

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 8 sampel dengan karakteristik yang berbeda. Sampel 1, 2 dan 3 tidak memiliki label kemasan maupun keterangan mengenai komposisi bahan yang digunakan. Sementara itu sampel 4, 5 dan 6 memiliki label kemasan yang mencantumkan komposisi bahan termasuk informasi bahwa produk tersebut mengandung asam salisilat. Adapun sampel 7 dan 8 memiliki label kemasan dengan keterangan komposisi bahan, namun tidak mencantumkan asam salisilat sebagai salah satu bahan yang digunakan.

1. Analisis kualitatif

a. Uji tabung

Analisis kualitatif asam salisilat dilakukan sebagai identifikasi awal ada tidaknya asam salisilat pada produk krim anti-jerawat yang didapatkan melalui *marketplace* X. Hasil uji tabung asam salisilat dapat diamati pada **Tabel 2**. Analisis ini menggunakan pereaksi FeCl_3 , hasil positif ditunjukkan perubahan warna menjadi ungu pada sampel 4, 5 dan 6 (Moffat *et al.*, 2011).

Tabel 2. Hasil Uji Tabung Senyawa Asam Salisilat

Sampel	Hasil		Keterangan
	Sebelum ditambahkan FeCl_3	Sesudah ditambahkan FeCl_3	
Kontrol negatif (FeCl_3 1%)	Kuning	Kuning	-
Kontrol positif (asam salisilat BPF1)	Putih	Ungu	+
1	Kuning	Orange	-
2	Kuning	Hijau	-
3	Putih	Orange	-
4	Putih	Ungu	+
5	Putih	Ungu	+
6	Putih	Ungu	+
7	Putih	Coklat	-
8	Kuning	Orange	-

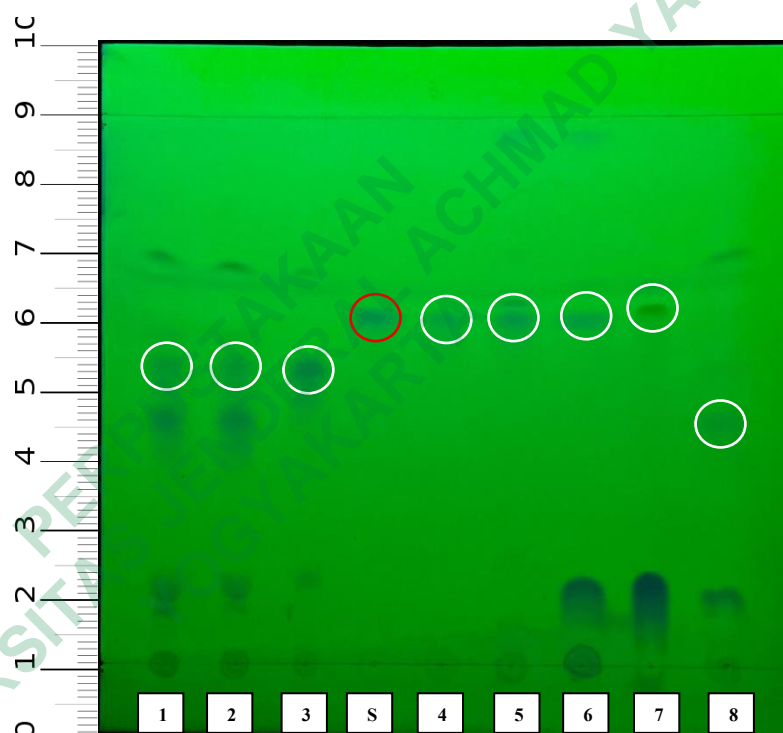
Keterangan:

(+) = Senyawa asam salisilat terkandung dalam sampel krim

(-) = Senyawa asam salisilat tidak terkandung dalam sampel krim

b. Identifikasi dengan plat KLT

Uji kualitatif pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan menggunakan fase gerak toluen:asam asetat glasial, perbandingan 4:1 dengan fase diamnya yaitu plat KLT silika gel 60 F₂₅₄. Hasil pada plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ yang telah terelusi kemudian diamati di bawah sinar UV 254 nm untuk melihat bercak yang muncul. Hasil dianggap positif jika posisi bercak sampel sejajar dengan bercak dari standar perbandingan. Hasil dari uji kualitatif dapat diamati pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Hasil Identifikasi KLT dari 8 Sampel

Keterangan : (S) standar asam salisilat BPFI, (1-3) sampel tidak berlabel BPOM pada kemasan, (4-6) sampel berlabel BPOM dan terdaftar di *website* BPOM, (7-8) sampel berlabel BPOM pada kemasan, namun tidak terdaftar di *website* BPOM/klaim palsu

Dari hasil yang diperoleh diketahui bahwa dari 8 sampel krim anti-jerawat, ada 3 sampel yang menunjukkan hasil positif mengandung asam salisilat yaitu pada sampel 4, 5 dan 6. Hal ini terlihat dari 3 sampel tersebut yang memiliki nilai Rf, posisi bercak yang sejajar dan warna bercak yang sama dengan standar asam salisilat (**Tabel 3**). Suatu sampel dianggap positif jika selisih nilai Rf antara sampel dan standar <0.05 . Namun, jika selisih nilai >0.05 maka sampel tersebut dinyatakan negatif (Prasetyawan *et al.*,

2024). Hasil perhitungan nilai dari uji kualitatif dapat diamati pada **Tabel 3.**

Tabel 3. Hasil Perhitungan Nilai Rf Standar dan Sampel

No	Larutan	Jarak noda (cm)	Eluen (cm)	Nilai Rf	Keterangan	Warna bercak
1	Standar asam salisilat	5.1	8	0.6375	+	Berpendar ungu
2	Sampel 1	4.4	8	0.55	-	Berpendar ungu
3	Sampel 2	4.4	8	0.55	-	Berpendar ungu
4	Sampel 3	4.4	8	0.55	-	Berpendar ungu
5	Sampel 4	5.1	8	0.6375	+	Berpendar ungu
6	Sampel 5	5.1	8	0.6375	+	Berpendar ungu
7	Sampel 6	5.1	8	0.6375	+	Berpendar ungu
8	Sampel 7	1.1	8	0.1375	-	Kuning
9	Sampel 8	3.5	8	0.4375	-	Berpendar ungu

Keterangan:

(+) = Positif terdapat senyawa asam salisilat dalam sampel krim

(-) = Negatif tidak terdapat senyawa asam salisilat dalam sampel krim

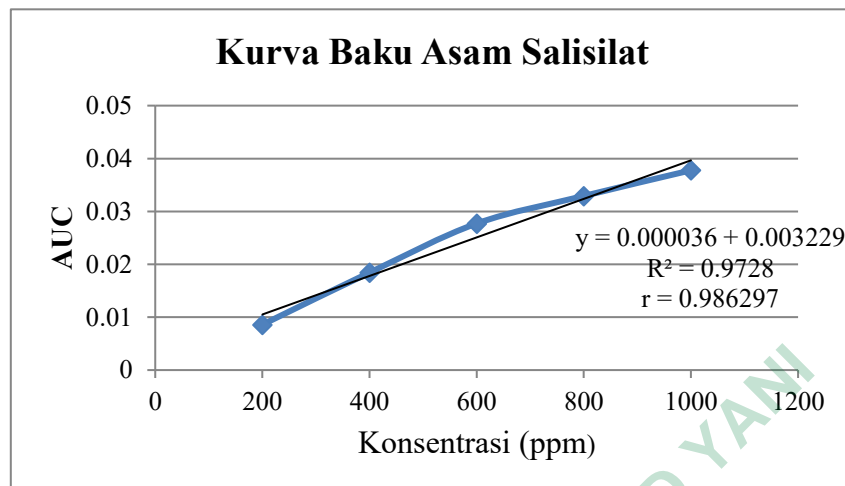
2. Analisis kuantitatif

a. Penetapan panjang gelombang

Pada penetapan panjang gelombang asam salisilat dilakukan dengan tujuan mengetahui panjang gelombang yang menghasilkan serapan optimal terhadap asam salisilat. Proses ini dibaca menggunakan alat densitometer dimana rentang yang digunakan pada panjang gelombang 200 nm – 330 nm. Berdasarkan hasil pengukuran panjang gelombang maksimum asam salisilat didapatkan bahwa rentang asam salisilat berada pada 301 nm (**Lampiran 8**). Berdasarkan pada buku Clarke's Analysis of Drugs and Poisons menyebutkan bahwa panjang gelombang maksimum asam salisilat berada pada 298 (Moffat *et al.*, 2011). Pergeseran ini masih memenuhi ketentuan yang ditetapkan dalam Farmakope Indonesia Edisi ketiga (1979) dengan penyimpangan hingga batas ± 2 nm pada daerah di atas 320 nm dari panjang gelombang yang ditentukan (Depkes RI, 1979).

b. Pembuatan kurva baku

Pada pembuatan kurva baku standar asam salisilat digunakan 5 konsentrasi yang dimulai dari 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm dan 1000 ppm. Hasil dari kurva baku dapat diamati pada **Gambar 4.**

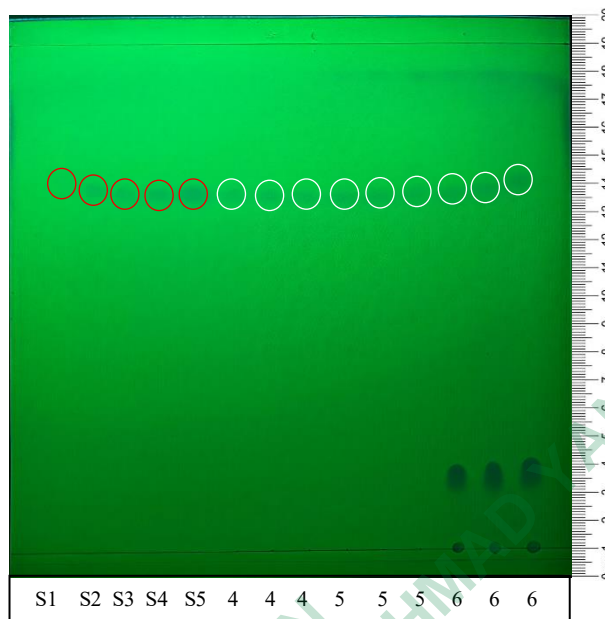


Gambar 4. Data Kurva Baku Asam Salisilat

Berdasarkan dari perolehan hasil Gambar 4 menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara konsentrasi dan nilai AUC dari baku asam salisilat berbanding lurus atau linier dengan hasil yang diperoleh $a = 0.003229$, $b = 0.000036$ dan $r = 0.986297$.

c. Penetapan kadar sampel krim anti-jerawat dengan densitometri

Pada sampel krim anti-jerawat yang positif kemudian dilanjutkan menggunakan Plat silika gel 60 F₂₅₄ ukuran 20 cm x 20 cm. Plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ berisi 5 konsentrasi dan 3 sampel krim anti-jerawat yang positif (sampel 4, 5 dan 6) dilakukan replikasi sebanyak 3x. Hasil Plat silika gel 60 F₂₅₄ yang telah terelusi kemudian diamati di bawah sinar UV 254 nm untuk melihat adanya bercak yang timbul dan dilanjutkan dengan menggunakan densitometer. Hasil dari bercak Plat silika gel F₂₅₄ standar dan sampel dapat diamati pada **Gambar 5**. Pada hasil bercak yang terlihat jelas pada sampel 6 membuktikan bahwa tidak hanya asam salisilat saja yang terkandung dalam komposisi sampel krim anti-jerawat tersebut namun ada senyawa lain yang ikut terjadi pemisahan pada plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ tersebut.



Gambar 5. Hasil KLT standar dan sampel Krim Anti-Jerawat

Keterangan : (S1-S5) standar asam salisilat BPFI, (4-6) sampel yang positif mengandung asam salisilat dan masing-masing dilakukan replikasi sebanyak 3 kali

Pada penetapan kadar asam salisilat menggunakan densitometer dibaca pada panjang gelombang 301 nm. Kadar senyawa asam salisilat nantinya dapat dihitung dengan persamaan regresi yang diperoleh dari kurva baku yaitu $y = 0.000036x + 0.003229$ dengan nilai $r = 0.986297$. Kemudian dihitung kadar sesungguhnya menggunakan rumus yang sudah ditetapkan. Setelah didapatkan hasil kadar dari masing-masing sampel dilanjutkan dengan menghitung nilai rata-rata, SD, CV, dan LE. Data hasil perhitungan dapat diamati pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Data Hasil Perhitungan Sampel

Sampel	Kadar sesungguhnya (%)	Rata-rata kadar sesungguhnya	SD	CV (%)	LE
4	1.52230	1.50146%	0.01852	1.23347	0.04601
	1.49520				
	1.48688				
5	1.87993	1.89729%	0.01536	0.80958	0.03816
	1.90910				
	1.90285				
6	1.70145	1.5118%	0.30932	20.45943	0.76846
	1.67923				
	1.15493				

Keterangan: Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi (n=3)

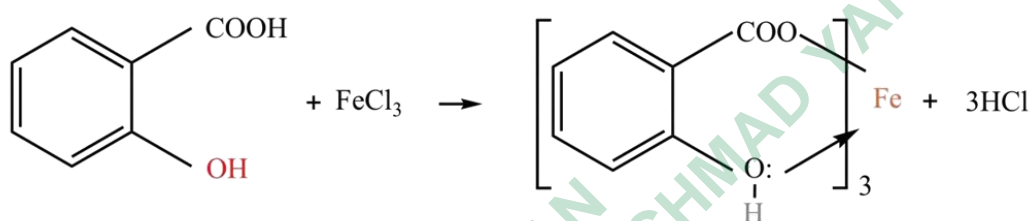
B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa asam salisilat pada sampel krim anti-jerawat dengan memakai metode kualitatif dan kuantitatif. Sebelum dilakukan uji kualitatif, tahap awal yang dilakukan adalah pengambilan sampel melalui *Marketplace X* dengan teknik *purposive sampling*. Digunakan teknik *purposive sampling* untuk memastikan bahwa sampel yang diambil telah mewakili populasi krim anti-jerawat yang terdapat *Marketplace X*, untuk selanjutnya dilakukan analisis terkait kandungan asam salisilatnya. Kemudian setiap sampel ditimbang dengan berat yang sama dan dilarutkan menggunakan etanol (*p.a*). Alasan pemilihan etanol (*p.a*) sebagai pelarut karena asam salisilat mudah larut dalam etanol (Kemenkes RI, 2020). Kemudian campuran tersebut dipanaskan menggunakan *waterbath* pada suhu 60°C. Tujuan dilakukan pemanasan agar senyawa-senyawa yang terkandung di dalam krim terlarut dengan sempurna termasuk senyawa asam salisilat itu sendiri. Pada suhu yang tidak terlalu tinggi ini cukup untuk melarutkan krim tanpa merusak kandungan senyawa aktifnya (Rani & Novrianti, 2023). Setelah dipanaskan sampel didinginkan pada lemari pendingin selama 15 menit, bertujuan untuk memisahkan fase basis dan fase cair. Selanjutnya, dilakukan penyaringan pada sampel menggunakan kertas saring *Whatman No. 41*. Penyaringan tersebut bertujuan untuk memisahkan partikel kasar atau endapan dari larutan sehingga filtrat yang dihasilkan lebih jernih (Desmagrini *et al.*, 2021). Dalam penelitian ini dilakukan analisis kualitatif uji tabung dan kromatografi lapis tipis (KLT), kemudian dilanjutkan uji kuantitatif terhadap sampel yang positif asam salisilat dengan metode densitometri.

Pada uji kualitatif dilakukan identifikasi awal uji tabung dengan menggunakan reagen FeCl_3 1% pada setiap sampel dan juga standar asam salisilat sebagai kontrol positif. Sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan reagen FeCl_3 1% agar dapat memastikan bahwa reaksi yang muncul berasal dari senyawa dalam sampel bukan disebabkan pelarut. Analisis kualitatif melalui uji tabung ini bertujuan untuk mengetahui apakah pada sediaan sampel krim anti-jerawat mengandung senyawa asam salisilat yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna. Pada uji tabung menggunakan reagen FeCl_3 1% didapatkan bahwa 3

sampel positif (sampel 4, 5, dan 6) memiliki kandungan asam salisilat, yang dapat terlihat dari terjadinya perubahan warna menjadi ungu seperti pada baku pembanding (kontrol positif) dapat dilihat pada **Lampiran 6**. Hal ini, disebabkan oleh atom oksigen (O) pada gugus hidroksi (-OH) yang bereaksi dengan FeCl_3 membentuk senyawa kompleks berwarna ungu (Jayadi, 2022). Interaksi kimia antara asam salisilat dengan FeCl_3 dapat diamati pada **Gambar 6**.

Gambar 6. Reaksi Kimia Asam Salisilat dengan FeCl_3



Diadaptasi dari Bisht *et al.*, (2020) menggunakan KingDraw 2025

Pada hasil uji tabung sebenarnya tidak bersifat spesifik untuk membuktikan adanya asam salisilat, karena uji tabung hanya menunjukkan adanya gugus fungsi tertentu yang juga dimiliki senyawa lain. Oleh karena itu diperlukan uji menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mengkonfirmasi keberadaan senyawa asam salisilat tersebut. Melalui KLT keberadaan asam salisilat dapat dipastikan dengan membandingkan nilai R_f sampel terhadap nilai R_f standar. Pemisahan ini didasarkan pada perbedaan tingkat kepolaran senyawa sehingga asam salisilat dapat teridentifikasi secara lebih akurat dibandingkan hanya dengan uji tabung. Pada uji kualitatif yang kedua, dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Fase gerak yang digunakan yaitu toluen:asam asetat glasial dengan perbandingan 4:1. Fase diam yang digunakan yaitu plat KLT silika gel 60 F_{254} dapat berfluoresensi pada panjang gelombang 254 nm. Plat KLT silika gel 60 F_{254} terlebih dahulu diaktifkan dalam oven dengan suhu 105°C selama 30 menit untuk mengaktifkan gugus silanol (Si-OH) dan siloksan (Si-O-Si). Aktivasi ini dilakukan untuk menghilangkan kandungan air yang menempel pada permukaan penjerap sehingga meningkatkan kemampuan plat dalam mengikat sampel secara optimal (Miranti *et al.*, 2023). Plat KLT silika gel 60 F_{254} bersifat polar sama halnya

dengan asam salisilat yang juga bersifat polar. Karena kesamaan sifat ini, asam salisilat cenderung tertahan lebih lama pada fase diam sehingga menghasilkan nilai R_f kecil. Berdasarkan hasil yang tercantum pada **Tabel 3**, menunjukkan bahwa dari 8 sampel krim anti-jerawat yang di analisis 3 di antaranya positif sedangkan 5 sampel lainnya negatif tidak mengandung asam salisilat. Hal ini diketahui dari bercak yang terbentuk dan nilai R_f yang dihasilkan. Berdasarkan pada hasil menggunakan fase gerak toluen:asam asetat glasial perbandingan 4:1 yang memiliki sifat non polar dapat menghasilkan nilai R_f 0.6375. Nilai R_f yang dihasilkan berada pada rentang R_f yang baik yaitu 0.2 – 0.8, jika nilai R_f di luar rentang tersebut berisiko mengganggu visualisasi bercak karena efek dari pelarut yang digunakan (Muttaqin *et al.*, 2016). Pada sampel 7 jika dilihat pada **Gambar 3**, nampak bercak berwarna kekuningan pada R_f yang hampir sama dengan standar namun bercak tersebut berwarna kuning sedangkan bercak positif lainnya berwarna kuning. Hal ini juga dikonfirmasi dengan penotolan kembali pada plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ yang berbeda dengan cara adisi. Adisi ini campuran antara standar asam salisilat pada konsentrasi 1000 ppm dengan larutan sampel 7 untuk melihat apakah bercak tersebut menjadi satu atau muncul dengan dua bercak yang berbeda (dapat dilihat pada **Lampiran 8**). Hasil dua bercak yang berbeda ini membuktikan bahwa nilai R_f yang muncul tidak sama dengan standar asam salisilat sehingga adanya adisi pada sampel tersebut menunjukkan bahwa sampel 7 negatif mengandung asam salisilat.

Analisis kuantitatif pada penelitian ini diawali dengan menentukan panjang gelombang maksimum asam salisilat. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan karena pada titik ini perubahan nilai AUC (*Area Under Curve*) terhadap peningkatan konsentrasi menunjukkan sensitivitas yang paling tinggi, sehingga jika dilakukan replikasi dapat mengurangi kesalahan pengukuran (Apriliyani *et al.*, 2018). Pengukuran λ maksimum dilakukan pada plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ yang sudah ditotolkan larutan induk asam salisilat 5000 ppm dan 8 sampel krim anti-jerawat, lalu dibaca dengan mode scan lurus pada alat densitometer dan didapat hasil 301 nm **Lampiran 9**. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum ini digunakan untuk mengukur AUC dari sampel yang positif mengandung asam

salisilat. Setelah mendapat λ maksimum asam salisilat selanjutnya dilakukan pembuatan kurva baku asam salisilat dengan seri konsentrasi berbeda yaitu 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, dan 1000 ppm. Tujuan pembuatan kurva baku yaitu untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi dan AUC, apakah berbanding lurus atau linier. Nilai r ini berkisar antara -1 sampai +1, termasuk 0. Nilai r yang baik yaitu mendekati angka 1. Semakin besar nilai r yang mendekati angka 1, maka semakin erat hubungan kedua variable tersebut. Nilai r positif ataupun negatif tergantung pada kurva linier yang terbentuk, jika kurva dari bawah ke atas maka nilai r adalah positif (+), sedangkan jika kurva baku dari atas ke bawah maka nilai r bernilai negatif (-). Nilai positif dan negatif ini tidak terpengaruh terhadap korelasi jika nilai koefisien korelasi mendekati ± 1 (Wulandari *et al.*, 2023). Hasil dari pembuatan kurva baku didapatkan nilai $a = 0.003229$, $b = 0.000036$, dan $r = 0.986297$, dari hasil nilai r dapat dikatakan hubungan antara konsentrasi dengan AUC berbanding lurus atau linier karena nilai r yang diperoleh mendekati 1.

Penentuan kadar diawali dengan melakukan replikasi sebanyak 3x pada sampel yang positif mengandung asam salisilat berdasarkan uji kualitatif menggunakan uji tabung dan KLT. Hasil penetapan kadar ditunjukkan pada **Tabel 4**, dimana sampel 4, 5 dan 6 memiliki perolehan hasil rata-rata \pm LE berturut-turut yaitu 1.50146 % b/b \pm 0.04601; 1.89729 % b/b \pm 0.03816; dan 1.51187 % b/b \pm 0.76846. Dengan demikian, sampel yang dianalisis dinyatakan Memenuhi Syarat (MS) berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 17 Tahun 2022 tentang persyaratan teknis bahan kosmetika yang menyatakan bahwa batas kadar maksimum bahan aktif asam salisilat tidak lebih dari 2% (BPOM RI, 2022). Batasan tersebut juga sudah sesuai dengan informasi pada kemasan sampel krim anti-jerawat yang digunakan dalam penelitian ini, dimana sampel 4, 5 dan 6 mencantumkan asam salisilat sebagai salah satu bahan dalam komposisinya. Selain itu, produk krim anti-jerawat tersebut telah terdaftar di *website* BPOM sehingga dipastikan telah memenuhi persyaratan yang berlaku dan teruji secara ilmiah mengandung asam salisilat sesuai peraturan. Namun, berdasarkan perhitungan nilai CV pada sampel 6 tidak memenuhi syarat (20.45943%). Syarat nilai CV sendiri tidak boleh lebih dari 5% (Albab & Mahfudh,

2020). Nilai CV yang besar dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Salah satunya adalah ketebalan bagian dasar kaca chamber tidak sama (pada bagian tengah lebih tinggi) sehingga permukaannya tidak datar saat proses elusi berlangsung. Permukaan chamber yang tidak datar ini akan menyebabkan tekanan fase gerak menjadi berbeda-beda karena dorongan yang terjadi tidak merata. Akibatnya ketika elusi telah mencapai setengah perjalanan yang awalnya memiliki tekanan yang sama kemudian terjadi penyesuaian tekanan sehingga kecepatan laju fase gerak menjadi berbeda di setiap bagian. Berbeda dengan chamber yang datar dimana fase gerak akan mengelusi dengan dorongan yang sama diseluruh permukaan. Hal ini juga menyebabkan angka Rf di tepi akan lebih besar dan memberi pengaruh batas (batas elusi akan tampak melengkung ke bawah di bagian tengah lempeng). Perbedaan nilai Rf inilah yang membuat nilai CV yang diperoleh sangat besar (Anu, 2021). Selain itu faktor lain yang juga mempengaruhi adalah pencampuran fase gerak dalam jumlah volume yang banyak di dalam chamber dapat mempengaruhi kehomogenan fase gerak tersebut. Ketidakhomogenan ini akan berdampak pada proses pemisahan senyawa di plat KLT yang menghasilkan perbedaan dorongan pada saat elusi (Arifah *et al.*, 2023). Tak hanya itu faktor penotolan berulang secara manual dengan pipa kapiler yang sama juga dapat mempengaruhi AUC sampel yang terbaca, hal ini akan berpengaruh terhadap kadar dan CV dari sampel yang dianalisa (Prasetyawan *et al.*, 2024). Dalam analisis, nilai CV yang rendah menunjukkan presisi yang baik artinya data atau sampel yang diuji memiliki tingkat variasi yang rendah sehingga dianggap seragam. Sebaliknya jika nilai CV tinggi menunjukkan sebaran nilai yang lebih luas.

Dengan demikian berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap kedelapan sampel dapat diketahui adanya kesesuaian antara informasi pada label kemasan dengan hasil analisis. Sampel 1, 2 dan 3 yang tidak memiliki label berisi komposisi bahan maupun nomor registrasi BPOM menunjukkan hasil bahwa ketiga sampel tersebut memang tidak terdapat asam salisilat di dalam produk tersebut. Pada sampel 7 dan 8 yang memiliki klaim palsu BPOM terbukti tidak mengandung asam salisilat. Sementara itu sampel 4, 5 dan 6 sebagai sampel yang teregistrasi dalam BPOM, mengandung asam salisilat yang memenuhi batas maksimal

konsentrasi yang disyaratkan. Secara keseluruhan, 3 produk yang teregistrasi BPOM mampu menjaga pemenuhan batas maksimum asam salisilat dalam produknya. 5 produk lain tidak terbukti mengandung asam salisilat sesuai dengan informasi dalam label.

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI
YOGYAKARTA