

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hidrokuinon merupakan zat aktif yang paling banyak digunakan dalam sediaan pemutih wajah. Hal ini dikarenakan efektivitas kerja dari hidrokuinon yaitu dapat menginaktivasi enzim tirosinase melalui penghambatan reaksi oksidasi enzimatik dari tirosin ke 3,4-dihidroksifenilamin. Enzim tirosinase ini merupakan enzim utama dalam pembentukan melanin, sehingga jika kerjanya dihambat maka jumlah pigmen melanin pemberi warna kulit menjadi berkurang dan kulit menjadi lebih putih (Wilkinson, 1982).

Peraturan BPOM dalam surat *Public Warning*/Peringatan Nomor KH.00.01.43.250-3 tanggal 11 Juni 2009 tentang kosmetik mengandung bahan berbahaya/bahan dilarang termasuk hidrokuinon, dimana penggunaan bahan tersebut dalam sediaan kosmetik dapat membahayakan kesehatan dan dilarang digunakan. Hidrokuinon termasuk golongan obat keras yang hanya dapat digunakan berdasarkan resep dokter. Bahaya pemakaian obat keras ini tanpa pengawasan dokter dapat menyebabkan iritasi kulit, kulit menjadi merah dan rasa terbakar juga dapat menyebabkan kelainan pada ginjal, kanker darah dan kanker sel hati (Ditjen POM RI, 2009).

Penetapan kadar hidrokuinon dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya yaitu Titrasi Redoks, Spektrofotometri UV-Vis, Kolorimetri, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dan Miselar Elektro Kromatografi (Slamet, 2004).

Carissa (2015) melakukan penelitian tentang analisis dan validasi metode penetapan kadar hidrokuinon pada sediaan krim. Analisis kualitatif hidrokuinon dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis dengan fase diam silica gel F254 dan 3 fase gerak yang berbeda. Analisis kuantitatif menggunakan Spektrofotometri Visibel pada panjang gelombang 550 nm. Hasil uji linieritas memenuhi syarat dengan nilai koefisien korelasi 0,9993, %RSD didapat kurang dari 2%. Metode ini memenuhi persyaratan validasi metode analisis hidrokuinon tetapi pada penelitian ini tidak dilakukan uji akurasi.

Reza (2015) melakukan penelitian tentang validasi metode penetapan kadar hidrokuinon dalam liposom menggunakan Spektrofotometri UV dengan panjang gelombang 293 nm. Komposisi liposom yang digunakan terdiri dari fosfolipid 7,8%, alfa tokoferol 0,17% dan hidrokuinon 0,5%. Hasil koefisien korelasi yang didapat adalah 0,9998, standar deviasi yang didapat kurang dari 2%. Metode yang digunakan tepat, akurat dan spesifik serta dapat digunakan untuk analisis hidrokuinon dalam liposom.

Hadrack (2013) melakukan penelitian tentang penetapan kadar hidrokuinon dalam sediaan lotion dan krim menggunakan Spektrofotometri Visibel pada panjang gelombang 302 nm. Nilai koefisien korelasi (r) = 0,985. Penelitian ini menunjukkan bahwa hidrokuinon dapat ditetapkan kadarnya menggunakan Spektrofotometri Visibel akan tetapi penelitian ini tidak melakukan uji presisi dan uji sensitivitas.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka akan dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penetapan kadar hidrokuinon dengan metode Spektrofotometri

Visibel pada sediaan krim pemutih dan melakukan validasi metode tersebut meliputi presisi, akurasi, linieritas, dan sensitivitas (LOD dan LOQ).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan di atas, maka masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Apakah validasi metode penetapan kadar hidrokuinon menggunakan Spektrofotometri Visibel dapat dilakukan?
2. Apakah validasi metode penetapan kadar hidrokuinon menggunakan Spektrofotometri Visibel memenuhi syarat?
3. Apakah metode yang sudah divalidasi tersebut dapat diaplikasikan dalam sediaan krim?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Melakukan penetapan kadar hidrokuinon menggunakan Spektrofotometri Visibel.
2. Melakukan validasi terhadap metode penetapan kadar hidrokuinon menggunakan Spektrofotometri Visibel dengan parameter validasi meliputi presisi, akurasi, linieritas dan sensitivitas.
3. Mengaplikasikan metode yang telah divalidasi pada sediaan krim.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan metode penetapan kadar hidrokuinon menggunakan Spektrofotometri Visibel yang tervalidasi dan dapat diaplikasikan dalam sediaan krim sehingga dapat diperoleh suatu metode yang dapat digunakan sebagai acuan untuk analisis hidrokuinon dalam sediaan krim.

E. Tinjauan Pustaka

1. Hidrokuinon

Hidrokuinon merupakan senyawa organik jenis fenol yang memiliki rumus kimia $C_6H_4(OH)_2$ hasil reaksi kuinon yang mengandung 2 gugus hidroksil digunakan secara topikal untuk memulihkan hiperpigmentasi kulit (Dorland, 2002).

Hidrokuinon berbentuk jarum halus, putih, mudah menjadi gelap dengan adanya paparan cahaya dan udara. Hidrokuinon mudah larut dalam air, alkohol dan eter. Stabilitas hidrokuinon yaitu stabil pada tekanan dan suhu normal serta sensitif terhadap cahaya dan udara. Hidrokuinon membentuk warna hijau dengan penambahan Ferri Klorida dan membentuk warna merah dengan penambahan Reagen Benedict (FI edisi IV, 1995).



Gambar 1. Struktur Kimia Hidrokuinon (Depkes, 1995)

Hidrokuinon merupakan zat aktif yang paling banyak digunakan dalam sediaan krim pemutih wajah. Hal ini dikarenakan efektivitas kerja hidrokuinon yang mampu menginaktivasi enzim tironase melalui penghambatan reaksi oksidasi enzimatik dari tirosin ke 3,4-dihidroksifenilamin. Enzim tirosinase ini merupakan enzim utama dalam pembentukan melanin sehingga apabila kerjanya dihambat maka jumlah pigmen melanin pemberi warna kulit menjadi berkurang dan kulit menjadi lebih cerah (Wilkison, 1982).

Persyaratan kadar yaitu sediaan hidrokuinon mengandung hidrokuinon tidak kurang dari 94,0% dan tidak lebih dari 106,0% $C_6H_6O_2$ dari yang tertera pada etiket (Depkes, 2014).

2. Sediaan 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. Sekarang ini batasan tersebut lebih diarahkan untuk produk yang terdiri dari emulsi minyak dalam air atau dispersi mikrokristal 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 (FI edisi IV, 1995).

a. Penggolongan Krim

Krim terdiri dari emulsi minyak dalam air sehingga dapat dicuci dengan air serta lebih ditujukan untuk pemakaian kosmetik dan estetika. Krim digolongkan menjadi dua tipe, yakni:

- 1) Tipe a/m, yakni air terdispersi dalam minyak. Contohnya *cold cream*. *Cold cream* adalah sediaan kosmetika yang digunakan untuk memberi rasa dingin dan nyaman pada kulit.
- 2) Tipe m/a, yakni minyak terdispersi dalam air. Contohnya *vanishing cream*. *Vanishing cream* adalah sediaan kosmetik yang digunakan untuk membersihkan, melembabkan dan sebagai alas bedak (Widodo, 2003). Krim merupakan sistem emulsi sediaan semipadat dengan penampilan tidak jernih, berbeda dengan salep yang tembus cahaya. Konsistensi dan sifatnya tergantung pada jenis emulsinya, apakah jenis air dalam minyak atau minyak dalam air (Lachman, 1994).

b. Krim Pemutih

Pemutih kulit merupakan suatu bahan yang digunakan untuk mencerahkan atau merubah warna kulit yang tidak diinginkan (Rieger, 2000).

Beberapa krim pemutih mengandung pigmen putih untuk menutupi kulit dan para konsumen merasa kulitnya menjadi lebih putih, namun sebenarnya kulit mereka hanya terlihat lebih putih saja akibat efek pelapisan pigmen putih pada lapisan terluar kulit dan tidak ada

pengurangan pada kadar pigmen kulit yang sebenarnya. Krim pemutih yang mengandung bahan yang dapat mengganggu produksi pigmen merupakan krim yang dianggap paling efektif (Scott *et al.*, 1985).

3. Spektrofotometri

Spektrofotometri serapan merupakan pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Teknik yang sering digunakan dalam analisis farmasi meliputi spektroskopi serapan ultraviolet, cahaya tampak, inframerah dan serapan atom (Prita, 2011).

Jangkauan panjang gelombang yang tersedia untuk pengukuran terbentang dari panjang gelombang pendek ultraviolet sampai ke inframerah. Untuk kemudahan pengacuan, daerah spektrum ini pada garis besarnya dibagi dalam daerah ultraviolet 190 nm hingga 380 nm dan daerah visibel 380 nm hingga 700 nm (Prita, 2011).

Prinsip analisis spektrofotometri adalah interaksi antara energi radiasi dengan suatu materi pada berbagai spektra. Spektra dari suatu atom berbeda dari atom-atom lainnya. Sedangkan untuk molekul, spektra yang dihasilkan lebih kompleks. Hal ini dapat dijelaskan karena suatu molekul mempunyai suatu tingkatan energi yang bermacam-macam yaitu energi rotasional, vibrasional dan energi elektronik sehingga sangat berpengaruh dalam pembentukan spektranya.

Pengukuran intensitas sebagai hasil interaksi tersebut dapat dijadikan dasar untuk analisis kualitatif maupun analisis kuantitatif. Dengan demikian,

spektroskopi dapat menganalisa suatu zat-zat tertentu dan sekaligus menentukan kadarnya berdasarkan intensitas serapannya (Prita, 2011).

Menurut Hukum Lambert, serapan berbanding lurus terhadap ketebalan sel yang disinari. Pada Hukum Beer, yang hanya berlaku untuk cahaya monokromatik dan larutan yang sangat encer, serapan berbanding lurus dengan konsentrasi. Kedua pernyataan ini dapat dijadikan satu dalam Hukum Lambert-Beer sehingga diperoleh bahwa serapan berbanding lurus terhadap konsentrasi dan ketebalan sel, yang dapat ditulis dalam persamaan :

$$A = \epsilon.b.c$$

Keterangan :

A : absorbansi

ϵ : absorptivitas molar

b : tebal kuvet (cm)

c : konsentrasi (M)

Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam analisis dengan spektrofotometri visibel antara lain :

a. Pemilihan panjang gelombang

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimum. Untuk memilih panjang gelombang maksimum dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu.

b. Waktu operasional (*operating time*)

Cara ini biasanya digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan.

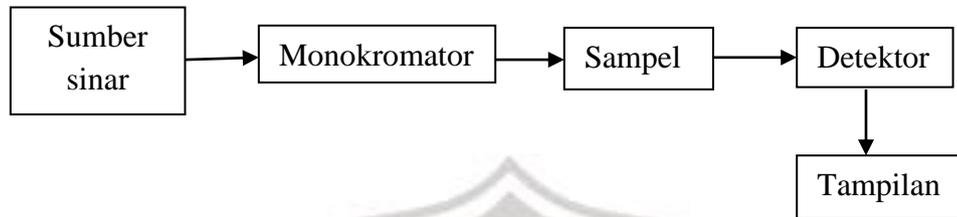
c. Pembuatan kurva baku

Pembuatan kurva baku berasal dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi (y) dengan konsentrasi (x). Bila hukum Lambert-Beer terpenuhi maka kurva baku berupa garis lurus. Kemiringan atau *slope* adalah α (absorptivitas) atau (absorptivitas molar). Penyimpangan garis lurus pada kurva baku biasanya dapat disebabkan oleh kekuatan ion yang tinggi, perubahan suhu dan reaksi yang terjadi.

d. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,8 atau 20% sampai 80% jika dibaca sebagai transmitans. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa kesalahan dalam pembacaan adalah 0,005 atau 0,5% (kesalahan fotometrik).

Unsur-unsur penting suatu spektrofotometer ditunjukkan secara skematik dalam gambar berikut :



Gambar 2. Skema Alat Spektrofotometer (Rohman, 2009)

Berikut adalah uraian bagian-bagian spektrofotometer :

1. Sumber Lampu

Lampu deuterium digunakan untuk daerah UV pada panjang gelombang 190-350 nm sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visible (panjang gelombang antara 350-900 nm).

2. Monokromator

Monokromator digunakan untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis. Alatnya dapat berupa prisma ataupun grating. Untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diinginkan dari hasil penguraian.

3. Detektor

Peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang.

4. Validasi Metode

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004).

Parameter validasi metode analisis meliputi :

a. Ketelitian (presisi)

Ketelitian adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita, 2004).

Uji ketelitian atau presisi dilakukan dengan menentukan parameter RSD (*Relative Standard Deviasi*). Suatu metode dikatakan mempunyai presisi yang baik apabila nilai RSD lebih kecil dari 2% (<2%).

b. Ketepatan (akurasi)

Ketepatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Kecermatan hasil analisis sangat tergantung kepada sebaran galat sistematis di dalam keseluruhan tahapan analisis. Oleh karena itu untuk mencapai kecermatan yang tinggi hanya dapat dilakukan dengan cara mengurangi galat sistematis tersebut seperti menggunakan peralatan

yang telah dikalibrasi, menggunakan pereaksi dan pelarut yang baik, pengontrolan suhu, dan pelaksanaannya yang cermat, taat asas sesuai prosedur (Harmita, 2004).

Nilai akurasi adalah kurang lebih 98-102%. Jika nilai akurasi diluar kisaran, maka analisis harus diinvestigasi (Gandjar dan Rohman, 2012).

c. **Selektivitas**

Selektivitas suatu metode analisis adalah kemampuan yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Selektivitas seringkali dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (*degree of bias*) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan (Harmita, 2004).

Penentuan spesifitas metode dapat diperoleh dengan 2 jalan. Yang pertama (dan yang paling diharapkan), adalah dengan melakukan optimasi sehingga diperoleh senyawa yang dituju terpisah secara sempurna dari senyawa-senyawa lain (resolusi senyawa yang dituju ≥ 2). Cara kedua untuk memperoleh spesifitas adalah dengan menggunakan detektor selektif, terutama untuk senyawa-senyawa yang terelusi secara bersama-sama (Gandjar dan Rohman, 2007).

d. Linieritas

Linieritas suatu metode analisis adalah kemampuan untuk menunjukkan bahwa nilai hasil uji langsung atau setelah diolah secara matematika, proporsional dengan konsentrasi analit dalam sampel dalam batas rentang konsentrasi tertentu. Rentang suatu metode analisis adalah interval antara batas konsentrasi tertinggi dan konsentrasi terendah analit masih menggunakan ketelitian, ketepatan dan linieritas (Gandjar dan Rohman, 2007).

e. Sensitivitas (LOD/LOQ) atau batas deteksi

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Pendekatan yang paling umum adalah menetapkan jumlah sampel yang dapat memberikan perbandingan sinyal terhadap gangguan (S/N) 2:1 atau 3:1, dan yang sering digunakan adalah 3:1 (Lister, 2005).

Batas kuantifikasi merupakan kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004). Batas kuantifikasi sering digunakan sebagai batas bawah untuk pengukuran nilai kuantitatif yang tepat. Batas kuantifikasi seringkali didasarkan pada nilai *signal to noise* (S/N) = 10 (Snyder dkk, 1997). Nilai LOD diperoleh dari persamaan $Y = Y_B + 3 SB$. Nilai LOQ diperoleh dari persamaan $Y = Y_B + 10 SB$. Semakin kecil nilai LOD dan LOQ maka semakin peka pula suatu metode.

F. Landasan Teori

Hidrokuinon merupakan senyawa yang memiliki gugus fungsi OH, selain itu hidrokuinon juga memiliki gugus kromofor sehingga dapat ditentukan kadarnya menggunakan Spektrofotometri Visibel (Harmita, 2006).

Penelitian tentang penetapan kadar hidrokuinon dalam sediaan krim pemutih yang telah dilakukan oleh Carissa tahun 2015 dengan menggunakan metode Spektrofotometri Visibel pada panjang gelombang 550 nm didapatkan hasil persen perolehan kembali berturut-turut adalah 104,73%; 98,87% dan 99,87%. Hasil tersebut memenuhi persyaratan validasi metode analisis.

Penelitian lain telah dilakukan oleh Reza (2015) tentang validasi metode penetapan kadar hidrokuinon menggunakan Spektrofotometri UV pada panjang gelombang 293 nm pada liposom yang mengandung hidrokuinon 0,5%. Hasil validasi metode didapatkan harga $r = 0,9998$ dan %RSD kurang dari 2%. Nilai LOD yang didapat 0,24 $\mu\text{g/ml}$ dan nilai LOQ 0,72 $\mu\text{g/ml}$. Penelitian ini menghasilkan metode yang akurat, tepat dan linier.

Hadrack (2013) telah melakukan penelitian tentang metode penetapan kadar hidrokuinon dalam sediaan lotion dan krim menggunakan Spektrofotometri Visibel pada panjang gelombang 302 nm dengan pelarut asam sulfat 0,05 M. Dari persamaan regresi linier didapat nilai koefisien korelasi (r) = 0,985. Hasil ini menunjukkan bahwa metode analisis hidrokuinon dalam lotion dan krim secara Spektrofotometri Visibel dapat dilakukan dan menghasilkan metode yang sederhana.

Berdasarkan pertimbangan-pertimbangan diatas, maka akan dilakukan validasi penetapan kadar hidrokuinon dalam sediaan krim pemutih menggunakan Spektrofotometri Visibel pada panjang gelombang 400-800 nm. Parameter validasi meliputi presisi, akurasi, linieritas dan sensitivitas serta aplikasinya dalam sediaan krim pemutih. Berdasarkan hasil penelitian ini diharapkan memperoleh metode Spektrofotometri Visibel untuk penetapan kadar hidrokuinon yang tervalidasi dan selanjutnya dapat diaplikasikan dalam sediaan.

G. Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka dan landasan teori, maka dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

1. Validasi metode penetapan kadar hidrokuinon dalam sediaan krim pemutih dapat dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometri Visibel.
2. Metode penetapan kadar hidrokuinon tersebut memenuhi syarat validasi dengan parameter validasi meliputi presisi, akurasi, linieritas dan sensitivitas.
3. Metode validasi penetapan kadar hidrokuinon dapat diaplikasikan dalam sediaan krim.