

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Kulit**

##### **2.1.1 Definisi Kulit**

Kulit ialah organ tubuh yang terletak paling luar dan membatasinya dari lingkungan hidup manusia. Luas kulit orang dewasa sekitar 1,5 meter persegi dengan berat kira-kira 15% berat badan. Kulit merupakan organ yang esensial dan vital serta merupakan cermin kesehatan dan kehidupan. Kulit juga sangat kompleks, elastis dan sensitif, bervariasi pada iklim, umur, jenis kelamin, ras, dan juga bergantung pada lokasi tubuh (Wasitaatmadja, 2011).

##### **2.1.2 Fungsi Kulit**

Kulit memiliki peranan yang sangat penting di dalam kehidupan manusia. Selain fungsi utama yang ditujukan untuk mempertahankan hidup, kulit juga mempunyai nilai estetik yang mampu menyokong penampilan dan kepribadian seseorang. Bahkan struktur-struktur adneksa kulit seperti kuku dan rambut telah diketahui memiliki nilai-nilai kosmetik (Stawiski, 2006).

Kulit manusia memiliki peranan yang sangat penting, selain fungsi utama yang menjamin kelangsungan hidup juga memiliki arti dalam estetika, ras, indikator sistemik, dan sarana komunikasi non verbal. Fungsi utama kulit adalah sebagai proteksi, absorpsi, ekskresi, persepsi, pengaturan suhu tubuh, pembentukan pigmen, pembentukan vitamin D, dan keratinisasi (Purwanto, 2018).

Fungsi proteksi untuk menjaga bagian dalam tubuh terhadap gangguan fisik atau mekanis, seperti tekanan, gesekan, tarikan. Gangguan kimiawi seperti zat-zat kimia terutama yang bersifat iritan, contohnya lisol, karbol, asam, dan alkali kuat lainnya. Gangguan yang bersifat panas seperti radiasi, sengatan ultraviolet, dan gangguan infeksi luar seperti bakteri, kuman maupun jamur. Bantalan lemak

serta tebalnya lapisan kulit dan serabut jaringan penunjang berperan dalam perlindungan terhadap gangguan fisis. Terdapat lapisan keasaman kulit yang melindungi kontak dari zat-zat kimia dengan kulit, lapisan ini mungkin terbentuk dari hasil ekskresi keringat dan sebum, keasaman kulit menyebabkan pH kulit berkisar pada pH 5-6,5 sehingga mampu melindungi dari infeksi bakteri maupun jamur (Purwanto, 2018).

### **2.1.3 Anatomi Kulit**

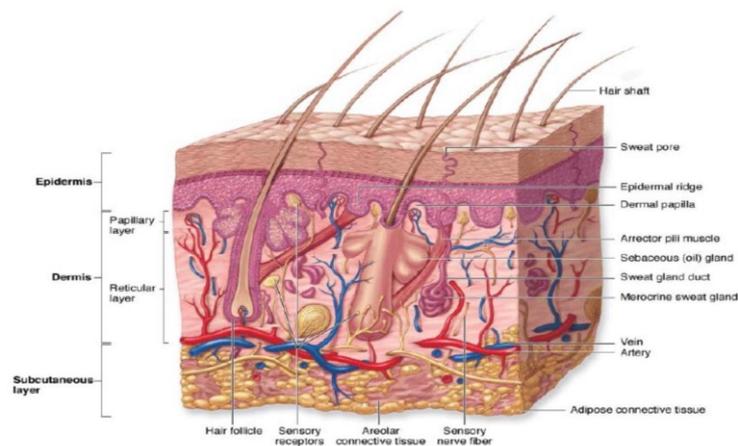
Kulit adalah “selimut” yang melindungi permukaan tubuh dan mempunyai fungsi penting seperti pelindung sebagai pelindung dari bermacam-macam gangguan serta dorongan dari luar. Fungsi perlindungan ini terjadi lewat sejumlah mekanisme biologis, sebagai pembentukan lapisan kekuatan secara berkepanjangan (keratinisasi dan pelepasan sel-sel yang telah mati), pernafasan dan pengatur suhu tubuh, produksi sebum serta keringat dan pembentukan pigmen melanin sebagai pelindung kulit dari ancaman sinar ultraviolet matahari, seperti peraba dan perasa, juga perlindungan akan tekanan dan peradangan dari luar (Iswari, 2007).

Lapisan kulit teratas selalu tumbuh dan mengelupas kembali. Epidermis memiliki 2 fungsi. Pertama, memasok sel ke lapisan tanduk, sekaligus menarik air dari luar dan menjaga kelembapan agar kulit tetap lembut dan kenyal. Dari dasar epidermis, sel bertunas, membelah diri, dan bergerak ke permukaan. Di permukaan, sel menjadi dewasa, matang, dan terus memipih sampai akhirnya menjadi kulit mati pada lapisan tanduk. Pada kulit yang sehat, proses regenerasi ini umumnya berlangsung selama 28 hari (Bentley, 2006).

Kulit juga merupakan pertanda dari perubahan sistem tubuh secara umum, misalnya proses penuaan yang terjadi pada setiap organ ditubuh, maka kulit akan memberikan tanda paling awal. Proses penuaan adalah proses yang alamiah, namun adakalanya oleh karena suatu sebab penuaan terjadi lebih cepat dari yang seharusnya, hal ini

disebut penuaan dini. Banyak orang yang mulai melihat kerutan kulit wajah pada usia yang relatif muda, bahkan pada usia awal 20-an (Admin, 2008).

#### 2.1.4 Struktur Kulit



Gambar 2. 1 Bagian dan Struktur Lapisan Kulit

(Sumber: Mescher, 2010)

##### a) Epidermis

Epidermis merupakan lapisan terluar kulit yang terdiri dari epitel berlapis bertanduk, mengandung sel malonosit, Langerhans dan merkel. Tebal epidermis berbeda-beda pada berbagai tempat di tubuh, paling tebal terdapat pada telapak tangan dan kaki. Ketebalan epidermis hanya sekitar 5% dari seluruh ketebalan kulit. Epidermis terdiri atas lima lapisan (dari lapisan yang paling atas sampai yang terdalam) yaitu *stratum korneum*, *stratum lusidum*, *stratum granulosum*, *stratum spinosum* dan *stratum basale* (*stratum Germinatum*) (Perdanakusuma, 2007).

##### b) Dermis

Dermis tersusun oleh sel-sel dalam berbagai bentuk dan keadaan, dermis terutama terdiri dari serabut kolagen dan elastin. Serabut-serabut kolagen menebal dan sintesa kolagen akan berkurang seiring

dengan bertambahnya usia. Sedangkan serabut elastin terus meningkat dan menebal, kandungan elastin kulit manusia meningkat kira-kira 5 kali dari fetus sampai dewasa. Pada usia lanjut kolagen akan saling bersilang dalam jumlah yang besar dan serabut elastin akan berkurang sehingga mengakibatkan kulit terjadi kehilangan kelenturannya dan tampak berkeriput (Perdanakusuma, 2007).

Di dalam dermis terdapat folikel rambut, papilla rambut, kelenjar keringat, saluran keringat, kelenjar sebacea, otot penegak rambut, ujung pembuluh darah dan ujung saraf dan sebagian serabut lemak yang terdapat pada lapisan lemak bawah kulit (Tranggono & Latifah, 2007).

c) Lapisan Subkutan

Lapisan subkutan merupakan lapisan di bawah dermis yang terdiri dari lapisan lemak. Lapisan ini terdapat jaringan ikat yang menghubungkan kulit secara longgar dengan jaringan di bawahnya. Jumlah dan ukurannya berbeda-beda menurut daerah tubuh dan keadaan nutrisi individu. Berfungsi menunjang suplai darah ke dermis untuk regenerasi (Perdanakusuma, 2007).

### **2.1.5 Jenis-jenis Kulit**

Berikut ini adalah jenis-jenis kulit (Wasitaatmadja, 1997):

1. Jenis Kulit Dehidrasi, tidak berarti jenis kulit yang kekurangan minyak, tetapi kekurangan air, diakibatkan karena matahari, sabun, dan berada di pesawat terbang. Menangani kulit dehidrasi dengan banyak minum air putih.
2. Jenis Kulit Kering terjadi apabila kelenjar minyak tidak cukup memproduksi minyak untuk memelihara kelembaban kulit. Kulit kering dapat diakibatkan oleh faktor keturunan, usia, dan iklim. Iklim yang kering bisa menekan produksi kelenjar minyak. Jenis kulit ini mudah sekali terlihat bersisik dan menyerpih.

3. Jenis Kulit Berminyak diakibatkan terlalu banyak produksi minyak akhirnya sering muncul jerawat. Jenis kulit ini dapat diakibatkan oleh faktor genetik, diet dan iklim. Cuaca yang panas ditambah keringat sesudah berolahraga bisa membuat kulit sangat berminyak. Wajah akan tampak selalu mengilap. Kulit jenis ini dapat lebih awet muda dari pada jenis kulit kering.
4. Jenis kulit Kombinasi ialah kulit wajah yang kering dibagian tertentu, tetapi berminyak dibagian lain. Bagian sekitar hidung umumnya berminyak dengan pori-pori yang besar, meskipun di bagian dahi, pipi dan leher cenderung kering.
5. Jenis Kulit Normal mempunyai minyak yang cukup tidak berlebihan, untuk menjaga kelembaban kulit. Kulit anda tidak termasuk kering dan tidak termasuk berminyak. Kulit jenis ini tidak mengalami masalah seperti jenis kulit lain.
6. Jenis Kulit Sensitif bisa mudah iritasi atau gatal jika memakai produk tertentu. Kulit sensitif umumnya diakibatkan oleh faktor keturunan. Pengelupasan kulit dengan bahan kimia yang hasilnya terkena paparan sinar matahari terlalu lama juga dapat mengakibatkan kulit menjadi sensitif.

## **2.2 Kosmetik**

### **2.2.1 Definisi Kosmetik**

Kosmetik berasal dari kata kosmein (Yunani) yang berarti “berhias”. Kosmetik sudah dikenal orang sejak zaman dahulu kala. Di Mesir, 3500 tahun sebelum masehi telah digunakan berbagai bahan alami baik yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan maupun bahan alam lain misalnya tanah liat, lumpur, arang, batubara bahkan api, air, embun, pasir, atau sinar matahari (Tranggono, 2007).

Menurut Peraturan Kepala Badan POM RI Nomor 19 Tahun 2015 pengertian kosmetik 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 (BPOM RI, 2015).

### **2.2.2 Penggolongan Kosmetik**

Kosmetik yang beredar dipasaran sekarang ini dibuat dengan berbagai jenis bahan dasar dan cara pengolahannya. Menurut bahan yang digunakan dan cara pengolahannya, kosmetik dapat dibagi menjadi 2 (dua) golongan besar yaitu kosmetik tradisional dan kosmetik modern (Reyes, 2013).

#### **2.2.2.1 Kosmetik Tradisional**

Kosmetik tradisional adalah kosmetik alamiah atau kosmetik asli yang dapat dibuat sendiri langsung dari bahan-bahan segar atau yang telah dikeringkan, buah-buahan dan tanam-tanaman. Cara tradisional ini merupakan kebiasaan atau tradisi yang diwariskan turun-temurun dan leluhur atau nenek moyang sejak dulu (Reyes, 2013).

#### **2.2.2.2 Kosmetik Modern**

Kosmetik modern adalah kosmetik yang diproduksi secara pabrik (laboratorium), dimana telah dicampur dengan zat-zat kimia untuk mengawetkan kosmetika tersebut agar tahan lama, sehingga tidak cepat rusak (Reyes, 2013).

### **2.2.3 Tujuan Penggunaan Kosmetik**

Secara umum baik teori maupun praktek tujuan penggunaan kosmetik adalah untuk memelihara dan merawat kecantikan kulit dengan teratur.

Tujuan dan penggunaan kosmetik dapat dikelompokkan sebagai berikut:

1. Melindungi kulit dan pengaruh-pengaruh luar yang merusak
2. Mencegah lapisan terluar kulit dan kekeringan.
3. Mencegah kulit cepat kering dan berkeriput

4. Melekat di atas permukaan kulit untuk mengubah warna atau rona daerah kulit tertentu.
5. Memperbaiki kondisi kulit.
6. Menjaga kulit tetap remaja (kencang).
7. Mengubah rupa/penampilan (Rostamailis, 2005).

#### **2.2.4 Efek Kosmetik Terhadap Kulit**

Kulit merupakan sasaran utama dalam menerima berbagai pengaruh dari penggunaan kosmetik. Ada dua efek atau pengaruh kosmetik terhadap kulit, yaitu efek positif dan efek negatif. Tentu saja yang diharapkan adalah efek positifnya, sedangkan efek negatifnya tidak diinginkan karena dapat menyebabkan kelainan-kelainan kulit (Tranggono, 1996).

Pemakaian kosmetik yang sesuai dengan jenis kulit akan berdampak positif terhadap kulit sedangkan pemakaian kosmetik yang tidak sesuai dengan jenis kulit akan berdampak negatif bagi kulit. Usaha yang dapat dilakukan dalam menghindari efek samping dari pemakaian kosmetik tersebut diantaranya adalah mencoba terlebih dahulu jenis produk baru yang akan digunakan untuk melihat cocok tidaknya produk tersebut bagi kulit kita. Setiap pemakaian produk kosmetik diharapkan dapat berkhasiat sesuai dengan jenis produk yang kita gunakan, akan tetapi sering kali pemakaian produk kosmetik tersebut justru membawa petaka bagi pemakainya. Efek-efek negatif yang sering kali timbul dari pemakaian kosmetik yang salah adalah kelainan kulit berupa kemerahan, gatal, atau noda-noda hitam. Ada empat faktor yang mempengaruhi efek kosmetika terhadap kulit yaitu faktor manusia pemakainya, faktor lingkungan alam pemakai, faktor kosmetika dan gabungan dari ketiganya (Tranggono, 1996).

##### **a. Faktor manusia**

Perbedaan warna kulit dan jenis kulit dapat menyebabkan perbedaan reaksi kulit terhadap kosmetik, karena struktur dan jenis pigmen

melaninnya berbeda. Dua faktor utama yang memengaruhi tipe kulit adalah, disposisi genetik, dan reaksi kulit menjadi cokelat terhadap paparan matahari (Lloyd, 2009). Pembentukan melanin di melanosom bermula dari hidrosilasi L-tirosin menjadi L-dopa dan oksidasi L-dopa menjadi dopakuinon, kedua proses ini memerlukan aktivitas dari enzim tirosinase. Dopakuinon akan dipolimerisasi secara spontan membentuk melanin. Sinar ultraviolet akan menstimulasi aktivitas enzim tirosinase dan meningkatkan jumlah melanosit yang memproduksi melanin. Akibatnya transfer melanosom dari melanosit ke keratinosit akan meningkat dan jumlah melanin akan meningkat (Baumann & Saghari, 2009).

b. Faktor iklim

Indonesia merupakan negara beriklim tropis dengan paparan sinar matahari sepanjang musim. Sinar matahari merupakan sumber kehidupan bagi makhluk hidup, namun ternyata sinar matahari tidak selalu memberikan keuntungan karena sinar ultraviolet yang terkandung di dalam sinar matahari dapat berdampak buruk bagi kulit apabila terpapar secara berlebihan. Dampak negatif akibat paparan sinar matahari yang berlebihan dapat menyebabkan terjadinya eritema, tanning, pigmentasi, penuaan dini (*skin aging*), bahkan dapat menyebabkan kanker kulit (Kale *et al.*, 2010 ; Yuliani, 2010 ; Zulkarnain *et al.*, 2013). Setiap iklim memberikan pengaruh tersendiri terhadap kulit, sehingga kosmetika untuk daerah tropis dan sub tropis seharusnya berbeda.

c. Faktor kosmetika

Kosmetika yang dibuat dengan bahan berkualitas rendah atau bahan yang berbahaya bagi kulit dan cara pengolahannya yang kurang baik, dapat menimbulkan reaksi negatif atau kerusakan kulit seperti alergi atau iritasi kulit (Tranggono, 1996).

d. Faktor gabungan dari ketiganya

Apabila bahan yang digunakan kualitasnya kurang baik, cara pengolahannya kurang baik dan diformulasikan tidak sesuai dengan manusia dan lingkungan pemakai maka akan dapat menimbulkan kerusakan kulit, seperti timbulnya reaksi alergi, gatal-gatal, panas dan bahkan terjadi pengelupasan (Tranggono, 1996).

Kosmetik memiliki efek terhadap kulit yaitu efek negatif dan efek positif. Demikian juga untuk kosmetika pemutih yang mempunyai efek positif yaitu menjadikan kulit lebih cerah atau putih seperti yang diinginkan dan mempunyai efek negatif yang berbahaya karena dapat menyebabkan kerusakan kulit seperti kulit meradang atau terkelupas apabila penggunaannya kurang berhati-hati atau tidak sesuai dengan petunjuk penggunaannya (Tranggono, 1996).

## **2.3 Krim**

### **2.3.1 Definisi Krim**

Krim ialah sediaan setengah padat berbentuk emulsi, mengandung air tidak kurang dari 60% dan dimaksudkan untuk pemakaian luar. Ada dua tipe krim, krim tipe minyak-air dan tipe air-minyak (Depkes, 1997). Menurut Yanhendri & Yenny (2012) krim ialah berbentuk sediaan setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Formulasi krim dibagi menjadi dua bagian yaitu fase minyak dan fase air. Formulasi krim ada dua, yaitu emulsi air dalam minyak (W/O) misalnya *cold cream* dan minyak dalam air (O/W) misalnya *vanishing cream*. Komposisi yang sering digunakan sebagai basis dalam krim dari bahan alam adalah minyak zaitun, almond, ekstrak buah, minyak kelapa murni, minyak atsiri (Smaoui, *et al.*, 2012).

### **2.3.2 Manfaat Krim**

Pada kulit kering pada keadaan kelembapan udara sangat rendah penguapan air dari kulit sangat tinggi, kulit orang tua atau kelainan kulit tertentu yang menyebabkan kulit menjadi kering dan kasar. Krim dapat mengurangi kekeringan kulit dan mengurangi penguapan kulit dengan

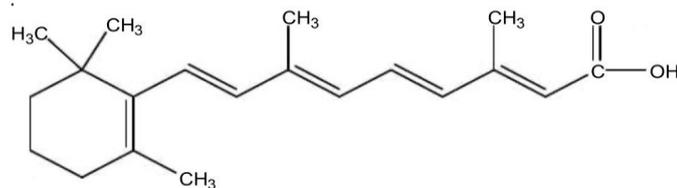
cara menutupinya. Krim berisi minyak nabati atau minyak hewani, yang terkadang bersifat komedogenik. Tentu saja minyak pengganti tidak dapat sepenuhnya menggantikan peran minyak alamiah yang keluar dari kelenjar palit, namun setidaknya dapat membantu dalam segi fisik proteksi dan pelembut kulit (Wasitaatmadja, 1997).

## 2.4 Asam Retinoat

### 2.4.1 Definisi Asam Retinoat

Asam retinoat merupakan sebuah retinoid aktif turunan vitamin A dalam bentuk asam yang dibentuk dari *all-trans retinol* (retinoid dalam bentuk alkohol). Asam retinoat juga dikenal dengan sebutan tretinoin (*all-trans-retinoic acid*) yang digunakan dalam terapi jerawat (BPOM, 2011).

Menurut Menaldi (2003), asam retinoat merupakan zat peremajaan *non peeling* karena merupakan iritan yang menginduksi aktivitas mitosis sehingga terbentuk stratum korneum yang kompak dan halus, meningkatkan kolagen dan glikosaminoglikan dalam dermis sehingga kulit menebal dan padat, serta meningkatkan vaskularisasi kulit sehingga menyebabkan kulit memerah dan segar.



Gambar 2. 2 Struktur asam retinoat

(Sumber: Ditjen POM, 1995)

Berikut sifat fisika kimia dari asam retinoat menurut (Depkes RI,1995)

Pemerian : Serbuk hablur, kuning sampai jingga muda

Berat Molekul : 300, 44

Rumus Molekul :  $C_{20}H_{28}O_2$

Kelarutan : Tidak larut dalam air, sukar larut dalam etanol dan kloroform

Titik Lebur :  $180^{\circ}C$

#### 2.4.2 Mekanisme Aksi

Menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan (2011), asam retinoat bekerja melalui tiga mekanisme, yaitu:

- a. Pengaktifan Reseptor Asam Retinoat (RAR). Interaksinya dengan RAR pada sel kulit mampu merangsang proses perbanyakan dan perkembangan sel kulit terluar (epidermis) sehingga asam retinoat secara topikal dengan dosis 0,05 atau 0,1 % mampu memperbaiki perubahan struktur atau penuaan kulit akibat radiasi ultraviolet.
- b. Pembentukan dan peningkatan jumlah protein NGAL (*Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin*). Asam retinoat dapat meningkatkan pembentukan dan peningkatan jumlah protein NGAL yang mengakibatkan matinya sel kelenjar sebacea (sel penghasil sebum atau minyak), yang kemudian akan mengurangi produksi sebum sehingga mampu mengurangi timbulnya jerawat.
- c. Berperan sebagai iritan asam retinoat juga bekerja sebagai iritan pada epitel folikel (lapisan pada lubang tumbuhnya rambut) yang memicu peradangan dan mencegah bergabungnya sel tanduk menjadi massa yang padat sehingga tidak menyumbat folikel dan tidak menghasilkan komedo. Selain itu, asam retinoat juga meningkatkan produksi sel tanduk sehingga mampu melemahkan dan mendesak komedo untuk keluar (BPOM, 2007).

### 2.4.3 Kegunaan Asam Retinoat

Asam retinoat mampu mengatur pembentukan dan penghancuran sel-sel kulit. Kemampuannya mengatur siklus hidup sel ini juga dimanfaatkan oleh kosmetik *anti aging* atau efek-efek penuaan (Badan POM, 2008). Penggunaan tretinoin yang sebagai obat keras, hanya boleh dengan resep dokter, namun kenyataannya ditemukan dijual bebas kosmetik yang mengandung tretinoin (Badan POM, 2006).

### 2.4.4 Dosis Asam Retinoat

Asam retinoat termasuk dalam golongan obat keras yang hanya boleh diperoleh menggunakan resep dokter. Asam retinoat sebenarnya merupakan obat yang biasa diresepkan dokter untuk mengobati jerawat. Kadar atau dosis asam retinoat dalam sediaan topikal yaitu 0,001-0,4% (Menaldi, 2003).

### 2.4.5 Efek Samping Asam Retinoat

Asam retinoat atau tretinoin juga mempunyai efek samping bagi kulit yang sensitif, seperti kulit menjadi gatal, memerah dan terasa panas serta jika pemakaian yang berlebihan khususnya pada wanita yang sedang hamil dapat menyebabkan cacat pada janin yang dikandungnya (Badan POM, 2008).

Asam retinoat di label produk sering ditulis menjadi tretinoin. Asam retinoat ini bisa mengakibatkan kulit menjadi kering, rasa terbakar juga teratogenik (cacat pada janin). Asam retinoat merupakan bentuk asam juga bentuk aktif dari vitamin A (retinol). Asam retinoat ini kadang digunakan sebagai bentuk sediaan vitamin A topikal, yang didapatkan dengan resep dokter. Bahan ini banyak digunakan pada preparat untuk kulit terutama untuk mengobati jerawat, sekarang banyak dipakai untuk mengatasi kerusakan kulit akibat paparan sinar matahari (*sundamage*) untuk pemutih (Andriyani, 2011).

## **2.5 Analisis**

### **2.5.1 Analisis kualitatif**

#### **2.5.1.1 Metode Reagensia Schiff**

Tes Schiff merupakan tes awal reaksi kimia organik yang dikembangkan oleh Hugo Schiff, dan relatif umum digunakan untuk mendeteksi senyawa organik aldehida, dan dapat juga digunakan dalam pewarnaan jaringan biologi. Dalam penggunaannya sebagai tes kualitatif untuk aldehida, sampel yang akan diuji ditambahkan ke dalam reaksi Schiff akan terjadi perubahan warna magenta, ketika aldehida hadir dalam karakteristik bahan tersebut (Ichya'uddin, 2014).

#### **2.5.1.2 Definisi Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi cair-padat dan merupakan metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok (Padmawinata, 1985).

Fase diam tersebut dapat berupa lapisan tipis alumina, silika gel atau bahan serbuk lainnya. Fase gerak untuk KLT terdiri dari campuran dua atau tiga sistem pelarut yang berbeda kepolarannya. Sistem fase gerak yang biasa digunakan antara lain, n-heksana/etil asetat, eter/n-heksana, diklorometana/n-heksana, diklorometana/metanol (Still, 1978).

#### **2.5.1.3 Kelebihan dan Kekurangan Kromatografi Lapis Tipis**

Beberapa kelebihan KLT yaitu:

1. KLT lebih banyak digunakan untuk tujuan analisis.

2. Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultraviolet.
3. Dapat dilakukan elusi secara mekanik (*ascending*), menurun (*descending*), atau dengan cara elusi 2 dimensi.
4. Ketepatan penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak.
5. Hanya membutuhkan sedikit pelarut.
6. Biaya yang dibutuhkan terjangkau.
7. Jumlah perlengkapan sedikit.
8. Preparasi sampel yang mudah
9. Dapat untuk memisahkan senyawa hidrofobik (lipid dan hidrokarbon) yang dengan metode kertas tidak bisa (Gandjar & Rohman, 2007).

Adapun kekurangan KLT yaitu:

1. Butuh ketekunan dan kesabaran yang ekstra untuk mendapatkan bercak/noda yang diharapkan.
2. Butuh *system trial and error* untuk menentukan sistem eluen yang cocok.
3. Memerlukan waktu yang cukup lama jika dilakukan secara tidak tekun.

#### **2.5.1.4 Hal-hal Yang Harus Diperhatikan Dalam Kromatografi**

##### **Lapis Tipis**

Hal-hal yang harus diperhatikan dalam KLT:

1. Lempeng yang akan digunakan harus diaktifkan terlebih dahulu agar pada proses elusi lempeng *silica gel* dapat menyerap dan berikatan dengan sampel.
2. Pengaktifan lempeng dilakukan dalam oven pada suhu 110°C selama 30 menit. *Chamber* harus dijenuhkan untuk

menghilangkan uap air atau gas lain yang mengisi fase penjerap yang akan menghalangi laju eluen.

3. Pada saat penotolan, hendaknya sampel jangan terlalu pekat sebab pemisahannya akan sulit sehingga didapat noda berekor.
4. Penotolan harus tepat sehingga didapatkan jumlah noda yang baik. Eluen yang digunakan harus murni sehingga tidak menghasilkan noda lain.

#### **2.5.1.5 Fase Diam dan Fase Gerak**

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30  $\mu\text{m}$  (Gandjar dan Rohman, 2007). Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensi dan resolusinya. Silika gel salah satu contoh fase diam yang terbentuk dari silikon dioksida (silika). Atom silikon dihubungkan oleh atom oksigen dalam struktur kovalen yang besar. Namun, pada permukaan silika gel, atom silikon berlekatan pada gugus -OH.

Selain fase diam, dalam KLT juga diperlukan fase gerak/eluen yang berperan penting pada proses elusi bagi larutan umpan (*feed*) untuk melewati fase diam (*adsorbent*). Interaksi antara adsorben dengan eluen sangat menentukan terjadinya pemisahan komponen. Oleh sebab itu pemisahan komponen secara kromatografi dipengaruhi oleh laju alir eluen dan jumlah umpan. Eluen dapat digolongkan menurut ukuran kekuatan teradsorpsinya pelarut atau campuran pelarut tersebut pada adsorben dan dalam hal ini yang banyak digunakan adalah jenis adsorben alumina atau sebuah lapis tipis silika. Suatu pelarut yang bersifat larutan relatif polar, dapat mengusir pelarut yang tak polar dari ikatannya dengan alumina (gel silika). Semakin dekat kepolaran antara senyawa dengan eluen maka senyawa akan

semakin terbawa oleh fase gerak tersebut. Hal ini berdasarkan prinsip “*like dissolved like*” (Watson, 2010).

*Retardation factor* ( $R_f$ ) merupakan parameter karakteristik KLT. Harga  $R_f$  didefinisikan sebagai perbandingan antara jarak senyawa dari titik awal dan jarak tepi muka pelarut dari titik awal (Roth, 1994). Angka  $R_f$  berjangka antara 0,00 sampai 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal (Stahl, 1985).

$$\text{Harga } R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh zat terlarut}}{\text{jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

(Dean, 1995)

Harga  $R_f$  untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga standar. Pengukuran yang sering dipakai lainnya menggunakan pengertian  $R_x$  atau  $R_{std}$  yang didefinisikan sebagai perbandingan antara jarak yang digerakkan oleh senyawa yang tidak diketahui dengan jarak yang digerakkan oleh senyawa standar yang diketahui (Hardjono, 1983). Nilai  $R_x$  dapat dihitung:

$$R_{x, a} = \frac{\text{jarak yang dilalui oleh zat terlarut a}}{\text{jarak yang dilalui oleh senyawa standar x}}$$

(Dean, 1995)

## 2.5.2 Analisis Kuantitatif

### 2.5.2.1 KLT- Densitometri

KLT-densitometri merupakan metode analisis instrumental yang didasarkan pada interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit yang merupakan bercak pada kromatografi lapis tipis (Rohman, 2009). Dibandingkan dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), kuantitasi dengan KLT-densitometri mempunyai

beberapa keuntungan, di antaranya KLT-densitometri memberikan fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih fase gerak, proses kromatografi dapat diikuti dengan mudah dan dapat dihentikan kapan saja, semua komponen dalam sampel dapat dideteksi (Rohman, 2009).

a. Kelebihan KLT- Densitometri

Spesifikasi yang tinggi, hasil yang didapatkan dipercaya dapat dilakukan dengan mudah serta cepat, pemilihan fase gerak akan memberikan fleksibilitas yang besar, dalam melakukan optimasi pemisahan dapat dilakukan dengan berbagai macam teknik, biaya yang dikeluarkan dalam pengoperasian relatif murah salah satunya karena pelarut yang digunakan sedikit dan silika gel sebagai fase diam dapat didaur ulang, serta mengubah polaritas pelarut dengan pelarut campuran dapat dilakukan dalam waktu singkat. Setelah dibandingkan antara metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan metode KLT, metode KLT lebih mudah serta murah dalam pelaksanaannya, dan sederhana penggunaan peralatannya. Serta pada proses deteksi bersifat lebih statis jika menggunakan KLT sedangkan bersifat dinamis dengan menggunakan KCKT (Abdul, 2009).

#### **2.5.2.2 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)**

Kromatografi merupakan teknik analisis dengan solut atau zat-zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, karena zat-zat ini melewati kolom kromatografi. Pemisahan solut-solut diatur oleh distribusi solut dalam fase gerak dan fase diam. Saat ini, KCKT merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel pada sejumlah bidang. KCKT merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif

maupun kuantitatif serta memiliki kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi (Gandjar & Rohman, 2007).

a. Kelebihan KCKT

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau *High Performace Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan salah satu metode kimia dan fisikokimia. KCKT termasuk metode analisis terbaru yaitu suatu teknik kromatografi dengan fase gerak cairan dan fase diam cairan atau padat. Banyak kelebihan metode ini jika dibandingkan dengan metode lainnya.

Kelebihan itu antara lain:

1. Mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran
2. Mudah melaksanakannya
3. Kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi
4. Dapat dihindari terjadinya dekomposisi / kerusakan bahan yang dianalisis
5. Resolusi yang baik
6. Dapat digunakan bermacam-macam detektor
7. Kolom dapat digunakan kembali
8. Mudah melakukan *sample recovery* (Effendy, 2004).

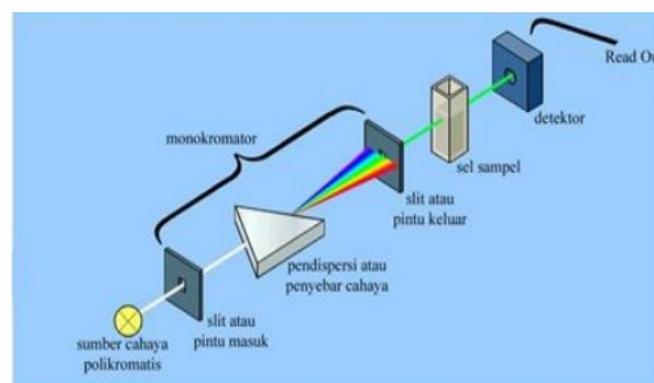
#### 2.5.2.2 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang, tiap media akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu

tergantung pada senyawa atau warna yang terbentuk (Cairns, 2009).

Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu objek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Sebagian dari cahaya tersebut akan di serap dan sisanya akan dilewatkan. Nilai absorbansi dari cahaya yang di serap sebanding dengan konsentrasi larutan di dalam kuvet (Sastrohamidjojo, 2007).

Spektrofotometer UV-VIS adalah pengukuran serapan cahaya di daerah ultraviolet (200-350nm) dan sinar tampak (350-800nm) oleh suatu senyawa. Serapan cahaya UV atau Vis (cahaya tampak) mengakibatkan transisi elektronik, yaitu promosi elektron-elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi lebih rendah. Spektrofotometri ultravoilet dan cahaya tampak berguna pada penentuan struktur molekul organik dan pada analisa kuantitatif. Spektrum elektron suatu molekul adalah hasil transmisi antara dua tingkat energi elektron pada molekul tersebut (Creswell, 2005).



Gambar 2. 3 Cara Kerja Spektrofotometri

(Sumber : Anton, 2013).

## 1. Bagian-bagian dari Spektrofotometri UV-Vis

### **A. Sumber cahaya:**

1. Lampu Tungsten (Wolfram): Lampu ini digunakan untuk mengukur sampel pada daerah tampak. Bentuk lampu ini mirip dengan bola lampu pijar biasa. Memiliki panjang gelombang antara 350-2200 nm. Spektrum radiasinya berupa garis lengkung. Umumnya memiliki waktu 1000 jam pemakaian.
2. Lampu Deuterium: Lampu ini dipakai pada panjang gelombang 190-380 nm. Spektrum energi radiasinya lurus, dan digunakan untuk mengukur sampel yang terletak pada daerah ultraviolet. Memiliki waktu 500 jam pemakaian. (Runge & Meissner, 1933).

### **B. Monokromator**

Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Jenis monokromator yang saat ini banyak digunakan adalah grating atau lensa prisma dan filter optik. Jika digunakan grating maka cahaya akan dirubah menjadi spektrum cahaya. Sedangkan filter optik berupa lensa berwarna sehingga cahaya yang diteruskan sesuai dengan warnanya lensa yang dikenai cahaya. Ada banyak lensa warna dalam satu alat yang digunakan sesuai dengan jenis pemeriksaan. (Runge & Meissner, 1933).

Monokromator, terdiri atas:

- a. Prisma, yang berfungsi untuk mendispersikan radiasi elektromagnetik sebesar mungkin supaya di dapatkan resolusi yang baik dari radiasi polikromatis.
- b. Kisi difraksi, yang berfungsi menghasilkan penyebaran dispersi sinar secara merata, dengan pendispersi yang sama, hasil dispersi akan lebih baik. Selain itu kisi

difraksi dapat digunakan dalam seluruh jangkauan spektrum.

- c. Celah optis, berfungsi untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diharapkan dari sumber radiasi. Apabila celah berada pada posisi yang tepat, maka radiasi akan dirotasikan melalui prisma, sehingga diperoleh panjang gelombang yang diharapkan.
- d. Filter, berfungsi untuk menyerap warna komplementer sehingga cahaya yang diteruskan merupakan cahaya berwarna yang sesuai dengan panjang gelombang yang dipilih (Runge & Meissner, 1933).

### **C. Tempat Sampel**

Spektrofotometer UV-Vis menggunakan kuvet sebagai wadah sampel yang akan dianalisis. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas, namun kuvet dari kuarsa yang terbuat dari silika memiliki kualitas yang lebih baik. Hal ini disebabkan yang terbuat dari kaca dan plastik dapat menyerap UV sehingga penggunaannya hanya pada spektrofotometer sinar tampak (Vis). Kuvet biasanya berbentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm (Runge & Meissner, 1933).

Kuvet yang baik harus memenuhi beberapa syarat sebagai berikut:

- a. Permukaannya harus sejajar secara optis
- b. Dan tidak berwarna sehingga semua cahaya dapat di transmisikan
- c. Tidak ikut bereaksi terhadap bahan-bahan kimia
- d. Tidak rapuh
- e. Bentuknya sederhana (Runge & Meissner, 1933).

#### **D. Detektor**

Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik (Runge & Meissner, 1933).

Macam-macam detektor yang biasa digunakan:

1. *Phototube* dengan jangkauan panjang gelombang ( $\lambda$ ) 150 – 1000 nm
2. *Photomultiplier* dengan jangkauan panjang gelombang ( $\lambda$ ) 150 – 1000 nm

Syarat-syarat sebuah detektor :

1. Kepekaan yang tinggi
2. Perbandingan isyarat atau signal dengan bising tinggi
3. Respon konstan pada berbagai panjang gelombang.
4. Waktu respon cepat dan signal minimum tanpa radiasi.
5. Signal listrik yang dihasilkan harus sebanding dengan tenaga radiasi (Runge & Meissner, 1933).

#### **E. Read out**

Merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detektor (Runge & Meissner, 1933).

### **2.5.3 Validasi Metode**

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Validasi metode adalah analisis yang bertujuan untuk mengkonfirmasi bahwa metode analisis tersebut dapat sesuai untuk peruntukannya (Gandjar, 2007).

Menurut Harmita pada Tahun 2004, validasi metode analisis adalah suatu tindakan parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan dalam penggunaannya.

#### **2.5.3.1 Akurasi**

Akurasi ialah ketepatan metode analisis atau kedekatan antara nilai yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnya, atau nilai rujukan. Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan melakukan *spiking* pada suatu sampel. Untuk pengujian senyawa obat, akurasi diperbolehkan dengan membandingkan hasil pengukuran dengan bahan rujukan standar (Gandjar & Rohman, 2014).

Terdapat tiga cara yang dapat digunakan untuk menentukan akurasi suatu metode analisis yaitu:

1. Membandingkan hasil analisis dengan CRM (*certified reference material*) dari organisasi internasional.
2. Uji perolehan kembali atau perolehan kembali dengan memasukkan analit ke dalam matriks blanko (*spiked placebo*).
3. Penambahan baku pada matriks sampel yang mengandung analit (*standard addition method*) (Gandjar & Rohman, 2014).

#### **2.5.3.2 Presisi**

Penetapan presisi dapat dibagi menjadi tiga kategori yaitu keterulangan (*repeatability*), presisi antara (*intermediate precision*) dan ketertiruan (*reproducibility*). Keterulangan ialah ketepatan yang ditentukan pada laboratorium yang sama oleh satu analis serta memakai peralatan dan dilakukan pada hari yang sama. Presisi antara ialah ketepatan pada kondisi percobaan pada laboratorium yang sama oleh analisis, peralatan, reagen dan kolom yang berbeda. Ketertiruan mempresentasikan presisi hasil

yang dapat dilakukan pada tempat percobaan yang lain dengan tujuan untuk memverifikasi bahwa metode akan menghasilkan hasil yang sama pada fasilitas tempat yang berbeda (Yuwono & Indrayanto, 2005).

### 2.5.3.3 Linieritas

Linieritas menunjukkan kemampuan suatu metode analisis untuk memperoleh hasil pengujian yang sesuai dengan konsentrasi analit yang terdapat pada sampel pada kisaran konsentrasi tertentu. Sementara itu rentang metode pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan dan linieritas yang dapat diterima. Rentang dapat dilakukan dengan cara membuat kurva kalibrasi dari beberapa larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya (Ermer & Miller, 2005).

Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang didapat selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya (Gandjar & Rohman, 2014).

Linieritas bisa dilihat dari kurva kalibrasi yang menunjukkan hubungan antara respon dengan konsentrasi analit pada sejumlah seri larutan baku. Dari kurva kalibrasi ini selanjutnya akan didapatkan regresi liniernya yang berupa persamaan  $y=bx+a$ , dimana  $x$  ialah konsentrasi,  $y$  ialah respon,  $a$  ialah intersep  $y$  yang sebenarnya dan  $b$  ialah slope yang sebenarnya. Tujuan dari dibuatnya regresi ini ialah untuk menentukan estimasi terbaik untuk slope dan intersep  $y$  sehingga akan mengurangi *residual error*, yaitu perbedaan nilai hasil percobaan dengan nilai yang diprediksi melalui persamaan regresi (Harvey, 2000).

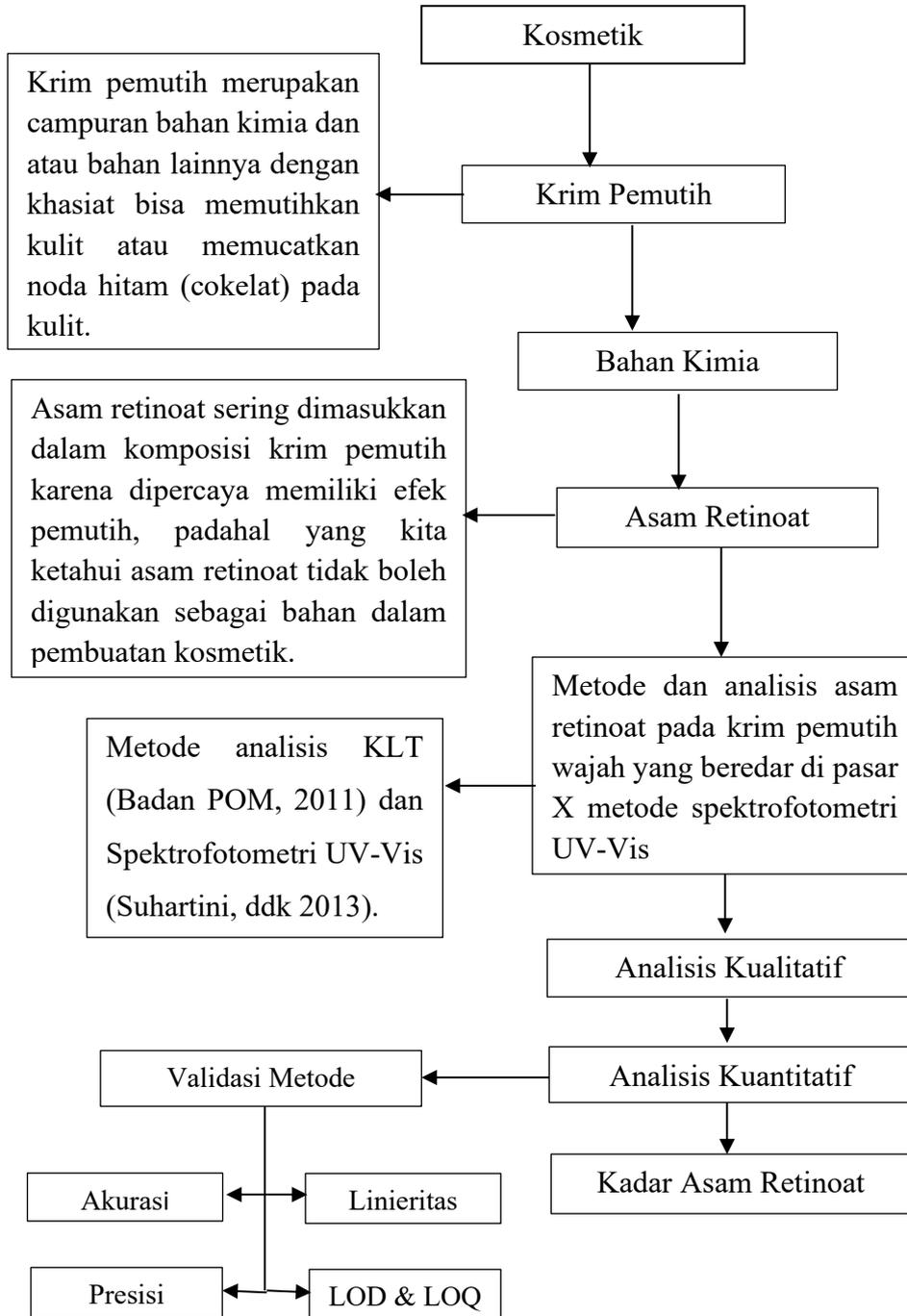
Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi  $r$  pada analisis regresi linier. Hubungan linier yang ideal diambil jika nilai  $b$  adalah 0 dan  $r$  adalah +1 tergantung arah garis (Harmita, 2004).

#### **2.5.3.4 Limit Deteksi dan Limit Kuantitas**

Limit deteksi ialah konsentrasi analit terendah yang masih bisa dideteksi meskipun tidak selalu dapat di kuantifikasi. Sedangkan batas kuantifikasi ialah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi pada kondisi analisis yang digunakan (Yuwono & Indrayanto, 2005).

Limit deteksi merupakan jumlah atau konsentrasi terendah analit dalam sampel yang dapat dideteksi, namun tidak perlu diukur sesuai dengan nilai sebenarnya. Limit kuantitas ialah jumlah analit terkecil dalam sampel yang dapat ditentukan secara kuantitatif pada tingkat ketelitian dan ketepatan yang baik. Limit kuantitas ialah parameter pengujian kuantitatif untuk konsentrasi analit yang rendah dalam matriks yang kompleks dan digunakan untuk menentukan adanya pengotor atau degradasi produk. Limit deteksi dan limit kuantitasi dihitung dari rata-rata kemiringan garis dan simpangan baku intersep kurva standar yang diperoleh (ICH, 2005).

## 2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka Konsep