

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. 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 juga diartikan sebagai 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, S.M, 2011).

Kosmetik saat ini menjadi suatu hal yang penting dalam kehidupan manusia. Kosmetik memang bukanlah kebutuhan primer, tetapi kosmetik menjadi suatu produk yang selalu digunakan setiap harinya oleh masyarakat. Tidak hanya digunakan sebagai fungsi untuk meningkatkan estetika, kosmetik juga memiliki peran dalam penyembuhan dan perawatan kulit. Oleh karena itu penggunaan kosmetik harus dipastikan bahwa kosmetik yang digunakan aman dan tidak mengandung bahan-bahan berbahaya. kosmetika merupakan produk yang diformulasi dari berbagai bahan-bahan aktif dan bahan-bahan kimia yang akan bereaksi ketika diaplikasikan pada jaringan kulit (Mulyawan dan Neti Suariana, 2013:2).

B. Penggolongan Kosmetik

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia, kosmetik dibagi ke dalam 13 kelompok (Tranggono dan Fatma, 2007:7), sebagai berikut :

1. Preparat untuk bayi, misalnya minyak bayi, bedak bayi.
2. Preparat untuk mandi, misalnya sabun mandi, *bath capsule*.
3. Preparat untuk mata, misalnya maskara, *eye-shadow*.

4. Preparat wangi-wangian, misalnya parfum, *toilet water*.
5. Preparat untuk rambut, misalnya cat rambut, *hair spray*.
6. Preparat pewarna rambut, misalnya cat rambut.
7. Preparat *makeup* (kecuali mata), misalnya bedak, *lipstick*.
8. Preparat untuk kebersihan mulut, misalnya pasta gigi, *mouth washes*.
9. Preparat untuk kebersihan badan, misalnya *deodorant*.
10. Preparat kuku, misalnya cat kuku, losion kuku.
11. Preparat perawatan kulit, misalnya pembersih, pelembab, pelindung
12. Preparat cukur, misalnya sabun cukur.
13. Preparat untuk *suntan* dan *sunscreen*, misalnya *foundation sunscreen*.

Kosmetik menjadi salah satu produk yang berkembang pesat di pasaran. Kosmetik yang beredar di pasaran memiliki jenis yang berbeda-beda. Menurut sifat dan cara pembuatannya, kosmetika dapat dibagi menjadi 2 golongan besar yaitu kosmetika tradisional dan kosmetika modern. (Tranggono dan Fatma, 2007:8). Berikut ini adalah penjelasannya :

1. Kosmetik modern, diramu dari bahan kimia dan diolah secara modern (termasuk antaranya adalah *cosmetics*).
2. Kosmetik tradisional :
 - a. Betul-betul tradisional, misalnya mangir, lulur, yang dibuat dari bahan alam dan diolah menurut resep dan cara yang turun-temurun.
 - b. Semi tradisional, diolah secara modern dan diberi bahan pengawet agar tahan lama.
 - c. Hanya namanya yang tradisional, tanpa komponen yang benar-benar tradisional dan diberi zat warna yang menyerupai bahan tradisional.

C. Kosmetik Menurut Penggunaannya Bagi Kulit

Menurut kegunaannya, kosmetika dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kosmetika perawatan kulit dan kosmetika dekoratif (Tranggono dan Fatma, 2007:8). Berikut ini adalah penjelasannya :

1. Kosmetik Perawatan Kulit

Kosmetika perawatan kulit adalah kosmetika yang penggunaannya bertujuan untuk membersihkan, melindungi dan memelihara kesehatan kulit. Kosmetika perawatan kulit dapat dikelompokkan berdasarkan kegunaannya sebagai berikut :

a. Kelompok Pembersih

Jenis kosmetika pembersih kulit dinamakan dengan *cleansing cream milk* atau krim/susu pembersih yang digunakan untuk membersihkan kotoran, debu atau *make up* pada kulit.

b. Kelompok Penyegar

Kosmetika penyegar kulit umumnya berupa cairan bening atau lotion. Cairan penyegar sering disebut sebagai *toning lotion/astringent lotion*, yang gunanya untuk memberikan rasa segar dan meringkaskan pori-pori.

c. Kosmetik Pelembab

Kosmetika pelembab biasanya berbentuk cream atau lotion, gunanya untuk memberikan kelembaban terutama untuk kulit kering atau normal, sehingga terjaga kelembabannya

d. Kosmetik Pelindung

Kosmetika pelindung biasanya disebut dengan *sunscreen* atau tabir surya, gunanya untuk melindungi kulit dari sengatan matahari.

e. Kelompok Penipis

Kosmetika penipis kulit biasanya berbentuk bubuk atau cream, yang disebut dengan *peeling*. Gunanya untuk mengangkat atau membuang sel-sel kulit yang sudah mati agar tidak terjadi penebalan kulit dan penyumbatan pori-pori.

f. Kelompok Pencegah dan Penyembuhan Kelainan Pada Kulit

Kosmetika tersebut berupa kosmetika anti jerawat, pemutih kulit dan deodorant (anti keringat) yang fungsinya sesuai dengan jenis kosmetika yang digunakan.

g. Kosmetik Perawatan Rambut

Kosmetika perawatan rambut berupa shampoo untuk mencuci rambut, *conditioner* untuk mengembalikan kondisi rambut dan *hair tonic* untuk menyehatkan rambut dan kulit kepala.

2. Kosmetik Dekoratif

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:

- a. Kosmetik dekoratif yang hanya menimbulkan efek pada permukaan dan pemakaiannya hanya sebentar, misalnya bedak, lipstik, pemerah pipi, *eyeshadow*, dan lain-lain.
- b. 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 Fatma, 2007:90).

Kosmetika perawatan pada dasarnya dapat digolongkan sesuai dengan bagian-bagian tubuh yaitu kosmetika perawatan kulit wajah, kosmetika perawatan badan, dan kosmetika perawatan kulit kepala dan rambut.

1. Kosmetika Perawatan Kulit Wajah

Kosmetika jenis ini dapat terdiri dari :

- a. Pembersih (*Milk Cleanser*)
- b. Penyegar (*Toning*)
- c. Pengelupasan sel tanduk (*Chemical Peeling*)
- d. Krim pengurut (*Masage Cream*)
- e. Masker
- f. Pelembab (*Moistorizer*)
- g. Krim Vitamin (*Eye Cream, Night Cream*)
- h. Krim pelindung (*Sunscreen*)

(Setiyani M.G. 1996 dalam Asih, 2006:16)

2. Kosmetika Perawatan Badan

Kosmetika jenis ini dapat terdiri dari :

- a. Pembersih seperti sabun mandi, lulur, pembersih kuku, bubuk batu apung anti septik.

- b. Pelembab kulit badan seperti *body lotion*, cream pengurut.
- c. Penyegar seperti deodorant spray, *body splash*.

(Hakim, 2001:26)

D. Tujuan dan Fungsi Kosmetik

Menurut Rostamailis (2005) tujuan pemakaian kosmetik adalah untuk memelihara dan merawat kecantikan kulit dengan kontinu dan teratur, sehubungan dengan itu fungsi dan tujuan penggunaan kosmetik dapat dikelompokkan sebagai berikut:

1. Melindungi kulit dari pengaruh-pengaruh luar yang merusak misalnya sinar matahari, perubahan cuaca, dan sebagainya.
2. Mencegah lapisan terluar kulit dari kekeringan, terutama orang-orang yang tinggal di daerah yang iklimnya dingin seperti daerah pegunungan yang selalu lembab dan diselimuti awan.
3. Mencegah kulit cepat kering dan berkeriput, karena kosmetik menembus ke bawah lapisan luar dan memasukkan bahan-bahan
4. Melekat di atas permukaan kulit untuk mengubah warna atau rona daerah kulit tertentu. Aktif ke lapisan-lapisan yang terdapat lebih dalam
5. Memperbaiki kondisi kulit misalnya kulit yang kering, normal, berminyak, dan sebagainya.
6. Menjaga kulit tetap muda (kencang).
7. Mengubah rupa/penampilan misalnya, bila telah dipakai kosmetik yang diinginkan sehingga orang memandang pemakai kosmetik perasaan berubah, bisa berubah bertambah cantik atau sebaliknya

Selain itu, Tujuan utama penggunaan kosmetik pada masyarakat modern adalah untuk kebersihan pribadi, meningkatkan daya tarik melalui make up, meningkatkan rasa percaya diri dan perasaan tenang, melindungi kulit dari sinar ultraviolet, polusi dan faktor lingkungan yang lain, mencegah penuaan, dan secara umum membantu seseorang lebih menikmati dan menghargai hidup.

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. 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, obyektif, dan tidak menyesatkan (Badan POM RI, 2010)

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

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

Krim adalah bentuk sediaan semi padat yang mengandung satu atau lebih jenis bahan yang terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai dan mengandung air tidak kurang dari 60%. Krim pemutih adalah sediaan krim yang mengandung campuran bahan kimia dan bahan lain didalamnya. Digunakan untuk memucatkan noda hitam/coklat pada kulit (SNI, 1998). Tujuan penggunaan krim pemutih ialah untuk meratakan warna kulit, seperti bitnik-bintik hitam yang disebabkan oleh sinar matahari, kemudian untuk luka parut yang disebabkan oleh hormonal. (Shai, dkk, 2009). Pemutih krim ialah campuran bahan aktif yang dapat menghambat atau menekan perkembangan melanin yang sudah terbentuk sehingga akan menghasilkan kulit yang lebih putih, (Afifah, 2015).

G. Penggolongan Krim Pemutih

Mekanisme kerja bahan pemutih ialah menghambat pada satu atau beberapa tahapan sintesis melanin melalui jalur inhibisi enzim tironase. Ada beberapa

bahan yang bersifat toksik terhadap melanin. Efek samping yang dapat disebabkan dari penggunaan pemutih kulit antara lain adalah iritasi, alergi, jerawat, dan penyumbatan. Beberapa bahan pemutih dengan efektifitas yang berbeda-beda yang sering digunakan berdasarkan penggolongan produk pemutih kulit adalah sebagai berikut (Suhartini, Fatmawali, Gayatri, 2013) :

1. Kosmetik

Ialah produk yang dapat mempengaruhi fisiologi kulit yang dapat diberi secara bebas.

2. Kosmetisikal

Ialah produk yang dapat mempengaruhi fisiologi kulit, namun masih boleh dibeli secara bebas terbatas tanpa harus menggunakan resep dokter. Contohnya adalah produk yang mengandung glabridin, arbutin, asam kojik, kedelai (soy), asam glikolat dan hidrokuinon dibawah 2%.

3. Kosmedotemik

Ialah produk yang dapat mempengaruhi fisiologi kulit hanya boleh dibeli dengan resep dokter. Contohnya adalah hidrokuinon diatas 2% dan asam retinoat.

Berdasarkan cara penggunaannya *whitening* krim dibedakan menjadi dua :

a. *Skin bleaching*

Ialah produk yang mengandung bahan kimia yang kuat. Memiliki tujuan untuk memudahkan noda-noda hitam pada kulit. Cara penggunaannya tidak digunakan secara merata pada kulit, melainkan dengan cara mengoleskan secara tipis pada kulit yang memiliki noda hitam.

b. *Skin lightening*

Ialah produk yang digunakan untuk membuat kulit lebih putih dan bercahaya. Penggunaannya dengan cara dioleskan pada seluruh wajah

H. Bahan Berbahaya Pada Kosmetik Krim Pemutih

Pada Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan No HK.03.1.23.08.11.07517 Tahun 2011 terdapat daftar bahan yang dilarang terkandung di dalam kosmetik. Bahan-bahan tersebut seperti Asam retinoat, Merkuri, Hidrokuinon, Acetamid, Captafol, Rhodamin B dll. Menurut peraturan Kepala Badan POM RI No.18 Tahun 2015 tentang Persyaratan Teknis Bahan

Kosmetik, penambahan bahan berbahaya dilarang dalam pembuatan kosmetika karena berisiko menimbulkan efek negatif bagi kesehatan menurut BPOM antara lain :

1. Merkuri

Merkuri dapat menyebabkan alergi dan iritasi. Merkuri dapat masuk kedalam pori-pori dan darah melalui sistem saraf lalu dialiri ke seluruh tubuh. Pemakaian dosis tinggi dapat menyebabkan kerusakan otak permanen, gagal ginjal yang dapat menyebabkan kematian, gangguan perkembangan janin yang dapat menyebabkan kematian dan dapat menyebabkan mandul. Pemakaian jangka pendek dengan dosis tinggi juga dapat menyebabkan muntah-muntah, kerusakan paru-paru, banyak disalahgunakan pada produk pengelupas kulit kimiawi (peeling) dan bersifat teratogenik.

2. Hidrokinon

Hidrokinon banyak disalahkan para produk pemutih kulit/pencerah kulit. Hidrokinon dapat menyebabkan iritasi kulit, ochronosis (kulit bewarna kehitaman) yang mulai terlihat 6 bulan setelah penggunaan dan bersifat irreversible (tidak dapat dipulihkan). Hidrokinon dapat mengakibatkan kulit terkelupas dan menghambat pembentukan melanin sehingga dapat mencerahkan kulit.

3. Asam retinoat

Asam retinoat termasuk kedalam golongan obat keras dan harus menggunakan resep dokter. Asam retinoat dapat menyebabkan kulit kering, rasa terbakar dan teratogenik.

4. Asam azelaik

Asam azelaik berasal dari saturasi pityrosporum ovale. Pada awalnya asam azelaic digunakan sebagai pengobatan acne, selain itu asam azelaik diketahui dapat pengobatan entiginosis, rosasea dan hiperpigmentasi paska inflamasi. Asam azelaik dapat digunakan sebagai antibakteri, keratolitik, komedogenik dan anti inflamasi. Asam azelaik juga mampu mengurangi pigmentasi pada kulit terutama bagi mereka yang berkulit gelap dan bekas jerawat warna coklat atau untuk kasus melasma. Tetapi penggunaan asam azelaic dapat menyebabkan iritasi, kulit kering, terbakar dan pengelupasan kulit.

I. Dampak Krim Pemutih Bagi Kulit.

Dampak positif dari penggunaan krim pemutih dapat membuat kulit menjadi segar dan cerah. Keterbatasan pengetahuan masyarakat mengenai efek samping dari penggunaan kosmetik dapat menjadi suatu alasan dimana kita harus lebih berhati-hati dalam penggunaannya. Gangguan pada kulit dapat disebabkan karena adanya kesalahan dalam penggunaan kosmetik. Penggunaan kosmetik pemutih yang berlebihan dapat membahayakan untuk kulit. Kosmetik krim pemutih biasanya mengandung zat aktif pemutih seperti hidrokinon dan merkuri. (Marliyantina, 2012 dalam Sandriana, 2020:4).

Pemakaian krim putih yang mengandung bahan berbahaya terkadang membuat kulit lebih cepat halus dan putih, tetapi lama kelamaan zat tersebut akan mengendap dan dapat menyebabkan kulit menjadi biru kehitaman dan dapat menyebabkan kanker kulit. Kurangnya pengetahuan masyarakat akan zat kosmetik yang berbahaya dapat menyebabkan kesalahan dalam pemilihan kosmetik. Selain itu pengguna krim pemutih sering mengeluh karena kulitnya merah meradang. (Marliyantina, 2012 dalam Sandriana, 2020:4). Menurut Tringgono dan Fatma (2007:44), ada berbagai dampak atau reaksi negative dari penggunaan kosmetik yang tidak aman bagi kulit atau system tubuh, yaitu :

1. Iritasi

Ialah reaksi negatif yang timbul dikarenakan kandungan salah satu bahan atau lebih yang terkandung pada kosmetik dapat menyebabkan iritasi.

2. Alergi

Ialah reaksi negatif yang disebabkan karena penggunaan kosmetik dalam jangka Panjang. Alergi ini disebabkan karena kosmetik mengandung bahan yang dapat menyebabkan alergi.

3. Fotosensitisasi

Ialah reaksi negatif yang muncul setelah menggunakan kosmetik lalu terpapar sinar matahari, dikarenakan salah satu bahan atau bahan lainnya bersifat fotosensitisasi saat terkena cahaya matahari.

4. Jerawat

Ialah reaksi negatif yang disebabkan karena kosmetik yang digunakan cenderung menyumbat pori-pori kulit bersama dengan kotoran dan bakteri.

5. Penyumbatan fisik

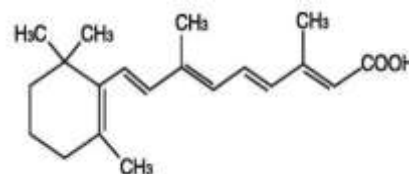
Ialah reaksi negatif yang diakibatkan karena penggunaan kosmetik yang mengandung minyak dan lengket pada kosmetik. Penyumbatan fisik dapat disebabkan karena penggunaan alas bedak (foundation),

6. Intoksikasi

Ialah reaksi negatif yang disebabkan karena keracunan baik secara lokal maupun sistemik, melalui penghirupan melalui hidung, mulut, atau penyerapan kulit. Intoksikasi juga disebabkan karena bahan yang terkandung dalam kosmetik menyebabkan toksik.

J. Asam Retinoat

Asam retinoat adalah bentuk asam dan bentuk aktif dari vitamin A (retinol) yang dibentuk dari all-trans retinol (retinoid dalam bentuk alcohol). Asam retinoat juga disebut sebagai tretinoin (all-trans retinoid acid). Berikut struktur asam retinoat :



Sumber : Septianingrum, 2014

Gambar 2.1 Struktur Asam Retinoat.

Sifat Fisika dan Kimia (Depkes RI, 1995)

- Rumus molekul = $C_{20}H_{28}O_2$
- Rumus kimia = 300,42
- Pemerian = Serbuk hablur, kuning sampai jingga muda
- Kelarutan = Tidak larut dalam air, sukar larut dalam etanol dan Kloroform

1. Mekanisme Kerja Asam Retinoat

Menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan (2013) dalam Vina Budi Andriyani (2011). Asam Retinoat bekerja melalui tiga mekanisme, yaitu :

a. Pengaktifan reseptor asam retinoate (RAR)

Interaksinya dengan RAR pada sel kulit dapat menyebabkan proses perkembangan sel kulit terluar (epidermis) sehingga asam retinoat secara topikal dengan dosis 0,05%-0,1% dapat memperbaiki perubahan struktur atau penuaan kulit yang diakibatkan radiasi ultraviolet.

b. Pembentukan dan peningkatan jumlah protein NGAL (Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin)

Asam retinoat dapat meningkatkan jumlah dan pembentukan protein NGAL yang dapat menyebabkan matinya sel kelenjar sebacea (sel minyak) sehingga akan mengurangi produksi sebum dan dapat menyebabkan timbulnya jerawat.

c. Berperan sebagai iritan

Asam retinoat bekerja sebagai iritan pada epitel folikel yang dapat menyebabkan terjadinya peradangan dan mencegah sel tanduk bergabung dengan sel tanduk lainnya sehingga tidak menyumbat folikel dan munculnya komedo.

2. Kegunaan Asam Retinoat

Asam retinoat merupakan zat yang paling banyak digunakan penggunaannya pada kosmetik karena mampu mengatur pembentukan dan penghancuran sel-sel kulit. Tetapi sel-sel epitel kulit yang mati dapat menyebabkan jerawat dikarenakan adanya penyumbatan pori-pori kulit. (BPOM, 2008). Efektifitas kerja asam retinoate membuat para produsen kosmetik yang tidak bertanggung jawab menambahkannya pada produk kosmetik terutama pada krim wajah. (BPOM, 2011 (b)). Kadar atau dosis asam retinoate dalam sebuah sediaan topikal yaitu 0,05%-0,1%. (Zahra dan Ali Thariq, 2011).

3. Efek Samping Penggunaan Asam Retinoat

Laporan risiko bahaya penggunaan Asam retinoat bagi pemakainya (Badan POM, 2011 (d)) antara lain :

a. Potensi sebagai iritan

Pada kulit normal, asam retinoat yang dioleskan pada kulit akan menyebabkan peradang yang disertai dengan sensasi rasa agak panas, menyangat, kemerahan, eritema sampai pengerasan kulit. Kemudian dapat menyebabkan hipopigmentasi maupun hiperpigmentasi, akantosis (*hyperplasia* dan penebalan

abnormal lapisan tanduk) dan parakeratosis (persistensi nuclei keratinoasit pada lapisan kulit). Pada dosis tinggi dari dosis terapi, efek terapinya tidak akan meningkat. Dalam jangka panjang dapat menyebabkan menurunnya keratinisasi dan produksi sebum/minyak sehingga kulit menjadi kering dan tipis.

b. Potensi sebagai zat *karsinogenik* (Kanker)

Penggunaan asam retinoat yang digunakan pada mencit albino dan mencit berpigmen terbukti dapat berpotensi meningkatkan karsinogenik akibat rasiasi UV-A dan UV-B

c. Potensi sebagai zat *teratogenic* (Kecacatan pada janin)

Penggunaan asam retinoat yang berlebih pada ibu hamil trimester pertama bersifat ireversibel. Senyawa ini dapat melintasi plasenta dan masuk ke dalam sirkulasi janin dan dapat menyebabkan kegagalan kehamilan, kelainan organ dalam, kelainan kongenital ringan, berat hingga kematian. (Puspita dewi dan Retno, 2008).

4. Public Warning

Berdasarkan siara pers yang dikeluarkan oleh BPOM RI tentang Temuan Kosmetik Mengandung Bahan Berbahaya Hasil Laporan Post Market Alert System didapatkan bahwa kosmetik didominasi oleh produk kosmetik yang mengandung merkuri, hidrokuinon dan tretinoin. Berdasarkan lampiran *public warning* No.HM.01.1.2.07.20.19 tahun 2020, berikut adalah daftar kosmetik yang mengandung Tretinoin :

Tabel 2.1 Lampiran *public warning*

No.	Nama Produk	Kandungan Zat Berbahaya	Keterangan
1.	<i>Tati Ultra Treatment</i>	Tretinoin	Tidak ternotifikasi
2.	<i>The Original Porcelana-Astringent Improved Formula</i>	Hidrokuinon dan Tretinoin	Tidak ternotifikasi
3.	<i>3 rd Series Yanko Whitening Cream Night Cream</i>	Tretinoin	Tidak ternotifikasi
4.	<i>5 th Series Yanko Whitening Cream Night Cream</i>	Tretinoin	Tidak ternotifikasi
5.	<i>7 th Series Yanko Whitening Cream Night Cream</i>	Tretinoin	Tidak ternotifikasi
6.	<i>Dnars Nien Cream</i>	Hidrokuinon dan Tretinoin	Tidak ternotifikasi
7.	<i>Glow Glowing N Glow</i>	Hidrokuinon dan Tretinoin	Tidak ternotifikasi

8.	<i>Jelita Farra Serlah Kejelitaanmu Skincare 5 in 1- Day Cream</i>	Tretinoin	Tidak ternotifikasi
9.	<i>Dolly Glow Miracle Treatment Cream</i>	Hidrokuinon dan Tretinoin	Tidak ternotifikasi

K. Metode Analisis Asam Retinoat

Metode analisis asam retinoat dapat dikelompokkan menjadi 2 macam, yaitu analisis kualitatif dan analisis kuantitatif. Berikut adalah penjelasannya :

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 dibawah sinar UV dengan panjang gelombang (λ) 254 nm, lalu diidentifikasi dengan menghitung nilai Rf larutan sampel dan larutan baku dan warna bercak dibawah penyinaran lampu UV. Perkiraan nilai Rf untuk sistem a yaitu lebih kurang 0,5 dan sistem b yaitu lebih kurang 0,2 – 0,3 (Badan POM, 2011 (a)).

b. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Merupakan sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi. Hal ini karena didukung oleh kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi, dan *detector* yang sangat sensitif dan beragam. KCKT mampu menganalisis berbagai cuplikan baik secara kualitatif maupun kuantitatif, baik dalam komponen tunggal maupun campuran (Ditjen POM, 1995).

c. Reaksi Warna

Adalah metode analisis kimia yang didasarkan pada tercapainya kesamaan warna antara larutan sampel dan larutan standar, dengan menggunakan sumber cahaya polikromatis dengan *detector* mata. Pada analisis asam retinoat dapat dengan cara :

- 1) 5 tetes filtrat asam retinoat dalam tabung reaksi ditambahkan 10 tetes kloroform kemudian dicampur dan ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat

dan kristal SbCl_3 secukupnya. Jika hasil positif asam retinoat maka akan terbentuk warna biru menjadi merah coklat

- 2) 5 tetes filtrat asam retinoat dalam tabung reaksi ditambahkan 1 ml pereaksi TCA dalam kloroform kemudian di campur. Jika hasil positif asam retinoat maka akan terbentuk warna biru kehijauan

d. Spektrofotometri Uv-Vis

Analisa kualitatif dengan metode spektrofotometri yaitu adanya reaksi antara radiasi elektromagnetik dari sinar UV-Vis dengan sampel. Radiasi elektromagnetik mempunyai panjang gelombang tertentu sehingga dapat memberikan warna yang jelas. Panjang gelombang dalam larutan uji memiliki serapan maksimum dalam spektrofotometri. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari larutan uji dibandingkan dengan panjang gelombang larutan baku. Jika panjang gelombang larutan uji sama dengan panjang gelombang larutan baku maka larutan uji positif mengandung larutan baku. Pengukuran menggunakan spektrofotometer yang berasal dari dua lampu yang berbeda yaitu pengukuran dengan lampu deuterium untuk sinar violet dengan range 180 nm - 380 nm, sedangkan pengukuran dengan menggunakan lampu wolfram untuk sinar visibel memiliki range 380 nm-780 nm.

2. Analisis Kuantitatif

a. 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. Asam retinoat 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, Muhammad Handoyono, Waode Nur Dewi, 2016).

b. Kromatografi Kinerja Cair Tinggi (KCKT)

Kromatografi Kinerja Cair Tinggi (KCKT) adalah metode pemisahan dan pemurnian senyawa obat serta untuk analisis kuantitatif senyawa obat dalam sediaan farmasetika. KCKT juga digunakan untuk identifikasi kualitatif senyawa obat standar dan senyawa obat dalam sampel. Keterbatasan penggunaan KCKT adalah jika sampel yang digunakan sangat kompleks, karena resolusi atau daya pisah yang baik sulit diperoleh (Gandjar dan Rohman, 2012).

L. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi merupakan suatu proses pemisahan yang mana analit-analit dalam sampel terdistribusi antara dua fase yaitu fase diam dan gerak. Fase diam dapat berupa bahan padat dalam bentuk molekul kecil atau dalam bentuk cairan yang dilapiskan pada pendukung padat atau dilapiskan pada dinding kolom. Sedangkan fase gerak dapat berupa gas atau cairan. Jika gas digunakan sebagai fase gerak maka prosesnya dikenal sebagai kromatografi gas. Dalam kromatografi cair dan juga kromatografi lapis tipis, fase gerak yang digunakan berbentuk cair (Gandjar dan Rohman, 2009).

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.

Identifikasi asam retinoate dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan fase diam slika gel GF 254 dimana slika gel ini dapat dilihat hasilnya pada sinar uv panjang gelombang 254 nm. Fase gerak atau eluen yang digunakan memiliki 2 sistem yaitu sistem A dan B. Pada sistem A terdiri dari campuran n-heksan dan asam asetat glasial 0,33% dalam etanol mutlak (9:1) v/v. Pada sistem B terdiri dari campuran n-heksan dan aseton (6:4) v/v. Pada saat penimbangan dan pipetasi pada saat pembuatan larutan baku dan uji

harus dilakukan secara cepat dan hindarkan dari cahaya. Hal ini dilakukan untuk meminimalkan penguraian asam retinoat. Jika tidak tersedia peralatan gelas tahan cahaya, tabung dan bejana dapat dibungkus dengan aluminium foil.

1. Persyaratan dalam penggunaan Kromatografi Lapis Tipis :
 - a. Senyawa yang digunakan mempunyai tingkat penguapan yang rendah.
 - b. Senyawa bersifat *polar, semi polar, non polar*.
 - c. Sampel dalam jumlah banyak harus dilakukan analisis secara simultan.
 - d. Sampel yang akan dianalisis akan merusak kolom pada Kromatografi Cair ataupun Kromatografi Gas.
 - e. Pelarut yang digunakan akan mengganggu penjerap dalam kolom Kromatografi Cair.
 - f. Komponen dari suatu campuran dari suatu senyawa akan dideteksi terpisah setelah pemisahan atau akan dideteksi dengan berbagai metode secara bergantian (misalnya pada *drug screening*).
 - g. Tidak ada sumber listrik.

2. Kegunaan Kromatografi Lapis Tipis :
 - a. Untuk menentukan banyaknya komponen dalam campuran.
 - b. Identifikasi senyawa.
 - c. Memantau berjalannya suatu reaksi.
 - d. Menentukan efektifitas pemurnian.
 - e. Screening sampel untuk obat

3. Keunggulan Kromatografi Lapis Tipis :
 - a. Mampu memisahkan campuran senyawa menjadi senyawa murninya.
 - b. Mampu mengetahui kuantitas dari suatu senyawa.
 - c. Waktu analisis cepat.
 - d. Memerlukan bahan sangat sedikit
 - e. Mampu memisahkan senyawa-senyawa yang bersifat hidrofobik.
 - f. Mengidentifikasi senyawa secara kromatografi.
 - g. Mengisolasi senyawa murni dalam skala kecil (Marjoni, 2016:129-130).

4. 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 pengestrak 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).

5. 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 antara lain:

- 1) Silika gel dengan pengikat.
- 2) Silika gel dengan pengikat dan indikator fluoresensi.
- 3) Silika gel tanpa pengikat.
- 4) Silika gel tanpa pengikat tetapi dengan indikator fluoresensi.
- 5) Silika gel untuk keperluan pemisahan preparatif.

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 CaSO₄ 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 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 mikrokristal, misalnya Avicel. Pada KLT selulosa digunakan untuk pemisahan senyawa hidrofil (Sudjadi, 1988:169-170).

Tabel 2.2 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, alkaloid dan ion logam
Gel sephadex	Ekslusi	Polimer, protein, kompleks logam
β -siklodekstrin	Interaksi adsorpsi-stereospesifik	Campuran enansiomer

Sumber: Kealey dan Haines, 2002:133.

6. 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 (Gandjar dan 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

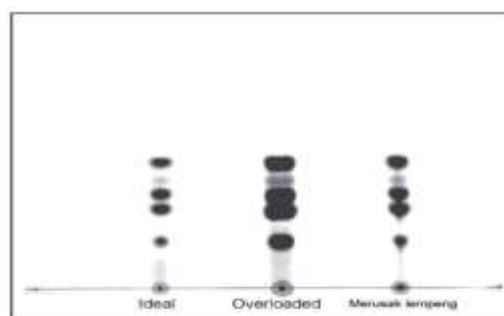
Pelarut pengembang	Titik didih °C/760 torr	Tetapan dielektrik ϵ		Viskositas, C_p	
		Pada suhu °C 20	Pada suhu °C 25	Pada suhu 20 °C	Pada suhu 25 °C
n-Heksana	68,7	1,890	-	0,326	-
Heptana	98,4	1,924	-	0,409	-
Sikloheksana	81,4	2,023	-	1,02	-
Karbontetraklorida	76,8	2,238	-	0,969	-
Benzena	80,1	2,284	-	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

7. 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 reproduisibilitas, volume sampel yang dititikkan paling sedikit 0,5 μl . (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 2.2 Pengaruh Kesalahan Sampel Pada Sorben KLT.

8. 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

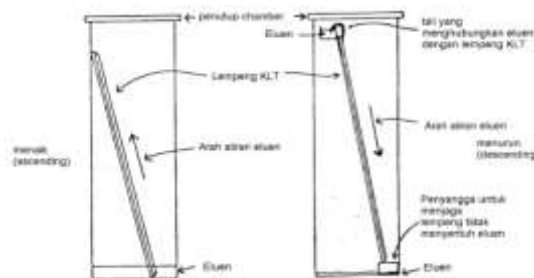
Jarak pengembangan fase gerak biasanya kurang lebih 10-15 cm, akan tetapi beberapa ahli kromatografi memilih mengembangkan lempeng pada jarak 15-20 cm. Untuk lempeng KLT, yang mempunyai ukuran partikel lebih kecil, maka pengembangan dilakukan pada jarak antara 3-6 cm (Gandjar dan Rohman, 2009:51).

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 keatas. 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 diatas 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 2.3 Pengembangan Menaik (*Ascending*) dan Menurun (*Descending*).

- 3) Metode pengembangan horizontal

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 reproduksibel 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 sebagaimana 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).

9. 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 dibawah 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*) (Gandjar dan Rohman, 2009:52-53).
10. 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 :

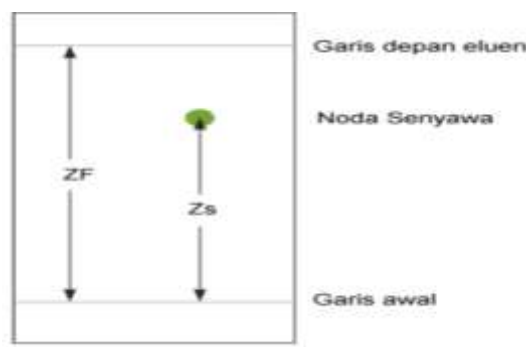
- a. Struktur kimia senyawa yang dipisahkan.
- b. Sifat penyerap.
- c. Tebal dan kerataan lapisan penyerap.
- d. Pelarut dan derajat kemurniannya.
- e. Derajat kejenuhan uap pengembang dalam bejana.
- f. Teknik percobaan.
- g. Jumlah cuplikan yang digunakan.
- h. Suhu (Marjoni, 2016:130).

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

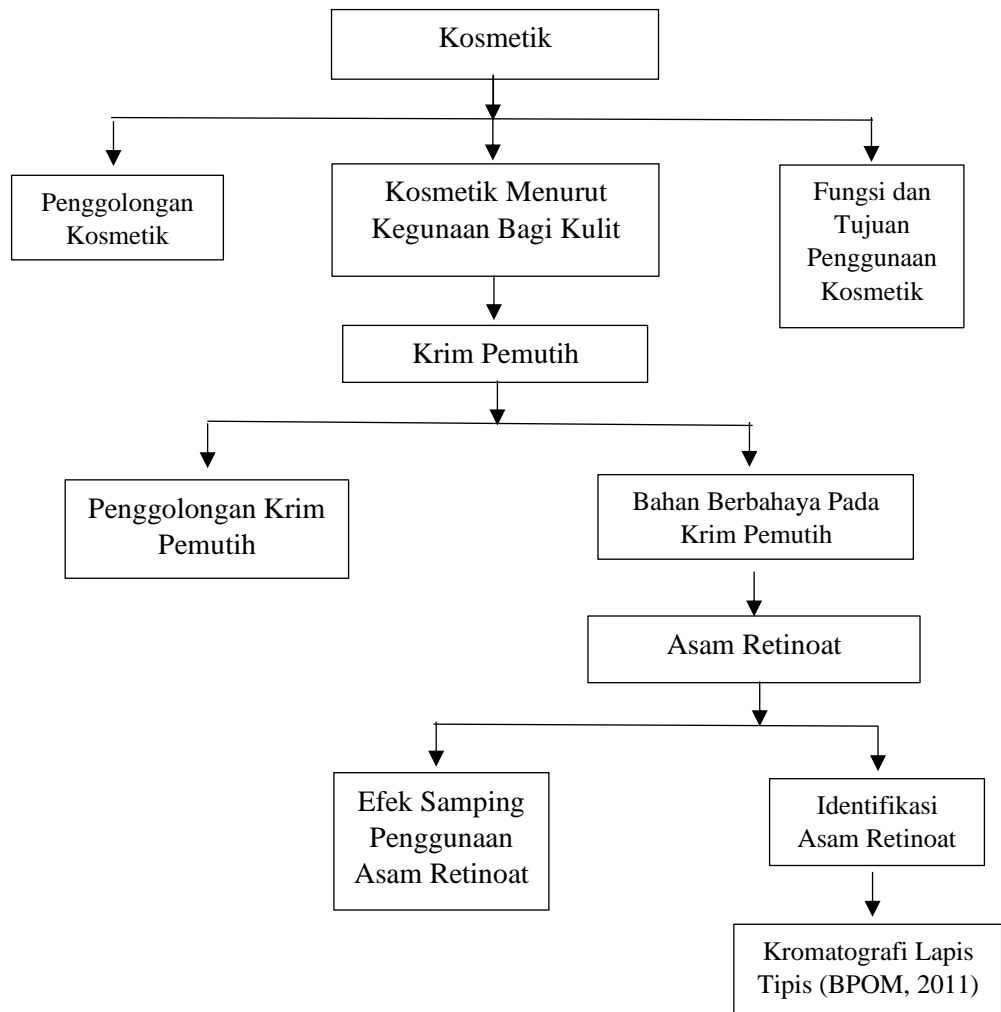
dengan fase diam dan fase gerak sehingga bentuk noda biasanya kurang simetris. Sedangkan pada R_f diatas 0,8 noda analit akan diganggu oleh absorbansi pengotor lempeng fase diam yang teramati pada visualisasi dengan lampu UV. Nilai R_f yang reproduibel akan didapatkan dengan mengontrol kondisi pengembangan seperti kejenuhan *chamber*, komposisi campuran pelarut yang konstan, temperatur konstan dan lain-lain (Wulandari, 2011:125).



Sumber: Wulandari, 2011:125

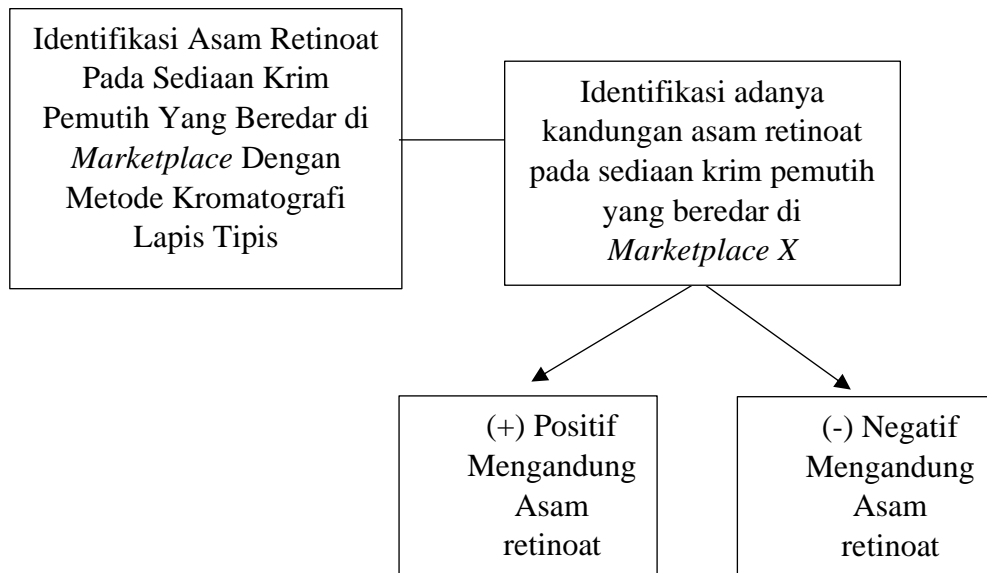
Gambar 2.4 Ilustrasi Migrasi Analit dan Eluen Pada Lempeng KLT

M. Kerangka Teori



Gambae 2.5 Kerangka Teori

N. Kerangka Konsep



Gambar 2.5 Kerangka Konsep

O. Definisi Operasional

Tabel 2.4 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Organoleptis	Krim pemutih dengan warna kuning sampai jingga	Observasi	Panca indra	1. Bewarna kuning muda 2. Bewarna kuning 3. Bewarna jingga muda Bewarna jingga	Nominal
		Krim pemutih dengan bau yang tidak menyengat	Observasi	Panca indra	1. Berbau menyengat 2. Berbau tidak menyengat	Nominal

		Krim Pemutih yang tidak lengket	Observasi	Panca indra	1. Krim yang lengket 2. Krim yang tidak lengket	Nominal
2	Identifikasi Asam retinoat pada sediaan krim pemutih	Mengidentifikasi kasi ada tidaknya asam retinoat pada sediaan krim pemutih	Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	Lempeng KLT, Penggaris, Chamber	1. Nilai Rf sampel sama dengan standar (+) 2. Nilai Rf sampel tidak sama dengan standar (-)	Nominal