

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil

Berdasarkan hasil survei, terdapat 20 klinik kecantikan di Kota Yogyakarta. Selanjutnya, dipilih 6 klinik yang menyediakan layanan pembelian produk secara *online*. Setelah itu, dari sampel yang diperoleh, terdapat 3 sampel yang memiliki label BPOM dan 3 sampel lainnya tidak memiliki label BPOM. Selanjutnya sampel dilakukan analisis kualitatif yang meliputi uji organoleptik, pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1%, dan nilai tR. Sampel yang positif kemudian dianalisis kuantitatif lebih lanjut dengan metode HPLC

#### 1. Analisis Kualitatif

##### a. Analisis Organoleptis

Hasil dari analisis organoleptis menunjukkan bahwa seluruh sampel memiliki bentuk semi solid, kemudian warna tiap sampel tampak berbeda satu sama lain, sedangkan dari segi bau tidak tercium aroma khusus kecuali pada sampel 3 yang terdeteksi memiliki bau wangi. Hasil analisis dapat dilihat pada **Tabel 2**.

**Tabel 2. Hasil Analisis Organoleptis**

| Sampel | Hasil      |              |              |
|--------|------------|--------------|--------------|
|        | Bentuk     | Warna        | Bau          |
| 1      | Semi Solid | Putih        | Tidak Berbau |
| 2      | Semi Solid | Putih        | Tidak Berbau |
| 3      | Semi Solid | Kuning       | Wangi        |
| 4      | Semi Solid | Putih        | Tidak Berbau |
| 5      | Semi Solid | <i>Peach</i> | Tidak Berbau |
| 6      | Semi Solid | Putih        | Tidak Berbau |

##### b. Pereaksi Warna $\text{FeCl}_3$ 1%

Analisis dengan pereaksi warna  $\text{FeCl}_3$  dilakukan untuk mengidentifikasi adanya hidrokuinon pada krim pemutih wajah, baik yang berlabel BPOM maupun yang tidak berlabel BPOM, yang dijual secara *online* di klinik kecantikan Kota Yogyakarta. Hasil positif hidrokuinon ditunjukkan dengan perubahan warna kuning hingga hijau (Sophieyati *et*

al., 2024), atau hijau hingga hitam (Simaremare, 2019). Hasil analisis reaksi warna  $\text{FeCl}_3$  1% dapat dilihat pada **Tabel 3**.

**Tabel 3. Hasil Analisis Reaksi Warna  $\text{FeCl}_3$  1%**

| Sampel  | Warna               |                  | Keterangan |
|---------|---------------------|------------------|------------|
|         | Sebelum             | Sesudah          |            |
| Standar | Putih               | Kuning kehijauan | +          |
| 1       | Putih               | Kuning kehijauan | +          |
| 2       | Putih               | Kuning kehijauan | +          |
| 3       | Putih               | Kuning           | -          |
| 4       | Putih               | Kuning kehijauan | +          |
| 5       | <i>Peach</i> bening | Kuning kehijauan | +          |
| 6       | Putih bening        | Coklat           | -          |

Keterangan: (+) = positif hidrokuinon, (-) = negatif hidrokuinon

### c. Nilai $t_R$

Hasil nilai  $t_R$  pada sampel 1, 2, 4, 5, dan 6 menunjukkan hasil positif, karena waktu retensi ( $t_R$ ) yang dihasilkan mendekati waktu retensi standar. Nilai  $t_R$  dapat dilihat pada **Tabel 4** serta **Lampiran 5 & 6**.

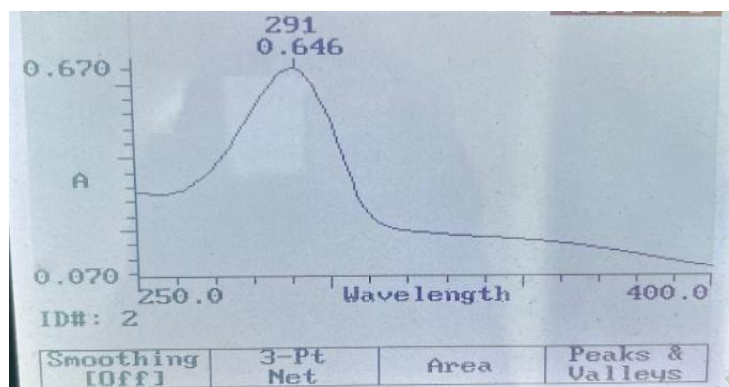
**Tabel 4. Nilai  $t_R$  Standar Hidrokuinon dan Sampel**

| Nama     | $t_R$ (menit) |
|----------|---------------|
| Standar  | 2,444         |
| Sampel 1 | 2,257         |
| Sampel 2 | 2,443         |
| Sampel 3 | 2,904         |
| Sampel 4 | 2,221         |
| Sampel 5 | 2,222         |
| Sampel 6 | 2,404         |

## 2. Analisis Kuantitatif

### a. Panjang gelombang

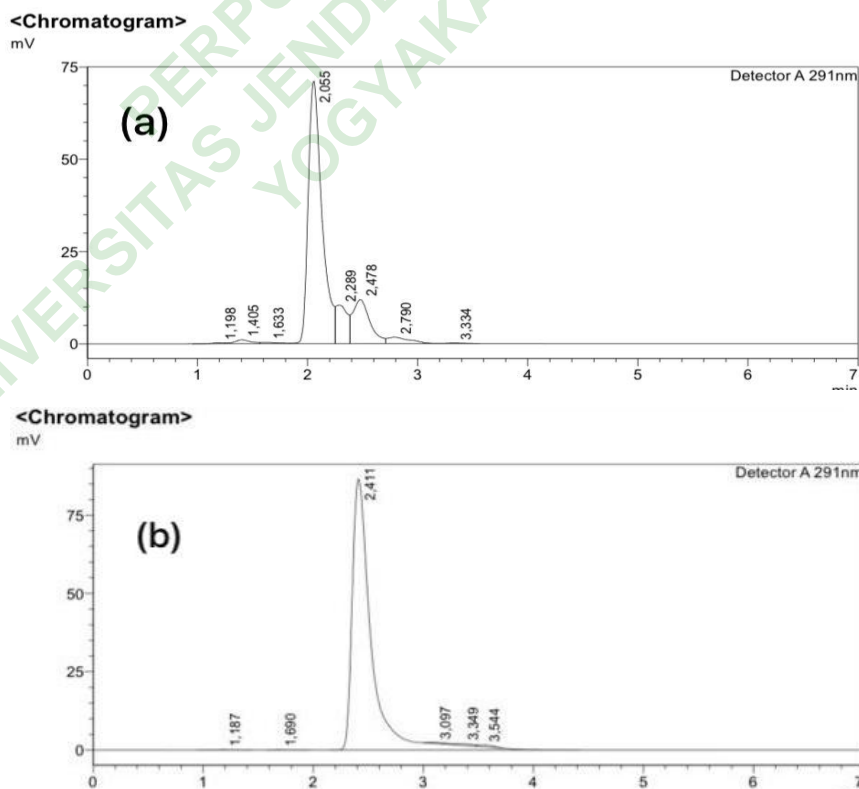
Penentuan panjang gelombang maksimum standar hidrokuinon dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 250 - 400 nm. Berdasarkan hasil pengukuran panjang gelombang maksimum hidrokuinon pada 20 ppm didapatkan 291 nm, dengan nilai absorbansi 0,646. Hasil panjang gelombang dapat dilihat pada **Gambar 5**.



Gambar 5. Panjang Gelombang Maksimum Standar Hidrokuinon

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

Optimasi fase gerak dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol for HPLC : *aqua pi* dengan masing-masing perbandingan (55:45) dan (30:70). Fase gerak dikatakan optimum jika menghasilkan puncak kromatogram yang simetris, waktu retensi yang sesuai, dan tidak terjadi tumpang tindih antar puncak. Hasil kromatogram dari optimasi fase gerak dapat dilihat pada Gambar 6.

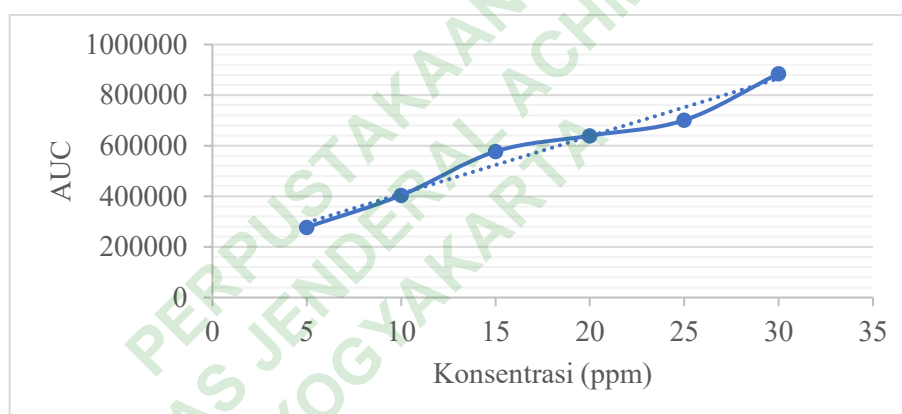


Gambar 6. Hasil Kromatogram Optimasi Fase Gerak dengan pelarut (a) Metanol : *Aqua pi* (55:45) dan (b) Metanol : *Aqua pi* (30:70)

Berdasarkan hasil analisis kromatogram, kondisi optimum diperoleh dengan menggunakan fase gerak metanol : *aqua pi* dengan perbandingan (30:70), menggunakan kolom C18 pemisahan dilakukan pada laju alir 1 mL/menit, volume yang diinjeksi sebesar 20  $\mu$ L, serta deteksi senyawa dilakukan pada panjang gelombang 291 nm dengan detektor UV.

### c. Kurva baku standar hidrokuinon

Kurva standar dibuat menggunakan 6 konsentrasi yang berbeda yaitu 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm. *Peak* hidrokuinon pada kromatogram yang ditunjukkan pada **Lampiran 5** ditandai dengan *peak* yang tertinggi di antara *range* nya. Grafik hubungan antara konsentrasi hidrokuinon dengan AUC dapat dilihat pada **Gambar 7**.



**Gambar 7. Kurva Kalibrasi Standar Hidrokuinon**

Berdasarkan grafik tersebut diperoleh nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9866 dengan persamaan regresi linier  $y = 22785,49143 x + 181967,4$ .

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

Nilai LOQ dan LOD diperoleh dari perhitungan persamaan regresi linier yang telah ditentukan sebelumnya. Berdasarkan perhitungan tersebut, nilai LOQ yang dihasilkan sebesar 0,0017% dan LOD sebesar 0,00005%. Data hasil dapat dilihat pada **Tabel 5**.

**Tabel 5. Hasil LOQ dan LOD**

| Konsentrasi (ppm) | AUC (y) | $y_i$       | $(y_i - \bar{y})^2$ |
|-------------------|---------|-------------|---------------------|
| 5                 | 277901  | 295894,8572 | 323778896,9         |
| 10                | 404058  | 409822,3143 | 33227319,35         |
| 15                | 577130  | 523749,7715 | 2849448795          |
| 20                | 639597  | 637677,2286 | 3685522,228         |

| Konsentrasi<br>(ppm) | AUC (y) | yi            | (yi-y) <sup>2</sup> |
|----------------------|---------|---------------|---------------------|
| 25                   | 700651  | 751604,6858   | 2596278097          |
| 30                   | 884944  | 865532,1429   | 376820196,1         |
|                      |         | <b>Jumlah</b> | 6183238826          |
|                      |         | <b>SD</b>     | 39316,78657         |
|                      |         | <b>LOD</b>    | 5,176555445         |
|                      |         | <b>LOQ</b>    | 17,25518482         |

#### e. Kadar hidrokuinon dalam sampel

Penentuan kadar hidrokuinon pada sampel krim pemutih wajah yaitu menggunakan metode HPLC. Menghitung kadar hidrokuinon pada masing-masing sampel menggunakan persamaan regresi linier  $y = 22785,49143 x + 181967,4$ . Perhitungan kadar sesungguhnya dihitung 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 6** dan **Lampiran 9**.

**Tabel 6. Hasil Kadar Hidrokuinon dalam Sampel**

| Sampel | Rata-rata $\pm$ LE (%b/b) | SD     | CV (%) |
|--------|---------------------------|--------|--------|
| 1      | 0,0588 $\pm$ 0,0077       | 0,0031 | 5,2721 |
| 2      | 1,9 $\pm$ 0,1117          | 0,0450 | 2,3684 |
| 4      | 0,0418 $\pm$ 0,0024       | 0,0010 | 2,3923 |
| 5      | 0,0299 $\pm$ 0,0047       | 0,0019 | 6,3545 |
| 6      | 0,0265 $\pm$ 0,0034       | 0,0014 | 5,2830 |

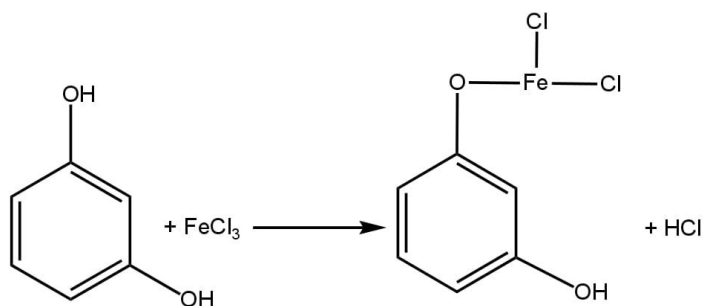
## B. Pembahasan

Analisis kandungan hidrokuinon dilakukan pada beberapa sampel krim pemutih wajah. Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling* sesuai kriteria berupa krim pemutih wajah yang berlabel BPOM (sampel 1, 3, dan 5) dan tanpa BPOM (sampel 2, 4, dan 6) yang ada maupun tidak ada dihalaman *web*, dijual secara *online* di klinik kecantikan Kota Yogyakarta, kisaran harga Rp60.000-Rp 100.000, dan dalam produk dengan mencantumkan ED maupun tanpa ED. Selain itu, wadah krim yang diterima dalam kondisi yang rusak serta rating penjualan di bawah 4,8.

Pengujian pertama adalah uji organoleptis sampel dengan parameter berupa bentuk, warna, dan bau. Berdasarkan hasil pengamatan, sampel 1, 2, 3,

4, 5, dan 6 memiliki bentuk semi solid, sampel memiliki warna yang bervariasi dengan bau tiap sampel dari yang tidak berbau hingga berbau wangi. Uji organoleptis dapat dilihat pada **Tabel 2** dan **Lampiran 4**. Uji organoleptis menjadi langkah awal dalam standardisasi karena karakteristik seperti, warna, bau, dan bentuk bisa mencerminkan kualitas dan kemurnian bahan. Uji ini penting karena bersifat cepat dan mampu memberikan informasi awal yang berguna sebelum dilakukan analisis kimia lebih lanjut. Setelah uji organoleptis, dilakukan preparasi sampel untuk memastikan bahwa senyawa yang dianalisis benar-benar merupakan hidrokuinon.

Preparasi dilakukan secara sederhana, yaitu dengan melarutkan sampel kemudian menyaringnya. Tujuan penyaringan agar sampel bebas dari partikel kasar atau pengotor yang dapat mengganggu hasil uji kualitatif selanjutnya. Uji kualitatif pertama yang dilakukan adalah menggunakan pereaksi warna  $\text{FeCl}_3$  1%, yang bertujuan mengidentifikasi keberadaan gugus  $-\text{OH}$  fenolik dalam senyawa hidrokuinon. Berdasarkan hasilnya untuk sampel 1, 2, 4, dan 5 menunjukkan hasil positif, sedangkan sampel 3 dan 6 menunjukkan hasil negatif. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna akibat terbentuknya kompleks antara gugus  $-\text{OH}$  fenolik pada hidrokuinon dengan  $\text{Fe}^{3+}$  (Sari *et al.*, 2022).  $\text{FeCl}_3$  mampu mendeteksi hidrokuinon karena adanya gugus  $-\text{OH}$  fenolik yang menempel pada cincin aromatis. Reaksi ini juga melibatkan proses oksidasi hidrokuinon oleh oksidator lemah  $\text{Fe}^{3+}$  menjadi senyawa kuinon (Sari *et al.*, 2022). Reaksi antara hidrokuinon dan  $\text{FeCl}_3$  dapat dilihat pada **Gambar 8**.



**Gambar 8. Reaksi Kimia Hidrokuinon dengan  $\text{FeCl}_3$**   
(Dokumentasi pribadi menggunakan aplikasi KingDraw Chemical Structure editor, disitasi dari Megasari *et al.*, 2022)

Hasil sampel yang negatif dikarenakan beberapa faktor, seperti konsentrasi senyawa, kondisi reaksi, serta interferensi dari matriks sampel (Santo *et al.*, 2013). Selain itu,  $\text{FeCl}_3$  bersifat tidak selektif untuk hidrokuinon saja, sehingga sampel yang menunjukkan hasil negatif perlu dilakukan uji selanjutnya yaitu dengan nilai  $t_R$ .

Waktu retensi (*retention time*) merupakan selang waktu yang diperlukan oleh analit mulai saat injeksi sampai keluar dari kolom dan sinyalnya secara maksimal ditangkap oleh detektor (Sukma & Fajri, 2019). Penentuan nilai  $t_R$  dilakukan dengan membandingkan nilai  $t_R$  sampel dengan standar. Waktu retensi standar hidrokuinon berada pada kisaran 2,3-2,4 menit. Hal ini dikarenakan menggunakan fase terbalik dan ditentukan oleh kepolaran dari senyawa yang akan dianalisis. Senyawa yang memiliki kepolaran yang sama dengan fase diam, maka akan tertahan lebih lama pada fase diam sehingga menyebabkan waktu retensi lebih panjang. Fase diam yang digunakan adalah C18 yang bersifat non polar, sedangkan fase gerak yang dipakai berdasarkan hasil optimasi adalah metanol:*aqua pi* (30:70) yang bersifat cenderung polar. Hidrokuinon merupakan senyawa yang mudah larut dalam pelarut polar, maka hidrokuinon akan terus bergerak melewati kolom dan tidak tertahan lama pada fase diam, sehingga akan terjadi elusi (Lestari & Prasasti, 2018). Berdasarkan hasil pengujinya, sampel 1, 2, 4, 5, dan 6 dikatakan positif, sedangkan untuk sampel 3 dikatakan negatif. Menurut USP, (2017) , perbedaan waktu retensi sampel dengan standarnya adalah  $\pm 5\%$ . Dengan demikian, rentang toleransi waktu retensi hidrokuinon adalah 2,28-2,52 menit. Sampel 3 memiliki waktu retensi jauh dari rentang tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa sampel 3 tidak mengandung hidrokuinon.

Hasil ini konsisten dengan uji  $\text{FeCl}_3$  sebelumnya, di mana sampel 3 juga menunjukkan hasil negatif. Sebaliknya, sampel 6 yang awalnya negatif pada uji  $\text{FeCl}_3$  justru menunjukkan nilai  $t_R$  yang sesuai dengan standar hidrokuinon, sehingga dikategorikan positif. Nilai  $t_R$  digunakan sebagai dasar dalam menentukan sampel positif karena memiliki selektivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi dibandingkan uji  $\text{FeCl}_3$ . Metode ini mampu membedakan

hidrokuinon dari senyawa lain berdasarkan karakteristik waktu retensinya yang khas, sehingga hasilnya lebih akurat. Selain menggunakan waktu retensi, analisis hidrokuinon juga diperkuat dengan penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrofotometer UV-Vis dapat mengukur daya serap suatu cairan yang mengandung sekelompok kromofor pada panjang gelombang cahaya tertentu (Hidayah *et al.*, 2024). Berdasarkan hasil uji, diperoleh panjang gelombang 291 nm. Nilai ini sesuai dengan teoritis, karena menurut *United State Pharmacopeia* (USP) hidrokuinon memiliki panjang gelombang teoritis  $293 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$  (USP, 2017). Selanjutnya sampel yang positif mengandung hidrokuinon dianalisis secara kuantitatif dengan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

Analisis kuantitatif bertujuan untuk menentukan kadar tertentu dalam sampel (Esati *et al.*, 2023). Metode HPLC dipilih karena waktu analisis yang relatif singkat dan efisien, kemampuan pemisahan yang baik, kompatibilitas untuk menganalisis senyawa organik maupun anorganik, serta dapat menganalisa senyawa dalam konsentrasi kecil (Abriyani *et al.*, 2024). Sebelum dilakukan analisis menggunakan HPLC, terlebih dahulu dilakukan optimasi fase gerak. Tujuan dari optimasi ini adalah untuk memperoleh kondisi pemisahan yang paling baik, sehingga senyawa hidrokuinon dapat terelusi dengan jelas, menghasilkan puncak yang tajam, simetris, serta terpisah dengan baik dari senyawa pengganggu lainnya (Harmita, 2014).

Percobaan awal menggunakan fase gerak metanol : *aqua pi* (55:45) yang menghasilkan kromatogram dengan pemisahan namun belum selektif. Kemudian percobaan kedua menggunakan perbandingan metanol : *aqua pi* (30:70) menghasilkan kromatogram yang selektif. Selektivitas merupakan kemampuan yang hanya dapat mengukur suatu zat tertentu pada sampel dan menunjukkan pemisahan yang baik (Fajri, 2020). Fase gerak dikatakan selektif karena dapat memisahkan hidrokuinon secara jelas dari senyawa lain dalam krim, terlihat dari puncak yang tajam dan resolusi tinggi. Kromatogram yang baik, antara lain memiliki bentuk *peak* simetri, waktu retensi  $< 10$  menit, dan resolusi  $\geq 1.5$  (Rosydiati & Slaeh, 2019). Berdasarkan hasil optimasi, fase gerak

yang digunakan yaitu metanol : *aqua pi* (30:70) di mana luas area muncul pada menit 2,411.

Langkah selanjutnya adalah pembuatan standar yang bertujuan untuk menentukan kadar hidrokuinon dalam sampel dilakukan dengan menghitung menggunakan persamaan dari garis kurva baku dalam berbagai konsentrasi dengan *Area Under Curve* (AUC), di mana dengan meningkatnya konsentrasi, maka nilai AUC juga akan semakin meningkat. Hubungan linier dapat dinyatakan valid apabila nilai koefisien korelasi ( $r$ ) hasil perhitungan menunjukkan yang lebih tinggi dibandingkan dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) tabel, dan nilai yang mendekati 1 menunjukkan hasil yang semakin baik (Lestari & Prasasti, 2018). Pembuatan kurva kalibrasi dibuat enam konsentrasi yang berbeda yaitu 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm. Hasil perhitungan tersebut menghasilkan persamaan  $y = 22785,49143 \times x + 181967,4$  dengan koefisien korelasi ( $r$ ) 0,9866. Hasil tersebut menunjukkan bahwa persamaan kurva baku membentuk kurva yang linier. Linearitas digunakan untuk membuktikan kemampuan suatu metode analisis dalam memperoleh hasil pengujian yang sesuai dengan konsentrasi analit pada sampel (Lestari & Prasasti, 2018). Nilai  $r$  hitung (0,9866) >  $r$  tabel (0,8114), Maka, persamaan tersebut dapat digunakan untuk menghitung kadar hidrokuinon dalam sampel. Selain itu, juga dapat dihitung nilai LOD dan LOQ dengan tujuan untuk mengetahui batas terkecil hidrokuinon yang masih dapat dideteksi dan diukur secara kuantitatif dengan tingkat akurasi dan presisi yang dapat diterima.

Tingkat sensitivitas dari suatu metode analisis dapat ditentukan melalui parameter LOD dan LOQ. LOD (*Limit of Detection*) mengindikasikan nilai analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi keberadaannya, sementara LOQ (*Limit of Quantitation*) menunjukkan jumlah analit terendah yang dapat dihitung secara kuantitatif dengan akurasi dan presisi (Zain & Malik, 2024). Apabila konsentrasi analit yang diperoleh di bawah nilai LOD, sinyal yang dihasilkan tidak dapat diandalkan dan berupa *noise*, karena menunjukkan tingkat akurasi yang sangat kecil. Sebaliknya, konsentrasi di atas nilai LOQ dianggap memberikan data yang baik (Mariana *et al.*, 2018). Berdasarkan

**Lampiran 10** diperoleh nilai LOD sebesar 0,00005% yang menunjukkan bahwa metode yang diterapkan mampu mendeteksi konsentrasi analit terkecil, sedangkan nilai analit yang dapat diukur secara kuantifikasi di atas 0,0017% agar dapat diterima dalam akurasi dan presisi. Selanjutnya dilakukan penentuan pada masing-masing sampel menggunakan perasamaan regresi yang telah diperoleh sebelumnya.

Hasil kadar hidrokuinon pada sampel 1, 2, 4, 5, dan 6 secara berturut-turut yaitu  $0,0588 \pm 0,0077$  %b/b;  $1,9 \pm 0,1117$  %b/b;  $0,0418 \pm 0,0024$  %b/b;  $0,0299 \pm 0,0047$  %b/b; dan  $0,0265 \pm 0,0034$  %b/b. Perbedaan hasil antar sampel cukup signifikan, kemungkinan ketidakkonsistenan selama tahap preparasi, seperti ketidakstabilan saat proses penimbangan, serta waktu replikasi yang tidak dilakukan secara bersamaan dapat menjadi faktor penyebab munculnya variasi data. Selanjutnya dari hasil perhitungan yang sudah diperoleh nilai CV pada setiap sampel yaitu 5,2721% untuk sampel 1, 2,3684% sampel 2, 2,3923% sampel 4, 6,3545% sampel 5, dan 5,2830% pada sampel 6. CV merupakan nilai yang menunjukkan ketelitian dari metode uji yaitu jika  $CV \leq 1\%$  artinya sangat teliti, jika  $1\% < CV \leq 2\%$  artinya teliti, jika  $2\% < CV < 5\%$  artinya ketelitian sedang, dan jika  $CV > 5\%$  artinya tidak teliti (Sulistiyani *et al.*, 2021). Berdasarkan nilai CV yang diperoleh, sampel 2 dan 4 masuk dalam kategori ketelitian sedang, sedangkan sampel 5 dan 6 termasuk tidak teliti. Nilai CV yang tinggi menunjukkan adanya variasi hasil pengukuran yang besar antar replikasi atau pengujian. Beberapa faktor teknis yang mempengaruhi ketelitian pengujian meliputi kondisi lingkungan seperti suhu, dan kelembapan yang dapat mempengaruhi alat dan sampel, serta kesalahan saat pengambilan sampel atau pengukuran yang menyebabkan variasi hasil. Selain itu, kontaminasi sampel juga dapat mengubah hasil. Kelima sampel yang diuji menunjukkan hasil yang tidak sesuai dengan standar yang telah ditetapkan oleh BPOM.

Menurut ketentuan dari BPOM hidrokuinon tidak diperbolehkan dalam sediaan krim pemutih wajah. Penggunaan hidrokuinon hanya bisa digunakan untuk kuku dengan kadar 0,02%, serta pengoksidasi pewarna rambut dengan kadar maksimal 0,3% (Kurniawan *et al.*, 2022). Berdasarkan hasil penelitian

ini, terbukti bahwa masih ada krim pemutih wajah yang dijual di klinik kecantikan Kota Yogyakarta mengandung hidrokuinon, meskipun ada yang sudah berlabel BPOM. Hal ini menunjukkan pentingnya pengawasan yang lebih ketat dari pihak berwenang agar produk yang dijual benar-benar aman. Selain itu, masyarakat juga perlu lebih berhati-hati dan teliti dalam memilih produk kosmetik, terutama dengan melakukan pengecekan izin edar dan mengetahui bahan yang terkandung di dalamnya.

PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI  
YOGYAKARTA