

## BAB II

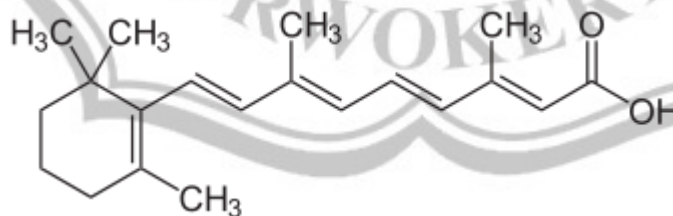
### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Kosmetika

Kosmetika adalah sediaan atau panduan bahan yang siap untuk digunakan pada bagian luar badan (epidermis, rambut, kuku, bibir dan organ kelamin luar), gigi dan rongga mulut, untuk membersihkan, menambah daya tarik, mengubah penampilan, melindungi supaya dalam keadaan baik, memperbaiki bau badan, tetapi tidak dimaksudkan untuk mengobati atau menyembuhkan penyakit (MenkesRI,1998)

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 disperse 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 ( Depkes RI,1979).

#### B. Asam retinoat



Gambar 1. Struktur kimia asam retinoat ( Pankti,2013).

Asam retinoat atau tretinoin asam retinoat dengan nama IUPAC (2E,4E,6E,8E) - 3,7-dimethyl-9- (2,6,6-trimethylcyclohexen-1-yl) nona-2,4,6,8-tetraenoic acid memiliki rumus molekul  $C_{20}H_{28}O_2$  dengan berat molekul 300,44. Tretinoin mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0%  $C_{20}H_{28}O_2$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Memiliki sifat fisik serbuk hablur

warna kuning sampai jingga. Tidak larut dalam air sukar larut dalam etanol dan kloroform (Depkes RI, 1995).

Asam retinoat sering digunakan untuk meningkatkan tampilan dan tekstur kulit. Untuk orang yang tinggal di daerah tropis yang berlimpah matahari, proses penuaan kulit ini sebagai konsekuensi paparan sinar ultraviolet (foto aging) bisa jadi semakin progresif. Kerusakan kulit ini bisa terjadi di usia muda. Beberapa pilihan pengobatan untuk mengatasi foto aging kini sudah tersedia, salah satunya dengan mengoleskan obat topikal dari golongan retinoat.

Asam retinoat atau tretinoin adalah retinol dimana gugus ujung  $\text{CH}_2\text{OH}$  diganti dengan  $-\text{CCOH}$ . Berkhasiat menstimulir produksi sel-sel tanduk dan mencegah timbulnya komedo. Hanya dapat dipakai secara topical pada tempat yang mengalami banyak komedo dan peradangan. Pada pemakaian 2-3 minggu dapat memburuk namun setelah itu dapat membaik. Dosis yang digunakan menurut BPOM adalah 0,05 % (Tjay, 2007).

asam retinoat bekerja dalam 3 aksi, yaitu:

1. Pengaktifan reseptor asam

Asam retinoat berinteraksi dengan reseptornya 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

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

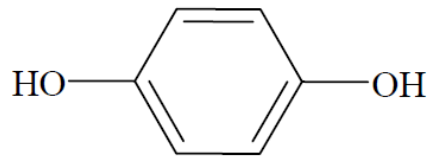
Asam retinoat dapat meningkatkan pembentukan dan peningkatan jumlah protein NGAL yang mengakibatkan matinya sel kelenjar sebacea (sel penghasil sebum/minyak), yang kemudian akan mengurangi produksi sebum sehingga mampu mengurangi timbulnya jerawat.

3. 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, 2011).

### C. Hidrokuinon



**Hydroquinone**

**Gambar 2. Struktur kimia hidrokuinon (Pankti,2013).**

Hidrokuinon memiliki rumus molekul  $C_6H_6O_2$ , berat molekul 110,11. Mempunyai sifat fisik berbentuk padat, Kristal berbentuk jarum atau serbuk, tidak berwarna hingga putih, bila terpapar cahaya dan udara dapat mengalami perubahan warna menjadi lebih gelap, tidak berbau, berasa manis, titik didih  $285-287^{\circ}C$ , titik leleh  $173-174^{\circ}C$ . larut dalam alcohol, eter, aseton, dimetil sulfoksida, karbon tetraklorida, sedikit larut dalam benzene (BPOM, 2011).

Hidrokuinon adalah bahan aktif yang dapat mengendalikan produksi pigmen yang tidak merata, tepatnya berfungsi untuk mengurangi atau menghambat pembentukan melanin kulit. Melanin adalah pigmen kulit yang memberikan warna gelap kecokelatan, sehingga muncul semacam bercak atau bintik cokelat atau hitam pada kulit. Banyaknya produksi melanin menyebabkan terjadinya hiperpigmentasi. Hidrokuinon digunakan untuk mencerahkan kulit yang kelihatan gelap akibat bintik, melasma, titik-titik penuaan, dan chloasma. Hidrokuinon sebaiknya tidak digunakan pada kulit yang sedang terbakar sinar matahari, kulit yang iritasi, kulit yang luka terbakar, dan kulit pecah (BPOM RI, 2011).

Hidrokuinon masih banyak yang digunakan oleh produsen pemutih karena hidrokuinon mampu mengelupas kulit bagian luar dan menghambat pembentukan melanin yang membuat kulit tampak hitam.

#### **D. Kromatografi lapis tipis**

Kromatografi lapis tipis ialah pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan, yang terdiri dari atas bagian berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah, berupa larutan ditotolkan berupa bercak atau pita. Setelah pelat atau lapisan ditaruh di dalam bejana bertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler. Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakan ( Stahl, 1985).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan cara pemisahan campuran senyawa menjadi senyawa murninya dan mengetahui kuantitasnya. Kromatografi juga merupakan analisis cepat yang memerlukan bahan sangat sedikit, baik penyerap maupun cuplikannya.

KLT digunakan dalam dua tujuan yaitu Pertama dipakai untuk analisis kualitatif, kuantitatif atau preparatif. Yang kedua dipakai untuk menjajaki sistem pelarut atau sistem penyangga yang akan dipakai dalam kromatografi kolom atau kromatografi kinerja tinggi. KLT juga dapat digunakan untuk memisahkan senyawa yang bersifat hidrofobik seperti lipid atau lemak dan hidrokarbon, selain itu KLT juga dapat digunakan untuk mencari eluen untuk kromatografi kolom, analisis fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom, identifikasi senyawa secara kromatografi. Pelarut yang digunakan untuk elusi disesuaikan dengan sifat kelarutan dari senyawa itu sendiri. Data yang diperoleh dari KLT adalah berupa nilai  $R_f$ , nilai  $R_f$  sampel lalu dibandingkan dengan nilai  $R_f$  pembanding atau standar.  $R_f$  sendiri dapat diartikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik pertama pengembangan dan hingga akhir pengembangan.

##### **1. Fase Diam**

Fase diam yang digunakan dalam KLT adalah penyerap yang berukuran kecil dengan diameter partikel 10-30  $\mu\text{m}$ . Semakin kecil ukuran partikelnya maka semakin baik kinerja dari KLT karena semakin sempit kisaran ukuran fase diam. Mekanisme dari penyerap KLT itu sendiri yang paling umum adalah adsorpsi dan partisi.

Penyerap yang paling sering digunakan adalah silika gel, aluminium oksida, kieselgur, selulosa atau turunannya, poliamida dan lain-lain, tetapi yang paling sering digunakan ialah silika gel. Silika gel menghasilkan perbedaan dalam efek pemisahan yang tergantung pada pembuatannya, sehingga silika gel G merk menurut spesifikasi Stahl, yang diperkenalkan pada tahun 1985, telah diterima sebagai bahan standar (Stahl, 1985).

## 2. Fase Gerak

Fase gerak adalah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Bergerak melalui fase diam, yaitu lapisan berpori karena ada gaya kapiler yang digunakan hanyalah pelarut bertingkat mutu analitik dan bila perlu sistem pelarut ini menjadi suatu campuran sederhana, maksimal 3 komponen (Stahl, 1985).

Fase gerak yang biasa digunakan adalah coba-coba serta melihat dari kelarutan dari senyawa yang akan dianalisis sendiri, setiap senyawa mempunyai kelarutan yang berbeda-beda. Apabila untuk fase normal maka digunakan fase gerak bersifat non polar karena fase diamnya bersifat polar, sedangkan apabila menggunakan fase terbalik maka fase gerak bersifat polar karena fase diamnya bersifat non polar.

Berikut adalah beberapa petunjuk dalam memilih dan mengoptimasi fase gerak :

- a. Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif.
- b. Daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga  $R_f$  terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan.
- c. Untuk pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solute yang berarti juga menentukan nilai  $R_f$ . Penambahan pelarut yang bersifat sedikit polar seperti dietil eter ke dalam pelarut non polar seperti metil benzene akan meningkatkan harga  $R_f$  secara signifikan.
- d. Solut-solut ionik dan solute-solut polar lebih baik digunakan campuran pelarut sebagai fase geraknya, seperti campuran air dan

methanol dengan perbandingan tertentu. Penambahan sedikit asam etanoat atau ammonia masing-masing akan meningkatkan solute-solut yang bersifat basa dan asam.

### 3. Aplikasi (Penotolan) Sampel

Volume sampel yang ditotolkan paling sedikit adalah ukuran 5  $\mu$ l. namun apabila penotolan besarnya berukuran 2-10  $\mu$ l maka penotolan harus dilakukan secara bertahap, ditunggu hingga kering terlebih dahulu.

### 4. Pengembangan

Pengembangan yaitu proses pemisahan campuran cuplikan akibat pelarut pengembang merambat naik dalam lapisan, jarak pengembangan normal, yaitu jarak antar garis awal dan garis akhir. Pada pengembangan landaian, dua pengembang dengan daya elusi yang berlainan digunakan untuk pengembangan dengan jarak yang berbeda.

Tahap selanjutnya adalah fase pengembangan dimana plat KLT yang tadi telah ditotolkan dimasukkan kedalam bejana dan dielusi. Tepi bawah bagian pada fase diam diberi jarak yaitu antara 0,5-1 cm dan pada batas atas di beri tanda antara 1-2 cm. Bejana harus ditutup rapat. Volume fase gerak sedikit mungkin supaya tidak terjadi kebanjiran fase gerak dan fase gerak berada dibawah batas bawah.

Bejana kromatografi harus tertutup rapat dan sedapat mungkin volume fase gerak sedikit mungkin akan tetapi harus mampu mengelusi lempeng sampai ketinggian lempeng yang telah ditentukan. Untuk melakukan penjenuhan fase gerak, biasanya bejana dilapisi dengan kertas saring . Jika fase gerak telah mencapai ujung dari kertas saring, maka dapat dikatakan bahwa fase gerak telah jenuh.

### 5. Deteksi bercak

Deteksi bercak pada KLT dapat dilakukan secara kimia dan fisika. Cara kimia yang biasa digunakan adalah dengan mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi melalui cara penyemprotan sehingga bercak menjadi jelas. Cara fisika yang dapat digunakan untuk menampakkan bercak adalah dengan cara pencacahan radioaktif dan fluorosensi sinar ultraviolet. Fluorosensi

sinar ultraviolet terutama untuk senyawa yang dapat berfluorosensi, membuat bercak akan terlihat jelas.

#### 6. Perhitungan nilai Rf

Perhitungan nilai Rf didasarkan atas rumus :

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

Angka Rf berjangka antara 0,000 dan 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua decimal. HRf adalah Rf dikalikan faktor 100, menghasilkan nilai berjangka rambat suatu senyawa x 10 menghasilkan nilai HRf. Nilai Rf dinyatakan hingga angka 1,0 beberapa pustaka menyatakan nilai Rf yang baik yang menunjukkan pemisahan yang cukup baik adalah berkisar antara 0,2-0,8.

#### E. Densitometri

Densitometri adalah metode analisis instrument yang berdasarkan interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit yang merupakan noda pada KLT. Interaksi radiasi elektromagnetik dengan noda pada klt yang ditentukan adalah absorpsi, transmisi, pantulan, pendar flour atau pemdaman pendar flour dari radiasi semula. Densitometri lebih dititik beratkan untuk menganalisis kuantitatif analit dengan kadar yang kecil, sehingga perlu dilakukan pemisahan terlebih dahulu dengan KLT (Mulja, 1995).

Densitometer dilengkapi dengan spektrofotometer yang mempunyai pancaran sinar gelombangnya dapat diatur dari 200-700 nm. Alat ini dapat disebut dengan TLC-scanner. Teknik penggunaannya didasarkan pada pengukuran sinar yang diserap dan diteruskan atau dipendarkan. Sinar yang diteruskan akan mengalami hambatan oleh pendukung lempeng dan keseragaman fase diamnya.

Penentuan kadar analit yang dikorelasikan dengan area noda pada KLT akan lebih terjamin kesahihannya dibanding metode KCKT (Kromatografi Cair kinerja Tinggi) atau KGC (Kromatografi Gas Cair). sebab area noda kromatogram diukur pada posisi lurus atau "Zig-zag" menyeluruh.

Bercak yang diukur dengan sistem fluoresensi, serapan ultraviolet atau sinar tampak dapat ditetapkan lebih teliti dari pada bercak yang disemprot dengan pereaksi warna, faktor keseragaman pada penyemprotan merupakan hal yang sangat diperlukan (Sudjadi, 1988).

Semua densitometer penyamar mempunyai rancang bangunan tertentu, yang meliputi sumber cahaya, perangkat pemilih panjang gelombang, sistem pengumpulan dan pemusatan cahaya terpusat untuk menyamar lempeng.

Instrument pada densitometer terdiri dari

1. Sumber cahaya
2.  $\lambda$  selektor
3. Thin layer plate
4. Cutoff filter
5. Fototube (mulja, 1995)

Metode KLT densitometri ini memiliki beberapa kelebihan yang spesifikitas yang tinggi, dapat dipercaya, pengerjaan relative mudah dan cepat, biaya pengoprasian relative murah, polaritas pelarut dan pelarut campuran dapat diubah dalam waktu yang singkat dan jumlah pelarut yang digunakan sedikit (Wulandari, 2013). Bila dibandingkan dengan metode KCKT, metode KLT memiliki kelebihan yaitu pelaksanaan lebih mudah dan lebih murah, serta peralatan yang digunakan lebih sederhana. Selain itu, metode KLT memberikan fleksibilitas yang lebih besar dalam hal fase gerak, mempunyai berbagai teknik dalam berbagai pemisahan, proses kromatografi dapat diikuti dengan mudah dan semua komponen dalam sampel dapat dideteksi karena metode ini kemungkinan terjadinya pemisahan sampel secara serentak (Wulandari, 2013).

#### **F. Validasi metode**

Validasi metode analisis adalah suatu proses penilaian terhadap metode analisis tertentu berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa metode tersebut memenuhi persyaratan untuk digunakan (Harmita, 2004). Ada beberapa parameter validasi yaitu

## 1. Linieritas

Linieritas menunjukkan kemampuan suatu metode analisis untuk memperoleh hasil pengujian yang sesuai dengan konsentrasi analit dalam contoh kisaran konsentrasi tertentu. Hal ini dapat dilakukan dengan cara membuat kurva kalibrasi dari beberapa larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya. Persamaan garis yang digunakan pada kurva kalibrasi diperoleh dari metode kuadrat kecil yaitu  $y = bx + a$ , dari persamaan ini akan diperoleh nilai koefisien korelasi. Nilai dari koefisien korelasi inilah yang akan digunakan untuk mengetahui nilai linieritas suatu metode analisis (Harmita, 2004).

## 2. Limit deteksi dan limit kuantitasi

Batas deteksi digunakan untuk mengetahui jumlah analit terkecil dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Sedangkan batas kuantitasi yaitu untuk mengetahui jumlah analit pada sampel yang masih dapat memberikan kriteria cermat dan seksama.

## 3. Akurasi

Kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar yang sebenarnya. Kecermatan ditentukan dengan dua cara yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau metode penambahan baku (*standard addition method*).

## 4. Presisi

Uji presisi merupakan uji yang digunakan untuk membuktikan ketelitian suatu alat berdasarkan akurasi individu hasil analisis yang ditunjukkan dengan nilai Standar Deviasi (SD) dan relative standard deviation (RSD). Nilai RSD dikatakan baik apabila  $\leq 5\%$  (Harmita, 2004).