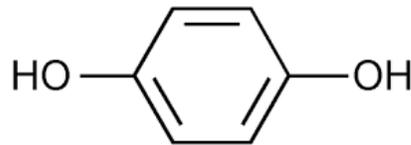


## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1.1 Hidrokuinon

Hidrokuinon ( $C_6H_6O_2$ ) merupakan senyawa berbentuk jarum halus, putih, memiliki berat molekul 110,1 g/mol, mudah larut dalam air, methanol, dan etanol. Hidrokuinon (1,4 benzendiol) atau p-dihidroksibenzen merupakan senyawa golongan fenol karena memiliki gugus hidroksil (-OH) yang berkaitan dengan cincin aromatik/benzen pada posisi para (Wenniger, et al.,2000). Fenol merupakan senyawa yang mudah teroksidasi bila terpapar cahaya dan udara ditandai dengan adanya perubahan warna. Adapun struktur hidrokuinon adalah sebagai berikut.



**Gambar 2.1 Struktur Hidrokuinon (Departemen Kesehatan RI, 1995)**

Hidrokuinon merupakan bahan aktif yang sering dijumpai penggunaannya sebagai antioksidan dan antiozonan sintesis dalam industri karet, fotografi, penstabil cat, dan kosmetik (BPOM, 2011). Dalam dunia kosmetik, hidrokuinon digunakan sebagai bahan pengoksidasi pewarna rambut, penghambat polimerisasi dalam lem untuk kuku *artificial* (kuku buatan), dan zat pemutih pada krim pemutih karena bersifat antioksidan dan *depigmentasi*. Penggunaan hidrokuinon dalam kosmetik menurut *Food and Drug Administration* (FDA) telah dilarang karena berpotensi menimbulkan masalah kulit. Berdasarkan Peraturan Kepala BPOM Nomor 23 Tahun 2019 Tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetik, penggunaan hidrokuinon dalam kosmetik dilarang pada krim pemutih, hanya diperbolehkan pada kuku *artificial* sebesar 0,02% setelah pencampuran dan pada pewarna rambut sebesar 0,3%.

Hidrokuinon memiliki efek yang tidak menguntungkan dalam pemakaian jangka panjang serta dosis tinggi seperti, timbul rasa terbakar pada kulit, gatal, iritasi, pigmentasi, gangguan di area telinga, jari, sendi-sendi jari, kelainan pada ginjal (*nephropathy*), kanker darah (leukimia), dan kanker sel hati (*hepatocellular adenoma*), *ochronosis eksogen*, leukoderma dengan depigmentasi mirip *confetti*, dan menyebabkan mutasi atau kerusakan DNA karena bersifat karsinogenik (BPOM RI, 2008). Hidrokuinon memiliki efek berbahaya bagi tubuh karena hidrokuinon dapat menjadi kompetitor tirosin sebagai substrat enzim tirosinase dalam pembentukan melanin. Apabila hidrokuinon berhasil menjadi substrat, maka akan terbentuk benzokinon yang toksik terhadap melanosit. Sedangkan, enzim tirosinase dapat mengubah tirosin membentuk melanin yang berfungsi sebagai tirai penahan radiasi ultraviolet yang berbahaya (Kalangi, 2013).

## 1.2 Kubis Ungu (*Brassica oleraceae*)

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Bangsa : Capparales

Suku : Brassicaceae

Marga : Brassica

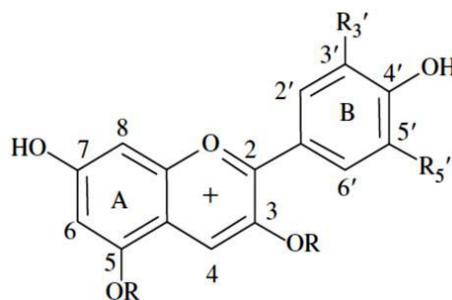
Spesies : *Brassica oleraceae* var. *capitata* L. (Majeed, 2004; Amanah, 2019)



**Gambar 2.2 Kubis Ungu (Riniati, dkk., 2020)**

Kubis ungu (*Brassica oleraceae var. capitata L.*) merupakan jenis sayuran dengan daun berwarna ungu dan biasa digunakan untuk pelengkap salad. Kubis memiliki bentuk *capitate* menghasilkan kubis ungu dan kubis putih. Kubis ungu memiliki daun berwarna merah keunguan dan berbentuk bulat, oval, sampai lonjong, membentuk roset akar yang besar dan tebal. Kubis ungu dapat dibudidayakan pada dataran tinggi maupun dataran rendah dengan rata-rata curah hujan 850-900 mm dan umur panen berkisar antara 90 hari sampai 150 hari. Perkembangbiakan kubis ungu melalui biji atau setek tunas (Dalimartha, 2000)

Kubis ungu mengandung karbohidrat, protein, lemak, air, serat, kalium, kalsium, fosfor, besi, natrium, vitamin (A, C, E), fenol, flavonoid, dan beta karoten (Dalimartha, 2000). Kubis ungu memiliki serat diet tinggi yang membantu pencegahan kanker kolon, kolesterol, diabetes, obesitas, serta memiliki pigmen ungu yang kerap digunakan sebagai pewarna alami. Pigmen tersebut merupakan antosianin. Antosianin merupakan senyawa golongan flavonoid yang berperan memberikan warna merah dan biru pada tanaman (Harbone, J. B., 1987). Antosianin kubis ungu memiliki sensitifitas tinggi dalam perubahan warna setiap tingkatan pH (Yusuf, M. 2018). Kepekaan warna pada antosianin dapat digunakan sebagai komparator dasar yang sensitif dalam analisis hidrokuinon. Berikut merupakan struktur dasar antosianin.



**Gambar 2.3 Struktur Dasar Antosianin (Priska, M. dkk., 2018)**

Kandungan antosianin dalam kubis ungu cukup tinggi yakni berkisar 109-185 mg/100 g dalam kondisi basah dan dapat diperoleh dengan cara ekstraksi. Antosianin tersimpan dalam bentuk glukosidanya (Park et al., 2014). Proses perebusan atau

pemanasan lainnya dapat menyebabkan sel-sel kubis ungu yang mengandung antosianin terbuka sehingga pigmen warna larut dalam pelarut (Cabrita, I., 1999). Pigmen antosianin tersusun atas susunan rangkap terkonjugasi yang panjang dan kompleks. Sistem ikatan rangkap terkonjugasi ini mampu menjadikan antosianin sebagai antioksidan dengan mekanisme penangkapan radikal bebas (Welch et al., 2008). Antosianin kubis ungu memiliki kepolaran yang sangat tinggi dan bersifat larut dalam pelarut polar. Pemilihan pelarut yang tepat dalam ekstraksi antosianin diperlukan agar mendapatkan ekstrak antosianin maksimal. Selain bersifat hidrofilik atau mudah larut dalam air, antosianin mudah larut dalam pelarut polar organik seperti etanol dan metanol (Priska, M. dkk., 2018).

### **1.3 Metode Deteksi Hidrokuinon Berbasis Kolorimetri**

Kolorimetri adalah teknik pengukuran cahaya yang diabsorpsi pada daerah sinar tampak (400-800 nm) oleh zat warna yang terbentuk baik dari asalnya maupun akibat penambahan zat lain. Kolorimetri mencakup perubahan larutan dari tidak berwarna menjadi berwarna akibat reaksi pengkompleksan. Oleh karena itu, perlu dilakukan pemilihan pereaksi pengompleks sesuai dengan beberapa persyaratan yaitu, reaksinya selektif, memiliki sensitivitas dan ketepatan ulang yang tinggi, warna yang terbentuk transparan, stabil dalam jangka waktu yang lama, dan merupakan fungsi dari konsentrasi. Selain itu, keselektifan dapat dinaikkan dengan mengatur pH, menggunakan *masking agent*, atau penggunaan teknik ekstraksi (Rohman, 2007). Metode kolorimetri melibatkan perbandingan intensitas warna secara visual pada larutan senyawa yang tidak diketahui dengan suatu standar atau beberapa seri standar sehingga tercapai kesesuaian warna senyawa yang diteliti dengan standar yang dilakukan pada tabung Nessler (Gunawan, 2008).

Analisis hidrokuinon dengan kolorimetri telah dikembangkan baik penelitian dari dalam negeri maupun luar negeri. Xin Zhao (2020) telah mengembangkan penginderaan kolorimetri hidrokuinon dengan ion logam tiruan peroksidase. Logam Pt diendapkan dalam nanorod CdS dengan fotoreduksi sinar UV. Nanokomposit Pt/CdS memiliki aktivitas mirip peroksidase dengan bantuan 3,3,5,5-

Tetramethylbenzidine (TMB) yang tak berwarna akan membentuk biru khas ketika direaksikan dengan  $H_2O_2$  dalam waktu 3 menit yang mudah dideteksi visual. Selanjutnya platform ini digunakan untuk mendeteksi hidrokuinon dalam sampel air sehingga didapatkan nilai LOQ  $0,165\mu M$  dan *recovery* 83,56-91,76 %. Selain itu, pada penelitian Pranata, H. D. (2013) dan Lailatul D. (2015) digunakan pereaksi floroglusinol untuk mendeteksi hidrokuinon dalam kosmetik krim pemutih secara *spot test* sehingga terbentuk kompleks berwarna merah yang selanjutnya diukur konsentrasi sampel menggunakan deret warna serta spektrofotometri UV-Vis.

Pada penelitian Susanti et al. (2019) dikembangkan deteksi hidrokuinon dengan memanfaatkan kubis ungu sebagai indikator warna. Kubis ungu memiliki kandungan antosianin dengan sensitifitas tinggi terhadap perubahan warna disetiap pH yang dapat dimanfaatkan sebagai indikator warna pada analisis hidrokuinon, sehingga memberikan komparator warna disetiap penambahan hidrokuinon dengan kadar berbeda. Pada penelitian ini dapat diketahui bahwa kubis ungu yang diekstrak melalui proses maserasi dengan pelarut aquades suhu  $60^\circ C$  selama 45 menit merupakan hasil yang paling maksimum. Pada pengaplikasiannya sebagai indikator warna analisis hidrokuinon dapat memberikan hasil positif pada konsentrasi hidrokuinon *range* 700-1000 ppm dengan memberikan degradasi warna hijau kecoklatan dan dibaca konsentrasinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

#### **1.4 Pencitraan Digital**

Pencitraan digital merupakan suatu teknik analisis kuantitatif untuk penentuan konsentrasi pada sampel berwarna berdasarkan perbandingan intensitas warna larutan sampel dengan warna larutan standarnya. Analisis pengukuran hasil penelitian menggunakan suatu *software* yang bernama *Image J* sebagai sistem alternatif berbasis kolorimetri yang murah, mudah dan cepat karena cukup menggunakan kamera *smartphone* dan teknik pengolahan hasil pencitraan. Kelebihan pengukuran dengan pencitraan digital yaitu jumlah bahan yang digunakan lebih sedikit dan murah. Program *Image J* dapat digunakan untuk menghitung nilai RGB yang didasarkan pada nilai pengukuran dari tiga warna primer yaitu merah, hijau, dan biru. Ketiga warna tersebut dipilih karena kemampuannya dalam menghasilkan spektrum cahaya

yang dapat dilihat oleh pembaca. Perpaduan ketiga warna tersebut juga mampu membentuk semua warna, termasuk warna putih yang terbentuk dari campuran warna merah, hijau, dan biru pada intensitas tertinggi. Warna hitam juga dapat terbentuk ketika ketiga warna ini bercampur dalam intensitas terendah atau nol (Ferreira dan Rasband, 2010). Prinsip kerjanya ialah apabila berkas cahaya pada panjang gelombang tertentu melewati suatu larutan/sampel maka akan ada sebagian cahaya yang diserap. Besarnya intensitas cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi larutan. Nilai intensitas cahaya warna yang dihasilkan selanjutnya dimasukkan kedalam persamaan Lambert-Beer sehingga didapatkan nilai absorbansi cahaya.

### **1.5 Validasi Metode**

Menurut Physka (2018), Validasi metoda analisis adalah suatu tindakan penilaian suatu metode atau percobaan di laboratorium terhadap parameter tertentu untuk membuktikan bahwa metode tersebut memenuhi persyaratan pada penggunaannya. Tujuan pelaksanaan validasi metode analisis adalah untuk mengkonfirmasi/memastikan bahwa metode analisis tersebut dapat sesuai peruntukannya (Gandjar, 2007). Parameter yang akan diujikan pada pengembangan metode ini adalah linieritas, limit deteksi, limit kuantitasi, presisi dan akurasi.

#### **2.5.1. Linieritas**

Linieritas adalah kemampuan suatu metode analisis untuk memperoleh hasil pengujian yang sesuai dengan konsentrasi analit yang terdapat pada sampel pada kisaran konsentrasi tertentu berdasarkan kelienierannya terhadap kurva baku hubungan antara konsentrasi (sumbu X) dengan respon (sumbu Y). Penentuan linieritas dilakukan pada rentang konsentrasi terendah dan tertinggi analit yang dapat diterima kecermatan, keseksamaan, dan linieritasnya. Rentang konsentrasi yang digunakan adalah antara 0% sampai 200% dari nilai tengah konsentrasi dengan jumlah sampel yang dianalisis sekurang-kurangnya enam buah sampel dan blanko. Parameter hubungan kelinieran yang digunakan yaitu koefisien korelasi ( $r$ ) dan koefisien determinasi ( $R$ ) pada analisis regresi liner  $y = bx + a$  ( $b$  adalah slope,  $a$  adalah intersep,  $x$  adalah konsentrasi analit dan  $y$  adalah respon

instrumen). Sebagai parameter adanya hubungan linear digunakan koefisien korelasi  $r$  pada analisis regresi linear  $y=a + bx$  dan juga nilai  $Vx > 0$ . Hubungan linear yang ideal dicapai jika nilai  $b$  adalah 0 dan  $r$  adalah +1 atau -1 tergantung arah garis (Harmita, 2004) dan nilai  $Vx < 5\%$  (Ermer & Miller, 2005).

### 2.5.2. Limit Deteksi dan Limit Kuantitasi

Batas deteksi (LOD) adalah batas jumlah terendah analit yang dapat terdeteksi pada sampel tanpa harus dikuantifikasi. Pada analisis instrumen, dilakukan penentuan simpangan baku respon blanko dengan pengukuran berulang respon blanko. Sedangkan analisis non-instrumen, dilakukan pendeteksian analit dalam sampel pada pengenceran bertingkat. Batas kuantitasi (LOQ) menunjukkan konsentrasi terkecil analit pada sampel dengan persyaratan masih memenuhi kriteria presisi dan akurasi (Harmita,2004). Perhitungan batas deteksi dan kuantitasi sebagai berikut.

$$LOQ = \frac{10 \times LOD}{3} \dots \dots \dots (2.1)$$

### 2.5.3. Presisi

Presisi (reprodusibilitas) adalah ukuran kedekatan hasil analisis yang diperoleh dari serangkaian pengukuran ulang pada kondisi atau ukuran yang sama dan dinyatakan dalam bentuk standar deviasi relatif (RSD) maupun koefisien variasi (KV) (Kuswandi, 2010). Kriteria penerimaan presisi diberikan pada metode yang memberikan nilai RSD 2% atau kurang. Namun, kriteria tersebut bersifat fleksibel bergantung pada konsentrasi analit, jumlah sampel, dan kondisi laboratorium seperti yang tertera pada Tabel 2.1. Penentuan parameter presisi ditunjukkan dengan persamaan berikut.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Ix - x)^2}{n - 1}} \dots \dots \dots (2.2)$$

$$CV = \frac{SD}{x} \times 100\% \dots \dots \dots (2.3)$$

Keterangan :

SD = standar deviasi

X = sinyal rata-rata sampel

CV = koefisien variasi

**Tabel 2.1 Konsentrasi analit dengan presisi (Huber, 2007)**

Analit pada Sampel (%)	RSD (%)
100	1,3
>10	2,8
>1	2,7
>0.1	3,7
0,01	5,3
0.001	7,3
0.0001 (1 ppm)	11
0.00001 (100 ppb)	15
0.000001 (10 ppb)	21
0.0000001 (1 ppb)	30

#### 2.5.4. Akurasi

Akurasi adalah ukuran kedekatan atau ketepatan hasil antara nilai terukur dengan nilai teoritis yang dapat berupa nilai konvensional, nilai sebenarnya, atau nilai rujukan. Hasil pengukuran akurasi dapat dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (% Recovery) dengan melakukan spiking pada suatu sampel (Gandjar dan Rohman, 2007). Prosedur penentuan akurasi pada validasi metode analisis dapat dilakukan dengan tiga cara, yakni dengan melakukan perbandingan hasil analisis dengan CRM (certified reference material) dari organisasi internasional, melakukan penambahan analit ke dalam matriks blanko (spiked placebo) sehingga didapatkan hasil perolehan kembali jumlah analit, dan

penambahan baku pada sampel mengandung analit (standard addition method) (Gandjar dan Rohman, 2014; Anggraena, 2018). Pengujian menggunakan tiga macam konsentrasi antara 30%-60% kali dari kadar yang diperkirakan (Indrayanto dan Yuwono, 2003; Pertiwi, 2015). Perhitungan % *recovery* dapat ditentukan dengan persamaan berikut.

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{konsentrasi hasil percobaan}}{\text{konsentrasi teoritis}} \times 100\%$$

**Tabel 2.2 Rentang % *recovery* pada konsentrasi yang berbeda (Huber, 2007)**

Analit pada Sampel (%)	% <i>recovery</i>
100	<b>98-102</b>
>10	<b>98-102</b>
>1	<b>97-103</b>
>0.1	<b>95-105</b>
0,01	<b>90-107</b>
0.001	<b>90-107</b>
0.0001 (1 ppm)	<b>80-110</b>
0.00001 (100 ppb)	<b>80-110</b>
0.000001 (10 ppb)	<b>60-115</b>
0.0000001 (1 ppb)	<b>40-120</b>