

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil

#### 1. Analisis kualitatif

##### a. Reaksi warna FeCl<sub>3</sub>

Analisis kualitatif hidrokuinon digunakan untuk mengidentifikasi adanya hidrokuinon pada *handbody lotion whitening* yang dijual secara *E-Commerce* dan tidak memiliki izin BPOM. Analisis ini menggunakan pereaksi warna FeCl<sub>3</sub>, hasil positif hidrokuinon ditunjukkan dengan perubahan warna hijau kekuningan atau kehitaman yang dapat dilihat pada **Tabel 2**.

**Tabel 2. Hasil Analisis Reaksi Warna FeCl<sub>3</sub>**

Sampel	Hasil		Keterangan
	Sebelum ditetaskan	Sesudah	
	FeCl <sub>3</sub>	ditetaskan FeCl <sub>3</sub>	
Kontrol positif	putih	Hijau kekuningan	+
Sampel 1	putih	Kuning kehitaman	+
Sampel 2	Putih	coklat	-
Sampel 3	Putih +endapan kuning	Coklat kehitaman	+
Sampel 4	putih	Hijau kekuningan	+
Sampel 5	Putih+endapan <i>orange</i>	Hijau kekuningan	+

##### b. Nilai t<sub>R</sub> (waktu retensi)

Waktu retensi standar hidrokuinon dan sampel dapat dilihat pada **Tabel 3**.

**Tabel 3 Nilai t<sub>R</sub> Standar Hidrokuinon dan Sampel**

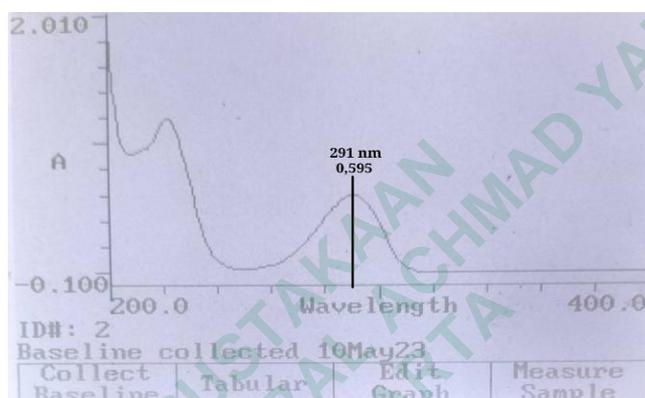
Nama	t <sub>R</sub>
Standar	2,011
Sampel 1	2,007
Sampel 2	5,852
Sampel 3	1,619
Sampel 4	1,887
Sampel 5	1,895

Berdasarkan nilai t<sub>R</sub> yang di dapatkan pada sampel 1, 3, 4, dan 5 menunjukkan hasil positif dimana sampel memiliki waktu retensi yang tidak jauh berbeda dengan waktu retensi standar. Pada sampel 2 menunjukkan hasil negatif karena nilai t<sub>R</sub> yang dihasilkan jauh dari nilai t<sub>R</sub> standar.

## 2. Analisis kuantitatif

### a. Panjang gelombang

Penentuan panjang gelombang maksimum standar hidrokuinon menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-400 nm. Berdasarkan hasil pengukuran panjang gelombang maksimum hidrokuinon pada konsentrasi 5 ppm didapatkan 291 nm dengan nilai absorbansi 0,595 dapat dilihat pada **Gambar 4**.

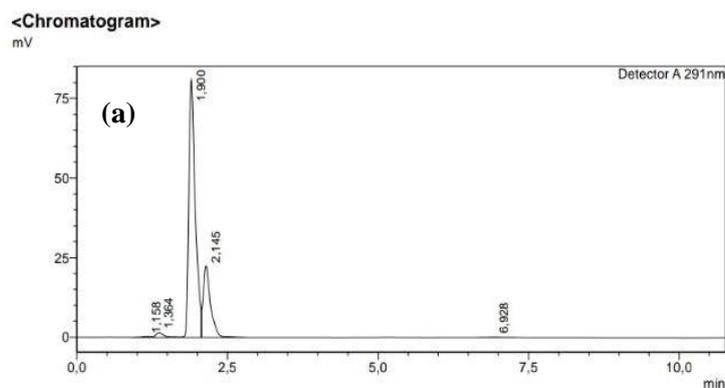


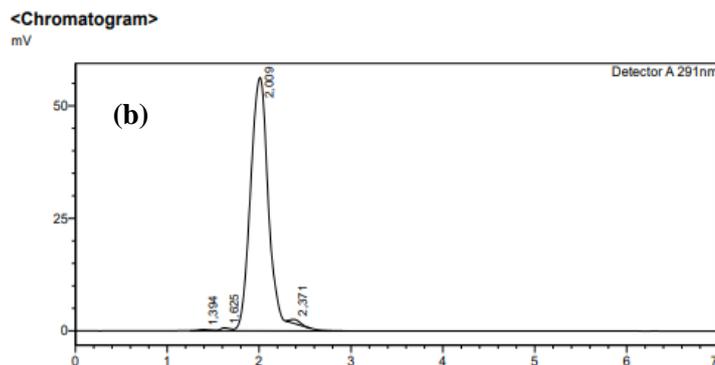
**Gambar 4. Panjang Gelombang Maksimum Standar Hidrokuinon**

Menurut Kementerian Kesehatan RI (2014) panjang gelombang maksimum pada hidrokuinon adalah  $293 \pm 2$  nm. Pada penelitian panjang gelombang mengalami pergeseran hipsokromik.

### b. Optimasi fase gerak dan kondisi optimum HPLC

Optimasi fase gerak dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol for HPLC : *aquadest* pi dengan masing-masing perbandingan (55:45) dan (45:55). Hasil kromatogram optimasi fase gerak dapat dilihat pada **Gambar 5**.



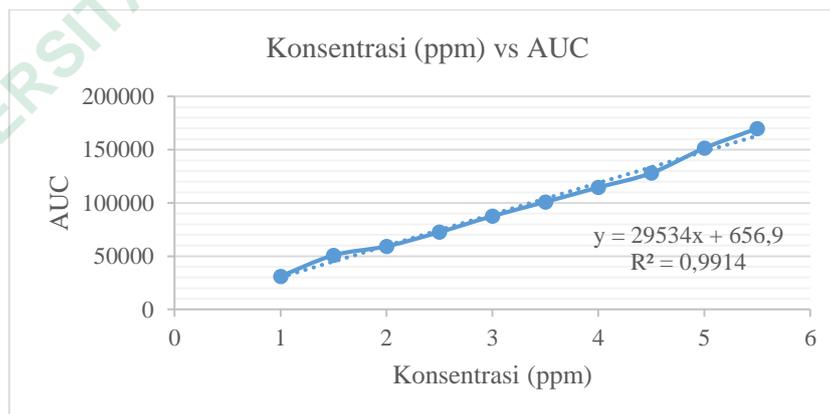


**Gambar 5. Hasil Kromatogram Optimasi Fase Gerak dengan Pelarut (a) Metanol:Aquadest (55:45) dan (b) Metanol:Aquadest (45:55)**

Berdasarkan hasil kromatogram tersebut fase gerak yang dipilih adalah metanol:aquadest dengan perbandingan (45:55) pada kondisi optimum laju alir 1 mL/menit, volume injeksi 20  $\mu$ L, kolom C18, serta detektor UV panjang gelombang 291 nm.

c. Kurva baku standar hidrokuinon

Kurva baku standar hidrokuinon dibuat dengan 10 konsentrasi berbeda yaitu 1; 1,5; 2,5; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; dan 5,5 ppm. *Peak* hidrokuinon ditunjukkan dengan *peak* yang tertinggi diantara *range* nya. Grafik hubungan antara konsentrasi hidrokuinon dengan AUC dapat dilihat pada **Gambar 6**.



**Gambar 6. Kurva Kalibrasi Standar Hidrokuinon**

Berdasarkan grafik tersebut diperoleh nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9828 dengan persamaan regresi linier  $y = 29534 x + 656,9$ .

d. *Limit Of Quantitation* (LOQ) dan *Limit Of Detection* (LOD)

Penentuan LOQ dan LOD dapat dihitung menggunakan persamaan regresi linier yang sudah didapatkan. Sehingga didapatkan hasil LOD 0,449228845 ppm atau 0,00004% dan LOQ 1,497429482 ppm atau 0,00015%. Data hasil LOD dan LOQ dapat dilihat pada **Tabel 4**. Pada nilai LOD dan LOQ diubah menjadi % karena menyesuaikan satuan kadar yang digunakan yaitu %. Hasil konversi nilai LOD dan LOQ dapat dilihat pada **Lampiran 10**.

**Tabel 4. Hasil LOQ dan LOD**

Konsentrasi (ppm)	AUC (yi)	y	(yi-y) <sup>2</sup>
1	31159	30190,9	937217,61
1,5	50853	44957,9	34752204,01
2	59244	59724,9	231264,81
2,5	72578	74491,9	3663013,21
3	87642	89258,9	2614365,61
3,5	100908	104025,9	9721300,41
4	114607	118792,9	17521758,81
4,5	128048	133559,9	30381041,61
5	151434	148326,9	9654070,41
5,5	169949	163093,9	46992396,01
		Jumlah	156468632,5
		SD	4422,508232
		LOD	0,449228845
		LOQ	1,497429482

e. Kadar hidrokuinon dalam sampel

Penetapan kadar hidrokuinon pada sampel *handbody lotion whitening* menggunakan metode HPLC. Untuk menghitung kadar hidrokuinon pada sampel menggunakan persamaan regresi linier  $y = 29534x + 656,9$ . Kemudian dihitung kadar sesungguhnya menggunakan rumus yang sudah ditetapkan. Setelah didapatkan hasil kadar dari masing masing sampel dihitung nilai rata-rata, SD, CV, dan LE. Hasil perhitungan dapat dilihat pada **Tabel 5**.

**Tabel 5. Hasil Kadar Hidrokuinon dalam Sampel**

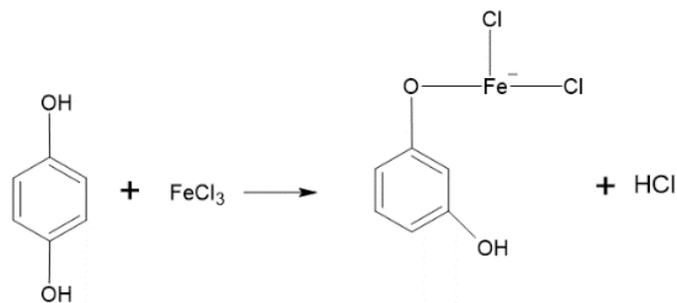
Sampel	Replikasi	AUC	Rata-rata ± LE	SD	CV (%)
1	1	71718	2,633 ±	0,3214	12,191
	2	77217	0,7984		
	3	91028			

Sampel	Replikasi	AUC	Rata-rata ± LE	SD	CV (%)
3	1	81474	0,333 ±	0,065	19,501
	2	120053	0,1614		
	3	100803			
4	1	128773	0,023 ±	0,0026	11,304
	2	33718	0,0064		
	3	41310			
5	1	32797	0,006 ±	0,0015	22,727
	2	50150	0,0037		
	3	45823			

keterangan: kadar = %

## B. Pembahasan

Analisis kandungan hidrokuinon dilakukan pada sampel *handbody lotion*. Sampel yang dipilih dilakukan dengan teknik *purposive sampling* dan memenuhi kriteria berupa *handbody lotion whitening* yang memiliki efek memutihkan wajah dan dijual secara *E- Commerce* serta tidak adanya label BPOM. Pada penelitian ini dilakukan uji kualitatif dengan menggunakan pereaksi warna  $\text{FeCl}_3$  dan nilai  $t_R$  serta uji kuantitatif menggunakan HPLC. Pemilihan metode ini dikarenakan HPLC memiliki selektifitas yang tinggi sehingga hasil yang diperoleh sesuai dan tepat (Hermawan & Anggraini, 2021). HPLC juga memiliki kelebihan daya pisah yang tinggi sehingga tidak akan memberikan hasil negatif atau palsu dan dapat menganalisis senyawa dengan kadar yang kecil (Fauziyah *et al.*, 2021). Penggunaan  $\text{FeCl}_3$  pada analisis kualitatif hidrokuinon dikarenakan adanya gugus  $-\text{OH}$  fenolik yang menempel pada cincin aromatis pada struktur hidrokuinon. Gugus  $-\text{OH}$  fenolik pada hidrokuinon apabila diberikan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  akan memberikan warna hijau kekuningan (Lestari & Prasasti, 2018) atau menjadi warna kehitaman (Chakti *et al.*, 2019). Warna yang dihasilkan tersebut dikarenakan terbentuknya senyawa kompleks antara atom O pada hidrokuinon dengan  $\text{FeCl}_3$  dalam suasana asam. Reaksi yang terjadi antara hidrokuinon dan  $\text{FeCl}_3$  dapat dilihat pada **Gambar 7** (Sari *et al.*, 2022):



**Gambar 7. Reaksi Kimia Hidrokuinon dengan FeCl<sub>3</sub>**  
(Dokumentasi pribadi)

Reaksi pembentukan kompleks tersebut menunjukkan terjadinya reaksi oksidasi pada hidrokuinon oleh adanya ion Fe<sup>3+</sup> sebagai oksidator lemah menjadi senyawa kuinon (Sari *et al.*, 2022). Hasil yang didapatkan pada uji kualitatif FeCl<sub>3</sub> positif mengandung hidrokuinon, dimana sampel 4 dan 5 menunjukkan warna hijau kekuningan sesuai dengan kontrol positif. Pada sampel 1 dan 3 menunjukkan warna kehitaman.

Selain menggunakan pereaksi warna FeCl<sub>3</sub>, analisis kualitatif hidrokuinon dengan HPLC dapat dilihat dari nilai t<sub>R</sub> yaitu dengan membandingkan nilai t<sub>R</sub> sampel dengan nilai t<sub>R</sub> standar. Waktu retensi (t<sub>R</sub>) merupakan waktu yang dibutuhkan oleh analit yang dimulai dari penginjeksian untuk melewati kolom hingga keluar kolom menuju ke detektor. Waktu retensi standar hidrokuinon berkisar antara 1-2 menit. Hal ini terjadi karena menggunakan fase terbalik dimana senyawa yang memiliki kepolaran sama dengan fase diam yang bersifat non polar yaitu C18 akan tertahan lebih lama sehingga dapat menyebabkan waktu retensi lebih lama. Sedangkan pada fase gerak yang digunakan berdasarkan hasil optimasi adalah metanol: *aquadest* (45:55) yang bersifat polar (Lestari & Prasasti, 2018). Hidrokuinon adalah senyawa yang mudah larut dalam pelarut polar, sehingga hidrokuinon akan terus bergerak melewati kolom dan tidak tertahan lama pada fase diam. Berdasarkan nilai t<sub>R</sub>, sampel yang positif mengandung hidrokuinon adalah sampel 1, 3, 4, dan 5. Pada sampel 3, 4 dan 5 menunjukkan adanya pergeseran waktu retensi hal ini bisa disebabkan karena adanya kebocoran, perubahan suhu pada kolom atau laju aliran fase gerak (Dong, 2005). Selain itu, waktu retensi suatu senyawa juga dapat dipengaruhi oleh interaksi senyawa dengan fase diam dan fase

gerak serta konsentrasi senyawa yang diinjeksikan dan waktu penginjeksian (Kempen & Stoll, 2021). Pada sampel 2 dikatakan negatif karena nilai  $t_R$  yang dihasilkan jauh berbeda dengan nilai  $t_R$  standar.

Selanjutnya sampel yang positif mengandung hidrokuinon dianalisis secara kuantitatif dengan metode HPLC. Tujuan dari analisis kuantitatif adalah untuk mengetahui jumlah komponen yang terkandung dalam suatu zat uji atau zat sampel (Ethica, 2020). Analisis hidrokuinon dilakukan dengan mencari panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometri UV-Vis dikarenakan pada spektrofotometri UV-Vis memiliki daya serap yang *relative* konstan sehingga menghasilkan kurva baku linier. Selain itu hidrokuinon memiliki gugus -OH dan juga gugus kromofor sehingga dapat dideteksi dengan spektrofotometri UV-Vis (Harmita, 2014). Hasil penentuan panjang gelombang adalah 291 nm. Menurut Kementerian Kesehatan RI (2014) panjang gelombang maksimum pada hidrokuinon adalah  $293 \pm 2$  nm. Panjang gelombang pada hasil penelitian mengalami pergeseran hipsokromik. Hipsokromik adalah terjadinya perubahan absorpsi ke panjang gelombang yang lebih pendek, hal ini terjadi karena perbedaan/perubahan pelarut yang digunakan. Pada penelitian ini menggunakan pelarut yang bersifat polar yaitu metanol *for* HPLC: aquades pi yang mengakibatkan tingkat energi tereksitasi turun (Suhartati, 2017).

Penentuan kondisi optimum HPLC yaitu dengan merubah konsentrasi fase gerak, dimana perubahan fase gerak ini dapat mempengaruhi kepolaran sehingga terjadi pemisahan yang selektif dan tidak tumpang tindih pada kromatogram yang dihasilkan (Harmita, 2014). Pada percobaan pertama dilakukan dengan menggunakan fase gerak metanol: aquades (55:45) menghasilkan kromatogram yang sudah menunjukkan pemisahan namun belum selektif yaitu adanya pengekoran pada kromatogram. Selektivitas merupakan suatu metode yang hanya dapat mengukur suatu zat tertentu yang terdapat dalam sampel dan menunjukan pemisahan yang baik (Harmita, 2004). Kriteria pemisahan yang baik dapat dilihat dari kesimetrisan puncak, nilai resolusi dan nilai lempeng teoritis (Faridah *et al.*, 2020). Pada fase gerak metanol: aquades (45:55) menghasilkan kromatogram yang selektif dengan pemisahan yang lebih baik dibandingkan dengan fase gerak

metanol:aquades (55:45) namun masih terdapat puncak kecil yang menempel akibatnya puncak yang dihasilkan kurang simetris. Selain itu pada fase gerak metanol:aquades (45:55) memberikan puncak tunggal. Berdasarkan hal tersebut fase gerak metanol:aquades (45:55) lebih dipilih karena sesuai dengan hukum koefisien distribusi yang normal dimana fase geraknya dapat membawa analit dan fase diamnya dapat menahan analit dengan seimbang sehingga dihasilkan puncak yang tunggal.

Pada hasil kromatogram standar didapatkan adanya 2 puncak, dimana kromatogram standar seharusnya hanya menghasilkan 1 puncak saja. Hal ini bisa disebabkan karena adanya kontaminasi ketika pembuatan larutan standar hidrokuinon. HPLC memiliki sensitivitas yang tinggi sehingga ketika terdapat kontaminan dalam suatu larutan maka kontaminan tersebut akan terbaca pada HPLC. Pembuatan standar digunakan untuk menghitung kadar hidrokuinon dalam sampel, perhitungan tersebut berdasarkan pada persamaan garis dari kurva baku dalam berbagai konsentrasi. Kurva baku menyatakan hubungan linier antara konsentrasi dengan AUC dimana meningkatnya konsentrasi maka nilai AUC juga semakin meningkat (Sandrapitaloka, 2017). Persamaan kurva baku dikatakan linier apabila nilai koefisien korelasi ( $r$ ) terhitung lebih besar dari nilai koefisien korelasi ( $r$ ) tabel dan nilai linieritas akan semakin baik jika koefisien ( $r$ ) hitung mendekati 1 (Lestari & Prasasti, 2018). Pembuatan kurva kalibrasi dibuat sepuluh konsentrasi yang berbeda yaitu 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; dan 5,5 ppm. Hasil dari perhitungan tersebut menghasilkan persamaan  $y = 29534 x + 656,9$  dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) 0,9959. Hasil tersebut menunjukkan bahwa persamaan kurva baku membentuk kurva yang linier serta memberikan nilai  $r$  tabel 0,6319. Linieritas digunakan untuk membuktikan kemampuan suatu metode analisis dalam memperoleh hasil pengujian yang sesuai dengan konsentrasi analit pada sampel (Lestari & Prasasti, 2018). Karena nilai  $r$  hitung  $>$   $r$  tabel maka persamaan tersebut dapat digunakan untuk menghitung kadar hidrokuinon dalam sampel.

Sensitivitas pada suatu metode analisis dapat dinyatakan dalam LOD dan LOQ. LOD (*Limit of Detection*) merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi sedangkan LOQ (*Limit of Quantitation*) merupakan parameter

yang menunjukkan jumlah terkecil dari analit yang dapat di kuantitasikan dengan teliti dan akurat (Harmono, 2020). Berdasarkan hasil perhitungan didapatkan nilai LOD sebesar 0,449228845 ppm atau 0,00004% dan nilai LOQ 1,497429482 ppm atau 0,00015%. Menurut Mariana *et al.*, (2018), apabila konsentrasi dalam sampel kurang dari nilai LOD maka sinyal yang terdeteksi tidak dapat dipercaya dan dalam bentuk *noise*, karena memiliki akurasi yang rendah sedangkan nilai LOQ yang baik adalah nilai konsentrasi yang diuji berada di atas nilai LOQ. Sehingga nilai LOD yang didapatkan menunjukkan bahwa metode yang digunakan dapat mendeteksi kadar terkecil sebesar 0,00004% dan nilai analit yang dapat dikuantifikasi adalah diatas 0,00015% agar dapat diterima dalam presisi dan akurasi.

Analisis kuantitatif dilakukan pada 4 sampel *handbody lotion whitening* tanpa label BPOM yang dijual secara *E-Commerce*. Pada pemisahan masing-masing replikasi sampel ditemukan hasil kromatogram dengan pemisahan yang kurang baik seperti pada sampel 1,4 dan 5 kaki puncak tidak menyentuh *baseline* dan pada sampel 3 hasil kromatogram yang tidak simetris. Hal ini bisa disebabkan karena dalam matriks sampel mengandung banyak senyawa, pembacaan HPLC tidak dilakukan dalam waktu yang bersamaan serta komposisi fase gerak yang kurang asam. Salah satu kondisi yang dapat mempengaruhi kromatogram HPLC adalah penambahan asam pada fase gerak. Penambahan asam tersebut dapat mempertajam bentuk kromatogram menjadi lebih simetris (Rosydiati & Saleh, 2019). Berdasarkan nilai AUC dan nilai CV yang didapatkan sampel 3 dan 5 memiliki rentang replikasi yang jauh hal ini terjadi karena pada saat preparasi sampel seperti saat penimbangan yang tidak konstan serta replikasi dilakukan tidak dalam satu waktu yang sama sehingga menyebabkan perbedaan yang signifikan. Hasil perhitungan yang sudah didapatkan nilai CV pada sampel 3 dan 5 kurang baik karena lebih dari 16%. Menurut Harmita (2004) pada kadar 1% atau lebih CVnya adalah sekitar 2,5% dan pada satu per seribu adalah 5%. Pada kadar satu per sejuta (ppm) nilai CV yang masih diperbolehkan adalah 16% dan pada kadar part per billion (pbb) adalah 32%.

Berdasarkan hasil analisis didapatkan sampel *handbody lotion whitening* tanpa label BPOM yang terjual di *E-Commerce* untuk sampel 1, 3, 4, dan 5 secara

berturut-turut yaitu  $2,633\% \pm 0,7984$ ;  $0,333\% \pm 0,1614$ ;  $0,023\% \pm 0,0064$ , dan  $0,006\% \pm 0,0037$ . Pada sampel 1 memiliki kadar hidrokuinon yang paling tinggi dan pada sampel 5 memiliki kadar hidrokuinon paling kecil. Sehingga 4 dari 5 sampel yang diuji tidak memenuhi persyaratan yang sudah ditetapkan oleh BPOM. Karena berdasarkan keputusan kepala BPOM mengenai hidrokuinon itu tidak diperbolehkan dalam sediaan *handbody lotion*. Hal ini perlu menjadi perhatian bagi konsumen untuk berhati-hati dalam memilih produk *handbody lotion whitening* karena dapat memberikan efek samping berbahaya.

UNIVERSITAS PERPUSTAKAAN  
JENDERAL ACHMAD YANI  
YOGYAKARTA