

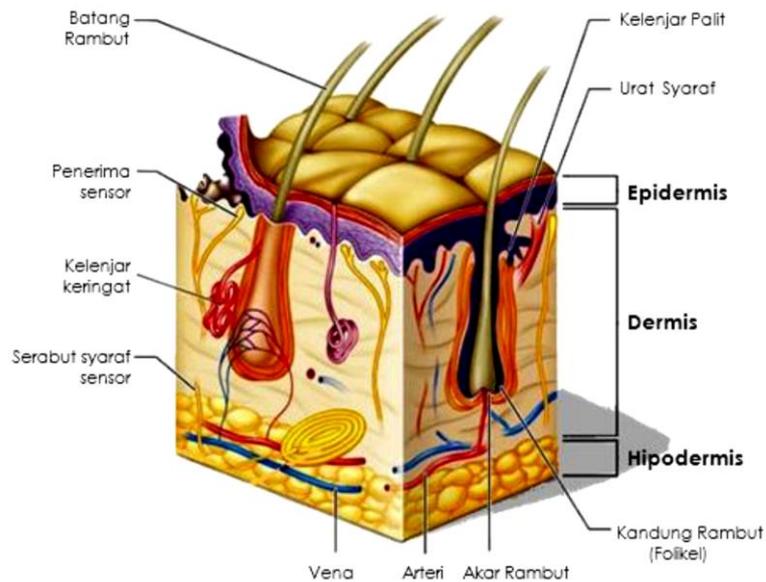
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Kulit

Kulit merupakan “selimut” yang menutupi permukaan tubuh serta memiliki peran utama sebagai pelindung dari berbagai macam gangguan dan rangsangan luar (Siregar, 2020). Peran kulit sangat penting yaitu sebagai pelindung tubuh terhadap patogen dan kehilangan air yang berlebihan, sintesis vitamin D, perlindungan vitamin B folates, dan pengaturan suhu (Arwibiyantari, 2018a).

Kulit merupakan organ terbesar dalam tubuh manusia. Kulit terdiri dari tiga lapisan utama yaitu sebagai berikut:



Gambar 2.1 Struktur Kulit

1) Lapisan ari (epidermis)

Lapisan ari atau lapisan epidermis merupakan lapisan kulit bagian luar. Epidermis memiliki ketebalan yang berbeda-beda pada berbagai bagian tubuh. Lapisan epidermis yang paling tebal berada pada bagian telapak tangan dan telapak kaki dengan ukuran 1 milimeter. Sedangkan lapisan epidermis yang

paling tipis berada pada kelopak mata, dahi, pipi dan perut dengan ukuran 0,1 milimeter.

2) Lapisan dermis

Lapisan dermis merupakan tempat ujung syaraf perasa, lapisan ini dipisahkan dari lapisan epidermis dengan adanya membran dasar yang merupakan suatu lapisan jaringan ikat dari mesoderm. Pada lapisan dermis terdapat sel-sel saraf dan juga pembuluh darah.

3) Lapisan hipodermis

Lapisan hipodermis merupakan jaringan penyambung di bawah kulit dan terdiri dari jaringan lemak. Jaringan lemak ini berguna untuk menahan pukulan dari luar tubuh, untuk cadangan makanan, serta untuk menahan suhu badan (Siboro, 2018).

Beberapa fungsi kulit yaitu sebagai berikut:

1) Sebagai organ pengatur panas

Tubuh memiliki suhu yang tetap, walaupun terjadi perubahan suhu pada lingkungan. Hal ini dikarenakan adanya penyesuaian antara panas yang hilang dan panas yang dihasilkan, yang diatur oleh pusat pengatur panas.

2) Beberapa kemampuan melindungi dari kulit

Lapisan epidermis menghalangi cedera pada struktur dibawahnya dan mengurangi rasa sakit. Apabila epidermis rusak, misalnya karena luka bakar derajat tiga, maka proteksi ini akan hilang dan setiap sentuhan terasa nyeri dan exudasi cairan dari dermis yang sekarang terbuka itu, menyebabkan hilangnya cairan dan elektrolit, akibatnya pasien berada dalam bahaya dehidrasi, yang dapat menyebabkan keadaan yang lebih parah.

3) Sebagai tempat penyimpanan

Kulit dan jaringan dibawahnya bekerja sebagai tempat penyimpanan air, serta tempat untuk penyimpanan lemak utama pada tubuh yang merupakan fungsi dari jaringan adipose dibawah kulit.

4) Sebagai indra peraba

Rasa sentuhan disebabkan oleh rangsangan pada ujung syaraf didalam kulit, rasa sentuhan ini berbeda-beda menurut ujung syaraf yang dirangsang. Di dalam kulit terdapat tempat-tempat tertentu yaitu tempat perabahan, beberapa sensitive (peka) terhadap dingin, beberapa terhadap panas dan lain lagi terhadap sakit (Siregar, 2020).

1.2 Kosmetik

1.2.1 Definisi Kosmetik

Kosmetika merupakan bahan atau campuran bahan yang digunakan untuk dituangkan, digosokkan, atau disemprotkan pada, digunakan pada bagian tubuh manusia yang bertujuan untuk membersihkan, menambah daya tarik, memelihara, dan tidak termasuk obat (Ningsih, 2009). Menurut BPOM No 18 tahun 2015 kosmetik merupakan bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia (epidermis, kuku, bibir, rambut, dan organ genital bagian luar), atau gigi dan membran mukosa mulut, terutama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan, dan untuk memperbaiki bau badan atau melindungi atau untuk memelihara tubuh pada kondisi yang baik (Siboro, 2018). Sedangkan menurut peraturan menteri kesehatan RI No. 445/MENKES/PERMENKES/1998 kosmetik merupakan sediaan atau paduan bahan yang siap untuk digunakan pada bagian luar badan (epidermis, rambut, bibir, kuku, dan organ kelamin luar), gigi dan rongga mulut untuk membersihkan, menambah daya tarik, melindungi supaya tetap dalam keadaan baik, mengubah penampilan, dan memperbaiki bau badan, namun tidak untuk mengobati atau menyembuhkan suatu penyakit (Nurfitriani, 2015).

1.2.2 Efek Samping Kosmetika

Efek yang diberikan kosmetik terhadap kulit berbeda-beda ada yang merupakan efek positif atau efek negatif. Oleh karena itu penggunaan kosmetik harus disesuaikan dengan aturan pakainya supaya tidak menimbulkan efek yang tidak diinginkan (Nurfitriani, 2015). Berikut ini adalah efek yang ditimbulkan dari kosmetik terhadap kulit

1) Dermatitis

Kontak alergi atau iritan karena kontak kulit dengan bahan kosmetika yang bersifat alergi atau iritan, misalnya: PPDA (paraphenyl diamine) pada, natrium laurilsulfat atau heksaklorofen pada sabun, cat rambut, hidrokuinon pada pemutih kulit.

2) Akne kosmetika

Akne kosmetika disebabkan karena kontak kulit dengan bahan kosmetika yang bersifat aknegenik, misalnya lanolin pada bedak padat atau masker penipis (peeling mask), alkohol laurat pada pelembab, petrolatum pada minyak rambut atau maskara, asam oleat pada pelembut janggut (beard softener). Secara klinis tampak komedo tertutup atau papul didaerah muka.

3) Pigmented cosmetic dermatitis

Pigmented cosmetic dermatitis merupakan kelainan yang mirip melanosis Riehl dan kadang-kadang terasa gatal. Kelainan ini timbul akibat pewarna jenis ter batubara terutama brilliant lake red dan turunan fenilazonaftol.

4) Fotosesnsitivitas

Fotosensitivitas disebabkan karena adanya zat yang bersifat fotoalergik dalam kosmetika, misalnya: PPDA dalam pewarna rambut, beta-karoten, sinamat atau sinoksat pada tabir surya, minyak bergamot, lavender, sitrun, lime atau sandalwood pada parfum, ter batubara pada sampo, biru metilen eosin, merah netral, fluoresein, akrifin pada zat warna (dyes).

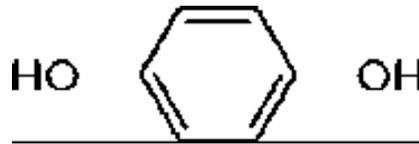
5) Bentuk reaksi kulit lain

Bentuk reaksi kulit lain misalnya dermatitis folikular akibat unsur nikel, kobal, dan lainnya; erythema multiforme like eruption akibat tropical woods; urtikaria kontak akibat amil alkohol; granuloma akibat garam zirkonium dalam deodoran, merkuri dalam pemutih dan metal dalam tato (Ningsih, 2009).

1.3 Hidrokuinon

Menurut BPOM hidrokuinon merupakan senyawa kimia yang larut dalam air, berbentuk kristal jarum tidak berwarna, apabila terkena cahaya dan udara akan berubah warna menjadi gelap. Hidrokuinon merupakan salah satu senyawa golongan fenol dan memiliki nama IUPAC yaitu 1,4-benzenediol.

- 1) Rumus kimia : $C_6H_6O_2$
- 2) Struktur bangun :



Gambar 2.2 Struktur Senyawa Hidrokuinon

- 3) Sinonim : *hydroquinone*
- 4) BM : 110,11
- 5) Pemerian : Berbentuk jarum halus, putih, mudah menjadi gelap dengan adanya paparan cahaya dan udara.
- 6) Kelarutan : Mudah larut dalam air, alkohol dan eter.
- 7) Jarak lebur : 172 - 174⁰ C (Farmakope, 2020).

Di Indonesia, terdapat peraturan yang membatasi penggunaan hidrokuinon dalam kosmetik. Peraturan tersebut dikeluarkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No.KH.00.01.432.6081 Tentang Kosmetik Mengandung Bahan Berbahaya dan Zat Warna yang Dilarang pada peraturan tersebut disebutkan bahwa hidrokuinon lebih dari 2% termasuk obat keras yang hanya dapat digunakan berdasarkan resep dokter (Siregar, 2020). Hidrokuinon merupakan senyawa yang termasuk golongan fenol dan bersifat larut dalam air (Siboro, 2018).

Hidrokuinon merupakan bahan aktif yang mampu mengendalikan produksi pigmen yang tidak merata, lebih tepatnya berfungsi untuk mengurangi dan menghambat pembentukan melanin kulit. Melanin merupakan pigmen kulit yang memberikan warna gelap kecokelatan, sehingga muncul semacam bercak coklat atau hitam pada kulit, sehingga banyak memproduksi melanin menyebabkan hiperpigmentasi. Hidrokuinon tidak hanya menghambat pembentukan melanin yang baru, namun juga menghancurkan melanin yang sudah berkembang dan oleh karena itu hidrokuinon efektif sebagai agen pemutih. Di sisi lain penggunaan hidrokuinon sering menimbulkan alergi sehingga harus ditangani dengan perawatan khusus. Hidrokuinon dapat menyebabkan toksisitas akut dan kronik. Selain itu, hidrokuinon juga dapat menyebabkan proliferasi sel, kelainan ginjal, dan berpotensi sebagai karsinogenik dan teratogenik (Nurfitrani, 2015).

Pada saat ini hidrokuinon masih digunakan oleh sebagian produsen pemutih karena mampu mengelupas kulit bagian luar dan menghambat pembentukan melanin yang membuat kulit nampak hitam. Hidrokuinon bekerja dengan menghalangi pengeluaran melanin oleh melanosit yang terletak pada lapisan epidermis kulit, sekaligus menembus lapisan kulit dan menyebabkan penebalan pada lapisan kolagen (Ningsih, 2009).

Efek setelah penggunaan hidrokuinon yang umum terjadi adalah kulit menjadi merah (eritema), rasa terbakar serta iritasi. Dalam jangka panjang dapat terjadi leukoderma kontak dan okronosis eksogen (Siregar, 2020). Penggunaan hidrokuinon akan mempengaruhi warna kulit. Hal ini dapat menyebabkan kulit lebih putih atau lebih hitam dari warna kulit normal kita. Selain itu, penggunaan hidrokuinon dalam kosmetika dapat merusak kulit. Pada saat pertama penggunaan hasilnya memang memuaskan namun, lama kelamaan kulit akan terasa panas dan memerah. Pemakaian hidrokuinon pada kosmetik dapat membuat kulit malah kusam dan timbul bercak-bercak hitam, hal ini dikarenakan tidak semua melanosit hancur oleh hidrokuinon. Sisa-sisa melanosit yang tidak hancur akan membentuk pertahanan hingga kebal terhadap hidrokuinon. Namun penggunaan dengan kadar tinggi atau tanpa pengawasan dokter dapat mengakibatkan kelainan pigmen kulit. Kelainan pigmen kulit adalah perubahan warna kulit menjadi lebih putih,

lebih hitam, atau coklat, dibandingkan dengan warna kulit normal. Meskipun dasar terjadinya perubahan warna tersebut sangat bervariasi, namun semua itu bersumber pada melanin. Efek penggunaan hidrokuinon yang terus menerus dan dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan kerusakan ginjal, kelainan pigmen, kekurangan daya tahan kulit terhadap sinar ultraviolet, dan kanker. Hal ini disebabkan karena zat hidrokuinon terserap dalam darah dan menumpuk hingga sel berubah menjadi kanker (Siboro, 2018). Terdapat peraturan terbaru mengenai penggunaan hidrokuinon pada kosmetik. Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan tahun 2019 nomor 23 hidrokuinon hanya diperbolehkan untuk bahan perekat kuku artifisial dengan kadar sebesar 0,02% (BPOM, 2019).

1.4 Hand and Body Lotion

1.4.1 Pengertian Hand and Body Lotion

Hand and body lotion (losion tangan dan badan) merupakan suatu sediaan dengan medium air yang digunakan pada kulit tanpa digosokkan. Biasanya mengandung substansi tidak larut yang tersuspensi, dapat pula berupa larutan dan emulsi di mana mediumnya berupa air (Pratiwi, 2018). Hand and Body lotion terdiri dari campuran air, pelembut, humektan, bahan pengental, pengawet, dan pewangi. Air merupakan komponen yang paling besar persentasinya dalam pembuatan hand and body lotion. Air yang digunakan dalam pembuatan hand and body lotion adalah air murni dan berfungsi sebagai pelarut (Kurniawan, 2012). Hand and body lotion merupakan sediaan kosmetik golongan *emolien* (pelembut) yang mengandung lebih banyak air. Lotion memiliki sifat sebagai sumber kelembapan bagi kulit, memberi lapisan minyak, membuat tangan dan badan menjadi lembut, namun tidak terasa berminyak dan mudah dioleskan. Istilah yang umum digunakan untuk sediaan ini adalah *Hand and body lotion* (*lotion* tangan dan badan). Hand and Body lotion juga dapat didefinisikan sebagai sediaan yang digunakan pada kulit tanpa digosokkan. Hand and Body lotion biasanya berupa larutan dan emulsi dimana mediumnya berupa air. Sediaan lotion terdiri dari beberapa komponen diantaranya yaitu air, pengemulsi, humektan, dan zat berlemak yang berasal dari lemak maupun minyak dari tanaman. Hand and body lotion berfungsi untuk mempertahankan kelembaban kulit, mencegah hilangnya

air, mempertahankan bahan aktif, serta melembutkan dan membersihkan (Arum, 2017).

1.4.2 Bahan Penyusun Hand and Body Lotion

Hand and body lotion terdiri dari campuran air, pelembut, humektan, bahan pengental, pengawet, dan pewangi. *Emolient* (pelunak, zat yang mampu melunakkan kulit) didefinisikan sebagai sebuah media yang jika digunakan pada lapisan kulit kering akan mempengaruhi kelembutan kulit. Bahan ini mengisi ruang antar sel kulit, membantu menggantikan lemak sehingga dapat melembutkan dan melumasi. *Emolient* yang digunakan pada sediaan hand and body lotion dapat mengurangi resiko terjadinya penyakit kulit seperti dermatitis (Kurniawan, 2012).

Rasa nyaman setelah pemakaian hand and body lotion adalah karena adanya *emolient* yang memiliki titik cari lebih tinggi dari suhu kulit. Oleh sebab itu, dalam pembuatan formula hand and body lotion harus diperhatikan fungsi utama dari hand and body lotion yaitu melembutkan, mudah dan cepat menyerap pada permukaan kulit, tidak meninggalkan lapisan tipis, tidak menimbulkan rasa lengket pada kulit setelah pemakaian, tidak mengganggu pernafasan, antiseptis, memiliki bau yang khas (menyegarkan), serta memiliki warna menarik dan tetap. Bahan-bahan yang berfungsi sebagai emolient adalah minyak mineral, ester isopropil, turunan lanolin, trigliserida, serta asam lemak (Kurniawan, 2012).

Humektan (pelembab) merupakan bahan yang berfungsi mengatur kadar air atau kelembapan pada sediaan hand and body lotion itu sendiri maupun setelah dipakai pada kulit. Beberapa humektan yang ditambahkan dalam hand and body lotion yaitu gliserin, propilen glikol, sorbitol (Nasution,2020). Humektan berpengaruh terhadap kulit yaitu melembutkan kulit dan mempertahankan kelembaban kulit agar tetap seimbang. Humektan ditambahkan pada hand and body lotion untuk mengurangi kekeringan ketika disimpan pada suhu ruang (Kurniawan, 2012).

Bahan pengental berfungsi untuk mengentalkan sediaan sehingga dapat menyebar lebih halus dan lekat pada kulit, disamping itu bahan pengental berfungsi sebagai stabilizer. Bahan-bahan yang berfungsi sebagai pengental

adalah setil alkohol, karbopol, vegum, tragakan, gum, gliseril monostearat (Nasution,2020).

Emulsifier atau pengemulsi merupakan bahan yang penting dalam pembuatan hand and body lotion karena memiliki gugus polar maupun non polar dalam satu molekulnya, sehingga pada satu sisi akan mengikat minyak yang non polar dan disisi lain juga akan mengikat air yang polar. Hal ini berhubungan dengan *hidrofillipofil balance* yaitu keseimbangan antara komponen yang larut air dan larut minyak. *Emulsifier* akan membentuk lapisan tipis (film) yang menyelimuti partikel dan mencegah partikel tersebut bersatu dengan partikel sejenisnya. Emulsi mengandung lebih dari satu *emulsifier* karena kombinasi dari beberapa *emulsifier* akan menambah kesempurnaan sifat fisik maupun kimia dari emulsi (Kurniawan, 2012). Pengemulsi berfungsi untuk menurunkan tegangan permukaan antara minyak dan air, sehingga minyak dapat bersatu dengan air. Bahan-bahan yang berfungsi sebagai pengemulsi adalah trietanolamin, asam stearat, setil alkohol (Nasution,2020).

Gliserin atau sorbitol merupakan sumber karbon dan substansi lain seperti turunan asam amino dan protein biasanya ditambahkan pada pembuatan hand and body lotion. Bahan-bahan ini merupakan sumber nitrogen bagi mikroorganisme. Oleh karena itu, dibutuhkan suatu pengawet untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan untuk menghindari deteriorasi produk. Pengawet yang ditambahkan pada produk sebesar 0,1-0,2%. Pengawet juga harus ditambahkan pada suhu yang tepat pada saat proses pembuatan, yaitu antara 35-45 °C agar tidak merusak bahan aktif yang terdapat dalam pengawet tersebut. Pengawet yang baik memiliki persyaratan, yaitu efektif mencegah tumbuhnya berbagai macam organisme yang dapat menyebabkan penguraian bahan, dapat larut dalam berbagai konsentrasi yang digunakan, dan tidak menimbulkan bahaya pada kulit. Pengawet yang biasanya digunakan dalam kosmetika yaitu metilparaben dan propil paraben (Kurniawan, 2012).

Pewangi ditambahkan pada hand and body lotion sebagai upaya untuk meningkatkan nilai produk. Jumlah pewangi yang ditambahkan harus serendah mungkin, yaitu berkisar antara 0,1-0,5%. Pada proses pembuatan hand and body lotion, pewangi dicampurkan pada suhu 35°C (Kurniawan, 2012).

1.4.3 Manfaat Hand and Body Lotion

Beberapa manfaat hand and body lotion bagi kulit yaitu sebagai berikut:

1) Memperbaiki Kekenyalan dan Elastisitas kulit

Sebagian besar hand and body lotion memiliki kandungan pelembab atau moisturizer yang dapat memperbaiki kekenyalan serta elastisitas kulit. Hal tersebut dapat berkurang kadarnya bahkan rusak ketika kulit mengalami kontak dengan sinar matahari sehingga pemakaian hand and body lotion sebelum tidur berfungsi memperbaiki kerusakan tersebut dan mengembalikan kekenyalan serta elastisitas kulit. Apalagi malam hari, kulit banyak kehilangan kandungan air sebanyak kurang lebih 25% sehingga kelembabannya akan berkurang. Disini hand body memainkan peran penting dalam mengembalikan bahkan meningkatkan kelembaban kulit.

2) Membantu Proses Regenerasi Kulit

Normalnya, kulit mengalami regenerasi setiap 28 hari sedang pelepasan sel-sel kulit mati setiap 28 jam. Hand body yang dioleskan di malam hari dapat mempercepat generasi karena mampu melepas sel-sel kulit mati lebih cepat dari biasanya. Ini juga didukung oleh faktor waktu di mana malam hari dapat merupakan momen ketika proses regenerasi bekerja maksimal yang ditandai dengan terbentuknya pori-pori kulit.

3) Mengatasi Kulit Kering dan Pecah-Pecah

Mengoleskan hand and body lotion dibagian tubuh-tubuh yang rentan kering atau pecah-pecah, semisal tumit, lutut dan siku sebelum tidur dapat sangat efektif untuk mengatasi gangguan tersebut. Ini disebabkan pada saat tidur, kulit dapat menyerap seluruh nutrisi yang terdapat dalam hand and body lotion dan pemakaiannya cenderung tidak banyak bergerak sehingga bagian-bagian yang pecah dan kering bisa perlahan teratasi. Selain itu secara umum hand and body lotion juga dapat menyegarkan kulit dan mencegah dari kekeringan baik karena sinar matahari atau efek pemakaian Air Conditioner di tempat kerja lebih-lebih di tempat tidur.

4) Memaksimalkan Penyerapan Nutrisi

Menggunakan hand and body lotion sebelum tidur malam dapat memaksimalkan penyerapan nutrisi karena pori-pori kulit tengah terbuka pada

waktu malam hari. Nutrisi yang terkandung dalam hand and body lotion tak jarang tidak terserap sempurna oleh kulit karena posisi pori-pori yang tertutup ataupun terhalangi oleh kotoran dan bakteri yang menempel. Karena itulah pemakaian hand body juga disarankan setelah mandi karena ketika itu, kulit berada dalam keadaan bersih dan siap menerima nutrisi (Hastika, 2016).

1.5 Reagen FeCl₃

Besi (III) klorida atau feri klorida merupakan senyawa yang secara umum digunakan dalam pengolahan limbah, produksi air minum maupun sebagai katalis, baik di industri maupun di laboratorium. Berikut deskripsi mengenai FeCl₃:

Rumus kimia : FeCl₃

Berat molekul : 162,21 gram/mol

Kelarutan : Larut di dalam air dingin

Pemerian : Hablur, tidak berasa, tidak berbau

Stabilitas : besi (III) klorida relatif stabil

Titik leleh : 306°C (Nugraha,2015).

Analisis kualitatif hidrokuinon dapat dilakukan dengan uji pereaksi warna FeCl₃. Pada uji pereaksi warna FeCl₃, sampel positif mengandung hidrokuinon apabila terjadi perubahan warna menjadi hijau sampai hitam. Senyawa hidrokuinon akan membentuk senyawa kompleks berwarna hijau sampai hitam (pada kondisi asam) apabila ditambah dengan larutan pereaksi FeCl₃ (Muadifah & Ngibad, 2020).

Hidrokuinon jika ditambahkan FeCl₃ menghasilkan senyawa kompleks. Senyawa kompleks terbentuk karena unsur O pada hidrokuinon berikatan dengan FeCl₃ membentuk reaksi yang menghasilkan warna hijau dalam kondisi asam (Simaremare et al., 2019).

1.6 Kromatografi Lapis Tipis

Istilah kromatografi digunakan pada beberapa teknik pemisahan berdasarkan pada “migration medium” yang berbeda, yaitu distribusinya terhadap fase diam dan fase gerak. Terdapat 3 hal yang wajib ada pada teknik ini. Pertama harus terdapat medium perpindahan tempat, yaitu tempat terjadinya pemisahan. Kedua harus terdapat gaya dorong agar spesies dapat berpisah sepanjang “migration medium”. Ketiga harus terdapat gaya tolakan selektif. Gaya yang terakhir ini dapat menyebabkan pemisahan dari bahan kimia yang dipertimbangkan.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu kromatografi yang berdasarkan proses adsorpsi. Lapisan yang memisahkan terdiri atas fase diam dan fase gerak (Maulana, 2018).

Izmailoff dan Schraiber merupakan tokoh yang mengembangkan kromatografi lapis tipis (KLT) pada tahun 1938. Kromatografi lapis tipis (KLT) berbeda dengan kromatografi kolom. Pada kromatografi lapis tipis (KLT) fase diamnya berupa lapisan yang seragam (*uniform*) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik. Sedangkan pada kromatografi kolom fase diamnya diisikan atau dikemas di dalamnya. Kromatografi lapis tipis merupakan metode dengan teknik pemisahan secara fisika yang menggunakan dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Pemisahan ini terjadi dikarenakan adanya perbedaan migrasi yang disebabkan oleh beda koefisien distribusi dari masing-masing komponen. Kromatografi lapis tipis memiliki kelebihan dibandingkan dengan kromatografi kertas. Beberapa kelebihan kromatografi lapis tipis yaitu menghasilkan pemisahan yang sempurna, memiliki kepekaan yang tinggi, serta dapat dilaksanakan dengan cepat (Nurfitriani, 2015).

Prinsip dari metode KLT adalah sampel ditotolkan pada lapisan tipis (fase diam) kemudian dimasukkan kedalam wadah yang berisi fase gerak (eluen) sehingga sampel tersebut terpisah menjadi komponen-komponennya. Salah satu fase diam yang paling umum digunakan adalah silika gel F₂₅₄ yang mengandung indikator fluoresensi ditambahkan untuk membantu penampakan bercak tanpa warna pada lapisan yang dikembangkan (Maulana, 2018) . Kromatografi Lapis Tipis menggunakan sebuah silika lapis tipis atau alumina yang ditempatkan pada sebuah lempeng gelas atau logam atau plastik yang keras. Silika gel atau alumina ini berfungsi sebagai fase diam dan sering juga ditambahkan bahan-bahan yang dapat berpendar pada sinar ultra violet. Fase gerak untuk Kromatografi Lapis Tipis berupa pelarut atau campuran pelarut yang sesuai dengan bahan yang akan dipisahkan (Siboro, 2018).

Pada kromatografi lapis tipis digunakan fase diam berupa penjerap kesil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam maka semakin baik

kinerja KLT dalam hal efisiensi dan resolusinya. Sedangkan fase gerak pada kromatografi lapis tipis atau KLT dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering dengan mencoba-coba karena waktu yang diperlukan hanya sebentar. Sistem yang paling sederhana adalah campuran dua pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal. Berikut ini merupakan petunjuk dalam memilih dan mengoptimasi fase gerak:

- 1) Fase gerak harus memiliki kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif.
- 2) Daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan.
- 3) Untuk pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solute yang berarti juga menentukan nilai R_f . Penambahan pelarut yang bersifat sedikit polar seperti dietil eter ke dalam pelarut non polar seperti metil benzen akan meningkatkan harga R_f secara signifikan.
- 4) Solut-solut ionic dan solut-solut polar lebih baik digunakan campuran pelarut sebagai fase geraknya, seperti campuran air dan metanol dengan perbandingan tertentu. Penambahan sedikit asam etanoat atau ammonia masing-masing akan meningkatkan solut-solut yang bersifat basa dan asam (Nurfitriani, 2015).

Deteksi bercak pemisahan pada KLT dapat dilakukan dengan cara-cara sebagai berikut:

- 1) Menyemprot lempeng KLT dengan reagen kromogenik yang akan bereaksi secara kimia dengan seluruh solut yang mengandung gugus fungsional tertentu sehingga bercak menjadi berwarna. Kadang-kadang bercak dipanaskan terlebih dahulu untuk mempercepat reaksi pembentukan warna dan intensitas warna bercak.
- 2) Mengamati lempeng dibawah lampu ultraviolet dengan panjang gelombang 254 atau 366 nm untuk menempatkan solut sebagai bercak

yang gelap atau bercak yang berfluoresensi terang pada dasar yang berfluoresensi.

- 3) Menyemprot lempeng dengan asam sulfat pekat atau asam nitrat pekat lalu dipanaskan untuk mengoksidasi solut-solut organik yang akan nampak sebagai bercak hitam kecoklatan.
- 4) Memaparkan lempeng dengan uap iodium dalam *chamber* tertutup.
- 5) Melakukan *scanning* pada permukaan lempeng dengan densitometer (Wulansari, 2011).

Penempatan cuplikan pada lapisan tipis sama seperti cara-cara yang digunakan pada kromatografi kertas, namun pipa kapiler yang digunakan adalah yang terbaik. Penempatan noda diatas plat kira-kira 1 cm dari salah satu ujungnya dimana ujung ini nanti akan dicelupkan ke dalam pelarut. Penyerap yang sering digunakan adalah silika gel. Silika gel yang digunakan diberi pengikat (binder) yang bertujuan untuk memberikan kekuatan pada lapisan, serta menambah adhesi pada gelas penyokong. Pengikat yang digunakan adalah kalsium sulfat. Perhitungan nilai Rf menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik asal}}$$

Beberapa faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam kromatografi lapis tipis yang juga dapat mempengaruhi nilai Rf adalah tebal dan kerataan dari lapisan penyerap, pelarut (dan derajat kemurniannya) fase gerak, derajat kejenuhan dari uap dalam bejana, jumlah cuplikan yang digunakan, suhu (Ningsih, 2009). Harga Rf dapat dijadikan bukti dalam mengidentifikasi senyawa. Bila identifikasi harga Rf memiliki nilai yang sama maka senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki karakteristik yang sama atau mirip. Sedangkan, bila harga Rf-nya berbeda, senyawa tersebut dapat dikatakan merupakan senyawa yang berbeda (Siboro, 2018).

Retardation factor (Rf) merupakan parameter karakteristik KLT. Harga untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga standar (Wulansari, 2011). Harga maksimum Rf adalah 1, sampel bermigrasi dengan kecepatan sama dengan eluen. Harga Rf minimum adalah 0, dan ini teramati jika sampel tertahan pada

posisi titik awal dipermukaan fase diam. Harga-harga R_f untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga standar. Perlu diperhatikan bahwa harga-harga R_f yang diperoleh hanya berlaku untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan. Nilai R_f sangat karakteristik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu. Hal tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Senyawa yang mempunyai R_f lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Hal tersebut dikarenakan fasa diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fasa diam, sehingga menghasilkan nilai R_f yang rendah (Maulana, 2018).