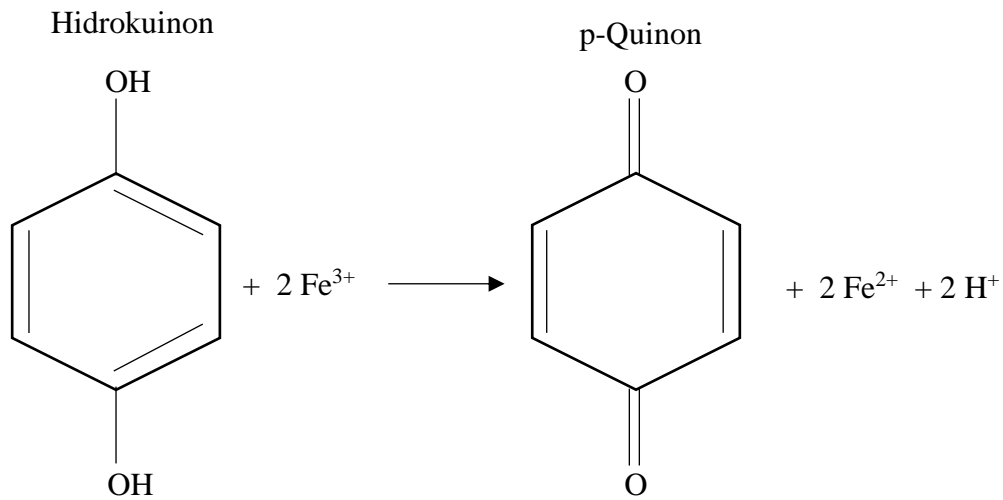
a. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Metode KLT merupakan teknik identifikasi senyawa dengan pemisahan yang cepat, mudah dan dapat memisahkan campuran yang kompleks. Larutan pengembang (fase gerak) yang digunakan berupa sistem a (n-heksan – aseton (3:2)) dan sistem b (toluen – asam asetat glasial (8:2)) dan fase diam silika gel GF254. Deteksi dapat dilakukan dengan mengamati lempeng di bawah sinar UV dengan panjang gelombang (λ) 254 nm, lalu diidentifikasi dengan menghitung nilai Rf larutan sampel dan larutan baku dan warna bercak di bawah penyinaran lampu UV. Perkiraan nilai Rf untuk sistem a yaitu lebih kurang 0,5 dan sistem b yaitu lebih kurang 0,2 – 0,3 (Kepala BPOM, 2011).

b. Reaksi Warna

Uji kualitatif menggunakan pereaksi FeCl_3 1%. Larutan FeCl_3 1% yang berfungsi untuk mengikat hidrokuinon sehingga menghasilkan endapan kuning keperakan (Adriani dan Safira, 2018).

Reaksi:



Sumber: (Pracht, *et all*, 2001)

Gambar 2.3 Reaksi FeCl_3 dan Hidrokuinon.

2. Analisis Kuantitatif

a. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang sederhana, sensitif, presisi, akurat dan cepat telah dikembangkan dan divalidasi untuk analisis hidrokuinon sebagai pemutih dalam kosmetik krim wajah. Kadarnya ditentukan dengan metode KCKT dengan fase diam ODS/C18 (4,6 mm x 150 mm) dan fase gerak asetonitril:air (60:40), laju alir 1 mL/ menit dan panjang gelombang 293 nm dan diperoleh waktu retensi 3,06 menit (Tirtasari, 2016).

b. Spektrofotometri UV-Vis

Pengukuran dengan metode Spektrofotometri UV-Vis tergolong mudah dengan kinerja yang cepat jika dibanding dengan pengukuran dengan menggunakan metode lain. Selain itu senyawa yang akan dianalisis memiliki kromofor pada strukturnya sehingga memenuhi syarat untuk dapat dianalisis menggunakan metode spektrofotometri. Hidrokuinon memiliki gugus kromofor sehingga dapat dianalisis dengan menggunakan alat Spektrofotometri UV-Vis. Uji kuantitatif, diukur absorbansi dari analit uji yang teridentifikasi pada panjang gelombang maksimum. Kemudian dihitung

konsentrasinya berdasarkan persamaan regresi yaitu $y = a \pm bx$ yang didapatkan penentuan kurva standar (Irnawati, Sahumena, Dewi, 2016).

c. Elektrokromatografi Kapiler

Elektrokromatografi kapiler (KTK) digunakan untuk analisis senyawa yang relevan dalam sediaan kosmetik. Kombinasi elektroforetik & kromatografi yaitu analit dipisahkan berdasarkan perbedaan partisi antara fase gerak dan fase diam. Aliran elektroosmotik bertanggungjawab sebagai penggerak analit. Hidrokuinon (HQ) dan beberapa turunannya (turunan metil-, dimetil-, benzil-, fenil-, propil-HQ) dianalisis dengan menggunakan fase diam oktadekilsilika (ODS) yang dikemas dalam kapiler silika leburan (100 m pertengahan; Panjang total dan efektif masing-masing 30 cm dan 21,5 cm). Amonium asetat pH 6-asetonitril (50-70%) adalah fase gerak yang digunakan untuk percobaan. Fase gerak yang mengandung 70% ACN digunakan untuk analisis ekstrak krim pengencang kulit yang dinyatakan mengandung hidrokuinon (Desiderio, Ossicini, Fanali, 2000).

d. Kromatografi Elektrokinetik Misel

Metode ini menggunakan surfaktan seperti SDS (Sodium Dodesil Sulfat) dan CTAB (Cetil Trimetil Amonium Bromida) untuk meningkatkan resolusi dengan interaksi antara inti hidrofobik di dalam misel dan analit. Sistem kromatografinya menggunakan kolom kapiler Fused silika dengan detektor UV (Jang dan Kim, 2005).

e. Kolorimetri

Metode kolorimetri menggunakan pereaksi floroglusin dalam menentukan kadar hidrokuinon pada krim pemutih. Teknik kolorimetri mempunyai keunggulan karena senyawa yang bersama-sama dengan hidrokuinon yang mengabsorpsi radiasi di daerah ultraviolet, tidak akan mengganggu pengukuran serapan radiasi pada daerah sinar tampak. Kondisi pengukuran dioptimumkan berdasarkan penentuan pengaruh konsentrasi natrium hidroksida, penentuan pengaruh lama pemanasan dan suhu optimum serta natrium hidroksida serta penentuan pengaruh jumlah floroglusin. Hasil yang diperoleh kemudian diambil sebagai prosedur baku dalam reaksi warna (Ibrahim, Damayanti, Riani, 2004).

f. Titrasi Serimetri

Titration serimetri merupakan jenis titration redoks yaitu titration yang menggunakan larutan baku serum sulfat. Sampel krim pemutih masing-masing ditambahkan indikator difenilamin sebelum dititrasi menggunakan serum sulfat. Penambahan indikator difenilamin bertujuan untuk menghasilkan warna pada saat akhir titration. Akhir titration ditandai dengan perubahan warna dari merah muda menjadi violet. Kelebihan dari metode ini antara lain, sangat stabil pada penyimpanan yang lama, tidak perlu terlindung dari cahaya dan pada pendidihan yang terlalu lama tidak mengalami perubahan konsentrasi (Astuti, Prasetya, Irsalina, 2016).

I. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan sebuah campuran menjadi komponen-komponen penyusunnya yang melibatkan dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam berfungsi menahan komponen campuran sedangkan fase gerak akan melarutkan zat komponen campuran. Komponen yang tertahan pada fase diam akan tertinggal, sedangkan komponen yang mudah larut dalam fase gerak akan bergerak lebih dulu.

Fase gerak : Pelarut yang bergerak melalui media pendukung, berbentuk gas atau cair.

Fase diam : Lapisan atau salut di atas media pendukung yang kontak langsung dengan analit, berbentuk padat atau cair, gel kolom, salut (Marjoni, 2016:122).

1. Definisi Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis ialah metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan, yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang tepat. Campuran yang akan dipisah, berupa larutan, dititikan berupa bercak atau pita (awal). Setelah pelat atau lapisan ditaruh di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang tepat (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan) (Stahl, 1985:1).

Kromatografi Lapis Tipis merupakan komponen pemisahan metode kimia berdasarkan adsorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia yang akan dipisahkan bergerak naik mengikuti fase gerak. Perbedaan daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia, mengakibatkan komponen kimia yang akan dipisahkan tersebut bergerak dengan kecepatan yang berbeda pula berdasarkan tingkat kepolarannya, sehingga terjadi pemisahan diantara komponen kimia tersebut.

Kromatografi Lapis Tipis merupakan kromatografi serapan, tetapi juga dapat merupakan kromatografi partisi karena bahan penyerap telah dilapisi air dari udara dan menggunakan silika lapis tipis atau alumina yang ditempatkan pada sebuah lempeng gelas atau logam atau plastik yang keras. Silika gel atau alumina ini berfungsi sebagai fase diam dan sering juga ditambahkan bahan-bahan yang dapat berpendar pada sinar ultra violet. Fase gerak untuk Kromatografi Lapis Tipis berupa pelarut atau campuran pelarut yang sesuai dengan bahan yang akan dipisahkan (Marjoni, 2016:128)

a. Persyaratan dalam penggunaan Kromatografi Lapis Tipis:

- 1) Senyawa yang digunakan mempunyai tingkat penguapan yang rendah.
- 2) Senyawa bersifat polar, semi polar, non polar.
- 3) Sampel dalam jumlah banyak harus dilakukan analisis secara simultan.
- 4) Sampel yang akan dianalisis akan merusak kolom pada Kromatografi Cair ataupun Kromatografi Gas.
- 5) Pelarut yang digunakan akan mengganggu penjerap dalam kolom Kromatografi Cair.
- 6) Komponen dari suatu campuran dari suatu senyawa akan dideteksi terpisah setelah pemisahan atau akan dideteksi dengan berbagai metode secara bergantian (misalnya pada *drug screening*).
- 7) Tidak ada sumber listrik.

b. Kegunaan Kromatografi Lapis Tipis:

- 1) Untuk menentukan banyaknya komponen dalam campuran.
- 2) Identifikasi senyawa.
- 3) Memantau berjalannya suatu reaksi.
- 4) Menentukan efektifitas pemurnian.

5) Screening sampel untuk obat

c. Keunggulan Kromatografi Lapis Tipis:

- 1) Mampu memisahkan campuran senyawa menjadi senyawa murninya.
- 2) Mampu mengetahui kuantitas dari suatu senyawa.
- 3) Waktu analisis cepat.
- 4) Memerlukan bahan sangat sedikit
- 5) Mampu memisahkan senyawa-senyawa yang bersifat hidrofobik.
- 6) Mengidentifikasi senyawa secara kromatografi.
- 7) Mengisolasi senyawa murni dalam skala kecil (Marjoni, 2016:129-130).

2. Preparasi Sampel

Sebelum melakukan preparasi sampel terlebih dahulu ditentukan jenis sampel dan sifat fisika kimia analit yang akan dianalisis. Jenis sampel terbagi menjadi:

a. Sampel larutan jernih

Preparasi sampel larutan jernih lebih mudah dibandingkan jenis sampel yang lain yaitu dengan mengencerkan sampel dengan pelarut yang sesuai yaitu yang mudah menguap yang dapat melarutkan sampel dan sebisa mungkin sedikit melarutkan matrik.

b. Sampel larutan keruh

Preparasi larutan keruh dilakukan dengan mengekstraksi analit dengan pelarut yang dapat melarutkan analit dengan cara manual (dikocok) atau menggunakan alat yaitu vorteks atau *ultrasonic degaser*. Penarikan analit dengan cara ekstraksi harus dipastikan bahwa analit sudah terekstraksi sempurna. Pemastian kesempurnaan ekstraksi dapat dilakukan dengan cara ekstraksi berulang atau dengan menganalisis sisa (ampas) hasil ekstraksi.

c. Sampel semisolid (setengah padat)

Preparasi sampel semisolid dilakukan dengan cara penghancuran sampel dengan cara digerus atau diblender. Sampel yang telah dihancurkan diekstraksi dengan pelarut yang dapat melarutkan analit dengan cara manual (dikocok) atau menggunakan alat dengan menggunakan vorteks atau *ultrasonic degaser*. Kesempurnaan penarikan analit dengan cara ekstraksi juga harus dipastikan. Ekstraksi pada sampel semisolid dapat dibantu dengan

pemanasan. Pemanasan dapat mengencerkan bentuk sampel dari semisolid menjadi larutan sehingga penarikan analit dalam sampel menjadi lebih mudah. Hanya saja pada pemisahan ampas dengan larutan pengekstrak sebaiknya dilakukan sebelum dingin karena bila pemisahan dilakukan setelah sampel dingin dikawatirkan analit akan terjebak kembali ke dalam sampel semisolid.

d. Sampel padat

Preparasi sampel padat dilakukan dengan cara menyerbuk sampel dengan cara digerus atau diblender. Serbuk diekstraksi dengan pelarut yang dapat melarutkan analit dengan cara manual (dikocok) atau menggunakan alat yaitu vorteks atau *ultrasonic degaser* (Wulandari, 2011:14-16).

3. Fase Diam (Penjerap)

Penjerap yang paling sering digunakan pada KLT adalah silika dan serbuk selulosa, sementara mekanisme sorpsi-desorpsi (suatu mekanisme perpindahan solut dari fase diam ke fase gerak atau sebaliknya) yang utama pada KLT adalah partisi dan adsorpsi.

Beberapa bahan yang digunakan sebagai fase diam:

a. Silika gel

Silika gel merupakan fase diam yang paling sering digunakan untuk KLT. Untuk penggunaan dalam suatu tipe pemisahan perbedaannya tidak hanya pada struktur, tetapi juga pori-porinya dan struktur lubangnya menjadi penting. Ada beberapa macam silika gel yang beredar, di antaranya:

- 1) Silika gel dengan pengikat. Umumnya sebagai pengikat adalah CaSO_4 , (5-15%). Jenis silika gel ini dinamakan Silika Gel G. Di samping itu ada juga pati sebagai pengikat dan dikenal sebagai Silika Gel S. Tetapi penggunaan pati mempunyai kelemahan, terutama jika penentuan lokasi bercak dengan asam sulfat.
- 2) Silika gel dengan pengikat dan indikator fluoresensi. Jenis silika gel ini biasanya berfluoresensi kehijauan jika dilihat pada sinar ultraviolet panjang gelombang pendek. Sebagai indikator biasanya digunakan timah kadmium sulfida atau mangan-timah silikat aktif. Jenis ini dikenal misalnya Silika Gel GF atau GF254.

- 3) Silika gel tanpa pengikat. Lapisan ini dibandingkan dengan yang mengandung CaSO_4 , menunjukkan lebih stabil. Beberapa produk dinamakan Silika Gel H atau Silika Gel N.
- 4) Silika gel tanpa pengikat tetapi dengan indikator fluoresensi.
- 5) Silika gel untuk keperluan pemisahan preparatif. Untuk keperluan pemisahan preparatif dapat digunakan Silika Gel PF_{254 + 366}.

b. Alumina

Setelah silika gel, alumina merupakan fasa diam yang paling banyak digunakan. Alumina termasuk kelompok fasa diam dengan aktivitas tinggi. Alumina untuk KLT bersifat sedikit basa (pH 9), di samping itu ada juga alumina netral (pH 7) dan alumina asam (pH 4). Dalam banyak hal digunakan CaSO_4 sebagai pengikat. Pengikat ini dapat menurunkan kebebasan alumina sampai batas tertentu. Seperti silika gel, alumina terdapat dengan atau tanpa bahan pengikat dan juga dengan indikator fluoresensi. Simbol yang digunakan untuk suatu produk tertentu sama dengan yang digunakan untuk silika gel (G, H, P, F), Sekarang alumina paling banyak digunakan untuk pemisahan senyawa yang kurang polar.

c. *Keiselguhr*

Keiselguhr merupakan penyerap dengan aktivitas rendah dan tidak banyak digunakan dalam KLT. *Keiselguhr* digunakan sebagai padatan pendukung untuk fasa diam dalam kromatografi partisi.

d. Selulosa

Selulosa yang digunakan untuk fasa diam KLT, diperoleh mekanisme yang sama seperti kromatografi kertas. Perbedaan-perbedaannya terutama pada panjang serat, yang pada KLT panjang serat lebih pendek. Panjang serat bervariasi dari 2-20 μ . Serat pendek menyebabkan difusi rendah selama pengembangan dan menghasilkan noda lebih kecil. Selulosa untuk KLT terdapat dalam dua bentuk, selulosa serat asli, misalnya MN 300 dan selulosa mikrokrystal, misalnya Avicel. Pada KLT selulosa digunakan untuk pemisahan senyawa hidrofil (Sudjadi, 1988:169-170).

Tabel 2.2 Penjerap pada fase diam yang digunakan KLT

Fase Diam	Mekanisme Kromatografi	Penggunaan
Silika gel	Adsorpsi	Asam amino, hidrokarbon, alkaloid, vitamin
Silika yang dimodifikasi dengan hidrokarbon	Partisi termodifikasi	Senyawa-senyawa non polar
Serbuk selulosa	Partisi	Asam amino, nukleotida, karbohidrat
Alumina	Adsorpsi	Hidrokarbon, alkaloid, pewarna makanan, lemak, ion logam
<i>Kieselguhr</i> (tanah diatom)	Partisi	Gula, asam-asam lemak
Selulosa penukar ion	Pertukaran ion	Asam nukleat, nukleotida, halida dan ion logam
Gel sephadex	Ekklusi	Polimer, protein, kompleks logam
β -siklodekstrin	Interaksi adsorpsi-stereospesifik	Campuran enansiomer

Sumber: Kealey dan Haines, 2002:133.

4. Fase Gerak

Fase gerak pada KLT dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering dengan mencoba-coba karena waktu yang diperlukan hanya sebentar. Sistem yang paling sederhana ialah dengan menggunakan campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal. Berikut adalah beberapa petunjuk dalam memilih dan mengoptimasi fase gerak:

- a. Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif.
- b. Pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut yang berarti juga menentukan nilai R_f , Penambahan pelarut yang bersifat sedikit polar seperti dietil eter ke dalam pelarut non polar seperti metil benzen akan meningkatkan harga R_f secara signifikan.
- c. Solut-solut ionik dan solut-solut polar lebih baik digunakan campuran pelarut sebagai fase geraknya seperti campuran dan metanol dengan perbandingan tertentu. Penambahan dikit asam etanoat atau amonia masing masing akan meningkatkan elusi solut-solut yang bersifat basa dan asam (Rohman, 2009:47-48)

Pelarut pengembang dapat dikelompokkan ke dalam deret eluotropik berdasarkan efek elusinya. Seperti ditunjukkan dalam tabel 2.3, efek elusi naik dengan kenaikan kepolaran pelarut, misalnya heksana nonpolar mempunyai efek elusi lemah, kloroform cukup kuat, dan metanol yang polar efek elusinya kuat. Tetapan Dielektrik (angka TD, ϵ) memberi informasi mengenai kepolaran suatu senyawa. Laju rambat tergantung kepada viskositas pelarut dan tentu juga kepada struktur lapisan (misalnya butiran penjerap) (Stahl, 1985:7).

Tabel 2.3 Deret eluotropik

Pelarut pengembang	Titik didih °C/760 torr	Tetapan dielektrik ϵ		Viskositas, C_p	
		Pada suhu °C 20	Pada suhu °C 25	Pada suhu 20 °C	Pada suhu 25 °C
n-Heksana	68,7	1,890	-	0,326	-
Heptana	98,4	1,924	-	0,409	-
Sikloheksana	81,4	2,023	-	1,02	-
Karbontetraklorida	76,8	2,238	-	0,969	-
Benzena	80,1	2,284	-	0,652	-
Kloroform	61,3	4,806	-	0,580	-
Eter (dietil eter)	34,6	4,34	-	0,233	-
Etil asetat	77,1	-	6,02	0,455	-
Piridina	115,1	-	12,3	0,974	-
Aseton	56,5	-	20,7	-	0,316
Etanol	78,5	-	24,30	1,2	-
Metanol	64,6	33,62	-	0,597	-
Air	100,0	80,37	-	1,005	-

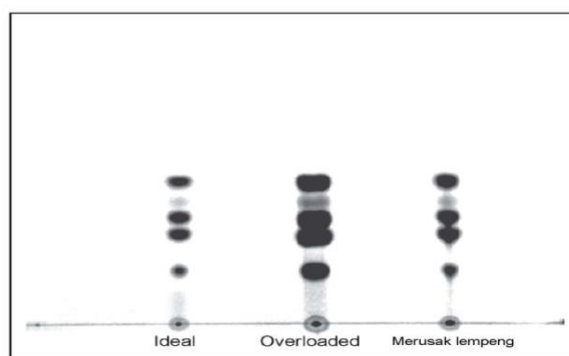
Sumber: Stahl, 1985:7

5. Aplikasi (Penitikan) Sampel

Sebelum aplikasi sampel pada lempeng KLT, posisi awal penitikan diberi tanda berupa titik dengan pensil dan akhir elusi ditandai berupa garis. Sedapat mungkin penandaan tidak merusak sorben KLT. Alat aplikasi manual yang paling banyak digunakan adalah pipet mikro kapiler (*microcaps*) yang digunakan dengan cara mencelupkan pipet kapiler mikro, larutan secara otomatis akan mengisi ruang dalam pipet mikro kapiler. Setelah terisi tempelkan pipet pada permukaan lempeng KLT maka larutan sampel akan berpindah dari pipet kapiler menuju sorben lempeng KLT. Untuk memperoleh reproduibilitas, volume sampel yang dititikkan paling sedikit 0,5 μ l. Jika volume sampel yang

akan dititikkan lebih besar dari 2-10 μl maka penitikan harus dilakukan secara bertahap dengan dilakukan pengeringan antar titikan. (Wulandari, 2011:54-56).

Pada lempeng lapis tipis konvensional (20 x 20 cm, 10 x 20 cm, 5 x 20 cm, tebal 0,2 mm) cuplikan biasanya dititikkan sebagai bercak bulat atau garis, 1,5-2,0 cm dari tepi bawah. Bercak sebaiknya berukuran sama dan mempunyai diameter 3-6 mm. Penitikan dapat dilakukan dengan mikropipet atau dengan "*microsyringe*", biasanya diperlukan 1-20 μl . Volume lebih besar dari itu dapat dititikkan bertahap dalam bagian-bagian kecil dengan pengeringan di antara penitikan itu (Sudjadi, 1988:173).



Sumber: Wulandari, 2011:55

Gambar 2.4 Pengaruh Kesalahan Sampel Pada Sorben KLT.

6. Pengembangan KLT

Elusi atau pengembangan KLT dipengaruhi oleh *chamber* yang digunakan dan kejenuhan dalam *chamber*. Terdapat beberapa jenis metode pengembangan KLT:

a. Metode pengembangan satu dimensi

1) Metode pengembangan non linier (melingkar)

Pengembangan melingkar pertama kali dilakukan dalam cawan petri yang berisi fase gerak dan sebuah sumbu ditempelkan pada lempeng KLT yang diletakkan di atas cawan. *Chamber U (Camag)* adalah chamber yang digunakan untuk pengembangan melingkar, tetapi instrumen ini tidak lagi tercantum dalam katalog *Camag*.

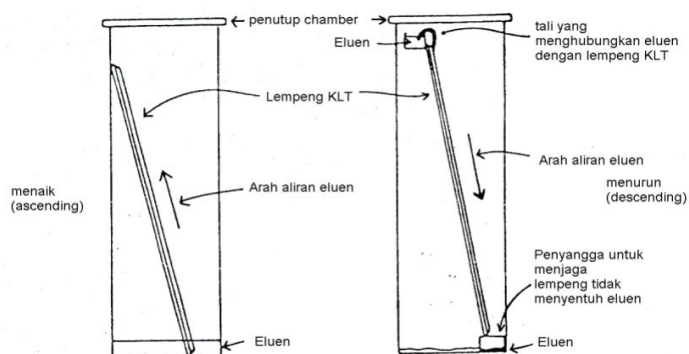
2) Metode pengembangan linier

Jarak pengembangan fase gerak biasanya kurang lebih 10-15 cm, akan tetapi beberapa ahli kromatografi memilih mengembangkan lempeng pada jarak 15-20 cm. Untuk lempeng KLT, yang mempunyai ukuran partikel lebih kecil, maka pengembangan dilakukan pada jarak antara 3-6 cm (Rohman, 2009:51).

Metode pengembangan linier dipilih dalam banyak kasus untuk mendapatkan kromatogram KLT yang baik. Metode pengembangan linier yang paling sering digunakan adalah metode pengembangan menaik (*ascending*). Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan eluen dalam *chamber*, setelah *chamber* jenuh, ujung lempeng bagian bawah direndam ke dalam eluen dalam *chamber*. Eluen bermigrasi dari bawah lempeng menuju ke atas. Sebaliknya pada pengembangan menurun (*descending*) eluen bergerak dari atas menuju ke bawah. Beberapa hal yang perlu diperhatikan pada pengembangan linier:

- a) Selama pengembangan, *chamber* harus berada di atas bidang yang datar, permukaan *chamber* juga harus sejajar (tidak miring), dan pastikan selama pengembangan tidak terganggu oleh hal-hal yang tidak diinginkan.
- b) Selama pengembangan, dalam keadaan apapun tidak diperkenankan menggerakkan *chamber* untuk mengamati proses pengembangan.
- c) Selama pengembangan juga tidak diperkenankan membuka tutup *chamber* untuk melihat garis depan eluen.

Jika pemisahan dengan cara pengembangan tunggal tidak tercapai dapat dilakukan dengan pengembangan ganda. Pada pengembangan ganda lempeng KLT dielusi sebanyak dua kali atau lebih. Setelah lempeng dielusi, lempeng dikeringkan dahulu kemudian lempeng kering dapat dielusi kembali. Tujuan pengembangan ganda adalah untuk mendapatkan resolusi yang lebih baik.



Sumber: Wulandari, 2011:48

Gambar 2.5 Pengembangan Menaik (*Ascending*) dan Menurun (*Descending*).

3) Metode pengembangan horisontal

Kebalikan dari pengembangan linier, pada pengembangan horizontal lempeng KLT dimasukkan ke dalam *chamber* terlebih dahulu. Kemudian setelah eluen dimasukkan, strip kaca didorong sehingga menempel pada lempeng KLT sehingga eluen akan bergerak melewati lempeng KLT.

4) Metode pengembangan kontinyu

Pengembangan kontinyu (pengembangan terus menerus) dilakukan dengan cara mengalirkan fase gerak secara terus-menerus pada lempeng KLT melalui suatu wadah (biasanya alas tangki) melalui suatu lapisan dan dibuang dengan cara tertentu pada ujung lapisan.

5) Pengembangan gradien

Pengembangan ini dilakukan dengan menggunakan komposisi fase gerak yang berbeda-beda. Lempeng yang berisi analit dapat dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang berisi fase gerak tertentu lalu komponen fase gerak selanjutnya ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam bejana dan diaduk sampai homogen. Tujuan utama sistem ini adalah untuk mengubah polaritas fase gerak. Meskipun demikian untuk memperoleh komposisi fase gerak yang reproduibel sangatlah sulit.

b. Metode pengembangan dua dimensi

Pengembangan dua dimensi disebut juga pengembangan dua arah. Pengembangan dua dimensi ini bertujuan untuk meningkatkan resolusi (pemisahan) sampel ketika komponen-komponen solut mempunyai

karakteristik kimia yang hampir sama, karenanya nilai R_f juga hampir sama seperti dalam sampel asam-asam amino. Selain itu, adanya dua sistem fase gerak yang sangat berbeda dapat digunakan secara berurutan pada suatu campuran tertentu sehingga memungkinkan untuk melakukan pemisahan analit yang mempunyai tingkat polaritas yang berbeda (Wulandari, 2011:46-50).

7. Deteksi Bercak

Bercak pemisahan pada KLT umumnya merupakan bercak yang tidak berwarna. Untuk penentuannya dapat dilakukan secara kimia maupun fisika. Cara kimia yang biasa digunakan adalah dengan mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi melalui cara penyemprotan sehingga bercak menjadi jelas. Cara fisika yang dapat digunakan untuk menampakkan bercak adalah dengan pencacahan radioaktif dan dengan fluoresensi di bawah sinar ultraviolet. Fluoresensi dengan sinar ultraviolet, terutama untuk senyawa yang dapat berfluoresensi, akan membuat bercak terlihat lebih jelas. Jika senyawa tidak dapat berfluoresensi, maka bahan penyerapnya akan diberi indikator yang berfluoresensi, dengan demikian bercak akan kelihatan hitam karena menyerap sinar ultraviolet sedang latar belakangnya akan kelihatan berfluoresensi. Berikut adalah cara-cara kimiawi untuk mendeteksi bercak:

- a. Menyemprot lempeng KLT dengan reagen kromogenik yang akan bereaksi secara kimia dengan seluruh solut yang mengandung gugus fungsional tertentu sehingga bercak menjadi berwarna. Kadang-kadang lempeng dipanaskan terlebih dahulu untuk mempercepat reaksi pembentukan warna dan intensitas warna bercak.
- b. Mengamati lempeng di bawah lampu ultra violet yang dipasang pada panjang gelombang (λ) emisi 254 atau 366 nm untuk menampakkan solut sebagai bercak yang gelap atau bercak yang berfluoresensi terang pada dasar yang berfluoresensi seragam. Lempeng yang diperdagangkan dapat dibeli dalam bentuk lempeng yang sudah diberi dengan senyawa fluoresen yang tidak larut yang dimasukkan ke dalam fase diam untuk memberikan dasar fluoresensi atau dapat pula dengan menyemprot lempeng dengan reagen fluoresensi setelah dilakukan pengembangan.

- c. Menyemprot lempeng dengan asam sulfat pekat atau asam nitrat pekat lalu dipanaskan untuk mengoksidasi solut-solut organik yang akan nampak sebagai bercak hitam sampai kecoklatan.
 - d. Memaparkan lempeng dengan uap iodium dalam *chamber* tertutup.
 - e. Melakukan scanning pada permukaan lempeng dengan densitometer, suatu instrumen yang dapat mengukur intensitas radiasi yang direfleksikan dari permukaan lempeng ketika disinari dengan lampu UV atau lampu sinar tampak. Solut-solut yang mampu menyerap sinar akan dicatat sebagai puncak (*peak*) dalam pencatat (*recorder*) (Rohman, 2009:52-53).
8. Nilai *Retardation factor* (Rf)

Jarak pengembangan dari suatu senyawa pada kromatografi biasanya dinyatakan dengan harga Rf yaitu jarak yang ditempuh oleh tiap bercak dari titik penitikan diukur dari pusat bercak. Nilai Rf biasanya berkisar antara 0,00-1,00 dan nilai Rf ini sangat berguna untuk mengidentifikasi suatu senyawa.

Faktor-faktor yang mempengaruhi nilai Rf adalah sebagai berikut:

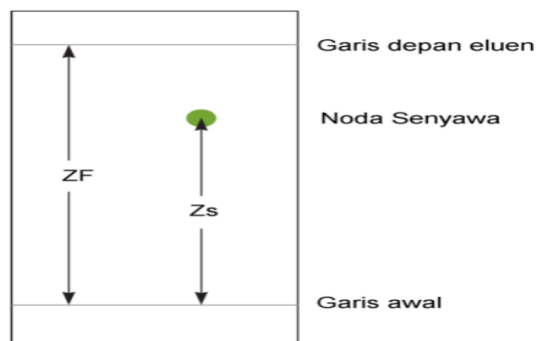
- a. Struktur kimia senyawa yang dipisahkan.
- b. Sifat penyerap.
- c. Tebal dan kerataan lapisan penyerap.
- d. Pelarut dan derajat kemurniannya.
- e. Derajat kejenuhan uap pengembang dalam bejana.
- f. Teknik percobaan.
- g. Jumlah cuplikan yang digunakan.
- h. Suhu (Marjoni, 2016:130).

Penentuan nilai Rf yaitu membandingkan jarak migrasi noda analit dengan jarak migrasi fase gerak/eluen. Retardasi faktor dapat dihitung sebagai rasio:

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat terlarut}}{\text{jarak yang ditempuh fase gerak}} = \frac{Z_s}{Z_f}$$

Nilai Rf berkisar antara 0 dan 1 dan nilai Rf terbaik antara 0,2-0,8 untuk deteksi UV. Pada Rf kurang 0,2 belum terjadi kesetimbangan antara komponen senyawa dengan fase diam dan fase gerak sehingga bentuk noda biasanya kurang simetris. Sedangkan pada Rf di atas 0,8 noda analit akan diganggu oleh absorbansi pengotor lempeng fase diam yang teramati pada visualisasi dengan

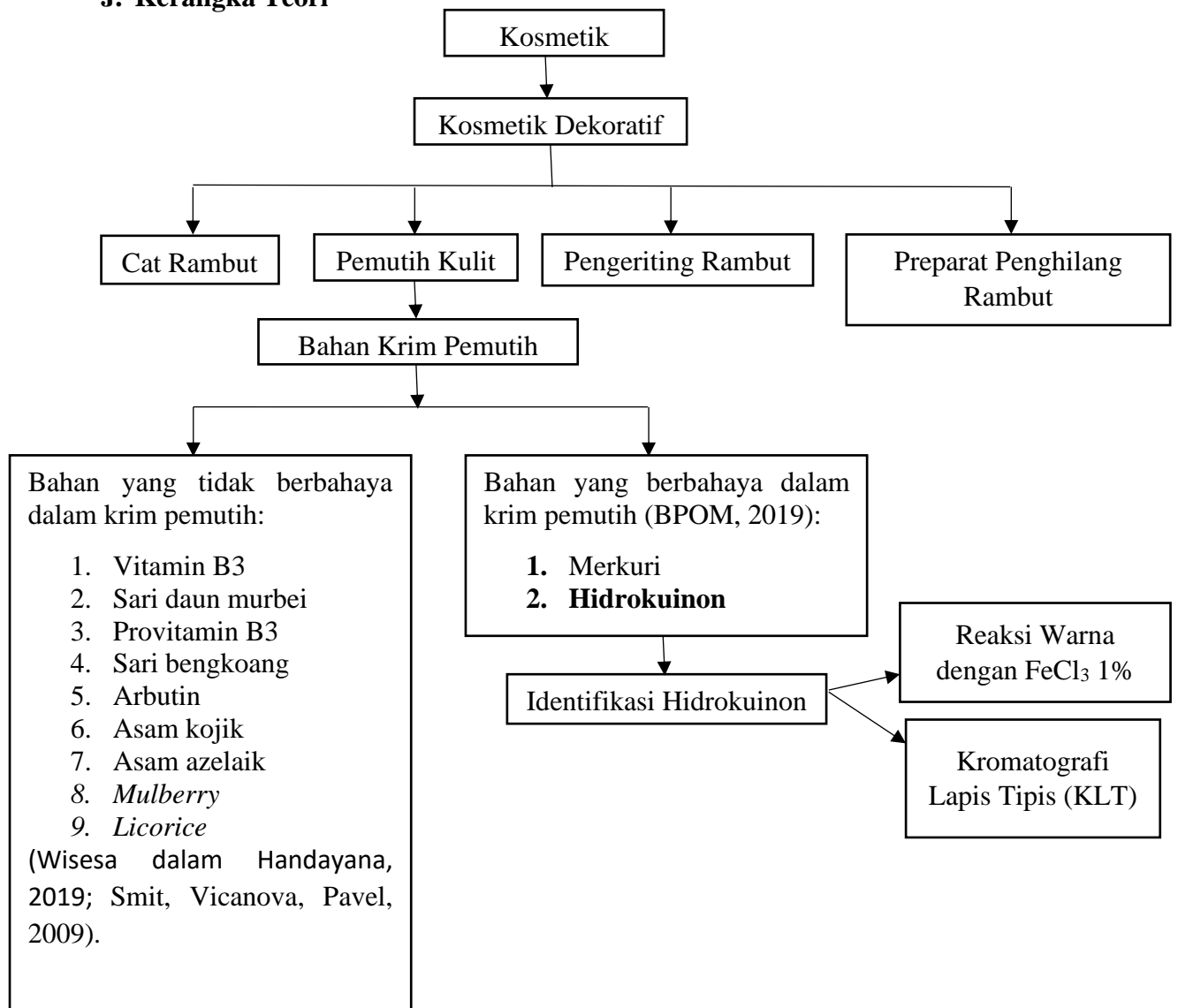
lampu UV. Nilai R_f yang reprodusiabel akan didapatkan dengan mengontrol kondisi pengembangan seperti kejenuhan *chamber*, komposisi campuran pelarut yang konstan, temperatur konstan dan lain-lain (Wulandari, 2011:125).



Sumber: Wulandari, 2011:125

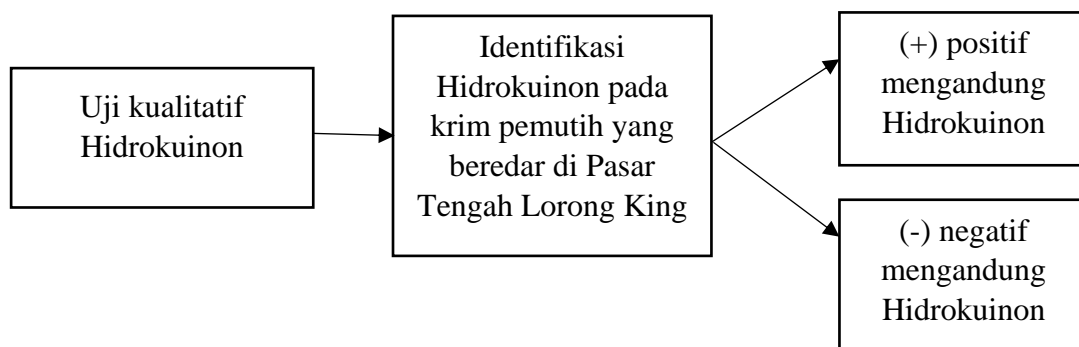
Gambar 2.6 Ilustrasi Migrasi Analit dan Eluen Lempeng KLT.

J. Kerangka Teori



Gambar 2.7 Kerangka Teori.

K. Kerangka Konsep



Gambar 2.8 Kerangka Konsep.

L. Definisi Operasional

Tabel 2.4 Definisi operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Organoleptis Krim Pemutih	1. Krim pemutih yang baunya tidak menyengat 2. Krim pemutih yang berwarna tidak mencolok dan tidak mengkilap 3. Krim pemutih yang tidak lengket	Observasi	<i>Checklist</i>	1. Berbau menyengat (+) dan tidak berbau menyengat (-) 2. Berwarna mencolok dan mengkilap (+) dan tidak berwarna mencolok dan tidak mengkilap (-) 3. Lengket (+) dan tidak lengket	Nominal
2.	Reaksi Warna dengan FeCl ₃ 1%	Pengujian hidrokuinon dalam krim pemutih menggunakan pereaksi FeCl ₃ dengan mengamati warna yang terbentuk atau perubahan warna yang terjadi	Melihat perubahan warna yang terjadi	Tabung reaksi	1. Terbentuk warna endapan kuning keperakan (+) 2. Tidak terbentuk warna endapan kuning keperakan (-)	Nominal
3.	Keberadaan Hidrokuinon	Ada atau tidaknya hidrokuinon di dalam krim pemutih yang ditunjukkan dengan nilai Rf $\pm 0,7$	Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	Lempeng KLT, penggaris, chamber	1. Nilai Rf sampel sama dengan standar (+) 2. Nilai Rf sampel tidak sama dengan standar (-)	Nominal