

**IDENTIFIKASI ASAM RETINOAT DAN HIDROKUINON
PADA KRIM PEMUTIH YANG DIJUAL DI WILAYAH
BANDUNG**

LAPORAN PENELITIAN

**HARDIYANTI BASO MUSTAFA
13151013**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI BANDUNG
PROGRAM STUDI STRATA I FARMASI
BANDUNG
2017**

IDENTIFIKASI ASAM RETINOAT DAN HIDROKUINON PADA KRIM PEMUTIH YANG DIJUAL DI WILAYAH BANDUNG

**Hardiyanti Baso Mustafa
13151013**

ABSTRAK

Asam retinoat merupakan retinoid aktif turunan vitamin A dalam bentuk asam yang dibentuk dari retinoid dalam bentuk alkohol. Hidrokuinon di atas 2% dikategorikan sebagai bahan yang berbahaya bagi kesehatan. Telah dilakukan penelitian identifikasi asam retinoat dan hidrokuinon pada krim pemutih yang diperoleh dari pasar tradisional di wilayah Bandung pada periode Maret hingga Juni 2017 menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Sampel krim diberi kode A, B, C, dan D. Hasil uji kesesuaian sistem untuk identifikasi asam retinoat dan hidrokuinon yaitu menggunakan kolom C 18, fase gerak yang dipilih untuk identifikasi asam retinoat yaitu metanol : air (90:10), detektor UV pada 348 nm dengan laju alir 1 mL/menit, sedangkan fase gerak yang dipilih untuk identifikasi hidrokuinon yaitu metanol : air (55:45), detektor UV pada 293 nm dengan laju alir 1 mL/menit. Hasil validasi metode menunjukkan linieritas yang baik untuk asam retinoat yaitu pada rentang konsentrasi 10 – 60 bpj dengan $r = 0,999$ dan persamaan regresi $y = 199927x - 32039$, Sedangkan untuk hidrokuinon yaitu pada rentang konsentrasi 6 – 16 bpj dengan $r = 0,999$ dan persamaan regresi $y = 37825x - 26767$. Identifikasi senyawa asam retinoat dan hidrokuinon pada 4 sampel menunjukkan bahwa sampel C positif mengandung asam retinoat dan pada sampel D positif mengandung hidrokuinon.

Kata kunci : Asam retinoat, hidrokuinon, krim, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

**IDENTIFICATION OF RETINOIC ACID AND
HYDROQUINONE IN WHITENING CREAM ARE SOLD IN
THE BANDUNG AREA**

**Hardiyanti Baso Mustafa
13151013**

ABSTRACT

Retinoic acid is an active retinoate of vitamin A derivatives in the form of an acid formed from retinoid in the form of alcohol. Hydroquinone containing up to 2% are also categorized as hazardous to health. The research of identification of retinoic acid and hydroquinone on whitening cream obtained traditional market in Bandung region from March period until June 2017 using high performance liquid chromatography (HPLC) method had been done. The cream samples were coded A, B, C, and D. The result of system suitability test for identification of retinoic acid and hydroquinone was using column C 18, the mobile phase chosen for the identification of retinoic acid were methanol : water (90 : 10), UV detector at 348 nm with a flow rate of 1 mL / min, while the mobile phase chosen for identification of hydroquinone were methanol : water (55:45), UV detector at 293 nm with flow rate of 1 mL / min. The result of validation method showed good linearity for retinoic acid that was in the concentration range 10 - 60 bpj with $r= 0.999$ and equation regression $y = 199927x - 32039$. As for hydroquinone that was in the concentration range 6 - 16 bpj with $r= 0.999$ and equation regression $y= 37825x - 26767$. The identification of retinoic acid and hydroquinone compounds in 4 samples showed that the C sample positive contained retinoic acid and on the sample D positive with hydroquinone.

Keywords : *Cream, retinoic acid, hydroquinone, High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*

**IDENTIFIKASI ASAM RETINOAT DAN HIDROKUINON
PADA KRIM PEMUTIH YANG DIJUAL DI WILAYAH
BANDUNG**

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan
Program Strata Satu

**HARDIYANTI BASO MUSTAFA
13151013**

Bandung, Agustus 2017

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta

(Drs. Indro Pamudjo, M.Si., Apt)

(Emma Emawati, M.Si)

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, dan terbuka untuk umum.

Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizing pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah seizing Ketua Program Studi di lingkungan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

Dipersembahkan kepada kedua orangtuaku tercinta

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah mengkaruniakan berkah dan kasih sayang-Nya sehingga atas izin-Nya penulis akhirnya dapat menyelesaikan penyusunan Skripsi ini.

Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Program Studi Farmasi Strata I di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung. Dalam penyusunan Skripsi ini, penulis menyadari bahwa penyusunan ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Bapak Drs. Indro Pamudjo, M.Si., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan kesempatan, dukungan, saran, dan kebijakan kepada penulis dalam proses penyusunan Skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
2. Ibu Emma Emawati, M.Si selaku Dosen Pembimbing Serta yang telah membimbing dan selalu memberikan kemudahan, kebijakan dan motivasi dalam penyelesaian Skripsi ini.
3. Bapak Entris Sutrisno., MH.Kes., Apt selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.
4. Bapak Ari Yuniarto., M.Si., Apt selaku Ketua Program Studi Strata Satu Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.
5. Kedua orang tua saya, yang telah memberikan semangat, motivasi dan dukungan serta doa, sehingga penulis dapat menyelesaikan menyelesaikan Skripsi ini.

6. Kerabat dan teman-teman seperjuangan yang selalu mendukung baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian Skripsi ini.

Akhir kata, semoga segala bantuan dan kebaikan yang diberikan oleh berbagai pihak mendapat balasan yang terbaik dari Allah SWT dan semoga Skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak serta bermanfaat bagi dunia pendidikan, khususnya dalam bidang farmasi.

Bandung, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	iv
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR TABEL	xii
Bab I Pendahuluan.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Rumusan Masalah.....	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
I.4 Manfaat Penelitian.....	3
I.4.1 Manfaat bagi Penelitian Selanjutnya.....	3
I.4.2 Manfaat bagi Pembaca	3
I.5 Waktu dan Tempat Penelitian	3
Bab II Tinjauan Pustaka.....	4
II.1 Krim.....	4
II.2 Asam Retinoat.....	4
II.3 Hidrokuinon	7
II.4 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	8
II.5 Validasi Metode.....	12
II.5.1 Linieritas dan Retang	13
II.5.2 Batas Deteksi	13

Bab III	Metodologi Penelitian	14
Bab IV	Alat dan Bahan.....	15
IV.1	Alat	15
IV.2	Bahan	15
Bab V	Prosedur Penelitian	16
V.1	Preparasi Sampel.....	16
V.1.1	Asam Retinoat.....	16
V.1.2	Hidrokuinon	16
V.2	Pembuatan Larutan Induk Standar	17
V.2.1	Asam Retinoat.....	17
V.2.2	Hidrokuinon	17
V.3	Pembuatan Larutan Seri Konsentrasi	17
V.3.1	Asam Retinoat.....	17
V.3.2	Hidrokuinon	18
V.4	Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum.....	18
V.4.1	Asam Retinoat.....	18
V.4.2	Hidrokuinon	18
V.5	Uji Kesesuaian Sistem	18
V.6	Validasi Metode.....	19
V.6.1	Linieritas Asam Retinoat	19
V.6.2	Linieritas Hidrokuinon.....	19
V.6.3	Batas Deteksi	19
V.7	Analisis Asam Retinoat.....	19
V.8	Analisis Hidrokuinon	20
Bab VI	Hasil Penelitian dan Pembahasan	21
VI.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	21
VI.2	Uji Kesesuaian Sistem	22
VI.3	Validasi Metode.....	24

VI.4	Identifikasi Sampel	26
VI.4.1	Identifikasi Asam Retinoat	26
VI.4.2	Identifikasi Hidrokuinon	30
Bab VII	Penutup	34
VII.1	Kesimpulan	34
VII.2	Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1 Certificate Of Analysis Asam Retinoat	37
Lampiran 2 Certificate Of Analysis Hidrokuinon	38
Lampiran 3 Spektrum Asam Retinoat	39
Lampiran 4 Spektrum Hidrokuinon.....	40

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar II.1 Struktur Kimia Asam Retinoat	5
Gambar II.2 Struktur Kimia Hidrokuinon	7
Gambar II.3 Skema Sistem KCKT	9
Gambar VI.1 Linieritas Asam Retinoat	25
Gambar VI.2 Linieritas Hidrokuinon	25
Gambar VI.3 Kromatogram Kontrol Negatif Asam Retinoat	26
Gambar VI.4 Kromatogram Kontrol Positif Asam Retinoat	27
Gambar VI.5 Kromatogram Sampel A	27
Gambar VI.6 Kromatogram Sampel B	28
Gambar VI.7 Kromatogram Sampel C	29
Gambar VI.8 Kromatogram Sampel D	29
Gambar VI.9 Kromatogram Kontrol Negatif Hidrokuinon	30
Gambar VI.10 Kromatogram Kontrol Positif Hidrokuinon.....	30
Gambar VI.11 Kromatogram Sampel A	31
Gambar VI.12 Kromatogram Sampel B	31
Gambar VI.13 Kromatogram Sampel C	32
Gambar VI.14 Kromatogram Sampel D	33

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel VI.1 Hasil UKS Larutan Baku Asam Retinoat	22
Tabel VI.2 Hasil UKS Larutan Baku Hidrokuinon	23
Tabel VI.3 Pengukuran Linieritas Asam Retinoat	24
Tabel VI.4 Pengukuran Linieritas Hidrokuinon	25

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	NAMA
BPJ	Berat Per Juta
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
KCKT	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
mm	mili meter
RAR	Retinoic Acid <i>Receptor</i>
USP	<i>United State Pharmacope</i>
UV	Ultraviolet
μl	Mikro liter

Bab I Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

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 (Badan POM RI, 2015).

Namun sering kali kosmetik ditambahkan bahan kimia berbahaya yang menyebabkan efek samping pada penggunaannya. Penambahan bahan kimia yang berbahaya dapat menimbulkan masalah bagi konsumen. Saat ini banyak dijual krim pemutih dipasaran sehingga sulit diawasi peredarannya oleh Badan POM terutama yang tidak teregistrasi di BPOM. Pada penggunaan krim pemutih yang dipasarkan, konsumen tidak mengetahui serta tidak memperdulikan apakah krim yang dibeli mengandung bahan kimia atau tidak, karena konsumen hanya menginginkan bahwa krim yang digunakan memberikan efek yang lebih cepat dalam memutihkan maupun membersihkan bekas jerawat tanpa memperhatikan efek samping yang berbahaya jika digunakan.

Berdasarkan laporan hasil pengawasan rutin Badan POM di seluruh Indonesia terhadap kosmetika yang beredar dari Oktober 2014 sampai September 2015, ditemukan 30 jenis kosmetika mengandung bahan berbahaya. Bahan berbahaya yang teridentifikasi terkandung dalam kosmetika tersebut, yaitu bahan pewarna merah K3 dan merah K10 (Rhodamin B), merkuri, hidrokuinon dan salah satunya adalah asam retinoat. Penambahan bahan kimia yang

berbahaya ke dalam kosmetik dapat menimbulkan berbagai risiko kesehatan. Salah satu bahan kimia yang digunakan dalam krim pemutih yaitu asam retinoat dan hidrokuinon. Berdasarkan peraturan BPOM RI No 18 tahun 2015, asam retinoat dan hidrokuinon termasuk bahan yang dilarang dalam produk kosmetika.

Asam retinoat merupakan turunan vitamin A (retinol). Asam retinoat memiliki efek iritasi kulit seperti terbakar terutama bagi orang yang memiliki kulit sensitif, serta efek teratogenik. Bahan ini biasanya digunakan sebagai pengobatan jerawat, namun sekarang sering digunakan untuk mengatasi kerusakan kulit akibat paparan dari cahaya matahari dan bahan ini juga digunakan sebagai pemutih dalam krim wajah. Penggunaan asam retinoat harus dibawah pengawasan dokter dan harus masuk dalam rentang konsentrasi yang diperbolehkan yaitu 0,05% hingga 0,1 %. (AHFS 2002).

Asam retinoat memiliki efek samping yaitu dapat membuat lapisan kulit menipis akibat adanya pengelupasan sehingga kulit wajah akan mudah untuk terinfeksi dan terluka. Sehingga penambahan asam retinoat tidak diperbolehkan pada kosmetik karena efek sampingnya yang berbahaya.

Hidrokuinon yang kandungannya di atas 2% juga dikategorikan sebagai bahan yang berbahaya bagi kesehatan. Hidrokuinon mampu mengelupas kulit bagian luar dan menghambat pembentukan melanin (zat pigmen kulit) yang membuat kulit tampak hitam. Namun karena hidrokuinon hanya menghambat pembentukan melanin, sehingga tidak dapat digunakan untuk menghilangkan noda hitam yang ada. (Badan POM RI, 2008).

Sampai saat ini diduga masih banyak krim pemutih yang mengandung asam retinoat dan hidrokuinon. Berdasarkan uraian

latar belakang tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk menganalisis adanya asam retinoat dan hidrokuinon dalam krim pemutih yang dijual dipasaran.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah sediaan krim pemutih yang dijual dipasaran mengandung asam retinoat dan hidrokuinon atau tidak?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan identifikasi asam retinoat dan hidrokuinon pada krim pemutih untuk wajah yang dijual di wilayah Bandung menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi.

1.4 Manfaat Penelitian.

1.4.1 Manfaat bagi Penelitian Selanjutnya

Manfaat penelitian ini adalah hasil penelitian dapat digunakan sebagai bahan dasar dalam melaksanakan penelitian lebih lanjut dengan topik penelitian yang sama.

1.4.2 Manfaat bagi Pembaca

Manfaat penelitian ini adalah untuk memberikan informasi kepada konsumen sehingga harus lebih berhati-hati lagi dalam menggunakan krim pemutih terutama yang dijual bebas dipasaran.

1.5 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Maret s/d Juni 2017 di Laboratorium Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1 Krim

Krim adalah bentuk sediaan setengah padat mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Istilah ini secara tradisional telah digunakan untuk sediaan setengah padat yang mempunyai konsistensi relatif cair diformulasi sebagai emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air. Sekarang ini batasan tersebut lebih diarahkan untuk produk yang terdiri dari emulsi minyak dalam air atau dispersi mikrokristal asam-asam lemak atau alkohol berantai panjang dalam air, yang dapat dicuci dengan air dan lebih ditujukan untuk penggunaan kosmetika dan estetika. Krim dapat digunakan untuk pemberian obat melalui vaginal (Ditjen POM, 1995).

Menurut Peraturan BPOM RI No 18 Tahun 2015, Bahan yang tidak diperbolehkan dalam penambahan di dalam krim adalah sebagai berikut:

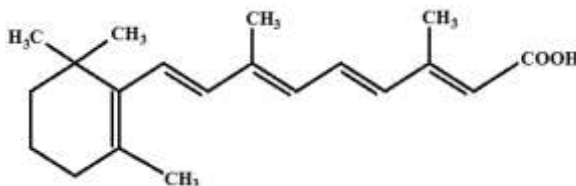
- Hidrokuinon
- Merkuri (Hg)
- Asam retinoat

Krim pemutih merupakan campuran bahan kimia dan atau bahan lainnya dengan khasiat bisa memutihkan kulit atau memucatkan noda hitam (coklat) pada kulit (Parengkuan, 2013).

II.2 Asam Retinoat

Asam retinoat merupakan sebuah retinoid aktif turunan vitamin A dalam bentuk asam yang dibentuk dari *all-trans retinoic acid* (retinoid dalam bentuk alkohol). Asam retinoat juga dikenal dengan sebutan

retinoin (*all-trans-retinoic acid*) yang digunakan dalam terapi jerawat (Combs, 2008)



Gambar II.1 Struktur kimia asam retinoat

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

Pemerian : Serbuk hablur, kuning sampai jingga muda

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

(Ditjen POM, 1995).

Asam retinoat juga termasuk golongan obat keras, penggunaannya harus dengan resep dokter. Asam retinoat adalah bentuk asam dari vitamin A (BPOM, 2008).

Asam retinoat bekerja melalui mekanisme pengaktifan reseptor asam retinoat (RAR). Interaksinya dengan RAR (*Retinoic Acid Receptor*) 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/penuaan kulit akibat radiasi ultraviolet. Penggunaan asam retinoat pada mencit albino dan mencit berpigmen terbukti dapat meningkatkan potensi karsinogen akibat radiasi sinar UV-B dan UV-A.

Asam retinoat juga bekerja sebagai iritan pada epitel folikel (lapisan pada lubang tumbuhnya rambut) yang memicu peradangan

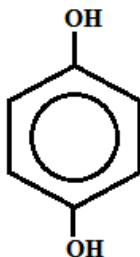
dan mencegah bergabungnya sel tanduk menjadi massa yang padat sehingga tidak menyumbat folikel dan tidak menghasilkan komedo. Selain itu, asam retinoat juga meningkatkan produksi sel tanduk sehingga mampu melemahkan dan mendesak komedo untuk keluar.

Pada kulit normal, asam retinoat yang dioleskan dapat menimbulkan peradangan pada kulit. Gejala yang sering muncul adalah sensasi rasa agak panas, menyengat, kemerahan, sampai pengerasan kulit. Gejala tersebut akan pulih tergantung dari tingkat keparahan (AHFS, 2002).

Berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (Badan POM RI) Nomor HK.03.1.23.08.11.07331 Tahun 2011 Tentang Metode Analisis Kosmetika pasal 5, identifikasi untuk asam retinoat dalam kosmetik secara kromatografi lapis tipis dan kromatografi cair kinerja tinggi. Batas deteksi lebih kurang 0,002 mg/mL serta larutan uji dan larutan baku harus dalam konsentrasi yang berdekatan untuk digunakan dalam perhitungan. Jika diperlukan, dibuat larutan baku yang lebih pekat atau larutan uji yang lebih encer. Perbedaan luas puncak larutan uji dan larutan baku tidak lebih dari 10% (BPOM, 2011).

Analisis asam retinoat dilakukan dengan menggunakan metode KCKT fase terbalik. Fase gerak yang digunakan adalah metanol : air : asam asetat glasial (85:15:0,5). Detektor diatur pada panjang gelombang 353 nm. Larutan yang disuntikkan sebanyak 20 µl dengan kecepatan alir fase gerak 1,4 ml/menit dan dicatat kadarnya. Prosedur percobaan diulang 3 kali (Rahayu, 2014).

II.3 Hidrokuinon



Gambar II.2 Struktur kimia hidrokuinon

Rumus Molekul : $C_6H_6O_2$

Pemerian : Berbentuk jarum halus, putih, tidak mudah menjadi gelap jika terpapar cahaya dan udara

Kelarutan : Mudah larut dalam air, dalam etanol dan dalam eter

(Ditjen POM, 1995).

Hidrokuinon termasuk golongan obat keras yang hanya dapat diperoleh berdasarkan resep dokter. Bahaya pemakaian obat keras ini tanpa pengawasan dokter dapat menyebabkan iritasi kulit, kulit menjadi merah dan rasa terbakar juga dapat menyebabkan kelainan pada ginjal (*nephropathy*), kanker darah (*leukemia*) dan kanker sel hati (*hepatocellular adenoma*), selain itu penggunaan hidrokuinon yang berlebihan dapat menyebabkan *ochronosis* terhadap orang berkulit gelap. *ochronosis* adalah kulit berbintil seperti pasir dan berwarna coklat kebiruan.

Sediaan hidrokuinon yang kandungannya di atas 2% juga dikategorikan sebagai bahan yang berbahaya bagi kesehatan. Hidrokuinon mampu mengelupas kulit bagian luar dan menghambat pembentukan melanin (zat pigmen kulit) yang membuat kulit tampak

hitam. Karena hidrokuinon hanya menghambat pembentukan melanin, maka tidak dapat digunakan untuk menghilangkan noda hitam yang ada.

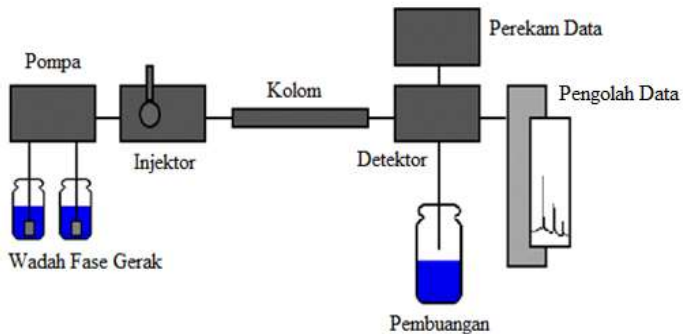
(Badan POM RI, 2008).

II.4 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi cair kinerja tinggi adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan kromatografi cair di mana fase gerak cair dipompa secara mekanik melalui kolom yang berisi fase diam (Weston, 1997).

Teknologi kolom didasarkan atas penggunaan kolom yang berlubang kecil (diameter dalam antara 2 mm hingga 5 mm) dan isi kolom berupa partikel kecil (3 μm hingga 50 μm) yang memungkinkan tercapainya keseimbangan secara cepat antara fase gerak dan fase diam. Teknologi kolom partikel kecil ini memerlukan sistem pompa tekanan tinggi yang mampu mengalirkan fase gerak pada tekanan tinggi sampai 300 atmosfer, agar tercapai laju aliran beberapa mL per menit (Ditjen POM, 1995).

KCKT merupakan suatu teknis analisis obat yang paling cepat berkembang. Cara ini ideal untuk analisis beragam obat dalam sediaan dan cairan biologi karena sederhana dan kepekaannya tinggi. KCKT biasanya dilakukan pada suhu kamar, sehingga senyawa yang tidak tahan panas dapat ditangani dengan mudah. Peralatan KCKT memiliki kepekaan yang sangat tinggi sehingga menghasilkan data yang lebih akurat dan membutuhkan waktu yang tidak lama (Munson, 1991).



Gambar II.3 Skema sistem KCKT

Alat utama KCKT pada dasarnya terdiri dari wadah fase gerak, pompa, tempat penyuntikan sampel, kolom, detektor, dan suatu komputer atau integrator atau perekam (Munson, 1991).

1. Wadah fase gerak dan fase gerak

Wadah fase gerak harus lembam (*inert*). Wadah ini biasanya dapat menampung fase gerak antara 1 sampai 2 liter pelarut. Fase gerak atau eluen biasanya terdiri atas campuran pelarut yang dapat bercampur yang secara keseluruhan berperan dalam daya elusi dan resolusi. Fase gerak sebelum digunakan harus disaring terlebih dahulu untuk menghindari partikel-partikel kecil dan adanya gas dalam fase gerak (Munson, 1991).

2. Pompa

Pompa harus tahan terhadap semua jenis pelarut, dapat mencapai tekanan sampai 6000 psi dan dapat menghantarkan aliran terukur 0,01 – 1,0 atau 0,1 – 2,0 ml/ menit. Selain itu, pompa harus mempunyai batas volume minimum sehingga memungkinkan pergantian pelarut dengan cepat dan elusi landaian secara efisien (Gritter, 1991).

Pompa untuk KCKT harus mampu menghasilkan tekanan sampai 6000 psi pada kecepatan sampai 2,0 ml/menit. Pompa yang digunakan untuk skala preparatif perlu kecepatan alir sampai 20 ml/menit (Munson, 1991).

3. Injektor

Sampel-sampel cair dan larutan disuntikkan secara langsung ke dalam fasa gerak yang mengalir di bawah tekanan menuju kolom menggunakan alat penyuntik yang terbuat dari baja tahan karat dan katup teflon yang dilengkapi dengan keluk sampel (*sample loop*) (Rohman, 2007).

4. Kolom

Kolom merupakan bagian KCKT yang mana terdapat fase diam untuk berlangsungnya proses pemisahan solut/analit. Fase diam dapat berupa permukaan zat padat yang berfungsi sebagai medium yang menjerap, atau permukaan zat cair yang terdapat pada sejenis zat padat. Banyak sistem fase diam baru telah dikembangkan untuk KCKT, Sebagian besar didasarkan pada silika. Panjang kolom pada sistem KCKT berkisar antara 5-25 cm, dengan tekanan tinggi sampai 6000 psi (Gritter, 1991).

Kebanyakan fase diam pada KCKT berupa silika yang dimodifikasi secara kimiawi, silika yang tidak dimodifikasi, atau polimer-polimer stiren dan divinil benzen. Oktadesil silika (ODS atau C18) merupakan fase diam yang paling banyak digunakan karena mampu memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran yang rendah, sedang maupun tinggi (Gandjar dan Rohman, 2009).

5. Detektor KCKT

Suatu detektor dibutuhkan untuk mendeteksi adanya komponen cuplikan dalam aliran yang keluar dari kolom. Detektor yang baik memiliki sensitifitas yang tinggi, gangguan (*noise*) yang rendah, kisaran respon linier yang luas, dan memberi respon untuk semua tipe senyawa. Suatu kepekaan yang rendah terhadap aliran dan fluktuasi temperatur sangat diinginkan, tetapi tidak selalu dapat diperoleh (Johnson dan Stevenson, 1991).

Macam-macam detektor KCKT yaitu:

a. Detektor UV

Detektor yang paling banyak digunakan dalam kromatografi cair modern kecepatan tinggi adalah detektor spektrofotometer UV 254 nm (Johnson dan Stevenson, 1991).

b. Detektor fluoresensi

Detektor fluoresensi untuk KCKT mirip dalam desain dengan fluoresensi dan spektrofluorometer. Sebagian besar fluoresensi diamati oleh detektor fotolistrik terletak di 90 derajat dari eksitasi *beam*. Perkembangan masa depan dalam detektor fluoresensi mungkin akan didasarkan pada sumber laser, yang harus mengarah pada peningkatan sensitivitas dan selektivitas. Senyawa fluoresensi sering ditemui dalam analisis bahan seperti obat-obatan, produk alami, sampel klinis dan sampel minyak bumi.

c. Detektor indeks bias

Detektor indeks bias memiliki keuntungan yang signifikan menanggapi hampir semua zat terlarut, yaitu merupakan

detektor umum dalam kromatografi. Di samping itu, dapat diandalkan dan tidak terpengaruh oleh laju aliran. Bagaimanapun, sangat sensitif pada suhu dan harus dipertahankan pada suhu konstan. (Skoog, 1998).

6. Perekam

Perekam merupakan salah satu dari bagian peralatan yang berfungsi merekam atau menunjukkan hasil pemeriksaan suatu senyawa berupa *peak* (puncak) (Munson, 1991).

Komponen yang terelusi mengalir kedetektor dan dicatat sebagai puncak-puncak yang secara keseluruhan disebut sebagai kromatogram (Johnson dan Stevenson, 1991).

II.5 Validasi Metode

Validasi metode menurut *United States Pharmacopeia* (USP) dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, *reproduksibel*, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. Validasi metode dilakukan dengan menggunakan sistem yang telah dikualifikasi dan pengujian kesesuaian sistem. Masing-masing tahap tersebut sangat menentukan bagi keberhasilan proses validasi (Swartz, 2007).

Tujuan utama validasi prosedur analisis adalah untuk memastikan bahwa prosedur analisis yang dipilih akan memberikan hasil yang *reproduksibel* dan dapat dipercaya sehingga memadai untuk tujuan yang dimaksud (WHO, 2007).

II.5.1 Linieritas dan Rentang

Linieritas adalah kemampuan prosedur analisis untuk memberikan hasil uji yang berbanding langsung dengan konsentrasi

analit dalam sampel, sedangkan rentang menyatakan tentang antara konsentrasi analit terendah dan tertinggi dalam sampel yang dapat ditetapkan menggunakan prosedur tersebut dengan presisi, akurasi dan linieritas yang dapat diterima (Satiadarma, 2004).

II.5.2 Batas Deteksi

Batas deteksi adalah nilai parameter uji batas, yaitu konsentrasi analit terendah yang dapat dideteksi, tetapi tidak dapat dikuantitasi pada kondisi percobaan yang dilakukan. Batas deteksi dinyatakan dalam konsentrasi analit (persen, bagian per juta) dalam sampel (Satiadarma, 2004).

Bab III Metodologi Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif dengan mengidentifikasi asam retinoat dan hidrokuinon pada krim pemutih yang dijual di wilayah bandung dengan metode KCKT. Populasinya adalah krim pemutih yang dijual di wilayah bandung. Sampel diambil dari 4 produk krim pemutih. Sebagai kontrol negatif digunakan basis krim tanpa penambahan asam retinoat dan hidrokuinon dan untuk kontrol positif digunakan sampel simulasi dengan krim pemutih yang mengandung bahan aktif asam retinoat 0,05 % dan hidrokuinon 2 %. Data yang didapat berdasarkan hasil analisis laboratorium dengan menggunakan metode KCKT yang kemudian didapatkan hasilnya apakah sampel positif atau negatif mengandung asam retinoat maupun hidrokuinon.