BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hidrokuinon

2.1.1 Definisi Hidrokuinon

Hidrokuinon merupakan senyawa turunan benzena yang termasuk golongan fenol, rumus kimia $C_6H_4(OH)_2$ dengan nama kimia 1, 4-benzendiol atau quino berbentuk jarum halus, putih, mudah menjadi gelap jika terpapar cahaya dan udara. Hidrokuinon mudah larut dalam air, etanol, dan eter (Kemenkes RI, 2020)



Gambar 2.1 Struktur Senyawa Hidrokuinon

Hidrokuinon adalah bahan aktif yang dapat mengendalikan produksi pigmen yang tidak merata, tepatnya berfungsi untuk mengurangi atau menghambat pembentukan melanin pada kulit, dapat mengatasi hiperpigmentasi serta digunakan sebagai pewarna kuku dan rambut (Fahira et al., 2021). Melanin adalah pigmen kulit yang memberikan warna gelap kecokelatan, sehingga muncul semacam bercak atau bintik cokelat atau hitam pada kulit. Hidrokuinon digunakan untuk mencerahkan kulit yang kelihatan gelap akibat bintik, melasma, dan titik-titik penuaan (Sari et al., 2022). Hidrokuinon banyak digunakan pada produk kosmetik, karena sifatnya sebagai antioksidan, berperan dalam proses penghambatan melanogenesis sehingga mengurangi warna gelap pada kulit (Charismawati et al., 2021).

2.2 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 (Kemenkes RI, 2020).

Menurut Agustina et al, (2019), berdasarkan cara penggunaannya produk pemutih kulit dibedakan menjadi 2 yaitu :

a. *Skin Bleaching*

   Skin Bleaching adalah sediaan pemutih yang mengandung bahan aktif yang kuat, berfungsi memudarkan noda-noda hitam, tidak digunakan secara merata pada kulit dan tidak digunakan pada siang hari.

b. *Skin lightening*

   Skin lightening adalah produk perawatan kulit yang digunakan agar kulit pemakai tampak lebih putih, cerah dan bercahaya. Produk lightening dapat digunakan secara merata pada seluruh permukaan kulit.

2.2.1 Penggolongan Krim

Krim 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 pemakaian kosmetika dan estetika.

Ada dua tipe krim, yaitu:

1. Tipe A/M, yaitu air terdispersi dalam minyak misalnya *cold cream. Cold cream* adalah sediaan kosmetika yang digunakan untuk maksud memberikan rasa dingin dan nyaman pada kulit, sebagai krim pembersih, berwarna putih dan bebas dari butiran. *Cold cream* mengandung mineral oil dalam jumLah besar. Krim tipe A/M. dapat dicuci dengan air dan ditujukan untuk penggunaan kosmetika dan estetika (Juwita et al., 2013).

2. Tipe M/A, yaitu minyak terdispersi dalam air misalnya *vanishing cream. Vanishing cream* adalah sediaan kosmetika yang digunakan untuk maksud membersihkan, melembabkan dan sebagai alas bedak. *Vanishing cream* sebagai pelembab (*moisturizing*) meninggalkan lapisan berminyak/film pada kulit (Warnida et al., 2019).

2.2.2 Krim Malam

Krim malam merupakan produk kosmetik yang dirancang untuk diaplikasikan pada malam hari guna mendukung proses regenerasi kulit saat tidur. Fungsi utamanya meliputi melembapkan, mencerahkan, memperbaiki tekstur kulit, serta mengurangi tanda-tanda penuaan seperti garis halus dan hiperpigmentasi. Menurut Musiam et al, (2019), krim yang mengandung bahan pemutih biasanya digunakan pada malam hari sebagai krim malam berkaitan dengan proses regenerasi sel kulit yang terjadi pada malam hari. Efektivitas krim malam bergantung pada kandungan bahan aktif yang bekerja selama fase istirahat kulit. Krim malam umumnya mengandung bahan aktif dan bahan tambahan. Bahan aktif berperan dalam memberikan efek terapeutik atau kosmetik, sementara bahan tambahan berfungsi sebagai pelarut, pengemulsi, atau pengawet. Krim malam diformulasikan dengan berbagai bahan aktif yang berfungsi untuk merawat dan memperbaiki kondisi kulit. Beberapa bahan aktif yang umum digunakan meliputi Niacinamide (Vitamin B3), retinol (Vitamin A), Vitamin C, *kojic acid*, kolagen, serta bahan aktif alami dari ekstrak tumbuhan. Pengembangan kosmetik yang berasal dari bahan alam sebagai pemutih wajah difokuskan terhadap aktivitas menghambat enzim tirosinase yang bekerja menghambat melanin. Bahan alam tersebut dapat berupa senyawa yang berasal dari tanaman dan memiliki keuntungan karena efek samping yang ditimbulkan relatif lebih kecil apabila dibandingkan dari bahan kimia (Juwita et al., 2011).

Keamanan penggunaan krim malam sangat penting untuk mencegah efek samping seperti iritasi atau kerusakan kulit. Berdasarkan siaran pers resmi Badan Pengawas Obat dan Makanan dan menurut Peraturan Kepala Badan pengawas Obat dan Makanan RI Nomor 18 Tahun 2015 Tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika, terdapat bahan berbahaya yang ditambahkan ke dalam kosmetika yang dapat menimbulkan berbagai resiko antara lain:

1. Merkuri, digunakan sebagai pemutih/pencerah kulit yang bersifat karsinogenik (menyebabkan kanker) dan teratogenik (mengakibatkan cacat pada janin).

2. Asam retinoat, digunakan sebagai pelupas kulit alami (*peeling)* yang bersifat teratogenik.
3. Hidrokuinon, disalahgunakan sebagai bahan pemutih/pencerah kulit, selain menyebabkan iritasi kulit, juga dapat menimbulkan *ochronosis* (kulit berwarna kehitaman) yang mulai terlihat setelah 6 bulan penggunaan dan kemungkinan bersifat *irreversible* (tidak dapat dipulihkan).

2.3 Pengamatan Fisik

Pengamatan fisik merupakan suatu metode yang digunakan untuk menguji kualitas suatu bahan atau produk menggunakan panca indra manusia. Jadi dalam hal ini aspek yang diuji dapat berupa warna, bau, dan tekstur. Pengamatan fisik merupakan salah satu komponen yang sangat penting dalam menganalisis kualitas dan mutu produk (Arziyah et al., 2022). Pengamatan fisik dalam konteks krim malam atau produk kosmetik lainnya merujuk pada pengujian atau evaluasi sifat fisik dari produk tersebut. Pada krim malam, pengamatan fisik bertujuan untuk menilai kualitas dan konsistensi produk yang akan memengaruhi kenyamanan dan efektivitas penggunaannya.

2.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

2.4.1 Definisi Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan fisiko kimia berdasarkan prinsip partisi dan adsorbsi antara fase diam dan fase gerak (Romsiah & Utami, 2019). Kromatografi lapis tipis termasuk jenis kromatografi planar, dasarnya dalam KLT adalah larutan sampel diaplikasikan ke dalam plat, dan plat dikembangkan dengan memasukkannya ke dalam bejana tertutup dan bagian dasar dari bejana diisi dengan fase geraknya (eluen) yang terdiri dari campuran dari beberapa pelarut. Setelah pengembangan, pelat di angkat dari bejana dan ditandai untuk dihitung nilai Rf-nya (jarak pita yang terpisah dan jarak eluennya). Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode untuk mengetahui ada tidaknya hidrokuinon pada sampel krim pemutih wajah yang dianalisis dengan melihat dua fase yaitu fase diam dan fase gerak (Pisacha *et al*., 2023).

Kromatografi lapis tipis memiliki kelebihan yaitu pelaksanaanya lebih mudah dan lebih murah, serta peralatan yang digunakan lebih sederhana. Selain itu, metode KLT memberikan fleksibilitas yang lebih besar dalam hal pemilihan fase gerak, mempunyai berbagai macam teknik untuk optimasi pemisahan, proses kromatografi dapat diikuti dengan mudah, dan semua komponen dalam sampel dapat dideteksi karena metode ini memungkinkan terjadinya pemisahan sampel secara serentak (Wulandari et al., 2013).

Klasifikasi kromatografi berdasarkan caranya dibagi menjadi 2:

1. Kromatografi Kolom

   Pemisahaan kromatografi kolom menggunakan alat yaitu kaca, kemudian diinjeksikan dengan fase diam sehingga pada prinsipnya sama dengan kolom yang dilalui fase gerak (Salamah & Guntarti, 2023).

2. Kromatografi Planar

   Kromatografi planar adalah jenis kromatografi yang menggunakan geometri fase stasioner berupa lembaran dua dimensi yang tipis. Senyawa yang berbeda dalam campuran sampel menempuh jarak yang berbeda tergantung pada kekuatan interaksinya dengan fase diam dibandingkan dengan fase bergerak. Kromatografi planar memiliki dua bentuk, yaitu :

   a. Kromatografi kertas.
   b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Saida, 2021).

2.4.2 Prinsip Kromatografi Lapis Tipis

Prinsip Kromatografi Lapis Tipis yaitu pemisahan senyawa multi komponen dengan menggunakan dua fase yaitu fase diam dan fase gerak (Oktaviantari et al., 2019). Pemisahan senyawa-senyawa dalam kromatografi dipengaruhi oleh kelarutan senyawa dalam pelarut, tergantung pada besar interaksi antara molekul-molekul senyawa dengan pelarut serta bagaimana senyawa melekat pada fasa diam yang tergantung pada interaksi dengan fasa diam. Dalam proses analisis spot atau pemisahan zat, *chamber* yang berisi eluen dijenuhkan dan ditutup dengan tujuan agar pelarut yang digunakan tidak menguap, karena hal itu nantinya dapat mempengaruhi proses pemisahan.

2.4.3 Komponen Kromatografi Lapis Tipis

2.4.3.1 Fase diam

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 µm. Semakin kecil ukuran rata-rata partikel pase diam akan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam efisiensitas dan resolusinya. Fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF 254 Silika gel yang memiliki gugus hidroksil yang dapat membentuk ikatan sehingga dapat menyerap dan mengikat sampel di permukaan. Silika gel GF 254 merupakan plat yang dapat menghasilkan fluorosensi pada panjang gelombang 254 nm karena adanya gugus kromofor pada noda. Gugus kromofor adalah gugus yang dapat menghasilkan warna. Pada panjang gelombang 254 nm, gugus kromofor akan menunjukkan noda yang berwarna gelap, sedangkan pada panjang gelombang 366 nm gugus kromofor akan menghasilkan bercak yang berfluoresensi atau memancarkan Cahaya (Fikamilia, 2020).

2.4.3.2 Fase gerak

Fase gerak merupakan medium angkut dan terdiri dari satu atau beberapa pelarut.. Fase gerak atau elusi biasanya terdiri atas campuran-campuran pelarut yang daya larutnya baik mendorong elusi dan pemisahan. Daya elusi dan resolusi ini ditentukan oleh total polaritas pelarut, polaritas fase diam, dan karakteristik komponen sampel (Pratiwi et al., 2023).

Menurut Wulandari, (2011) fungsi eluen dalam KLT sebagai berikut:

1. Untuk melarutkan campuran zat.
2. Untuk mengangkat atau membawa komponen yang akan dipisahkan melewati sorben fase diam sehingga noda memiliki Rf dalam rentang yang dipersyaratkan yaitu 0,2-0,8.
3. Untuk memberikan selektivitas yang memadai untuk campuran senyawa yang akan dipisahkan.

Eluen juga harus memenuhi persyaratan sebagai berikut:

1. Memiliki kemurnian yang cukup
2. Stabil
3. Memiliki viskositas rendah
4. Memiliki partisi isotermal yang linier
5. Tekanan uap yang tidak terlalu rendah atau tidak terlalu tinggi
6. Toksisitas serendah mungkin (Wulandari, 2011)

Fase gerak yang digunakan dapat berupa pelarut murni atau campuran dua pelarut yang bersesuaian dengan perbandingan tertentu. Perbandingan atau rasio campuran pelarut atau fase gerak, merujuk pada proporsi relatif dari berbagai komponen eluen yang digunakan dalam Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pengaruh perbandingan eluen ini sangat signifikan dalam proses pemisahan dan analisis. Komposisi eluen merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan peroses pemisahan dalam metode KLT (Lintang et al., 2024).

2.4.3.3 Deteksi bercak noda

Deteksi bercak noda dalam Kromatografi Lapis Tipis (KLT) melibatkan pengamatan noda yang terbentuk pada lempeng KLT setelah proses elusi. Noda ini dapat diamati secara visual dan di bawah sinar UV. Pengamatan di bawah sinar UV, khususnya pada panjang gelombang 254 nm membantu mengidentifikasi senyawa yang berfluoresensi.

Penampak bercak pada KLT adalah zat atau metode yang digunakan untuk membuat bercak-bercak yang dihasilkan dari pemisahan senyawa menjadi terlihat jelas karena sebagian besar senyawa yang dipisahkan dalam KLT tidak memiliki warna yang jelas atau tidak menyerap cahaya UV, sehingga tidak terlihat tanpa bantuan penampak. Parameter yang digunakan sebagai dasar untuk analisis menggunakan KLT adalah nilai Rf, apabila nilai Rf sampel sama dengan nilai Rf baku, berarti sampel tersebut mengandung senyawa hidrokuinon (Ariansyah et al, 2022). Menurut Peraturan Kepala BPOM Tahun 2011 tentang Metode Analisis Kosmetika, deteksi bercak dapat dilakukan dengan dua jenis larutan penampak, yaitu

larutan kompleks perak-amonia dan larutan asam fosfomolibdat dalam etanol.

2.5 Metode Identifikasi Hidrokuinon secara KLT Menurut Perka BPOM

Berdasarkan Peraturan Kepala BPOM Nomor HK.03.1.23.08.11.07331 Tahun 2011 tentang Metode Analisis Kosmetika, metode analisis ini mencakup prosedur identifikasi dan penetapan kadar hidrokuinon dalam produk kosmetika, dengan tujuan mendeteksi keberadaan zat aktif tersebut secara kualitatif dan kuantitatif. Identifikasi hidrokuinon secara kualitatif dilakukan menggunakan teknik kromatografi lapis tipis (KLT), yang bekerja berdasarkan perbedaan migrasi senyawa pada fase diam (silika gel) terhadap fase gerak (pelarut organik). Bercak yang terbentuk dibandingkan berdasarkan nilai faktor retensi (Rf) dan respons warna setelah penyemprotan dengan reagen penampak.

Metodologi Analisis Hidrokuinon dalam Kosmetika Menggunakan KLT sesuai Perka BPOM Tahun 2011 sebagai berikut :

1. Baku pembanding

   Hidrokuinon baku pembanding (BP) digunakan sebagai acuan untuk menentukan keberadaan hidrokuinon dalam sampel uji. Larutan baku disiapkan secara presisi untuk menjamin keakuratan identifikasi, dengan pelarut etanol 96% sebagai media pelarut.
2. Pereaksi

   Seluruh pereaksi yang digunakan harus berkualitas pro analisis untuk menjamin validitas hasil. Pereaksi utama meliputi amonia 25%, asam asetat glasial, asam fosfomolibdat, aseton, etanol mutlak, etanol 96%, n-heksan, perak nitrat, dan toluena. Sistem pelarut pengembang yang digunakan terdiri dari dua kombinasi:

   sistem A (n-heksan:aseton 3:2)

   sistem B (toluena:asam asetat glasial 8:2).

   Deteksi bercak dilakukan dengan dua jenis larutan penampak, yaitu larutan kompleks perak-amonia dan larutan asam fosfomolibdat dalam etanol.

3. Peralatan

   Peralatan yang digunakan mencakup alat laboratorium dasar, lempeng KLT silika gel GF254 ukuran 20 × 20 cm, lampu UV 254 nm untuk visualisasi bercak, serta tangas ultrasonik untuk membantu ekstraksi sampel. Lempeng KLT yang digunakan harus memiliki ketebalan merata (0,25 mm) untuk menghasilkan pemisahan yang konsisten.

4. Prosedur Analisis

   Prosedur dimulai dengan penyiapan larutan baku hidrokuinon yang dilarutkan dalam etanol 96% v/v. Sampel uji disiapkan dengan mengekstraksi produk kosmetik menggunakan etanol dan diproses melalui pemanasan ultrasonik serta pendinginan dalam tangas es untuk menghilangkan lemak. Larutan uji juga dapat dicampurkan dengan larutan baku (*spiked sample*) sebagai kontrol positif. Lempeng KLT diaktifkan, lalu dilakukan penotolan larutan baku, uji, dan *spiked sample* secara sejajar. Pengembangan dilakukan dalam ruang gelap hingga pelarut mencapai 15 cm. Setelah pengeringan, visualisasi dilakukan di bawah sinar UV 254 nm, dan bercak ditandai serta disemprot dengan larutan penampak dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit.

5. Identifikasi

   Identifikasi hidrokuinon didasarkan pada kesesuaian nilai Rf dan warna bercak antara larutan uji dengan larutan baku. Selain itu, kesesuaian warna bercak di bawah UV dan setelah reaksi dengan larutan penampak juga menjadi indikator identifikasi. Untuk konfirmasi lanjutan, analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dapat dilakukan.

6. Nilai Rf

   Dalam metode ini, nilai Rf hidrokuinon diperkirakan berkisar 0,5 untuk sistem A (n-heksan:aseton) dan antara 0,2–0,3 untuk sistem B (toluena:asam asetat glasial). Nilai ini digunakan sebagai acuan pembanding untuk memastikan keberadaan hidrokuinon dalam sampel (BPOM, 2011).