

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Kosmetik**

Kosmetik atau Kosmetika berasal dari kata Yunani “kosmetikos” yang berarti keterampilan menghias atau mengatur (Tranggono dan Latifah, 2014). Menurut permenkes nomor 1175 tahun 2010, disebutkan bahwa 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 membran mukosa mulut terutama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan dan atau memperbaiki bau badan atau melindungi atau memelihara tubuh pada kondisi baik (Permenkes No.1175/2010).

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. dalam Astuti, Prasetya, & Irsalina, 2016).

#### **B. Penggolongan kosmetik**

Menurut kegunaannya pada kulit, kosmetik dapat digolongkan menjadi:

1. Kosmetik perawatan kulit (*skin care*). Tujuan penggunaan dari kosmetik jenis ini adalah untuk merawat kebersihan dan kesehatan kulit termasuk di dalamnya.
  - a. Kosmetik untuk membersihkan kulit (*cleanser*) misalnya, sabun *Cleansing Milk* dan penyegar *freshner*.
  - b. Kosmetik untuk melembabkan kulit (*moisturizer*) misalnya *moisturizer cream*, *night cream*, dan *antiwrinkle cream*.
  - c. Kosmetik pelindung kulit misalnya, *sunscreen cream*, *sunscreen foundation*, *sunblock cream* atau *lotion*
  - d. Kosmetik yang menipiskan atau mengamplas kulit (*peeling*) misalnya *scrub cream* yang berisi butiran-butiran halus yang berfungsi sebagai pengamplas.

2. Kosmetik riasan atau dekoratif kosmetik riasan atau dekoratif diperlukan untuk merias dan menutup cacat pada kulit sehingga menghasilkan penampilan yang lebih menarik serta menimbulkan efek psikologis yang baik seperti percaya diri. Dalam kosmetik dekoratif peran zat warna dan zat pewangi sangat besar. Kosmetik dekoratif terbagi menjadi dua golongan antara lain:
  - a. Kosmetik dekoratif yang hanya menimbulkan efek pada permukaan dan pemakaian sebentar misalnya lipstik, bedak, pemerah pipi, *eyeshadow*, dan lain-lain.
  - b. Kosmetik dekoratif yang memiliki efek dalam jangka waktu yang lama misalnya, kosmetik pemutih kulit cat rambut pengeriting rambut dan preparat penghilang rambut (Sari, Dina dan Destria, 2019)

### C. Registrasi Kosmetik

Registrasi kosmetik disini yaitu mengetahui tentang nomor registrasi dan cara memeriksa nomor registrasi di Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM).

#### 1. Nomor Registrasi

Cara Pembuatan Kosmetika yang Baik (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. 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.
- d. Penandaan yang berisi informasi lengkap, objektif, dan tidak menyesatkan (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 antara barang yang asli atau 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

(BPOM, 2015)

## 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 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.

Jika nomor registrasi yang dimasukkan ke dalam situs tidak terdaftar maka kemungkinan produk yang dimiliki belum lulus uji dari BPOM.

## D. Krim Pemutih

Krim (*cremores*) adalah bentuk sediaan setengah padat berupa emulsi yang mengandung satu atau lebih bahan obat yang terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai dan mengandung air tidak kurang dari 60%. Krim ada dua tipe yaitu krim tipe minyak dalam air (M/A) dan tipe air dalam minyak (A/M). Tipe krim M/A ditujukan untuk penggunaan kosmetika dan estetika. Stabilitas krim akan rusak jika sistem campurannya terganggu oleh perubahan suhu dan komposisi, misalnya adanya penambahan salah satu fase secara berlebihan. Pengenceran krim hanya dapat dilakukan dengan teknik aseptis. Krim yang sudah diencerkan harus digunakan dalam waktu satu bulan. Bahan pengemulsi krim harus disesuaikan dengan jenis dan sifat krim yang dikehendaki. Sebagai bahan pengemulsi krim, dapat digunakan emulgid, lemak bulu domba, setasium, setilalkohol, stearil alkohol, golongan sorbitan, polisorbitat, Polietilena Glikol (PEG), dan sabun.

Bahan pengawet yang sering digunakan umumnya adalah metilparaben (nipagin) 0,12-0,18% dan propilparaben (nipasol) 0,02-0,05%. Krim dapat dibuat dengan cara melelehkan lemak, lemak dilebur di atas penangas air, kemudian tambahkan bagian airnya dari zat pengemulsi. Setelah itu, aduk sampai terbentuk suatu campuran yang berbentuk krim (Syamsuni, 2012).

Kelebihan sediaan krim, yaitu mudah menyebar rata, praktis, mudah dibersihkan atau dicuci, cara kerja berlangsung pada jaringan setempat, tidak lengket terutama tipe M/A, memberikan rasa dingin (*cold cream*) berupa tipe A/M, digunakan sebagai kosmetik, bahan untuk pemakaian topikal jumlah yang diabsorpsi tidak cukup beracun. Sedangkan kekurangan sediaan krim, yaitu cukup rumit dalam pembuatannya karena pembuatan krim harus dalam keadaan panas. Sediaan krim menjadi pecah apabila dalam pembuatannya terdapat formula yang tidak tepat. Kemudian sediaan krim mudah kering dan rusak khususnya untuk sediaan tipe A/M, karena sistem campuran yang rentan terpengaruh oleh perubahan suhu dan perubahan komposisi, atau bisa juga disebabkan oleh penambahan salah satu fase secara berlebihan.

Krim didefinisikan sebagai “cairan kental atau emulsi setengah padat baik bertipe air dalam minyak atau minyak dalam air”. Krim biasanya digunakan sebagai emolien atau pemakaian obat pada kulit.

Krim pemutih merupakan campuran bahan kimia dan atau bahan lainnya dengan khasiat bisa memutihkan kulit atau memucatkan noda hitam (coklat) pada kulit (Anggraeni, 2014).

Berdasarkan cara penggunaannya produk pemutih kulit dibedakan menjadi 2 (dua), yaitu:

1. *Skin Bleaching*

*Skin Bleaching* adalah pemutih yang mengandung bahan aktif yang kuat, yang berfungsi memudahkan noda-noda hitam, tidak digunakan secara merata pada kulit dan tidak digunakan pada siang hari.

## 2. *Skin lightening*

*Skin lightening* adalah produk perawatan kulit yang digunakan dengan tujuan agar kulit pemakai tampak lebih putih, cerah dan bercahaya. Produk *lightening* kategori ini dapat digunakan secara merata pada seluruh permukaan kulit (Anggraeni, 2014).

## **E. Bahan Krim**

### 1. Bahan dasar

Krim mempunyai suatu emulsi minyak dalam air (M/A) atau air dalam minyak (A/M) memiliki bahan penyusun antara lain Asam stearat, *Adeps lanae*, *Paraffin liquid*, dan *Aquadest*.

### 2. Bahan aktif

Bahan aktif yang biasanya terkandung dalam sediaan adalah bahan yang larut dalam air, larut dalam minyak atau memberi efek lokal pada kulit.

### 3. Zat tambahan

Bahan tambahan merupakan bahan yang digunakan untuk memberikan keadaan yang lebih baik dari suatu krim. Bahan tambahan yang sering digunakan adalah:

#### a. Zat pengemulsi

Pemilihan zat pengemulsi harus disesuaikan dengan jenis dan sifat krim yang dikehendaki, sebagai pengemulsi dapat digunakan triethanolamin, emulgid, lemak bulu domba, setaseum, setil alkohol, dan golongan sorbitol, polisorbat.

#### b. Zat pengawet

Mencegah timbulnya bau tengik dalam sediaan krim biasanya ditambahkan antioksidan sebagai pengawet dapat digunakan nipagin.

#### c. Zat pewangi dan zat pewarna

Zat-zat lain berguna untuk meningkatkan daya tarik suatu krim dan warna yang sebenarnya dari krim (Wasitaatmadja, 1997. dalam Astuti, Prasetya, & Irsalina, 2016).

Bahan berbahaya yang dilarang dalam kosmetik sesuai Peraturan Kepala Badan POM No. 18 Tahun 2015 Tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika. sebagai berikut:

#### 1. Hidrokuinon

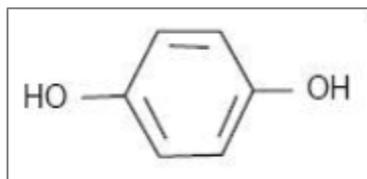
Hidrokuinon merupakan zat aktif yang sering digunakan dalam berbagai krim pemutih kulit. Penggunaan hidrokuinon pada krim pemutih dalam jangka waktu lama secara terus-menerus dapat terjadi leukoderma kontak dan okronosis eksogen. Hidrokuinon saat ini hanya boleh diaplikasikan untuk kuku artifisial dengan kadar maksimum 0,02% setelah pencampuran sebelum digunakan, serta sebagai bahan pengoksidasi pewarna rambut dengan kadar maksimal 0,3%.

#### 2. Merkuri

Merkuri (Hg)/Air Raksa termasuk logam berat berbahaya, yang dalam konsentrasi kecil 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.

### F. Hidrokuinon

#### 1. Identitas



Sumber: Nurfitriani, 2015

Gambar 2.1 Struktur Hidrokuinon.

Rumus kimia	:	$C_6H_6O_2$
Nama kimia	:	1,4-benzenediol
Berat molekul	:	110,1 g/mol
Pemerian	:	Berbentuk jarum halus, putih, mudah menjadi gelap dengan adanya paparan cahaya dan udara.
Kelarutan	:	Mudah larut dalam air, dalam etanol dan dalam eter.
Titik didih	:	285-287 °C (545-549 °F)
Titik leleh	:	173-174 °C (343-345 °F) (Depkes, 2014)
Penggunaan	:	Digunakan untuk menghilangkan bercak hitam pada wajah karena hidrokuinon mampu mengelupas kulit bagian luar dan menghambat pembentukan melanin yang membuat kulit tampak hitam. Selain itu, hidrokuinon juga digunakan pada kosmetik karena memiliki sifat sebagai antioksidan dan sebagai depigmenting agent (zat untuk mengurangi warna gelap pada kulit). Hidrokuinon juga dapat digunakan sebagai bahan pengoksidasi pewarna rambut dan penghambat polimerisasi dalam lem untuk pewarna kuku artifisial (BPOM, 2021).

## 2. Mekanisme Kerja

Dalam dunia kosmetika, hidrokuinon berperan sebagai zat pemutih kulit. Sasaran utama dari kerja hidrokuinon adalah melanin. Cara kerjanya dengan merusak melanosit pembentuk melanin. Melanin adalah butir-butir pigmen yang menentukan warna kulit (putih, coklat atau hitam). Pada kulit gelap, kadar melanin lebih banyak dibandingkan kulit kuning kecoklatan (Anggraeni, 2014).

### 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 lebih dari 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. 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. Hidrokuinon yang digunakan pada kulit akan menyerap sinar ultraviolet, dan akan memperburuk serta mempercepat terjadinya okronosis eksogen (BPOM, 2016).

## G. 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 atau fase gerak yang dapat digunakan berupa sistem a dengan n-heksan dan aseton perbandingan 3 berbanding dua, atau sistem b toluen dan asam asetat glasial perbandingan 8 berbanding 2, dan fase diam silika gel GF254. Deteksi dapat dilakukan dengan mengamati lempeng di bawah sinar UV dengan panjang gelombang ( $\lambda$ ) 254 nm, lalu diidentifikasi dengan menghitung nilai  $R_f$  larutan sampel dan larutan baku dan warna bercak di bawah penyinaran lampu UV. Perkiraan nilai  $R_f$  untuk sistem a yaitu lebih kurang 0,5 dan sistem b yaitu lebih kurang 0,2 – 0,3 (BPOM, 2011).

#### b. Reaksi Warna

Uji kualitatif menggunakan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1%. Larutan  $\text{FeCl}_3$  1% yang berfungsi untuk mengikat hidrokuinon sehingga menghasilkan endapan kuning keperakan (Adriani dan Safira, 2018).

### 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 menggunakan metode KCKT dengan fase diam ODS/C18 (4,6 mm x 150 mm) dan menggunakan fase gerak asetonitril:air (60:40), laju alir 1 mL/menit dengan panjang gelombang 293 nm, 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).

### H. Kromatografi

Kromatografi merupakan teknik pemisahan yang paling umum dan paling sering digunakan dalam bidang kimia analisis dan dapat dimanfaatkan untuk melakukan analisis, baik analisis kualitatif, kuantitatif, atau preparatif dalam bidang farmasi. Kromatografi menggunakan fase diam (*stationary phase*) dan fase gerak (*mobile phase*) (Ganjar dan Rohman, 2017).

Kromatografi merupakan salah satu teknologi untuk memisahkan 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 yang berbentuk gas atau cair.

Fase diam: Lapisan atau salut di atas media pendukung yang kontak langsung dengan analit. Berbentuk padat, cair, dan gel (Marjoni, 2016:122-123).

Prinsip dasar dari kromatografi adalah adanya *absorbs* dari absorben tertentu terhadap senyawa hasil isolasi maupun terhadap pengotor. Pemisahan komponen kimia terjadi berdasarkan prinsip *absorbs* dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (absorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia yang akan dipisahkan bergerak naik mengikuti fase gerak (Marjoni, 2016: 123-124).

## **I. Kromatografi Lapis Tipis**

### **1. Definisi Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas dan elektroforesis. Pada kromatografi lapis tipis, fase diamnya berupa lapisan yang seragam (*uniform*) pada permukaan bidang datar yang didukung lempeng kaca, pelat alumunium, atau pelat plastik. Meskipun demikian kromatografi planar ini dapat dikatakan sebagai bentuk terbuka dari kromatografi kolom (Ganjar dan Rohman, 2017).

Prinsip Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah komponen kimia akan naik mengikuti fase gerak akibat daya absorpsi dari fase diam (absorben). Kemampuan menyerap dari fase diam terhadap masing-masing komponen kimia berbeda-beda tergantung tingkat kepolarannya sehingga dengan adanya perbedaan daya serap ini, akan terjadi pemisahan dari masing-masing komponen. Kromatografi lapis tipis menggunakan sebuah silica lapis tipis atau alumina yang ditempatkan pada sebuah lempeng gelas, 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. Kegunaan Kromatografi Lapis Tipis:**

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

- 4) Menentukan efektifitas pemurnian.
  - 5) Menentukan kondisi yang sesuai untuk kromatografi kolom.
  - 6) Untuk memantau kromatografi kolom.
  - 7) Melakukan *screening* sampel untuk obat.
- b. 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).
- Beberapa keuntungan lain Kromatografi Lapis Tipis adalah:
- a. Kromatografi Lapis Tipis banyak digunakan untuk tujuan analisis
  - b. Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoroesensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultraviolet
  - c. Dapat dilakukan elusi secara menaik (*ascending*), menurun (*descending*), atau dengan cara elusi 2 dimensi,
  - d. Ketepatan penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak (Ganjar dan Rohman, 2017).
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 atau menggunakan alat yaitu vorteks (*ultrasonic degaser*). Penarikan analit dengan cara ekstraksi harus dipastikan bahwa analit sudah terekstraksi sempurna. Untuk memastikan 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 atau menggunakan alat yaitu vorteks (*ultrasonic degaser*). Kesempurnaan penarikan analit dengan cara ekstraksi juga harus dipastikan. Ekstraksi pada sampel semisolid dapat dibantu dengan pemanasan. Pemanasan dapat mencairkan bentuk sampel dari semisolid menjadi larutan sehingga penarikan analit dalam sampel menjadi lebih mudah. Hanya saja pada pemisahan ampas dengan larutan pengeksrak 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 menggunakan mortir dan stemper secara manual, atau menggunakan blender. Serbuk diekstraksi dengan pelarut yang dapat melarutkan analit dengan cara manual atau menggunakan alat vorteks (*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  $\text{CaSO}_4$ , (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  $\text{CaSO}_4$ , 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<sub>254 + 366</sub>.

b. Alumina

Setelah silika gel, alumina merupakan fase diam yang paling banyak digunakan. Alumina termasuk kelompok fase 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  $\text{CaSO}_4$  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 fase diam dalam kromatografi partisi.

d. Selulosa

Selulosa yang digunakan untuk fase diam KLT, diperoleh mekanisme yang sama seperti kromatografi kertas. Terdapat perbedaan dibandingkan jenis fase diam yang lainnya, terutama pada panjang serat, yang pada KLT panjang serat lebih pendek. Panjang serat bervariasi dari 2-20 $\mu$ . 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 mikrokristal, misalnya Avicel. Pada KLT selulosa digunakan untuk pemisahan senyawa hidrofil (Wulandari, 2011).

Tabel 2.1 Penjerap pada fase diam yang digunakan pada 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, dan halida
Gel sephadex	Ekklusi	Polimer, protein,
$\beta$ -siklodekstrin	Interaksi adsorpsi-stereospesifik	Campuran enansiomer

Sumber: Ganjar dan Rohman, 2015:355

#### 4. Fase Gerak

Fase gerak pada KLT dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering dengan percobaan 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 2.2, 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,  $\epsilon$ ) memberi informasi mengenai kepolaran suatu senyawa. Laju rambat tergantung kepada viskositas pelarut dan tentu juga kepada struktur lapisan (misalnya butiran penjerap) (Stahl, 1985:7. dalam Ganjar dan Rohman, 2015).

Tabel 2.2 Deret eluotropik

Pelarut pengembang	Titik didih °C	Tetapan dielektrik $\epsilon$		Viskositas $C_p$	
		Pada suhu 20 °C	Pada suhu 25 °C	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	-
Karbontetra-klorida	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. dalam Ganjar dan Rohman, 2015

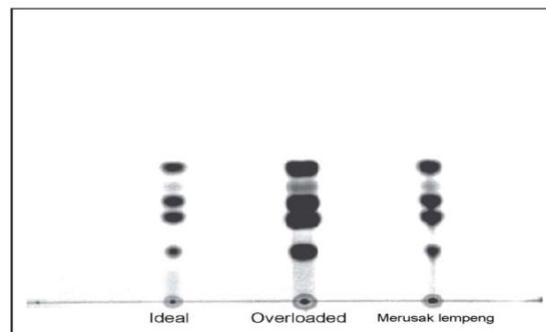
Larutan pengembang atau fase gerak yang dapat digunakan menurut BPOM (2011) tentang Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.03.1.23.08.11.07331 Tentang Metode Analisis Kosmetika, berupa sistem A yaitu campuran n-heksan dan aseton dengan perbandingan 3 berbanding 2, atau sistem B yaitu campuran toluen dan asam asetat glasial perbandingan 8 berbanding 2 (BPOM, 2011). Dalam penelitian ini digunakan Sistem A sebagai larutan pengembang.

##### 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 dititikan paling

sedikit 0,5  $\mu\text{l}$ . Jika volume sampel yang akan dititikkan lebih besar dari 2-10  $\mu\text{l}$  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, diperlukan 1-20  $\mu\text{l}$ . Volume lebih besar dari itu dapat dititikkan bertahap dalam bagian-bagian kecil dengan pengeringan di antara penitikan yang dilakukan (Wulandari, 2011).



Sumber: Wulandari, 2011:55

Gambar 2.2 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)

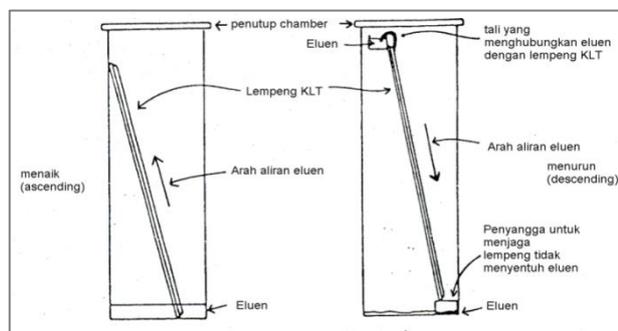
Pengembangan melingkar pertama kali dilakukan dalam cawan petri yang berisi fase gerak dan sebuah sumbu ditempelkan pada lempeng KLT yang diletakkan diatas cawan. *Chamber U (Camag)* adalah chamber yang digunakan untuk pengembangan melingkar, tetapi instrumen ini tidak lagi tercantum dalam katalog *Camag*.

## 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:

- 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.
- Selama pengembangan, dalam keadaan apapun tidak diperkenankan menggerakkan *chamber* untuk mengamati proses pengembangan.
- Selama pengembangan juga tidak diperkenankan membuka tutup *chamber* untuk melihat garis depan eluen.



Sumber: Wulandari, 2011:48

Gambar 2.3 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.

### 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. 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 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 ( $\lambda$ ) 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  $R_f$  yaitu jarak yang ditempuh oleh tiap bercak dari titik penitikan diukur dari pusat bercak. Nilai  $R_f$  biasanya berkisar antara 0,00-1,00 dan nilai  $R_f$  ini sangat berguna untuk mengidentifikasi suatu senyawa.

Faktor-faktor yang mempengaruhi nilai  $R_f$  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  $R_f$  yaitu membandingkan jarak migrasi noda analit dengan jarak migrasi fase gerak/eluen. Retardasi faktor dapat dihitung sebagai rasio:

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

Nilai  $R_f$  berkisar antara 0 dan 1 dan nilai  $R_f$  terbaik antara 0,2-0,8 untuk deteksi UV. Pada  $R_f$  kurang 0,2 belum terjadi kesetimbangan antara komponen senyawa dengan fase diam dan fase gerak sehingga bentuk noda biasanya kurang simetris. Sedangkan pada  $R_f$  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 reproduibel akan didapatkan dengan mengontrol kondisi pengembangan seperti kejenuhan *chamber*, komposisi campuran pelarut yang konstan, temperatur konstan dan lain-lain (Wulandari, 2011:125).

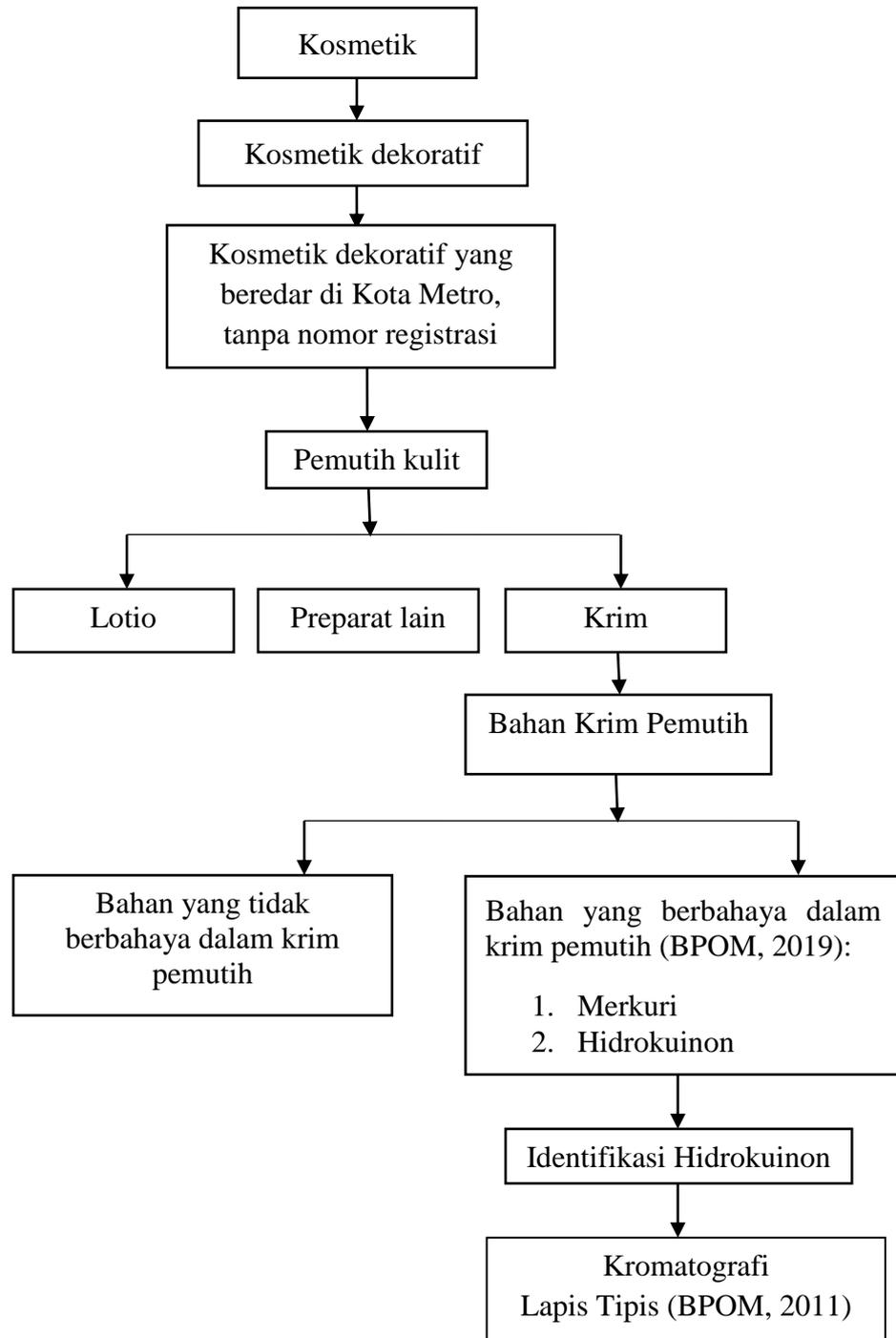
Pada identifikasi Hidrokuinon pada krim pemutih menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis, sampel akan dinyatakan positif jika angka  $R_f$  larutan uji sama atau mendekati  $R_f$  larutan baku pembanding dengan selisih  $\leq 0,05$  (Primadinanti, Feladita, dan Rositasari, 2018).



Sumber: Wulandari, 2011:125

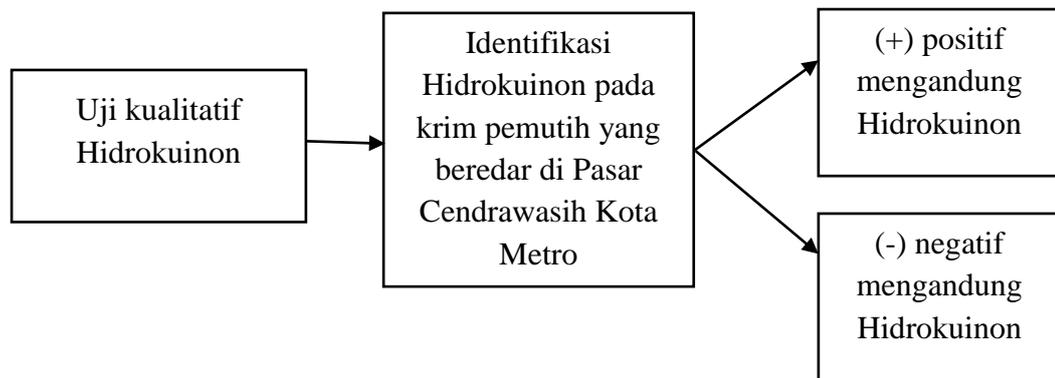
Gambar 2.4 Ilustrasi Migrasi Analit dan Eluen Pada Lempeng KLT.

## J. Kerangka Teori



Gambar 2.5 Kerangka Teori.

### K. Kerangka Konsep



Gambar 2.6 Kerangka Konsep.

## L. Definisi Operasional

Tabel 2.3 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Organoleptis Krim Pemutih					
a.	Bau	Krim pemutih yang baunya tidak menyengat	Observasi	<i>Checklist</i>	1. Berbau menyengat (+) 2. Tidak berbau menyengat (-)	Nominal
b.	Warna	Krim pemutih yang berwarna tidak mencolok dan tidak mengkilap	Observasi	<i>Checklist</i>	1. Berwarna mencolok dan mengkilap (+) 2. Tidak berwarna mencolok dan tidak mengkilap (-)	Nominal
c.	Tekstur	Krim pemutih yang tidak lengket	Observasi	<i>Checklist</i>	1. Lengket (+) 2. Tidak lengket (-)	Nominal
2.	Keberadaan Hidrokuinon	Ada atau tidaknya hidrokuinon di dalam krim pemutih yang ditunjukkan dengan nilai $R_f \pm 0,5$	Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	Lempeng KLT, penggaris, <i>chamber</i>	1. Nilai $R_f$ sampel sama dengan standar (+) 2. Nilai $R_f$ sampel tidak sama dengan standar (-)	Nominal