

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Hasil Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan untuk mengetahui warna, bau, dan tekstur dari sampel krim malam yang diuji mengandung asam retinoat. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 4.1 dibawah ini.

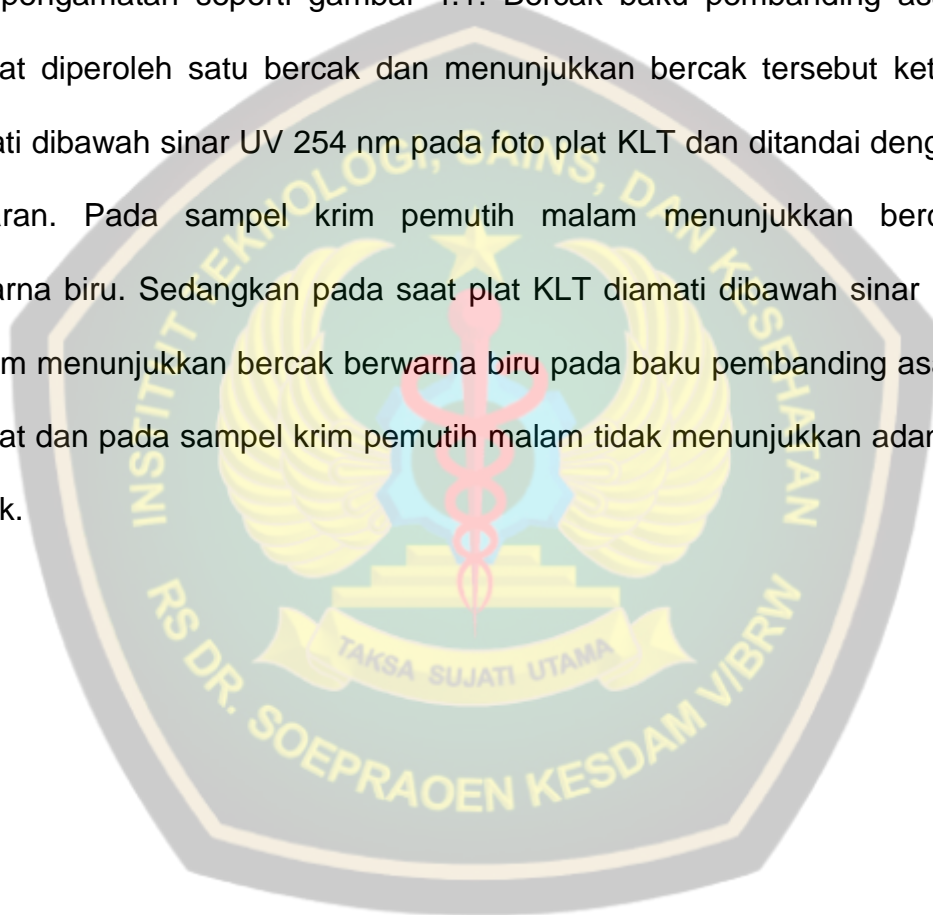
Tabel 4.1 Hasil Uji Organoleptis

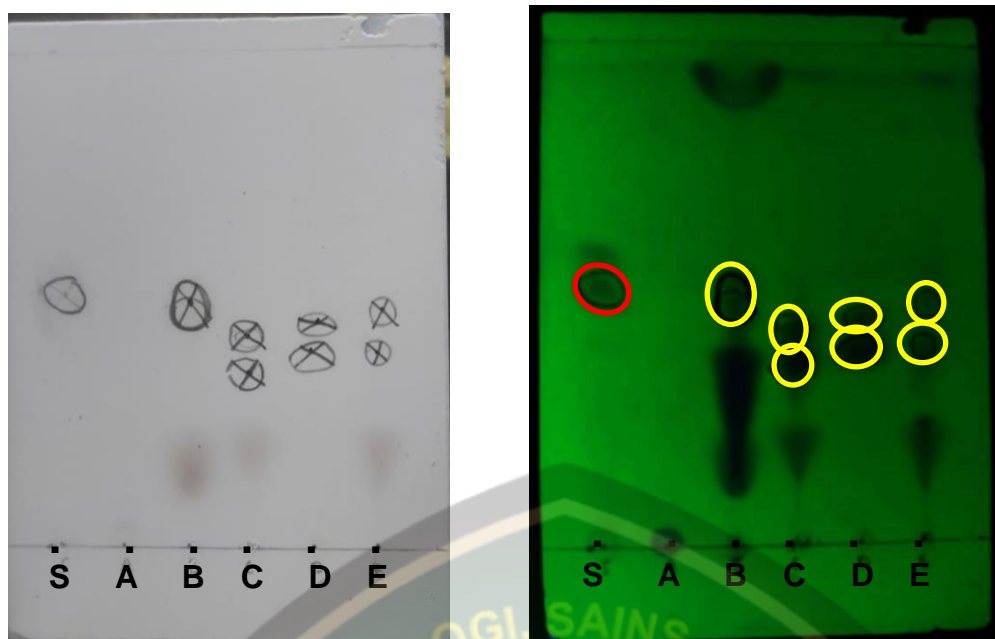
Sampel	Warna	Bau	Tekstur
A	Berwarna putih mengkilat	Wangi menyengat	Lembut dan lengket
B	Berwarna kuning	Asam	Lembut dan lengket
C	Berwarna kuning cerah	Asam dan wangi menyengat	Lembut dan sedikit lengket
D	Berwarna kuning cerah	Asam dan wangi	Lembut dan sedikit lengket
E	Berwarna kuning pucat	Wangi menyengat	Lembut dan sedikit lengket berminyak

Sumber Data : Data Primer, 2022

4.1.2 Hasil Analisis Kualitatif dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pada penelitian ini ditetapkan 5 sampel krim pemutih malam dengan memberi nama label sampel A, B, C, D, dan E. Hasil penelitian analisis asam retinoat dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) diperoleh hasil pengamatan seperti gambar 4.1. Bercak baku pembanding asam retinoat diperoleh satu bercak dan menunjukkan bercak tersebut ketika diamati dibawah sinar UV 254 nm pada foto plat KLT dan ditandai dengan lingkaran. Pada sampel krim pemutih malam menunjukkan bercak berwarna biru. Sedangkan pada saat plat KLT diamati dibawah sinar UV 365 nm menunjukkan bercak berwarna biru pada baku pembanding asam retinoat dan pada sampel krim pemutih malam tidak menunjukkan adanya bercak.





Sinar Tampak

Sinar UV 254 nm

A

B



Sinar UV 365 nm

C

Gambar 4.1 Hasil Kromatografi Lapis Tipis Pada Plat KLT

(Sumber Data : Data Primer, 2022)

Keterangan :

S : Baku pembanding asam retinoat


A : Krim pemutih malam sampel A


B : Krim pemutih malam sampel B

C : Krim pemutih malam sampel C

D : Krim pemutih malam sampel D

E : Krim pemutih malam sampel E

 : Bercak baku pembanding

 : Bercak sampel krim pemutih malam

Analisis kualitatif asam retinoat pada krim pemutih malam dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT), terdapat 3 sampel yang positif mengandung asam retinoat yaitu sampel B, sampel D, dan sampel E. Ketiga sampel tersebut memiliki nilai R_f yang berdekatan dengan sampel pembanding. Hasil perhitungan nilai R_f dapat dilihat pada tabel 4.2 dibawah ini.

Tabel 4.2 Hasil Analisis Asam Retinoat Pada Plat KLT

No.	Sampel	Jarak Rambut (cm)	Tinggi Bercak (cm)	Nilai Rf	Selisih Nilai Rf	Warna Bercak			Keterangan
						Visual	UV 254 nm	UV 365 nm	
1.	S	8	4	0,5	-	Tidak berwarna	Berwarna biru tua	Berwarna biru tua	Positif (+)
2.	A	8	-	-	-	Tidak berwarna	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	Negatif (-)
3.	B	8	3,9	0,4875	0,0125	Tidak berwarna	Berwarna biru tua	Tidak berwarna	Positif (+)
4.	C	8	3,4	0,425	0,075	Tidak berwarna	Berwarna biru tua	Tidak berwarna	Negatif (-)
5.	D	8	3,9	0,4875	0,0125	Tidak berwarna	Berwarna biru tua	Tidak berwarna	Positif (+)
6.	E	8	3,9	0,4875	0,0125	Tidak berwarna	Berwarna biru tua	Tidak berwarna	Positif (+)

Sumber Data : Data Primer, 2022

Keterangan : Selisih nilai Rf $\leq 0,05$ bernilai Positif dan selisih nilai Rf $> 0,05$ bernilai negatif (Oktaviantari dan Feladita, 2019).

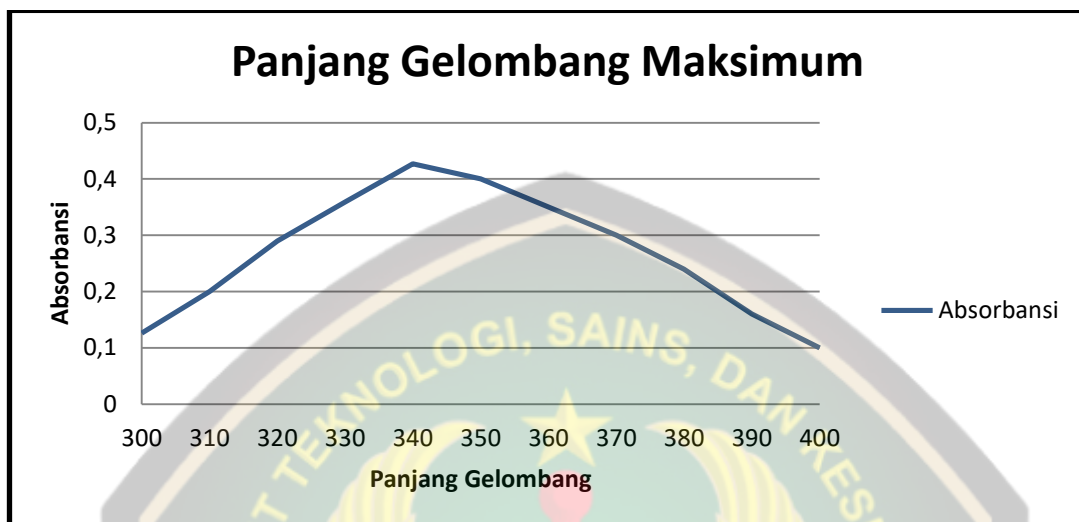
Standar yang dipakai adalah standar baku asam retinoat dengan nilai Rf 0,5. Nilai Rf sampel B 0,4875; sampel C 0,425; sampel D 0,4875; dan sampel E 0,4875.

4.1.3 Hasil Analisis Kuantitatif dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS

A. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Retinoat

Pada penelitian ini langkah awal yang dilakukan adalah menentukan panjang gelombang maksimum asam retinoat. Diukur serapan maksimum pada panjang gelombang 200 – 400 nm. Data nilai absorbansi berdasarkan panjang gelombang dapat dilihat pada Lampiran 2. Panjang

gelombang larutan asam retinoat dengan menggunakan konsentrasi 30 ppm dapat diukur serapannya mulai panjang gelombang 300 nm hingga 400 nm. Dalam menentukan nilai absorbansi yang paling tinggi dapat dilihat pada grafik panjang gelombang pada gambar 4.2 dibawah ini.



Gambar 4.2 Grafik Panjang Gelombang Maksimum (Sumber Data : Data Primer, 2022)

Berdasarkan grafik diatas, didapatkan nilai absorbansi maksimum yaitu 0,427 dengan panjang gelombang 340 nm. Data panjang gelombang dapat dilihat pada lampiran 2.

B. Operating Time

Dari hasil percobaan tidak dilakukan pembacaan Operating Time dikarenakan tidak ada penambahan reagen sehingga tidak mengalami perubahan warna dan warna larutannya sudah stabil.

C. Penentuan Linieritas Kurva Kalibrasi

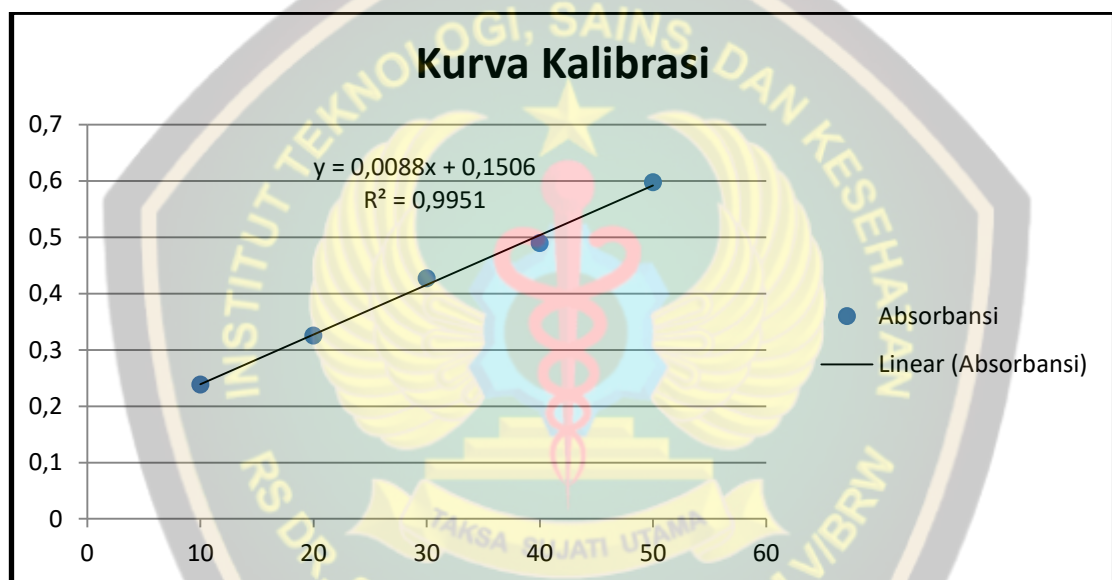
Hasil konsentrasi dan absorbansi larutan baku dapat dilihat pada tabel 4.3 dibawah ini.

Tabel 4.3 Nilai Absorbansi Larutan Baku Asam Retinoat

Konsentrasi	Absorbansi
10	0,238
20	0,325
30	0,427
40	0,489
50	0,597

Sumber Data : Data Primer, 2022

Berdasarkan tabel 4.3 diatas larutan baku asam retinoat dibuat menggunakan 5 macam konsentrasi yaitu 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm.



Gambar 4.3 Kurva Kalibrasi Asam Retinoat dengan Berbagai Macam Konsentrasi Secara Spektrofotometri UV Pada Panjang Gelombang 340nm (Sumber Data : Data Primer, 2022)

Dari hasil perhitungan persamaan regresi kurva kalibrasi pada gambar 4.3 diatas diperoleh persamaan garis $y = 0,0088x + 0,1506$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9951. Menunjukkan bahwa nilai tersebut linear yaitu grafik yang membentuk garis lurus.

D. Penetapan Kadar Sampel

Penetapan kadar dilakukan pada sampel A, B, C, dan E dianalisis menggunakan spektrofotometri UV dengan serapan panjang gelombang 340 nm. Nilai absorbansi pada hasil sampel uji dapat dilihat pada tabel 4.4 dibawah ini.

Tabel 4.4 Hasil Analisis Kuantitatif Asam Retinoat dengan Metode Spektrofotometri UV

Sampel	Pengulangan	Absorbansi	Rata – Rata
A	1	0,000	0,000
	2	0,000	
	3	0,000	
B	1	0,589	0,588
	2	0,589	
	3	0,588	
C	1	0,329	0,329
	2	0,329	
	3	0,329	
D	1	0,483	0,483
	2	0,483	
	3	0,483	
E	1	0,551	0,551
	2	0,549	
	3	0,554	

Sumber Data : Data Primer, 2022

Untuk menghitung persentase kadar asam retinoat dilakukan pengenceran sebanyak 2 kali, kemudian hasil tersebut dikalikan 2 dimana sampel tersebut dilarutkan dalam 10 mL pelarut. Maka diperoleh kadar persentase Asam Retinoat seperti yang tercantum pada tabel 4.5 dibawah ini.

Tabel 4.5 Kadar Asam Retinoat Pada Sampel

Sampel	Rata – Rata Absorbansi	Kadar (%)
A	0,000	-
B	0,588	0,165 %
C	0,329	0,06 %
D	0,483	0,125 %
E	0,551	0,151 %

Sumber Data : Data Primer, 2022

Berdasarkan persentase kadar pada tabel 4.5 diatas bahwa pada sampel A nilai absorbansinya adalah 0,000 maka tidak memiliki persentase kadar. Sedangkan pada sampel B memiliki persentase kadar 0,165%; sampel C memiliki persentase kadar 0,06%; sampel D memiliki persentase kadar 0,125%; dan sampel E memiliki persentase kadar 0,151%.

4.2 Pembahasan

Analisis kualitatif dan kuantitatif asam retinoat pada sediaan krim pemutih malam yang beredar di Kota Malang yaitu sampel A, sampel B, sampel C, sampel D, dan sampel E menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan untuk pemisahan dan analisis sampel dengan menggunakan lempeng secara cepat dan sederhana (Wulandari, 2011). Sedangkan spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk mengukur absorbansi suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Metode ini digunakan pula untuk mendapatkan hasil gelombang maksimum. Gelombang maksimum tersebut digunakan untuk mencari absorbansi tertinggi pada larutan baku (Wardhani, 2020).

Pengujian organoleptis adalah pengujian yang didasarkan pada proses pengindraan. Hasil yang diperoleh dari uji organoleptis

berdasarkan tabel 4.1 bahwa sampel A memiliki hasil uji organoleptis yaitu berwarna putih mengkilat, berbau wangi menyengat, memiliki tekstur lembut dan lengket. Sampel B memiliki hasil uji organoleptis berwarna kuning, berbau asam, memiliki tekstur lembut dan lengket. Sampel C dan D memiliki hasil uji organoleptis berwarna kuning cerah, berbau asam dan wangi menyengat, memiliki tekstur lembut dan lengket. Sampel E memiliki hasil uji organoleptis berwarna kuning pucat, berbau wangi menyengat, memiliki tekstur lembut dan sedikit lengket berminyak.

Pada penelitian sebelumnya (Agustina, 2019) yang berjudul “Analisis Kualitatif Asam Retinoat Pada Sediaan Krim Malam di Pasar Klaten Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis” menunjukkan hasil 5 sampel yang berwarna kuning hingga kuning cerah, berbau asam dan berbau wangi menyengat, tekstur krim lembut dan ada pula sampel dengan tekstur krim sangat lengket dan memiliki hasil positif (+) mengandung asam retinoat.

Analisis kualitatif asam retinoat pada sediaan krim pemutih malam yang dilakukan di laboratorium kimia Institut Teknologi Sains dan Kesehatan RS dr. Soepraoen, untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan asam retinoat pada sediaan krim pemutih malam dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Fase diam yang digunakan dalam penelitian ini adalah silika gel GF 254. Maksudnya adalah plat akan menampakkan bercak atau noda ketika disinari dengan sinar UV 254 nm. Apabila disinari oleh sinar UV 365 nm maka plat akan tampak gelap dan bercak pun akan terlihat gelap karena

yang digunakan adalah sinar UV 254 nm. Karena yang digunakan adalah silika gel plat GF 254 nm maka penyinaran yang tepat adalah menggunakan sinar UV 254 nm dan pada sinar UV 365 nm akan tampak gelap maka Nilai Rfnya tidak dapat dihitung (Wulandari, 2011).

Pada gambar 4.1 menunjukkan bahwa pada hasil kromatografi lapis tipis uji pembanding asam retinoat (S) dengan sampel krim A, B, C, D, dan E. pada sampel A tidak terlihat adanya bercak, sedangkan pada sampel B,C,D, dan E memiliki warna yang sama dengan baku standar yaitu memiliki bercak berwarna biru yang disinari dibawah lampu sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm artinya pada 4 sampel yang diteliti terdapat kemungkinan mengandung asam retinoat.

Sampel dikatakan positif (+) apabila selisih nilai Rf dengan baku pembanding $\leq 0,05$ dan sampel dikatakan negatif (-) apabila selisih nilai Rf dengan baku pembanding $> 0,05$ (Oktaviantari dan Feladita, 2019). Pada tabel 4.2 menunjukkan hasil uji asam retinoat pada plat KLT didapatkan nilai Rf untuk baku pembanding asam retinoat dengan nilai 0,5 dan untuk sampel B (Rf 0,4875), sampel D (Rf 0,4875), dan sampel E (Rf 0,4875) dengan selisih nilai Rf 0,0125 dengan baku pembanding. Dikarenakan selisih nilai Rf sampel B, C dan D $\leq 0,05$ maka dapat diartikan bahwa sampel tersebut positif (+) mengandung asam retinoat. Sedangkan pada sampel C memiliki nilai Rf yang berbeda jauh dengan baku pembanding yaitu (0,425) dan memiliki selisih nilai Rf 0,075 dengan baku pembanding. Dikarenakan selisih nilai Rf sampel C $> 0,05$ yang artinya sampel tersebut kemungkinan tidak mengandung asam retinoat (negatif).

Pada gambar 4.1 (B) pada sampel B, C dan E menunjukkan terdapat 2 titik bercak pada lempeng KLT. Adapun faktor – faktor yang mempengaruhi pergerakan bercak tersebut yaitu struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan, sifat dari penjerap dan derajat aktivitasnya, pelarut dan derajat kemurniannya, teknik percobaan, derajat kejenuhan dari pelarut, jumlah sampel yang digunakan, suhu, dan kesetimbangan (Sastrohamidjojo, 1991).

Faktor – faktor yang menyebabkan nilai R_f bervariasi adalah dimensi dan jenis ruang, sifat dan ukuran lempeng, arah aliran fase gerak, volume dan komposisi fase gerak, kondisi kesetimbangan, kelembaban, dan metode persiapan sampel KLT (Wulandari, 2011). Pada sampel C memiliki nilai R_f yang berbeda jauh dengan nilai R_f baku pembanding, untuk memastikan ada atau tidaknya asam retinoat maka dilakukan pengujian menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat.

Pada penelitian sebelumnya (Agustina, 2019) yang berjudul “Analisis Kualitatif Asam Retinoat Pada Sediaan Krim Malam di Pasar Klaten Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis” menunjukkan hasil 5 sampel krim malam positif mengandung asam retinoat dengan rata – rata R_f krim A yaitu 0,94; krim B yaitu 0,90; krim C yaitu 0,92; krim D yaitu 0,94; krim E yaitu 0,89; dan R_f baku pembanding asam retinoat yaitu 0,97.

Analisis kuantitatif asam retinoat pada sediaan krim pemutih malam yang dilakukan di laboratorium kimia Institut Teknologi Sains dan Kesehatan RS dr. Soepraoen dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

Spektrofotometri digunakan untuk mengukur konsentrasi yang ada dalam suatu sampel, dimana molekul yang ada dalam sel sampel disinari dengan cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu. Ketika cahaya mengenai sampel, sebagian akan diserap, sebagian akan dihamburkan dan sebagian lagi akan diteruskan. Pada spektrofotometri, cahaya datang atau cahaya yang mengenai permukaan zat dan cahaya setelah melewati zat tidak dapat diukur, yang dapat diukur adalah transmittansi atau absorbansi (Gusnedi, 2013).

Absorbansi adalah perbandingan intensitas sinar yang diserap dengan intensitas sinar datang. Nilai absorbansi ini akan bergantung pada kadar zat yang terkandung di dalamnya, semakin banyak kadar zat yang terkandung dalam suatu sampel maka semakin banyak molekul yang akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu sehingga nilai absorbansi semakin besar atau dengan kata lain nilai absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi zat yang terkandung didalam suatu sampel (Gusnedi, 2013).

Panjang gelombang maksimum yang digunakan untuk mencari absorbansi tertinggi pada larutan baku standar asam retinoat dengan panjang gelombang antara 200 nm – 400 nm untuk menjadi patokan panjang gelombang pada larutan sampel yang akan diukur absorbansinya (Wardhani, dkk., 2020). Sinar ultraviolet (UV) mempunyai rentang panjang gelombang 100 – 400 nm, sedangkan sinar tampak (Vis) memiliki rentang panjang gelombang 400 – 750 nm (Suhartati, 2017). Nilai absorbansi pada sampel dapat diukur mulai panjang gelombang 300 nm hingga 400

nm, maka pengukuran tersebut dilakukan pada ruang UV. Hasil panjang gelombang maksimum larutan standar asam retinoat adalah 340 nm dengan nilai absorbansi 0,427. Alasan penggunaan panjang gelombang maksimum yaitu dikarenakan terjadi perubahan absorbansi yang paling besar maka dari itu memiliki kepekaan yang maksimal (Suhartati, 2017).

Operating Time digunakan untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil yaitu saat sampel bereaksi sempurna dengan reagen warna. Waktu kerja ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan (Wardhani, dkk., 2020). Pada penelitian ini tidak dilakukan pembacaan *Operating Time* karena tidak ada penambahan reagen sehingga tidak mengalami perubahan warna dan larutannya sudah stabil.

Semakin lama pengukuran, maka ada kemungkinan senyawa yang berwarna tersebut menjadi rusak atau terurai sehingga intensitas warnanya turun akibatnya absorbansinya juga menurun. Jadi untuk pengukuran senyawa berwarna (hasil reaksi kimia) harus dilakukan pada saat waktu operasional (Wardhani, dkk., 2020).

Pembuatan kurva baku bertujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan baku asam retinoat dengan absorbansi yang akan digunakan untuk menghitung kadar asam retinoat dari sampel dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis (Wardhani, dkk., 2020). Pada penelitian ini variasi konsentrasi yang digunakan yaitu 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Variasi konsentrasi digunakan untuk mengetahui perbedaan absorbansi, semakin tinggi konsentrasi maka nilai

absorbansinya semakin tinggi (Wardhani, dkk., 2020). Berdasarkan data pada tabel 4.4 konsentrasi larutan baku dengan absorbansi larutan diperoleh hasil persamaan linier $y = 0,0088x + 0,1506$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9951 yang menunjukkan linearitas sangat baik karena grafik membentuk garis lurus pada gambar 4.3. Pada gambar tersebut memperlihatkan puncak absorbansi sampel semakin menguat dengan bertambah besar konsentrasi larutan yang digunakan (Wardhani, dkk., 2020).

Dari kurva baku yang diperoleh dapat digunakan untuk penetapan kadar asam retinoat dalam sampel krim pemutih malam. Berdasarkan tabel 4.6 bahwa penetapan kadar asam retinoat pada sediaan krim pemutih malam diperoleh hasil sampel A nilai absorbansinya adalah 0,000 maka tidak memiliki persentase kadar; sampel B memiliki persentase kadar 0,165%; sampel C memiliki persentase kadar 0,06%; sampel D memiliki persentase kadar 0,125%; dan sampel E memiliki persentase kadar 0,151%. Menurut Peraturan BPOM RI (2020), bahwa rentang dosis asam retinoat yang dapat digunakan yaitu antara 0,001% - 0,4% dengan pengawasan dokter. Maka dapat diartikan bahwa sampel B,C,D dan E tidak memenuhi persyaratan BPOM karena dijual bebas.

Pada penelitian sebelumnya (Wardhani, dkk., 2020) yang berjudul "Analisis Kandungan Asam Retinoat Pada Sediaan Krim Pemutih Malam Yang Beredar di Toko X Kota Klaten Dengan Spektrofotometri Uv-Vis" menunjukkan bahwa 5 sampel positif mengandung asam retinoat dengan

perolehan kadar untuk sampel A adalah 0,021%; sampel B 0,014%; sampel C 0,016%; sampel D 0,025%; dan sampel E 0,023%.

Menurut BPOM RI (2007) melalui peraturan menteri kesehatan RI No. 445/MENKES/PER/V/1998, asam retinoat termasuk bahan yang dilarang. Asam retinoat juga merupakan obat keras yang hanya boleh dibeli dengan resep dokter. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, sampel sediaan krim pemutih malam tidak aman digunakan karena dijual secara bebas tanpa pengawasan dokter. Asam retinoat dapat menimbulkan resiko berbahaya antara lain dapat menimbulkan peradangan pada kulit seperti rasa terbakar, menyengat, kemerahan, eritema dan pengerasan kulit. Asam retinoat juga berefek sebagai zat teratogen atau menyebabkan cacat pada janin (BPOM RI, 2007).

