BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kosmetik

2.1.1 Definisi Kosmetik

Kosmetik berasal dari kata Yunani "*kosmetikos*" yang berarti keterampilan menghias dan mengatur. Pengertian kosmetik dalam Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 445/MenKes/Permenkes/1998 merupakan sediaan atau campuran bahan yang digunakan pada bagian tubuh, gigi, dan rongga mulut untuk membersihkan, mengubah penampilan, meningkatkan daya tarik, memberikan perlindungan agar tetap dalam keadaan baik, dan memperbaiki bau badan tetapi tidak dimaksudkan untuk mengobati ataupun menyembuhkan suatu penyakit (Tranggono dan Latifah, 2007).

Definisi kosmetika dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan RI No. HK.00.05.42.1018 merupakan setiap bahan atau sediaan yang digunakan pada bagian luar tubuh manusia (epidermis, kuku, bibir, rambut, dan organ genital luar lainnya) atau pada gigi dan mukosa mulut terutama digunakan untuk membersihkan, mengharumkan, mengubah penampilan atau memperbaiki bau badan, dan memelihara tubuh dalam kondisi baik (Widana, 2014).

Ilmu yang mempelajari kosmetik disebut "*kosmetologi*" artinya ilmu yang berhubungan dengan pembuatan, penyimpanan, penggunaan, dan efek samping kosmetik. *Kosmetologi* memegang peranan penting dalam berbagai disiplin ilmu yang terkait yaitu: farmakologi, farmasi, teknik kimia, biokimia, mikrobiologi, dermatologi, dan ahli kecantikan. Dermatologi kosmetik (*cosmetic dermatology*) merupakan ilmu dermatologi yang menangani khusus peranan kosmetik (Wasitaatmadja, 1997).

2.1.2 Penggolongan Kosmetik (Tranggono dan Latifah, 2007)

A. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI, kosmetik terbagi ke dalam 13 kelompok:

1. Preparat untuk bayi, contohnya sampo bayi, *baby powder*, minyak bayi, dan lain-lain.
2. Preparat untuk mandi, contohnya *bath soap*, *shower gel*, dan lain-lain.
3. Preparat untuk mata, contohnya maskara, *eye-liner*, dan lain-lain.
4. Preparat wangi-wangian, contohnya *cologne*, parfum, dan lain-lain.
5. Preparat untuk rambut, contohnya *hair conditioner*, cat rambut, dan lain-lain.
6. Preparat pewarna rambut, contohnya cat rambut, dan lain-lain.
7. Preparat *make-up* (kecuali mata), contohnya *blush on*, *lipstick*, *powder*, dan lain-lain.
8. Preparat untuk kebersihan mulut, contohnya *mouth washes*, pasta gigi, dan lain-lain.
9. Preparat untuk kebersihan badan, contohnya sabun, *deodorant*, dan lain-lain.
10. Preparat kuku, contohnya, *nail remover*, cat kuku dan lain-lain.
11. Preparat perawatan kulit, contohnya pelindung, pembersih, pelembab, dan lain-lain.
12. Preparat cukur, contohnya *shaving cream*, dan lain-lain.
13. Preparat untuk *suntan* dan *sunscreen*, contohnya *sunscreean foundation*, dan lain-lain.

B. Penggolongan menurut sifat dan cara pembuatan:
   1. Kosmetik modern, dibuat secara modern dari bahan-bahan kimia.
   2. Kosmetik tradisional
      a. Kosmetik yang dibuat secara benar-benar tradisional dari bahan-bahan alam dan dari resep turun menurun, contohnya mangir dan lulur.

b. Semi tradisional, dibuat dengan cara modern dan ditambah dengan bahan pengawet, sehingga dapat disimpan dalam waktu lama dan tidak cepat rusak.
c. Hanya nama yang tradisional, tidak ada bahan alami asli, sehingga pewarna ditambahkan agar terlihat seperti bahan tradisional.

C. Penggolongan menurut kegunaannya bagi kulit:

1. Kosmetik perawatan kulit (*skin-care cosmetics*)

   Kosmetik jenis ini digunakan untuk menjaga kulit tetap bersih dan sehat. Termasuk di dalamnya:

   a. Kosmetik yang digunakan untuk membersihkan kulit (*cleanser*), contohnya penyegar kulit (*freshener*), sabun, krim pembersih, dan susu pembersih.
   b. Kosmetik yang digunakan untuk melembabkan kulit (*moisturizer*), contohnya krim malam, krim anti kerut, dan krim pelembab.
   c. Kosmetik yang digunakan untuk pelindung kulit, contohnya *sun block*, dan *sunscreen cream*.
   d. Kosmetik yang digunakan untuk menipiskan kulit (*peeling*), contohnya *scrub cream* yang berisi butiran halus dan agak kasar, digunakan sebagai pengampelas (*abrasiver*) untuk mengangkat sel kulit mati.

2. Kosmetik Riasan (dekoratif atau *make-up*)

   Kosmetik jenis ini diperlukan untuk merias dan menyembunyikan noda atau ketidaksempurnaan kulit agar menghasilkan tampilan yang lebih menarik dan membuat penggunanya merasa percaya diri. Pewarna dan pewangi memainkan peran yang sangat penting terhadap sediaan kosmetik.

2.1.3 Manfaat Kosmetik (Widana, 2014)

a. Pembersih

Jenis kosmetik pembersih yang berbasis air, contohnya air mawar. Jenis kosmetik pembersih berbasis air dan alkohol, contohnya astringen. Jenis kosmetik pembersih yang berbasis air dan garam minyak, contohnya sabun. Jenis kosmetik pembersih yang berbahan dasar minyak, contohnya *cleansing oil*. Jenis kosmetik pembersih yang berbasis air dan minyak, contohnya *cleansing cream*.

b. Pelembab

Kulit kering terjadi bila kelembaban sangat rendah dan penguapan kelembaban dari kulit (kulit tua) sangat tinggi. Jenis kosmetik pelembab berfungsi untuk menutupi kulit kering. Bahan yang digunakan adalah minyak nabati/minyak hewani. Kulit yang berminyak atau minyak kulitnya berlebih tidak diperlukan untuk menggunakan jenis kosmetik ini.

c. Pelindung

1. Perlindungan terhadap polusi yang memiliki sifat sangat mengiritasi, misalnya di area kerja pabrik kimia. Gunakan *foundation cream* (kosmetik riasan dasar) sebagai perlindungan.
2. Perlindungan terhadap paparan sinar matahari yang mengandung sinar UV dengan secara langsung dalam jangka waktu panjang. Gunakan tabir surya sebagai perlindungan.

d. Penipisan

Terkadang penipisan diperlukan ketika kulit menjadi tebal dan agak kasar, seperti pada penyakit keratinisasi kulit. Kulit menjadi kotor dan berminyak sehingga *stratum corneum* (lapisan tanduk) sulit dihilangkan atau mempercepat keratinisasi kulit pada tempat terjadi gesekan kulit, sehingga diperlukan jenis kosmetik yang mengandung partikel kasar (*scrub*).

e. Rias atau Dekoratif

Rias bertujuan untuk memperbaiki penampilan dan membuatnya lebih menarik. Perubahan warna kulit, perubahan bentuk wajah (hidung ataupun mata), dan perubahan terhadap warna kuku.

f. Wangi-wangian (*parfum*)

Wangi-wangian bertujuan untuk meningkatkan dan menutupi terhadap aroma tubuh yang mungkin membuat orang lain tidak enak. Kulit berisiko tinggi dan mungkin sensitif terhadap zat kimia yang terdapat pada sediaan. Perhatikan dan tentukan jenis wangi-wangian yang digunakan.

g. Kosmetik Medik

Kosmetik medik digunakan untuk tujuan pengobatan, contohnya Hormon (*Human growth hormone* (*HGH*)), Sulfur, dan Heksaklorofen.

2.1.4 Efek Samping Kosmetika

Efek samping kosmetika terjadi akibat kontak antara kosmetik dengan kulit. Hal ini terkait penyerapan kosmetik ke dalam kulit pemakainya. Besarnya penyerapan tergantung dari kondisi kulit pemakainya, kondisi kosmetik yang digunakan, dan kondisi kulit pemakainya (Widana, 2014).

Beberapa efek samping akibat penggunaan kosmetik terhadap kulit antara lain (Widana, 2014):

1. *Dermatitis*, akibat kontak alergik/iritan. Misalnya, Hidrokuinon pada pemutih kulit, Natrium laurilsulfat/heksaklorofen pada sabun, dan PPDA (*paraphenyl diamine*) pada cat rambut.
2. *Akne Kosmetika*, akibat kontak dengan aknegenik. Misalnya, Alkohol laurat pada pelembab, Lanolin pada masker penipis (*peeling mask*) atau bedak padat, dan Petrolatum pada minyak rambut atau maskara.
3. *Fotosensitivitas*, akibat fotoalergik dalam kosmetik. Misalnya, Sitrun dan Lavender dalam parfum, PPDA (*paraphenyl diamine*) dalam

pewarna rambut, PABA (*para amino benzoic acid*) dan beta-karoten pada tabir surya, dan Klormerkaptodikarboksimid dalam sampo antiketombe.

4. *Pigmented cosmetics dermatitis*, adalah terjadinya kelainan terhadap pigmentasi kulit. Kelainan ini disebabkan bahan pewangi atau pewarna yang terkandung di dalam sediaan kosmetik, dapat berupa bercak kecokelatan, terkadang hitam atau biru hitam.

2.2 Kulit

2.2.1 Definisi Kulit

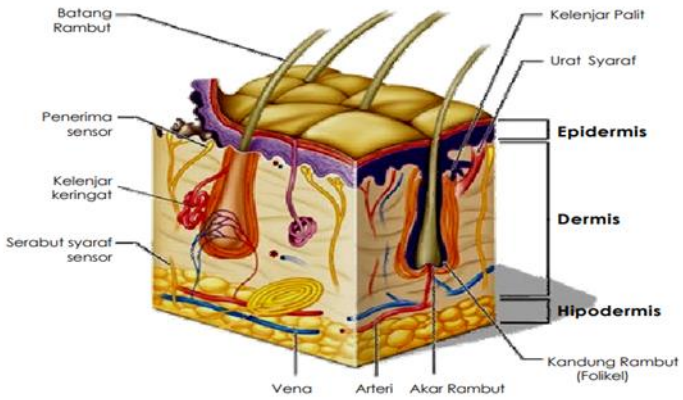
Kulit merupakan bagian terpenting dari tubuh manusia dan kecantikan kulit harus diperhatikan. Pemahaman terhadap struktur anatomi dan fisiologi pada kulit akan membantu dalam mempermudah pada perawatan kulit dan menjadikan kulit wajah tetap segar, lembab, halus, lembut, dan bersih (Kusantati, dkk., 2008).

Kulit merupakan salah satu organ tubuh manusia yang letaknya di bagian paling luar dan membatasi dari lingkungan hidup manusia. Luas kulit orang dewasa sekitar 1,5 m^2 dan kira-kira sekitar 15% dari berat badan. Kulit adalah organ tubuh yang esensial dan vital serta merupakan sebuah cermin kehidupan dan kesehatan. Kulit juga sangat kompleks, elastis dan sensitif, serta berubah sesuai keadaan iklim, usia, jenis kelamin, ras, dan posisi tubuh (Wasitaatmadja, 1997).

Warna kulit yang bervariasi, seperti kulit putih, kuning, pirang, coklat dan hitam, merah muda pada telapak kaki dan tangan, dan coklat pada bagian luar alat kelamin orang dewasa (Wasitaatmadja, 1997).

2.2.2 Struktur Kulit

Struktur kulit terdiri dari tiga lapisan yaitu: *Epidermis* (kulit ari) adalah lapisan yang paling luar, *Dermis* (kulit jangat), *Hipodermis* (Jaringan penyambung di bawah kulit) (Kusantati, dkk., 2008).



Gambar 2. 1 Skema Bagian-Bagian Kulit
Sumber gambar: Kusantati, dkk., 2008

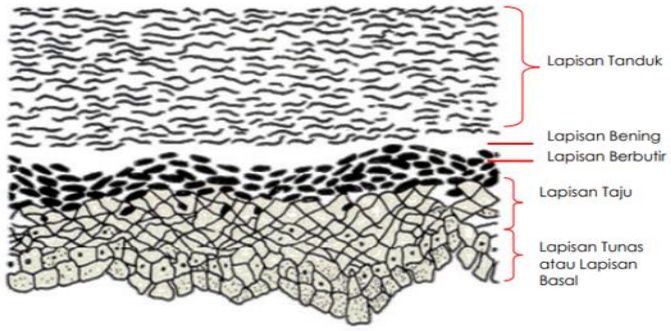
1. *Epidermis* (Kulit Ari)

   Epidermis adalah bagian kulit yang letaknya paling luar dan yang paling penting untuk diperhatikan pada perawatan kulit, karena kosmetik digunakan pada bagian *epidermis. Epidermis* terbagi menjadi lima lapisan kulit, yaitu (Kusantati, dkk., 2008):

   1) *Stratum corneum* (lapisan tanduk) adalah lapisan paling atas *epidermis* dan menutupi semua lapisan *epidermis* yang lebih dalam. *Stratum corneum* terdiri dari beberapa lapis sel pipih, tidak ada inti, tidak ada proses metabolisme, tidak bewarna, dan hampir tidak ada air.
   2) *Stratum lucidum* (lapisan bening) atau disebut juga dengan lapisan *barrier*. Letaknya tepat dibawah lapisan *stratum corneum* (lapisan tanduk), dan dianggap sebagai penyambung s*tratum lucidum* (lapisan bening) dan *stratum granulosum* (lapisan berbutir). *Stratum lucidum* terdiri dari protoplasma sel-sel jernih yang berukuran kecil-kecil, tipis, dan translusen sehingga cahaya dapat melewatinya. Lapisan ini sangat jelas terlihat di telapak kaki. Pada *stratum lucidum* dimulainya proses keratinisasi.
   3) *Stratum granulosum* (lapisan berbutir) terdiri dari sel-sel keratinosit yang mempunyai bentuk seperti kumparan mengandung butir-butir di dalam protoplasma, berbutir kasa dan

berinti mengkerut. *Stratum granulosum* terlihat jelas pada bagian kulit telapak tangan dan telapak kaki.

4) *Stratum spinosum* (lapisan bertaju) juga dikenal sebagai lapisan *malphigi* terdiri dari sel-sel yang saling berhubungan dengan perantaraan jembatan-jembatan protoplasma berbentuk kubus. Jika sel-sel lapisan saling berpisah satu sama lain, maka sel-selnya seakan bertaju. Setiap sel mengandung filamen kecil yang tersusun dari serabut protein. Sel-sel yang terdapat di *stratum spinosum* normal, tersusun menjadi beberapa baris.
5) *Stratum germinativum* atau *stratum basale* merupakan lapisan *epidermis* paling bawah yang terbentuk oleh satu baris sel torak (*silinder*) dan posisinya tegak lurus terhadap permukaan *dermis*.



Gambar 2. 2 Penampang Lapisan Kulit Ari (*Epidermis*)
Sumber gambar: Kusantati, dkk., 2008

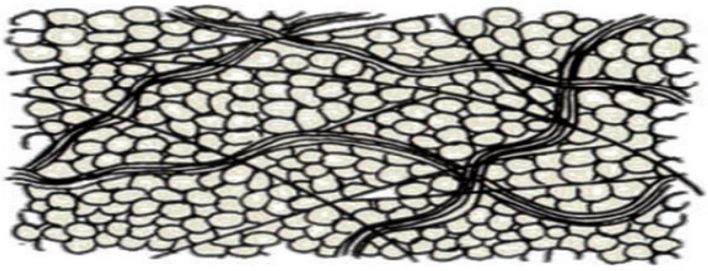
2. *Dermis* (Kulit Jangat)

   Dermis merupakan tempatnya ujung saraf sensorik, dimana kandung rambut, kelenjar keringat, kelenjar minyak, pembuluh darah dan getah bening, dan otot penegak rambut (*muskulus arektor pili*). *Dermis* terdiri dari sekelompok serat elastis yang dapat membuat kulit menjadi mengkerut dan akan kembali ke bentuk semula, serta serat protein ini disebut kolagen. Serat kolagen disebut juga jaringan pendukung karena dapat menjaga kulit tetap kering dan lembut. Pada lapisan ini terdiri dua macam kelenjar yaitu kelenjar keringat (*glandula sudorifera*) dan kelenjar palit (*glandula sebasea*) (Kusantati, dkk., 2008).

Gambar 2. 3 Penampang Kulit Jangat (*Dermis*)
Sumber gambar: Kusantati, dkk., 2008

3. *Hipodermis* (Jaringan Penyambung (jaringan ikat) Bawah Kulit)

   Hipodermis mengandung jaringan lemak, pembuluh darah dan getah bening, dan saraf yang sejajar dengan permukaan kulit. Lapisan ini memiliki fungsi sebagai penahan benturan bagi organ-organ tubuh bagian dalam, membentuk tubuh, dan sebagai tempat cadangan makanan (Kusantati, dkk., 2008).



Gambar 2. 4 Penampang Jaringan Ikat Bawah Kulit (*Hipodermis*)
Sumber gambar: Kusantati, dkk., 2008

2.2.3 Fungsi Kulit (Kusantati, dkk., 2008)

Kulit memiliki beberapa fungsi yaitu sebagai berikut:

1. Pelindung
2. Penerima rangsangan
3. Pengatur panas
4. Pengeluaran (ekskresi)
5. Penyimpanan
6. Penyerapan terbatas
7. Penunjang penampilan

Kulit mempunyai fungsi lain yaitu kulit dapat mengekspresikan emosi seseorang, seperti kemerahan kulit, pucat, dan konstraksi otot penegak rambut.

2.2.4 Warna Kulit

Warna kulit sangat bervariasi dari warna putih bersih, kuning, cokelat, kemerahan atau hitam. Setiap warna kulit memiliki keunikannya masing-masing, dan jika dipelihara dengan baik dapat menampilkan karakter yang menarik. Warna kulit terutama ditentukan oleh (Kusantati, dkk., 2008):

1. *Oxyhemoglobin* yang bewarna merah
2. Hemoglobin tereduksi yang bewarna merah kebiruan
3. Melanin yang bewarna coklat
4. *Keratohyalin* yang memberikan penampakan *opaque* pada kulit, dan
5. Lapisan *stratum corneum* yang memiliki warna putih kekuningan/keabu-abuan

Diantara komponen warna kulit, pigmen yang paling menentukan warna kulit adalah pigmen melanin. Jumlah pigmen melanin di kulit bergantung pada faktor-faktor seperti ras, individu, dan lingkungan (Kusantati, dkk., 2008).

2.2.5 Jenis-Jenis Kulit (Kusantati, dkk., 2008)

Secara umum, jenis kulit manusia dapat dibedakan menjadi:

1. Kulit Normal

   Kulit normal biasanya mudah dirawat. *Sebaceous gland* (kelenjar minyak) pada kulit normal biasanya tidak membandel, karena minyak yang dikeluarkan (sebum) seimbang tidak terlalu banyak dan tidak terlalu sedikit. Kulit normal ditandai dengan kulit yang lembut, lembab, kering, segar, bercahaya, halus dan mulus, tanpa jerawat, elastis, dan tidak berminyak dan tidak kering.

2. Kulit Berminyak

   Banyak perempuan di daerah tropis mengalami kulit jenis ini. Kulit berminyak disebabkan oleh *sebaceaous gland* (kelenjar minyak) sangat produktif, sehingga tidak dapat mengontrol jumlah minyak (sebum) yang harus dikeluarkan. *Sebaceaous gland* pada kulit berminyak terletak di lapisan *dermis* dan mudah terpicu untuk bekerja lebih aktif. Pemicunya dapat berupa faktor internal (faktor genetis dan faktor hormonal) atau faktor eksternal (udara panas dan lembab serta makanan yang dapat merangsang keluarnya keringat). Kulit berminyak mempunyai ciri-ciri, yaitu terlalu banyak minyak di zona T, tekstur kulit kasar, pori-pori besar, mudah menyerap kotoran, mudah terjadinya jerawat, membuat kulit menjadi berkilau, riasan wajah sering gagal menempel dan mudah luntur, serta tidak mudah keriput.

3. Kulit Kering

   Kulit kering terdapat kandungan minyak atau sebum yang sangat rendah dan gampang sensitif, kulit kering tidak dapat mempertahankan kelembaban sehingga terlihat sangat kering. Kulit kering mempunyai ciri-ciri, yaitu terasa kencang setelah mencuci muka dan akan mereda setelah dioleskan pelembab. Ada banyak faktor yang menyebabkan kulit kering, seperti faktor genetik, kondisi struktur kulit, pola makan, faktor lingkungan, dan penyakit kulit.

4. Kulit Sensitif

   Kulit sensitif didasarkan pada gejala perubahan warna dan respons yang cepat terhadap iritasi. Kulit sensitif biasanya lebih tipis dari jenis kulit lainnya, sehingga sangat sensitif terhadap apapun yang dapat meyebabkan alergi (*allergen*). Ciri-ciri kulit sensitif yaitu mudah terkena alergi, reaksi cepat terhadap *allergen*, iritasi dan luka, dan tekstur kulit tipis. Pembuluh darah kapiler dan ujung saraf pada kulit sensitif letaknya sangat dekat dengan permukaan kulit, sehingga kulit menjadi mudah merah.

5. Kulit Kombinasi atau Kulit Campuran

   Saat kondisi tertentu kadang dijumpai kulit sensitif-berminyak. Pada area kulit berminyak harus dirawat secara hati-hati, terutama kulit berminyak dan area kulit kering atau normal harus dirawat sesuai dengan jenis kulitnya. Ciri-ciri dari jenis kulit ini yaitu kulit di zona T berminyak, sedangkan di zona lain tergolong kulit kering atau normal, begitupun sebaliknya. Selain itu, tekstur kulit tergantung pada jenis kulitnya yakni menjadi lebih tebal diarea kulit berminyak dan menipis diarea normal atau kering.

2.3 Krim

2.3.1 Definisi Krim

Krim merupakan sediaan semi padat, berbentuk emulsi dengan kadar air tidak ≤ 60% untuk pemakaian luar. Krim terdiri dua tipe, yaitu krim tipe minyak-air (M/A) dan krim tipe air-minyak (A/M) (Depkes RI, 1979).

Krim merupakan produk kosmetik yang mudah dan praktis pada saat digunakan. Krim adalah sediaan semi padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai (Yumas, 2016).

Krim pemutih merupakan sediaan yang digunakan di luar tubuh, yakni untuk mencerahkan atau mengubah warna kulit serta menjadikan kulit bersih dan bercahaya. Terutama banyak perempuan menggunakan sediaan kosmetik krim pemutih untuk mempercantik kulit dan wajah (Chakti *et al.*, 2019).

2.4 Hidrokuinon

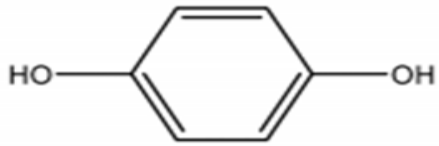
2.4.1 Definisi Hidrokuinon

Hidrokuinon merupakan senyawa kimia berbentuk kristal berwarna putih seperti jarum, tidak berbau, memiliki rumus kimia $C_6H_4(OH)_2$ dengan nama kimia 1,4-benzendiol atau quinol yang akan teroksidasi terhadap cahaya dan udara. Senyawa tersebut digunakan sebagai bahan pemutih dan mencegah terjadinya pigmentasi yang bertindak sebagai

penghambat enzim tirosinase yang berfungsi dalam penggelapan terhadap warna kulit (Faisal *et al.*, 2018).

Hidrokuinon adalah zat yang dapat digunakan sebagai bahan pemutih kulit. Hidrokuinon digunakan sebagai bahan pencerah kulit melalui mekanisme penghambatan enzim tirosin dalam pembentukan melanin (Kurniati *et al.*, 2016).

Hidrokuinon (*1,4-dihydroxybenzene*) adalah senyawa organik aromatik yang diklasifikasikan sebagai senyawa fenolik yang digunakan dalam kosmetik untuk pemutih kulit. Senyawa ini berperan dalam menghambat enzim tirosinase (penghasil melanin di kulit) sehingga warna kulit menjadi putih (Fahmi *et al.*, 2019).



Gambar 2. 5 Struktur Kimia Hidrokuinon
Sumber gambar: Kaur *et al.*, 2017

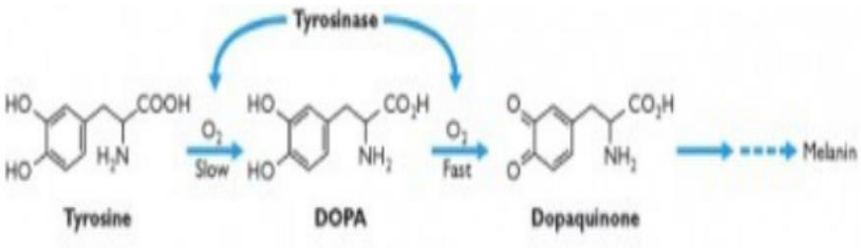
Hidrokuinon mempunyai gugus kromofor yaitu benzene dan auksokrom yaitu –OH (hidroksi) (Primadiamanti *et al.*, 2018). Gugus kromofor merupakan gugus fungsional tidak jenuh yang memberikan serapan pada daerah ultraviolet atau cahaya tampak. Sedangkan, auksokrom merupakan gugus yang mempunyai elektron nonbonding dan tidak mengabsorbsi radiasi pada λ di atas 200nm, akan tetapi mengabsorbsi radiasi UV jauh (Dachriyanus, 2004).

2.4.2 Mekanisme Kerja Hidrokuinon pada Kulit

Hidrokuinon adalah bahan aktif yang paling banyak digunakan dalam sediaan krim pemutih wajah. Hal ini disebabkan karena khasiat hidrokuinon yang dapat menonaktifkan tirosinase dengan menghambat reaksi oksidasi enzimatik dari tirosin menjadi 3,4-dihidroksifenilalanin. Tirosinase adalah enzim utama dalam pembentukan melanin, jika kerjanya terhambat maka kandungan melanin yang dihasilkan oleh kulit

berwarna hitam atau coklat akan berkurang yang akan membuat kulit menjadi putih (Handoyo, 2010).

Fungsi Hidrokuinon yaitu untuk mencegah pelepasan melanin melalui tirosinase pada melanosit yang letaknya di lapisan *epidermis* kulit, mendegradasi melonosom terhadap kulit, menembus lapisan kulit, dan menebalkan lapisan kolagen. Melanin yang diproduksi oleh tirosinase dalam melanosit umumnya diaktifkan oleh sinar matahari, hormon, penyakit, obat-obatan, alergi, dan iritasi, yang akhirnya menyebabkan bintik-bintik atau berflek, warna kulit tidak merata dan meyebabkan kulit gelap (Handoyo, 2010).



Gambar 2. 6 Proses Pembentukan Melanin
Sumber gambar: Rahim, 2011

Gambar 2.6 diatas menjelaskan proses pembentukan melanin dengan singkat. Singkatnya, reaksi pembentukan melanin mengubah tirosin menjadi DOPA, yang kemudian dioksidasi menjadi dopaquinone dan membentuk melanin pada akhir reaksi (Rahim, 2011).

2.4.3 Efek Samping Penggunaan Hidrokuinon

Hidrokuinon dapat menyebabkan lapisan luar kulit mengelupas dan menghambat pembentukan melanin, sehingga membuat kulit menjadi gelap. Hidrokuinon tidak boleh digunakan untuk waktu yang lama, dan jika pemakaian melebihi 2% harus digunakan dibawah pengawasan dokter. Penggunaan Hidrokuinon secara berlebihan dapat menyebabkan okronosis, yaitu kulit berbintil seperti pasir dan warnanya coklat kebiruan. Penderita okronosis merasa kulit tubuhnya seperti terbakar dan mengalami gatal-gatal (Indriaty *et al.*, 2018).

Efek samping Hidrokuinon biasanya menimbulkan dermatitis kontak berupa hiperpigmentasi. Gejala awal dapat berupa iritasi kulit ringan, terbakar, kemerahan, gatal-gatal atau penggelapan kulit wajah akibat kerusakan sel melanosit (Indriaty *et al.*, 2018).

Gambar 2. 7 Efek Samping Hidrokuinon Berupa Hiperpigmentasi
Sumber gambar: Chandra *et al.*, 2012

2.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

2.5.1 Definisi Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode kromatografi paling sederhana yang sering digunakan. Bejana tertutup (*chamber*) yang berisi pelarut dan lempeng KLT merupakan peralatan dan bahan yang diperlukan untuk pemisahan dan analisis sampel menggunakan metode KLT yang relatif sederhana. Dengan optimasi metode dan penggunaan instrumen komersial yang tersedia pemisahan yang efektif dan kuantifikasi yang akurat dapat dicapai. Kromatografi planar juga dapat menggunakan lempeng, peralatan, dan teknik khusus untuk pemisahan skala preparatif (Wulandari, 2011).

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah metode kromatografi planar yang paling sederhana untuk memisahkan campuran analit berdasarkan distribusi antara dua fase (fase diam dan fase gerak) (Baderos, 2017).

Pada KLT fase diam terdiri dari lempeng silika, tanah diatome, alumina dan serbuk selulosa. Plat silika gel adalah plat yang paling umum digunakan. Fase gerak dalam sistem KLT merupakan campuran pelarut yang ditempatkan dalam bejana pengembang. Pelarut memiliki

pengaruh yang besar terhadap distribusi analit, sehingga perlu memperhatikan polaritas dan intensitas elusi. Sistem pelarut yang paling sederhana adalah campuran dua pelarut organik, karena kapasitas elusi dari kedua campuran pelarut dapat dengan mudah disesuaikan untuk mengoptimalkan pemisahan (Baderos, 2017).

Analisis menggunakan KLT dimulai dengan menotolkan sampel pada lempeng KLT (fase diam) untuk membentuk daerah awal. Kemudian dibiarkan sampel mengering. Lempeng KLT (fase diam) dicelupkan ke dalam pelarut tunggal ataupun campuran dua sampai empat pelarut murni (fase gerak) kedalam *chamber*. Pengembangan kromatogram merupakan jika fase diam dan fase gerak dipilih dengan benar, campuran komponen akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda selama proses pergerakan fase gerak melalui fase diam. Ketika fase gerak telah menempuh jarak yang diperlukan, fase diam dihilangkan, fase gerak yang terperangkap di dalam lempeng langsung dikeringkan, dan daerah yang dihasilkan dideteksi secara langsung (visual) atau di bawah sinar ultraviolet (UV), baik dengan atau tanpa perlu penambahan pereaksi penampak noda yang cocok (Wulandari, 2011).

Nilai RF digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang dipisahkan dari lapisan tipis. Nilai RF dari senyawa murni dapat menggunakan perbandingan sebagai berikut (Baderos, 2017):

$$\text{Harga RF} = \frac{Jarak\ yang\ digerakan\ oleh\ senyawa\ dari\ titik\ asal}{Jarak\ yang\ digerakan\ oleh\ pelarut\ dari\ titik\ asal}$$

Daya pisah (resolusi) harus baik untuk memastikan tidak ada tumpang tindih antara dua puncak yang terpisah. Nilai daya pisah yang baik pada kromatografi harus mendekati atau lebih besar dari 1,5. Rumus untuk menghitung resolusi dalam KLT sebagai berikut (Baderos, 2017):

$$\text{Rs} = \frac{d}{(W1+W2)\sqrt{2}}$$

Dimana:

Rs = Resolusi

D = Jarak

W = Lebar bercak

2.6 Spektrofotometri UV-*Vis*

2.6.1 Definisi Spektrofotometri UV-*Vis*

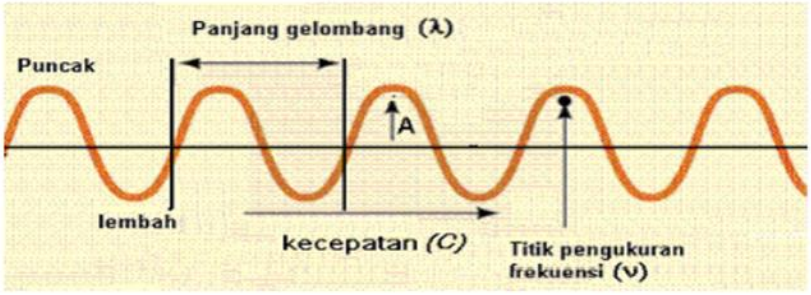
Spektrofotometri UV-*Vis* merupakan pengukuran panjang gelombang, intensitas sinar ultraviolet, dan sinar tampak yang diabsorbsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan sinar tampak mempunyai energi yang cukup untuk mendorong elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih besar (Dachriyanus, 2004).

Spektrofotometri UV-*Vis* merupakan pengukuran panjang gelombang, intensitas sinar ultraviolet, dan sinar tampak yang diabsorbsi oleh sampel (Dachriyanus, 2004).

Panjang gelombang sinar ultraviolet adalah 200-400 nm, sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm. Panjang gelombang (λ) merupakan jarak antara satu lembah dan satu puncak. Frekuensi merupakan kecepatan cahaya dibagi dengan panjang gelombang (λ). Bilangan gelombang (*v*) merupakan satu satuan per panjang gelombang. Amplitudo gelombang merupakan disturban maksimum dari garis horizontal (Dachriyanus, 2004).

$$\lambda = c/v \text{ atau } v = c/\lambda$$

(Dachriyanus, 2004)



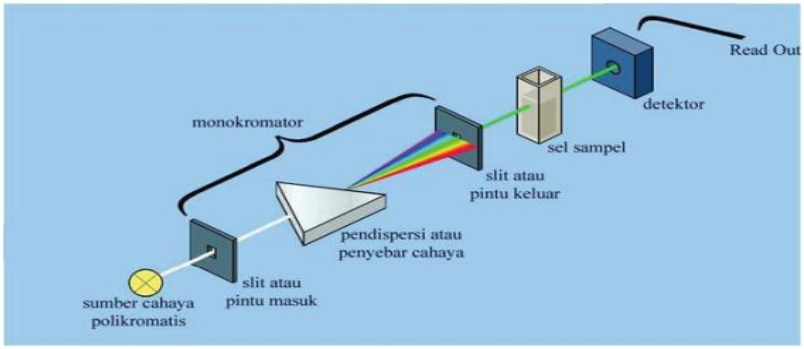
Gambar 2. 8 Gelombang
Sumber gambar: Dachriyanus, 2004

Beberapa istilah terkait molekuler yang digunakan dalam Spektrofotometri UV-*Vis*, yaitu kromofor, auksokrom, efek batokromik atau pergeseran merah, efek hipokromik atau pergeseran biru, hipsokromik, dan hipokromik. Kromofor adalah molekul atau bagian yang sangat kuat menyerap cahaya pada daerah UV-*Vis*, seperti heksana, aseton, asetilen, benzene, karbonil, karbondioksida, karbonmonooksida, dan gas nitrogen. Auksokrom merupakan gugus fungsi yang mengandung sepasang elektron bebas yang terikat secara kovalen, yang terikat dengan kromofor untuk meningkatkan penyerapan sinar UV-*Vis* dalam kromofor, baik panjang gelombang maupun intensitasnya, seperti gugus hidroksi, amina, halida, dan alkoksi (Suhartati, 2017).

2.6.2 Tipe-Tipe Spektrofotometri UV-*Vis*

Secara umum Spektrofotometri UV-*Vis* ada dua tipe, yaitu *single-beam* dan *double-beam* (Suhartati, 2017).

1. *Single-beam instrument,* digunakan untuk mengukur secara kuantitatif absorbansi dari panjang gelombang tunggal. *Single-beam instrument* memiliki keuntungan, yaitu sederhana, harga murah, dan pengurangan biaya yang ada merupakan keuntungan nyata. Beberapa instrumen menghasilkan *Single-beam instrument* yang digunakan untuk mengukur sinar ultraviolet dan sinar tampak. Panjang gelombang terendah adalah 190 nm hingga 210 nm dan panjang gelombang tertinggi adalah 800 nm hingga 1000 nm (Suhartati, 2017).

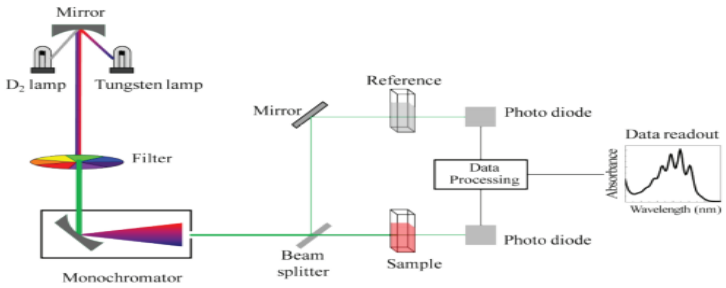


Gambar 2. 9 Diagram Alat Spektrofotometri UV-*Vis* (*Single-beam*)
Sumber gambar: Suhartati, 2017

Sumber sinar polikromatis untuk sinar ultraviolet adalah lampu deuterium, sedangkan sinar tampak adalah lampu wolfram.

Monokromator pada Spektrofotometri UV-*Vis* menggunakan lensa prisma dan filter optik. Sel sampel berupa kuvet yang terbuat dari kuarsa atau gelas dengan berbagai ukuran lebar. Detektor berupa detektor foto atau detektor panas atau detektor diode foto yang memiliki fungsi menangkap cahaya yang diteruskan oleh sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik (Suhartati, 2017).

2. *Double-beam instrument*, digunakan pada panjang gelombang 190 hingga 750 nm. *Double-beam instrument* memiliki dua sinar yang terbuat dari potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati blanko dan sinar kedua melewati sampel pada waktu yang bersamaan (Suhartati, 2017).



Gambar 2. 10 Skema Spektrofotometri UV-*Vis* (*Double-beam*)
Sumber gambar: Suhartati, 2017

2.6.3 Syarat Pengukuran

Spektrofotometri UV-*Vis* dapat digunakan untuk menentukan sampel dalam bentuk larutan, gas, atau uap. Umumnya, sampel harus diubah menjadi larutan bening. Untuk sampel dalam bentuk larutan, perlu memperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang digunakan, antara lain (Suhartati, 2017):

1. Sampel yang dilarutkan harus hingga benar-benar larut
2. Pelarut yang digunakan tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi dalam struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorbsi sinar yang dipakai oleh sampel)
3. Molekul senyawa yang akan dianalisis tidak ada interaksi
4. Kemurniannya harus tinggi

Tabel 2. 1 Absorpsi Sinar UV pada Panjang Gelombang Maksimum dari Beberapa Pelarut

Pelarut	$\lambda_{maks.}$, nm	Pelarut	$\lambda_{maks.}$, nm
Asetronitril	190	n- heksana	201
Kloroform	240	Metanol	205
Sikloheksana	195	Isooktana	195
1-4 dioksan	215	Air	190
Etanol 95%	205	Aseton	330
Benzena	285	Piridina	305

Sumber tabel: (Suhartati, 2017)

Keterangan:

λ_{maks} = Panjang gelombang maksimal

Pada tabel diatas mencantumkan pelarut-pelarut yang mengabsorpsi sinar ultraviolet pada panjang gelombang spesifik (Suhartati, 2017).

Pelarut yang umum digunakan adalah air, etanol, metanol, dan n-heksana karena pelarut ini transparan terhadap daerah ultraviolet (Suhartati, 2017).

Untuk mendapatkan spektrum UV-*Vis* yang baik, konsentrasi sampel harus diperhatikan. Hubungan antara absorbansi terhadap konsentrasi akan linier (A≈C) jika nilai absorbansi larutan antara 0,2-0,8 ($0,2 \leq A <$

0,8) atau biasanya diterapkan sebagai hukum Lambert-Beer dengan lebar sel 1 cm, dan besarnya absorbansi untuk senyawa dengan ikatan rangkap terkonjugasi yang mengalami eksitasi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$, dengan ε 8.000-20.000; konsentrasi larutan sekitar 4 x 10^{-5} mol/L; dan untuk senyawa dengan hanya memiliki eksitasi elektron $n \rightarrow \pi^*$, ε 10-100, konsentrasinya sekitar 10- 2 mol/L. Jika Mr senyawa uji tidak diketahui, konsentrasi larutan dengan absorbansi tersebut biasanya 10 ppm yang digunakan, jika absorbansi masih terlalu tinggi, larutan sampel harus diencerkan; sebaliknya jika terlalu rendah, jumlah sampel harus ditingkatkan (Suhartati, 2017).

2.6.3 Hukum Lambert-Beer

Hukum Lambert-Beer menetapkan hubungan ikatan linieritas antara absorbansi dengan konsentrasi larutan analit serta berbanding terbalik dengan transmitan. Hukum Lambert-Beer memiliki beberapa batasan, yaitu (Arwibiyantari, 2018):

a. Cahaya yang digunakan dianggap monokromatis
b. Penyerapan terjadi dalam volume yang memiliki penampang yang sama
c. Senyawa penyerap dalam larutan tidak bergantung pada yang lainnya dalam larutan tersebut
d. Tidak berfluorensensi ataupun fosforisensi
e. Indeks bias tidak bergantung pada konsentrasi larutan

Biasanya Hukum Lambert-Beer ditulis dengan (Suhartati, 2017):

$$\mathbf{A = \varepsilon \, . \, b \, . \, C}$$

Keterangan:

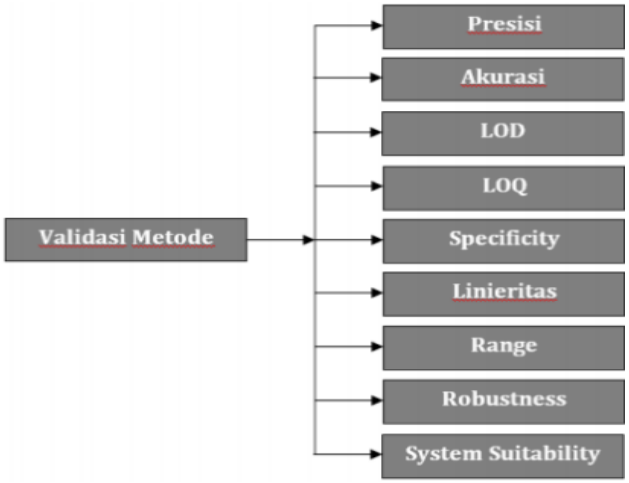
A = Absorban (serapan)
ε = Koefisien ekstingsi molar (M-1 cm-1)
b = Tebal kuvet (cm)
C = Konsentrasi (M)

2.7 Validasi Metode

2.7.1 Definisi Validasi Metode

Validasi metode merupakan suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, yang didasarkan pada percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan penggunaanya (Hermita, 2004).

Karena beberapa alasan validasi metode diperlukan, yaitu validasi metode adalah elemen penting dari pengendalian kualitas, validasi membantu memberikan jaminan pengukuran yang dapat diandalkan. Dibeberapa bidang, validasi metode merupakan persyaratan peraturan. Tujuan validasi metode untuk memastikan bahwa metode analisis tersebut sudah memenuhi persyaratannya. Dalam validasi metode uji ada beberapa parameter yang harus ditentukan menurut EUROCHEM, yaitu (Riyanto, 2014):



Gambar 2. 11 Parameter Validasi Metode Uji Menurut EUROCHEM
Sumber gambar: Riyanto, 2014

2.7.2 Ketelitian (*Precision*)

Presisi adalah standar pengukuran yang menunjukkan kedekatan antara nilai hasil pengukuran dari sampel yang homogen dalam kondisi normal (menggunakan alat yang sama untuk menguji sampel yang sama secara berurutan). Ketelitian mengacu pada kedekatan antara setiap hasil pengujian yang sama untuk melihat sebaran diantara nilai benar. Jika

prosedur diterapkan berulang kali pada sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Presisi diukur dengan simpangan baku (*standard deviation*) atau simpangan baku relatif (*relative standard deviation*) (koefisien variasi) (Riyanto, 2014).

Untuk perhitungan nilai simpangan baku (*standard deviation*), kemudian dari nilai simpangan baku tersebut dapat dihitung nilai koefisien variasi, yaitu dengan menggunakan rumus (Riyanto, 2014):

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{\sum_i^n=1\ (Xi-X)^2}{n-1}}$$

$$\text{KV (\%)} = \frac{SD}{X} \text{ X } 100\%$$

Bandingkan nilai KV yang diperoleh dengan KV Horwitz, yaitu merupakan kurva berbentuk terompet yang menghubungkan *reproducibility* (presisi) yang dinyatakan sebagai %KV dengan konsentrasi analit. Ketelitian metode analisis dinyatakan sebagai fungsi dari konsentrasi dengan menggunakan persamaan (Riyanto, 2014):

$$\text{KV (\%)} = 2^{1\ -\ 0{,}5\ \text{Log C}}$$

Keterangan:
C = Konsentrasi analit

Jika KV yang diperoleh dari percobaan lebih kecil dari KV Horwitz maka ketelitian (presisi) suatu metode akan memenuhi persyaratan (Riyanto, 2014).

2.7.3 Ketepatan (*Accuracy*)

Akurasi merupakan ukuran yang menunjukkan seberapa dekat hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Akurasi dapat ditentukan dengan dua metode, yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau metode penambahan baku (*standard addition method*) (Riyanto, 2014).

Pada metode stimulasi, sejumlah tertentu analit zat murni ditambahkan ke plasebo (semua campuran reagen digunakan untuk mengurangi analit), dan kemudian campuran dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar standar yang ditambahkan (kadar yang sebenarnya). *Recovery* dapat ditentukan dengan membuat sampel plasebo (eksepien obat, cairan biologis), kemudian menambahkan konsentrasi analit tertentu (biasanya 80% hingga 120% dari perkiraan kadar analit), dan kemudian menganalisis dengan metode yang akan divalidasi. Namun, jika sampel plasebo tidak dapat dibuat karena matriksnya tidak diketahui (misalnya, obat-obat yang dipatenkan), atau karena analitnya berupa suatu senyawa endogen (misalnya, metabolit sekunder pada kultur halus) maka dapat digunakan metode adisi (Riyanto, 2014).

Pada metode adisi (penambahan baku), sampel terlebih dahulu dianalisis, kemudian sejumlah analit yang akan diuji (*pure* analit/standar) ditambahkan ke dalam sampel, dicampur dan dianalisis kembali. Bandingkan perbedaan antara kedua hasil dengan kadar yang sebenarnya (hasil yang diharapkan). Kelemahan dari metode ini yaitu jika analit yang ditambahkan akan mengganggu pengukuran dan tidak dapat digunakan, misalnya penambahan analit akan mengubah nilai pH yang dapat menyebabkan kekurangan pereaksi (Riyanto, 2014).

Perhitungan perolehan *recovery* dengan rumus sebagai berikut (Riyanto, 2014):

$$\%\ Recovery = \frac{(C1-C2)}{C3}\ x\ 100$$

Keterangan:

C1 = Konsentrasi dari analit dalam campuran contoh + sejumlah tertentu analit

C2 = Konsentrasi dari analit dalam contoh

C3 = Konsentrasi dari analit yang ditambahkan kedalam contoh

Tabel 2. 2 Nilai Persen *Recovery* Berdasarkan Nilai Konsentrasi Sampel

Analit pada matrik sampel	*Recovery* yang diterima (%)
$10 < A \leq 100$ (%)	98-102
$1 < A \leq 10$ (%)	97-103
$0{,}1 < A \leq 1$ (%)	95-105
$0{,}001 < A \leq 0{,}1$ (%)	90-107
100 ppb $< A \leq$ 1 ppm	80-110
10 ppb $< A \leq$ 100 ppb	60-115
1 ppb $< A \leq$ 10 ppb	40-120

Sumber tabel: Riyanto, 2014

2.7.4 Linearitas

Linearitas merupakan kemampuan metode analisis untuk memberikan respon yang sebanding dengan konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode merupakan pernyataan batas minimum dan maksimum analit yang dapat ditunjukkan untuk ditentukan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas (Riyanto, 2014).

Linearitas biasanya dinyatakan sebagai variansi searah garis regresi yang dihitung menurut persamaan matematik dari data yang diperoleh berdasarkan hasil pengujian analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit. Perlakuan matematik pada uji linearitas dilakukan dengan persamaan garis lurus dengan metode kuadrat terkecil antara hasil analisis terhadap konsentrasi analit (Riyanto, 2014).

Sebagai parameter adanya hubungan linier, koefisien korelasi r digunakan dalam analisis regresi linier $y = a + bx$. Hubungan linier yang $r = +1$ atau -1 tergantung pada arah garis. Nilai a menunjukkan kepekaan analisis terutama instrument yang digunakan. Parameter lain yang harus dihitung adalah simpangan baku residual (Sy). Dengan menggunakan kalkulator atau perangkat lunak komputer, semua perhitungan matematik tersebut dapat diukur. Linearitas metode dapat menggambarkan keakuratan analitik metode dengan koefisien determinasi > 0,997 (Riyanto, 2014).

2.7.5 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)

LOD (*Limit of Detection*) merupakan jumlah terkecil analit yang dapat dideteksi dalam suatu sampel, yang masih dapat memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. LOD merupakan parameter uji batas. LOQ (*Limit of Quantitation*) adalah parameter pada analisis renik yang didefinisikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam suatu sampel yang masih dapat memenuhi standar secara teliti dan lengkap. LOD dan LOQ dapat ditentukan dengan tiga cara yaitu (Riyanto, 2014):

1. *Signal to noise ratio* (S/N)

   Merupakan dengan mengukur puncak kebisingan (*noise*) di sekitar waktu retensi analit, kemudian konsentrasi analit yang menghasilkan sinyal sama dengan nilai kebisingan untuk sinyal rasio diperkirakan.

2. Penentuan blangko

   Jika analisis blangko menghasilkan deviasi standar bukan nol, maka penentuan blangko akan diterapkan. Konsentrasi analit yang sesuai dengan nilai blangko sampel ditambah tiga standar deviasi disebut LOD. Sedangkan, konsentrasi analit yang sesuai dengan nilai blangko sampel ditambah sepuluh standar deviasi disebut LOQ, seperti yang ditunjukkan dalam rumus sebagai berikut:

   $$LOD = x + 3Sb$$

   $$LOQ = x + 10Sb$$

   Keterangan:

   x = Rata-rata blangko

   Sb = Standar deviasi blangko

3. Kurva kalibrasi

   Kurva kalibrasi linier mengamsumsikan bahwa respons instrumen y terkait linier dengan konsentrasi x standar dalam rentang konsentrasi yang terbatas. Hal ini dapat dinyatakan dalam persamaan seperti y = bx + a. Persamaan ini digunakan untuk menghitung sensitivitas b dan LOD dan LOQ. Oleh karena itu LOD dan LOQ dapat dinyatakan sebagai berikut:

$$\text{LOD} = \frac{3\ Sy/x}{Sl}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10\ Sy/x}{Sl}$$

Keterangan:

Sy/x = Simpangan baku

Sl = S*lope*