Pengembangan Metode Preparasi Sampel Hidrokuinon dalam Sampel Krim Pemutih dengan Metode Ekstraksi Fasa Padat Kombinasi Spektrofotometer UV-Vis

Eviomitta Rizki Amanda*, Ericka Melati Adhitama, Lilik Nurfadlilah, Yani Ambari

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Rumah Sakit Anwar Medika

Abstrak

Metode preparasi sampel berbasis ekstraksi fasa padat kombinasi spektrofotometer UV-Vis untuk menganalisa bahan berbahaya dalam sampel krim pemutih yang mengandung hidrokuinon telah berhasil dikembangkan. Fasa padat yang digunakan sebagai adsorben yaitu silika. Beberapa parameter yang mempengaruhi ekstraksi seperti massa silika, waktu ekstraksi, waktu desorbsi, dan pH larutan ekstraksi telah dioptimasi. Hasil validasi metode diperoleh bahwa nilai koefisien korelasi (r2) ialah 0,9947, limit deteksi ialah sebesar 0,7996 ppm, limit kuantifikasi 2,6653 ppm, persen *recovery* (%R) dalam rentang 90%-105,80%, persen koefisien variasi (%KV) dalam rentang 0,0143%-0,0288%. Pada analisis 3 sampel krim pemutih wajah diperoleh nilai konsentrasi hidrokuinon sebesar 96,788 ppm, 96,191 ppm, dan 90,135 ppm dengan nilai %R menggunakan standar adisi diperoleh sebesar 94,7%-110,95%.

Kata kunci: Ekstraksi fasa padat, Hidrokuinon, Krim pemutih wajah, Silika, Spektrofotometer UV-Vis

The development of sample preparation method based on silica dispersive solid phase extraction for clean-up and preconcentration of hydroquinone in whitening cream

Abstract

Cosmetic abuses are common problems in Indonesia during the increasing interest of cosmetics. One of them is the addition of hydroquinone in whitening creams which can trigger negative effects. However, the determination of hydroquinone in whitening creams are very challenging because creams are complex matrices. Therefore, an appropriate sample preparation method to extract, clean-up, and preconcentrate the hydroquinone from whitening cream is needed. The extraction process was carried out by dispersing silicas in a sample solution which contained standard hydroquinone as model target analyte, then stirred using a hot plate stirrer. At the end of the extraction process, silicas were collected and desorbed using ethanol with the aid of vortex. The desorption solution was then analyzed by spectrophotometer UV-Vis at a wavelength of 294 nm. Several important parameters such as silica mass, extraction time, desorption time and pH of sample solution were optimized. The optimum extraction conditions were applied to analysis hydroquinone in real samples. The results obtained that the correlation coefficient (r^2) was 0.9947, the detection limit was 0.7996 ppm, the quantification limit was 2.6653 ppm, the percent recovery (% R) was in the range of 90-105.80%, the coefficient of variation (% KV) in the range of 0.0143% - 0.0288%. The determination of hydroquinone in three whitening creams showed concentration 96.788 ppm, 96.191 ppm, and 90.135 ppm with the value of %R using standard addition obtained from 94.7% - 110.95%, respectively. Silica dispersive solid phase extraction for clean-up and preconcentration of hydroquinone in whitening creams were successfully developed.

Keywords: Dispersive solid phase extraction, Hydroquinone, Silica, Spectrophotometer UV-Vis, Whitening cream

Pendahuluan

Perkembangan kosmetik di Indonesia dari tahun ke tahun semakin meningkat. Salah satu bahan pemutih kulit berbahaya dan masih banyak digunakan oleh masyarakat adalah hidrokuinon (Carrisa, 2015). Hidrokuinon merupakan senyawa aktif yang sering ditambahkan dalam krim pemutih karena mampu mencegah terjadinya pigmentasi dengan cara menghambat enzim tirosinase yang berperan dalam penggelapan kulit (Azmalina, 2018). Pengawasan Menurut peraturan Kepala Badan Obat dan Makanan KH.03.1.23.08.11.07517 tahun 2011 tentang Persyaratan Teknis Bahan, hidrokuinon telah dilarang untuk digunakan sebagai bahan pemutih dalam kosmetik. Salah satu upaya pemerintah Indonesia untuk meminimalisir adanya produk-produk kosmetik berbahaya yang beredar di masyarakat yaitu dengan melakukan analisis kandungan hidrokuinon pada kosmetik di laboratorium.

Metode ekstraksi fasa padat merupakan teknik pemisahan dengan menggunakan bantuan adsorben untuk menarik analit. Adsorben yang digunakan dapat berupa silika atau karbon aktif. Silika sebagai adsorben memiliki sifat yang unik yang tidak dimiliki oleh senyawa anorganik lainnya yaitu inert, sifat adsorpsi dan pertukaran ion yang baik, mudah dimodifikasi dengan senyawa kimia tertentu untuk meningkatkan kinerjanya, kestabilan mekanik dan kestabilan termal tinggi, dapat digunakan untuk pemisahan analit karena proses pengikatan analit pada permukaan silika bersifat reversible, serta selektivitasnya lebih tinggi jika dibandingkan dengan karbon aktif. Ekstraksi fasa padat yang digunakan dikombinasikan dengan spektrofotometer UV-Vis. Hal ini dikarenakan analisis krim pemutih hidrokuinon dengan spektrofotometer UV-Vis yang dikombinasikan dengan metode ekstraksi fasa padat pada saat preparasi sampel akan dihasilkan pemisahan analit yang sempurna jika dibandingkan dengan analisis yang hanya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis saja. Beberapa parameter ekstraksi yakni, massa adsorben, waktu ekstraksi, waktu desorbsi, dan pH akan dioptimasi untuk mendapatkan ekstraksi yang optimum.Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode preparasi sampel hidrokuinon pada sampel ksa padat yang dikombinasikan dengan spektrofotometer UV-Vis.

Metode

Bahan. Bahan-bahan penelitian ini adalah baku tiga sampel krim pemutih wajah tanpa izin BPOM yang beredar di pasaran, standar hidrokuinon (sigma), etanol 100%, silica, , FeCl3, kloroform, metanol, dan *aquadest*.

Alat. Alat-alat penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis, *hot plate*, *magnetic stirrer*, vortex, neraca, plat KLT, kaca datar ukuran 15x20 cm, dan alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum hidrokuinon dilakukan dengan cara menyiapkan larutan standar hidrokuinon dengan konsentrasi 10 ppm. Kemudian dilakukan *scanning* pada panjang gelombang 200-400 nm sehingga akan diperoleh panjang gelombang maksimum.

Pembuatan Kurva Standar Hidrokuinon Sebelum Ekstraksi

Pembuatan larutan standar hidrokuinon dibuat dengan lima konsentrasi yang berbeda yaitu 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Masing-masing larutan standar dibuat dari larutan kerja hidrokuinon 100 ppm. Larutan kerja diambil sesuai dengan perhitungan dari masing-masing variasi konsentrasi 2 mL, 4 mL, 6 mL, 8 mL, dan 10 mL. Langkah selanjutnya, masing-masing larutan diencerkan dengan etanol 100% hingga volumenya tepat 100 mL. Larutan dikocok hingga homogen, sehingga diperoleh larutan standar pada masing-masing konsentrasi sebanyak 100 mL.

Metode Aktivasi Silika

Metode aktivasi silika dilakukan dengan cara menimbang silika sebanyak 10 gram kemudian ditambahkan dengan 50 mL HCl 1 M. Aktivasi dilakukan dengan pengadukan dengan stirrer selama 1 jam pada suhu 40°C. Kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan larutan HCl dengan silika. Silika yang terdapat dalam kertas saring dicuci dengan aquades hingga pH netral.

Langkah akhir yaitu residu silika dikeringkan dengan oven pada suhu 120°C selama 3 jam.

Metode Ekstraksi Hidrokuinon Menggunakan Silika Teraktivasi

Metode ekstraksi hidrokuinon menggunakan silika teraktivasi dilakukan dengan menyiapkan larutan standar hidrokuinon menggunakan pelarut aquades dengan konsentrasi 6 ppm sebanyak 30 mL dan silika teraktivasi. Proses ekstraksi dimulai dengan melakukan pengadukan pada larutan standar menggunakan pengaduk magnetik selama 30 menit. Langkah selanjutnya pada akhir ekstraksi, dilakukan desorbsi analit dari membran silika dengan cara meletakkan silika dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan etanol 100% sebanyak 5 mL dan divortex selama 5 menit dengan kecepatan 900 rpm. Langkah berikutnya yaitu membran silika dikeluarkan dari tabung reaksi, dan analit yang telah terdesorbsi dianalisis dengan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang maksimum yang ditetapkan.

Optimasi Parameter Ekstraksi

Optimasi parameter yang dilakukan antara lain massa adsorben, waktu ekstraksi waktu desorbsi, dan ph. Pada penelitian ini dilakukan optimasi massa adsorben dengan menggunakan silika teraktivasi dengan berbagai variasi yaitu 0,1 gram, 0,2 gram, 0,3 gram, 0,4 gram, dan 0,5 gram. Optimasi waktu ekstraksi dengan variasi 5 menit, 10 menit, 15 menit, 30 menit, 45 menit dan 60 menit. Optimasi parameter waktu desorbsi dengan variasi yaitu 1 menit, 2 menit, 3 menit, 4 menit, 5 menit dan 6 menit. optimasi parameter pH dengan berbagai variasi yaitu 3, 5, 7, dan 9.Pada saat optimasi dilakukan sesuai dengan hasil optimasi yang telah dilakukan dan dipilih hasil yang optimum, dengan volume larutan pendesorbsi sebanyak 5 mL. Optimasi dilakukan sebanyak tiga kali replikasi.

Pembuatan Kurva Standar Hidrokuinon Setelah Ekstraksi

Pembuatan kurva setelah ekstraksi dilakukan dengan menggunakan larutan standar hidrokuinon pada konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Masing-masing konsentrasi dibuat dari larutan kerja 100 ppm dengan mengambil masing-masing sebanyak 2 mL, 4 mL, 6 mL, 8 mL, dan 10 mL serta ditambahkan dengan larutan sampel hingga volumenya 100 mL. Sebanyak 30 mL larutan standar diekstraksi sesuai dengan kondisi optimum yang diperoleh. Hasil analisis dibuat bentuk grafik dengan konsentrasi sebagai sumbu X dan absorbansi sebagai sumbu Y.

Uji Linearitas, Batas Deteksi (LOD), dan Batas Kuantifikasi (LOQ)

Linearitas dapat diukur dengan mengukur nilai absorbansi dari masing-masing larutan standar hidrokuinon. Hasil yang diperoleh kemudian diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (slope), intersep, dan koefisien korelasinya. Penentuan limit deteksi instrumen spektrofotometer dan metode ekstraksi fasa padat dapat dihitung secara statistik melalui garis linear yang dibentuk dari kurva standar hidrokuinon. Langkah pertama yaitu dengan menghitung standar deviasi dari signal blanko ($S_{y/x}$). Hasil $S_{y/x}$ dimasukkan dalam persamaan $Y_{LOD} = a + 3(Sy/x)$ dan didapatkan suatu konsentrasi hidrokuinon terkecil dalam sampel yang masih dapat diukur atau terdeteksi dengan baik oleh instrumen maupun metode. Sedangkan untuk menentukan limit kuantifikasi dimasukkan dalam persamaan LOQ = (10/3) LOD.

Penentuan Akurasi, Presisi dan Faktor Pemekatan

Pada penelitian ini penentuan akurasi dilakukan dengan menggunakan standar adisi. Pada metode standar adisi, dilakukan penambahan standar hidrokuinon 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm pada sampel krim pemutih wajah yang tidak teridentifikasi mengandung hidrokuinon lalu diukur serapan dan absorbansinya pada spektrofotometer UV-Vis. Sedangkan penentuan presisi dilakukan pada masing-masing konsentrasi larutan standar hidrokuinon yang kemudian dianalisis dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Hasil yang diperoleh

berupa kadar hidrokuinon yang terkandung dalam larutan stadar. *Theoritical enrichment factor* (EF_{th}) dapat ditentukan dengan nilai volume larutan sampel yang berisi larutan standar dibagi dengan volume pelarut organik setelah ekstraksi.

Analisis Kualitatif Sampe

Uji analisis kualitatif sampel dilakukan dengan menggunakan dua metode yaitu dengan uji pereaksi warna dan uji dengan KLT. diambil sebanyak 1 gram pada masing-masing sampel dan diletakkan di atas plat tetes. Kemudian tambahkan dengan 3 tetes pereaksi FeCl₃. Sampel positif mengandung hidrokuinon ditunjukkan dengan perubahan warna hijau sampai hitam. uji KLT dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 1 gram dan dilarutkan dengan etanol dalam gelas kimia 25 mL. Campuran dituang ke dalam labu ukur 10 mL, dihomogenkan dalam penangas ultrasonik selama 10 menit, dan didinginkan hingga suhu ruang. Sampel dielusi dengan fase gerak toluen : asam asetat glasial (8:2).

Aplikasi pada Sampel Krim Pemutih Wajah

Analisis hidrokuinon pada sampel krim pemutih wajah dapat dilakukan dengan cara menimbang masing-masing sampel sebanyak 1 gram dan ditambahkan 1 mL HCl 4 N aduk hingga homogen. Langkah selanjutnya ditambahkan dengan etanol 100% hingga volumenya 10 mL dan dikocok hingga homogen. Larutan sampel diambil sebanyak 30 mL dan dilakukan proses ekstraksi dan desorbsi sesuai dengan hasil yang optimum. Langkah selanjutnya, larutan yang telah diekstraksi dan didesorbsi dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis. Absorbansi larutan sampel diukur pada panjang gelombang yang telah ditetapkan.

Metode Standar Adisi

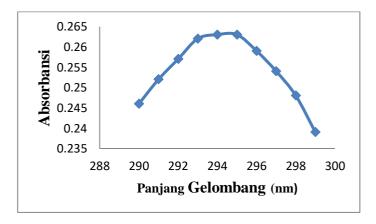
Metode standar adisi dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa dalam sampel.

Sebanyak 30 mL larutan sampel diekstraksi sesuai dengan kondisi optimum yang diperoleh berdasarkan langkah 3.7.2 dan langkah 3.7.3. Setelah proses ekstraksi, dilakukan proses desorbsi sesuai dengan kondisi optimum pada langkah 3.7.1 dan langkah 3.7.4.. Langkah selanjutnya larutan dianalisis dengan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang yang telah ditetapkan.

Hasil dan Pembahasan

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

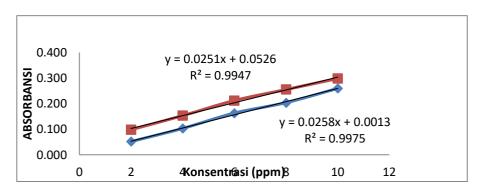
Hasil penentuan panjang gelombang menunjukkan angka 294 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,263.



Hasil Optimasi

Dari hasil penelitian ini didapat hasil optimasi parameter yang efektif untuk preparasi sampel krim yaitu dengan menggunakan massa adsorben silika yang telah teraktivasi sebanyak 0,4 gram, dengan waktu ekstraksi 30 menit dan desorbsi 5 menit pada pH 7.

Hasil Perbandingan Validasi Metode Ekstraksi Kurva Standar Sebelum dan Setelah Ekstraksi



Perbandingan	Sebelum	Setelah Ekstraksi	
Kurva	Ekstraksi		
SD	0-0,00252	0,001-0,0287	
% KV	0-0,0381	0,0144-0,0288	
% R	96,32-104,1	90-105,80	
LOD	6,0197	0,7996	
LOQ	20,0658	2,6653	

Hasil pengukuran linearitas ditunjukkan dengan nilai R² sebesar 0,9975. Hal ini menunjukkan bahwa kurva standar yang diperoleh dari variasi konsentrasi larutan standar hidrokuinon memiliki nilai linearitas yang baik karena nilai R² memenuhi rentang 0,995≤r≤1 (Harmita, 2004). R² yang mendekati 1 menunjukkan adanya korelasi yang baik antara konsentrasi (X) dengan absorbansi (Y) yang disebut linearitas sehingga sesuai dengan prinsip hukum Lambert-Beer yang berlaku pada instrumen spektrofotometer UV-Vis.

Analisis Sampel

Sampel	Pengamatan	Hasil	
A	Kuning	-	
	kehitaman		
В	Hitam	+	
	keunguan		
C	Kuning	-	
	kehitaman		
D	Hitam pekat	+	
Е	Hitam pekat	+	

Sampel	Rf	
Standart Hidrokuinon	0.7	
A	0,67	
В	0,57	
C	0,66	
D	0,67	
E	0.,67	

Keterangan	Absorbansi Sampel			
	В	D	E	
Replikasi 1	2,521	2,469	2,323	
Replikasi 2	2,457	2,477	2,339	
Replikasi 3	2,469	2,457	2,284	
Rata-rata	2,482	2,467	2,315	
SD	0,03402	0,01019	0,02829	

Hasil Rf yang diperoleh mendekati nilai Rf baku pembanding, sehingga lima sampel tersebut positif mengandung hidrokuinon. Pada pengujian kualitatif hidrokuinon juga dilakukan dengan uji reagen FeCl₃. Hidrokuinon jika ditambahkan FeCl₃ menghasilkan senyawa kompleks. Senyawa kompleks terbentuk karena unsur O pada hidrokuinon berikatan dengan hidrokuinon berikatan dengan FeCl₃ membentuk reaksi yang menghasilkan warna coklat kehitaman dalam kondisi asam (Simaremare, 2019). Hasil yang didapat pada pengujian menggunakan FeCl₃ yaitu sampel A dan C yang awalnya berwarna kuning berubah warna menjadi kuning kehitaman, krim B yang berwarna putih berubah menjadi hitam keunguan. Krim D dan E berubah warna menjadi hitam pekat. Dari hasil yang diperoleh sampel B, D, dan E positif mengandung hidrokuinon.

Analisis kuantitatif dilakukan dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Preparasi sampel dimulai dengan menimbang 1 gram sampel B,D, dan E. Selanjutnya sampel ditambahkan dengan HCl 0,4 N sebanyak 1 mL dan dilarutkan dengan 10 mL etanol. Sampel disaring dengan menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dimasukkan dalam labu ukur 50 mL kemudian ditambahkan dengan aquades hingga tanda batas. Proses ekstraksi dilakukan dengan mengambil larutan sampel sebanyak 30 mL, kemudian ditambahkan dengan silika sebanyak 0,4 gram dan ditambahakn dengan NaOH 0,1 N sebanyak 3 tetes hinga pH 9. Larutan sampel diekstraksi selama 30 menit. Selanjutnya dipisahkan dengan sentrifuge dan residunya ditambahkan dengan 5 mL etanol. Larutan didesorbsi selama 5 menit menggunakan vortex. Kemudian filtratnya dipisahkan dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil yang diperoleh yaitu nilai X atau konsentrasi dari sampel B yaitu sebesar 96,788 ppm, pada sampel D sebesar 96,191 ppm, dan pada sampel E sebesar 90,135 ppm.

Metode Standar Adisi

Tujuan dilakukan metode standar adisi yaitu untuk mengetahui seberapa besar pengaruh matriks-matriks pengganggu yang ada pada sampel. Pada metode ini menggunakan 3 sampel dengan penambahan 3 konsentrasi yang berbeda yaitu 2 ppm, 6 ppm, dan 10 ppm. Pada sampel B ditambakan larutan standar hidrokuinon 2 ppm, hasilnya diperoleh absorbansi sebesar 2,5903. Sampel B memiliki absorbansi 2,482 sedangkan larutan standar hidrokuinon dengan konsentrasi 2 ppm absorbansinya 0,098, apabila absorbansinya dijumlahkan hasilnya 2,58. Hasil tersebut sedikit lebih kecil dari hasil metode standar adisi, artinya ada matriks pengganggu dalam sampel yang dapat menurunkan sinyal. Pada sampel E ditambahkan larutan standar hidrokuinon dengan konsentrasi 6 ppm hasilnya diperoleh absorbansi sebesar 2,6147. Sampel D absorbansinya 2,467 sedangkan larutan standar hidrokuinon 6 ppm absorbansinya 0,212, apabila dijumlahkan hasilnya 2,679. Hasil tersebut sedikit lebih besar dari hasil metode standar adisi, artinya ada matriks pengganggu dalam sampel yang dapat menaikkan sinyal. Pada sampel E yang ditambahkan larutan standar hidrokuinon konsentrasi 10 ppm absorbansinya 2,6043.

Sampel E absorbansinya 2,315 sedangkan larutan standar hidrokuinon dengan konsentrasi 10 ppm absorbansinya 0,298, apabila dijumlahkan hasilnya 2,613. Hasil tersebut sedikit lebih besar dari hasil metode standar adisi, artinya ada matriks pengganggu dalam sampel yang dapat menaikkan sinyal. Namun, % *recovery* yang didapatkan yaitu pada rentang 94,3%-110,95% yang masih dapat ditolerir.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini didapat hasil optimasi parameter yang efektif untuk preparasi sampel krim yaitu dengan menggunakan massa adsorben silika yang telah teraktivasi sebanyak 0,4 gram, dengan waktu ekstraksi 30 menit dan desorbsi 5 menit pada pH 7.Dari data analisis diperoleh nilai % recovery sebesar 90-105,80%, dengan nilai linearitas 0,9947 dengan nilai linearitas pada rentang 0,9947≤ r ≤1, nilai koefisien variasi diperoleh kurang dari 2%, serta nilai LOD dan LOQ sebelum ekstraksi yaitu 6,09176; 20,0658. LOD dan LOQ setelah ekstraksi yaitu 0,7996; 2,6653. Serta faktor pemekatan sebesar lima kali.Dari hasil penelitian penentuan parameter validasi sebelum dan setelah ekstraksi menunjukkan nilai atau hasil yang sesuai dengan literatur. Hasil dari penentuan kadar hidrokuinon dalam tiga sampel krim pemutih yang berbeda dapat dianalisis sebesar 96,788 ppm, 96,191 ppm, dan p 90,135 ppm. Berdasarkan hasil validasi metode yaitu nlai lenearitas, % recovery, KV, LOD dan LOQ menunjukkan bahwa metode ini dapat digunakan untuk analisis hidrokuinon dalam sampel krim pemutih wajah.

Daftar Pustaka

- Azmalina, A. (2018). Analisa Hidrokuinon dalam Krim Dokter Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Lantanida Journal*, 6(2), 103–113.
- Carrisa. 2015. Analisis Hidrokuinon secara Spektrofotometri Sinar Tampak dalam Sediaan Krim Malam NC 16 dan NC 74 dari Klinik Kecantikan LSC Surabaya. *Calyptra*, *4*(1), 1–16.
- Rahmayuni, E., Harmita, H., & Suryadi, H. 2018. Development and validation method for simultaneous analysis of retinoic acid, hydroquinone and corticosteroid in cream formula by high-performance liquid chromatography. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(9), 87–92.
- Simaremare, E. S. 2019. Analisis Merkuri Dan Hidrokuinon Pada Krim Pemutih Yang Beredar Di Jayapura. *JST (Jurnal Sains Dan Teknologi)*, 8(1), 1.